

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE CHIMICHE

**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE
PER L'AMBIENTE E IL TERRITORIO**

**EFFETTI DELLE CONDIZIONI AMBIENTALI SU
AQUATAIN COME AGENTE DI CONTROLLO DELLE
ZANZARE: STUDIO SUI FATTORI CHIMICO-FISICI
CHE LO INFLUENZANO**

Relatore:
Prof. Luca Mazzon

Laureanda: Alice Scalon

Matricola n. 2041730

Anno accademico

2023/2024

Indice

Abstract	4
Riassunto	5
1. Introduzione	6
1.1 Aedes albopictus	6
1.1.1 <i>Biologia</i>	6
1.1.2 <i>Ciclo di vita</i>	7
1.1.3 <i>Morfologia larve</i>	9
1.1.4 <i>Morfologia pupe</i>	10
1.1.5 <i>Nicchia ecologica</i>	11
1.1.6 <i>Interesse sanitario</i>	11
1.1.7 <i>Monitoraggio delle zanzare e lotta antilarvale</i>	13
1.1.8 <i>Evoluzioni e problematiche dei metodi di contenimento chimici</i>	14
1.1.9 <i>Lo sviluppo di resistenze</i>	15
1.1.9.1 <i>Il meccanismo biochimico delle resistenze</i>	16
1.1.10 <i>Metodi fisici di contenimento</i>	17
1.1.10.1 <i>Oli e film superficiali</i>	17
1.2 Aquatain	18
1.2.1 <i>Descrizione</i>	18
1.2.2 <i>Specifiche chimiche</i>	20
2. Scopo della tesi	21
3. Materiali e metodi	22
3.1 Prodotti interferenti testati	22
3.1.1 <i>Materiale biologico</i>	23
3.1.2 <i>Aquatain</i>	23
3.2 Fase operativa preliminare I	24
3.3 Fase operativa preliminare II	25
3.4 Fase operativa preliminare III	26
3.5 Fase operativa preliminare IV	27
3.6 Fase operativa definitiva	28
4. Risultati ed elaborazione dati	30
4.1 Interferenza causata dal sapone tensioattivo	30
4.2 Interferenza causata dall'olio	36
5. Conclusioni	48

Bibliografia	49
Ringraziamenti	51

Abstract

The control of culicids is crucial to prevent diseases, and to maintain conditions of public health in urban environments, which is often disturbed by the blood-sucking activity of these insects. Silicone films are an emerging method of applying larvicides, with reduced environmental impact; thanks to their ability to create physical barriers, these films can suffocate mosquito larvae.

This study investigates the interference of widespread and commonly used oils and surfactants on the effectiveness of surface films; in particular, in this analysis, we focus on the Aquatain. Through laboratory experiments and field studies, we tested different concentrations of common interferences, which may be present in man-made aquatic environments, such as drains and manholes. These interferences were tested to evaluate their impact on the performance of silicone films in controlling culicid larvae.

The results indicate that some of these products can reduce the effectiveness of mechanically acting larvicides by altering their surface tension properties or creating interactions that compromise their functioning.

Understanding these mechanisms is essential for optimizing larval control strategies in mosquito breeding habitats.

This research therefore provides insight into the complexities of larvicidal methods and highlights the importance of considering environmental variables in mosquito control programs.

Riassunto

Il controllo delle larve di zanzara, in particolare dei culicidi, è cruciale per la prevenzione delle malattie da esse trasmesse, e per il mantenimento di condizioni di quiete pubblica in ambiente urbano, che spesso viene turbata dall'attività ematofaga di questi insetti.

Le pellicole silconiche sono un metodo emergente di applicazione di larvicidi, a ridotto impatto ambientale, che, grazie alla loro capacità nel creare barriere fisiche, soffocano le larve di zanzara.

Questo studio indaga sull'interferenza di oli e tensioattivi, diffusi e di uso comune, sull'efficacia di tali film superficiali; in particolare, in questa analisi, ci si concentra sul prodotto Aquatain.

Attraverso esperimenti di laboratorio e studi sul campo, sono state testate varie concentrazioni degli interferenti di cui sopra, che possono essere presenti negli ambienti acquatici antropizzati, come caditoie e tombini, per valutarne l'impatto sulle prestazioni di pellicole silconiche nel controllo delle larve di culicidi.

I risultati indicano che alcuni di questi prodotti, possono ridurre l'efficacia dei larvicidi ad azione meccanica, alterando le loro proprietà di tensione superficiale o creando interazioni che ne compromettono il funzionamento.

Comprendere questi meccanismi è essenziale per ottimizzare le strategie di controllo larvale negli habitat di riproduzione delle zanzare.

Questa ricerca fornisce dunque informazioni sulle complessità dei metodi larvicidi e sottolinea l'importanza di considerare le variabili ambientali nei programmi di controllo delle zanzare.

1. Introduzione

1.1 *Aedes albopictus*

1.1.1 *Biologia*

La specie *Aedes albopictus* (Skuse, 1894), è un dittero nematocero della famiglia dei culicidi, originaria delle foreste pluviali del sud-est asiatico. Le femmine, a differenza dei maschi, necessitano del pasto di sangue per deporre le uova, la differenza tra sessi è visibile, oltre che nella differente alimentazione, anche per il dimorfismo sessuale: i maschi sono riconoscibili dalle femmine per la presenza di antenne piumose e palpi mascellari lunghi (Severini et al. 2009).

Al contrario della specie gemella *A. aegypti*, *A. albopictus* ha la capacità di adattarsi alle temperature fredde, diventando dormiente durante l'inverno che caratterizza le regioni temperate.

Ciò è probabilmente legato alla capacità dell'insetto di sintetizzare un'elevata quantità di lipidi e di produrne in maggiori quantità nel tuorlo delle uova a basse temperature (Paupy et al. 2009).

Infatti, le femmine di popolazioni naturalizzate in aree temperate sono indotte da un fotoperiodo inferiore alle 13 ore, a deporre uova in grado di resistere all'essiccamento ed al freddo, fino a quando le condizioni climatiche nuovamente favorevoli ne consentono la schiusa. In Italia la fenologia della specie va da marzo ad ottobre, secondo le precipitazioni stagionali (Romi 1994). Questa zanzara, essenzialmente esofila, dotata di spiccata antropofilia, può pungere durante tutto l'arco del giorno, prediligendo le ore più fresche della giornata. Recentemente è stata riscontrata anche un'alta capacità adattativa da parte delle larve e degli adulti alle basse temperature invernali (Severini et al. 2009).



Figura 1: maschio adulto di *Aedes albopictus*



Figura 2: femmina adulta di *Aedes albopictus*

1.1.2 Ciclo di vita

Il ciclo vitale di *Aedes albopictus*, in Europa, alle nostre latitudini, può durare da 10 giorni a 3 settimane, a seconda della temperatura e di altre condizioni biotiche e abiotiche. Esso è composto da una fase acquatica, costituita da tre stadi immaturi, ovvero uovo, larva e pupa, e da una fase aerea, che corrisponde allo stadio adulto; in particolare, le larve e le pupe sono acquaiole, ovvero necessitano di assumere ossigeno atmosferico per vivere nel mezzo acquoso.

I fattori che più influenzano lo sviluppo degli stadi vitali dei culicidi sono l'ossigeno disciolto nell'acqua e la temperatura. Climi rigidi portano a un rallentamento del ciclo biologico, così come livelli di ossigeno troppo bassi o troppo alti.

Come in tutte le specie del genere *Aedes*, le uova di *Ae. albopictus* vengono deposte poco sopra la superficie dell'acqua, ai bordi di piccoli depositi stagnanti

o sulla vegetazione, e schiudono quando, in seguito all'aumento del livello, vengono sommerse (Ferrarese, 2003).

Il periodo dell'anno in cui schiudono le prime uova varia con la latitudine e il clima. A Padova si possono trovare gli adulti da metà aprile ai primi di novembre, a Roma anche in inverno.

Le zanzare del genere *Aedes* hanno sviluppato un meccanismo altamente sofisticato che regola il processo di schiusa, come adattamento diretto alle forti variazioni delle condizioni abiotiche esistenti nelle acque temporanee dove esse si riproducono. Quando, in autunno, il fotoperiodo diventa inferiore alle 12 ore, cominciano a essere deposte, sempre con le modalità descritte sopra, le uova fotoperiodiche o diapausanti, che supereranno l'inverno (Ferrarese 2003).

Nelle zone temperate, le uova diapausanti delle zanzare della specie *Aedes* possono ridurre il contenuto di acqua nel loro corpo e innalzare i livelli di glicerolo, per prevenire il congelamento dell'embrione (Becker et al. 2020).

L'accoppiamento può avvenire già due o tre giorni dopo lo sfarfallamento e immediatamente dopo la femmina può effettuare il primo pasto di sangue, necessario alla maturazione delle uova. Il periodo che intercorre tra il pasto di sangue e la deposizione delle uova è di circa cinque giorni, durante i quali la femmina può pungere più volte. Ogni femmina depone in media 40-80 uova dopo ciascun pasto di sangue. La durata del periodo di sopravvivenza delle alate in natura è valutata intorno alle due - tre settimane (U. Ferrarese, 2004).

A. albopictus punge quasi esclusivamente di giorno, con picchi nella mattinata e nella parte centrale e finale del pomeriggio. Vola a un'altezza media di 50 cm e si riposa tra la vegetazione. In genere non si sposta per più di 500 metri dal focolaio larvale. In particolari momenti della vita può trovare rifugio e riposo nei tombini delle caditoie da cui sfarfalla o in cui va a deporre (U. Ferrarese, 2004).

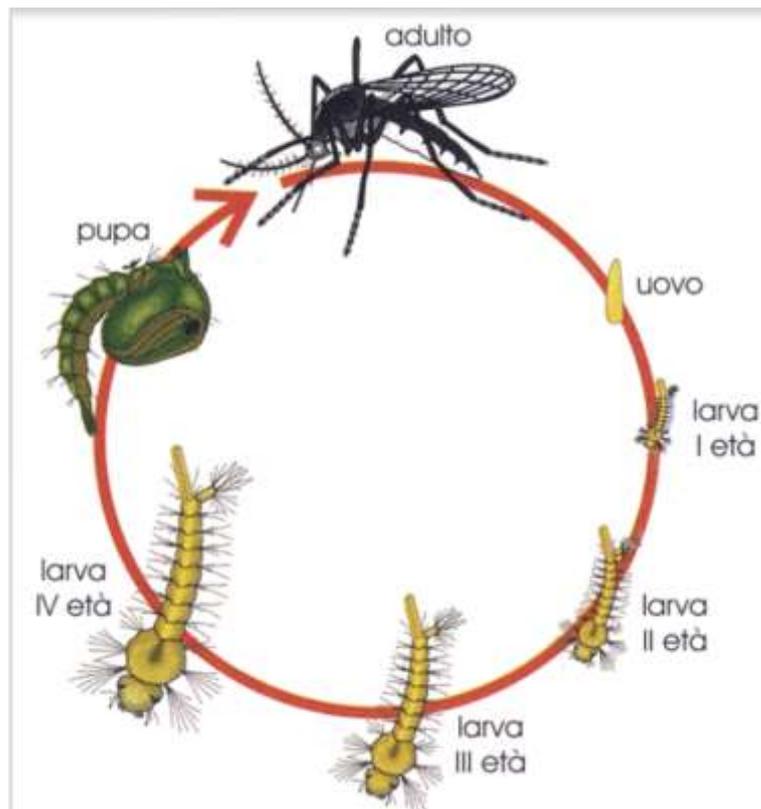


Figura 3: ciclo di vita di *Aedes albopictus*

1.1.3 Morfologia larve

Il corpo apode delle larve acquicole di zanzare è diviso in tre parti principali: la capsula cefalica sclerotizzata, il torace, e l'addome, che è composto da dieci segmenti.

Negli ultimi tre segmenti addominali si hanno morfologiche, come papille anali e gli spiracoli, ovvero aperture esterne che permettono gli scambi gassosi. Tali spiracoli, nelle larve dei culicidi, si trovano situati in corrispondenza del sifone respiratorio, sulla superficie dorsale del segmento addominale VIII.

Solitamente, le larve dei culicidi, a differenza del genere *Anophele*, pendono con la testa verso il basso dalla superficie dell'acqua, e il sifone respiratorio rivolto verso l'alto, al fine di poter assumere l'ossigeno atmosferico necessario per il loro sviluppo. Quando le larve scendono in profondità, gli spiracoli vengono chiusi e una ghiandola ad essi adiacente secerne sostanze idrofobiche per evitare l'ingresso di fluidi nel sistema respiratorio. Le perturbazioni della superficie dell'acqua inducono le larve ad immergersi in profondità per un breve periodo, per fare ciò esse flettono l'addome muovendosi all'indietro; al ritorno alla superficie, nuotano all'indietro fino a quando i loro addomi entrano in contatto con la superficie dell'acqua.

L'alimentazione delle larve comprende microorganismi, alghe, protozoi, invertebrati e detrito. Le larve del genere *Aedes* presenti in Europa sono filtratrici e raccolgono il cibo attraverso meccanismi di risospensione, raschiatura o frammentazione di particelle biologiche dalla superficie dei substrati sommersi.

Le larve mutano quattro volte a intervalli regolari prima di raggiungere lo stadio pupale. Ad ogni muta, la capsula cefalica aumenta fino alla dimensione caratteristica dello stadio successivo, mentre il corpo cresce continuamente. Ogni muta è regolata dall'ormone giovanile e dell'ecdisione, che, variando la loro concentrazione, regolano la crescita degli individui (Becker et al. 2020).



Figura 4: larva di *Aedes albopictus* di IV stadio in posizione di riposo, sospesa a testa in giù a pelo d'acqua

1.1.4 Morfologia pupe

Il corpo della pupa è diviso in una larga porzione anteriore lobulare, il cefalotorace, e un addome più stretto e articolato, che viene tenuto flessa sotto il cefalotorace e utilizzato per propellere l'individuo durante il nuoto. Le pupe delle zanzare, a differenza di quelle della maggior parte degli altri insetti, sono piuttosto mobili e possono tuffarsi rapidamente dalla superficie dell'acqua quando vengono disturbate. Di solito, rimangono sulla superficie dell'acqua per la maggior parte del tempo, con le trombe respiratorie accoppiate a contatto con l'aria (Becker et al. 2020).

I segmenti addominali delle pupe sono sclerificati, e permettono scarsi scambi respiratori.

Solitamente questo stadio vitale dura circa due giorni, trascorsi i quali si ha l'emergenza dell'individuo adulto (Becker et al. 2020).



Figura 5: pupae di *Aedes albopictus* in condizione di riposo, con i sifoni respiratori appoggiati al pelo dell'acqua

1.1.5 *Nicchia ecologica*

A. albopictus, originaria delle foreste asiatiche, presenta una spiccata plasticità ecologica, il che le rende idonea ad adattarsi e colonizzare molti habitat differenti, tra cui aree urbane antropizzate. I siti di riproduzione larvale di *A. albopictus* variano da siti naturali a contenitori artificiali, ad esempio, caditoie, pozzetti, o qualsiasi contenitore che presenti acqua stagnante all'interno (Paupy et al. 2009).

Per quanto riguarda il nostro paese è stato dimostrato che in uno dei due focolai iniziali, scoperti all'inizio degli anni 90, l'infestazione proveniva da carichi di copertoni usati importati dagli Stati Uniti (Ferrarese 2003).

La zanzara punge preferenzialmente i mammiferi; tuttavia, le femmine possono nutrirsi della maggior parte dei gruppi di vertebrati, dagli animali a sangue freddo a quelli a sangue caldo, tra cui rettili, uccelli e anfibi. A causa del suo comportamento alimentare opportunistico e zoofilo, *A. albopictus* è generalmente considerata un vettore di patogeni umani, come gli arbovirus (Paupy et al. 2009)(Gratz 2004).

1.1.6 *Interesse sanitario*

Dal punto di vista sanitario *A. albopictus* è ritenuto un importante vettore per gli arbovirus Dengue, Chikungunya e Zika (Romi, 2001; Ministero della Salute s.d.); McKenzie, Wilson, e Zohdy 2019).

Gli arbovirus sono virus che si replicano negli artropodi, con trasmissione orizzontale, questi fungono poi da vettore ai vertebrati, per trasmissione verticale. Le malattie che questi virus causano all'uomo presentano sintomi

come encefaliti, febbri, eruzioni cutanee, artriti; nei casi più gravi si può arrivare alla morte (Becker et al. 2020).

Il virus Chikungunya, della famiglia del arbovirus, risulta di particolare interesse per il nostro Paese, in quanto ne sono stati identificati casi anche in Europa, e la specie di *Aedes albopictus* risulta essere uno dei principali vettori, trasmettendo la malattia da un umano all'altro (Becker et al. 2020).

In particolare in Italia è stato rilevato un focolaio di Chikungunya in Emilia-Romagna nel 2007, e successivamente nel 2017, in Lazio e Calabria, mentre nel 2020 in Veneto si ha avuto un caso di Dengue (DGR n. 346 4-04-2024, s.d.).

La Dengue, che può causare eruzioni cutanee, nausea, mal di testa, gastrite, vomito e diarrea (EpiCentro, s.d.) e *Aedes albopictus*, è considerata il secondo vettore principale di tale malattia, in aree suburbane e rurali.

Anche il flavivirus della West Nile (WNV), sta creando problematiche: esso può infettare, oltre che l'uomo, anche uccelli, cavalli e altri animali (Becker et al. 2020).

Molto concreta è anche la possibilità di trasmissione delle filarie del cane tramite *Aedes albopictus*, che funge da vettore per *Dirofilaria immitis* e *D. repens*. (Cancrini et al. 2007).

Dal punto di vista sanitario, un'ipotesi è che l'aumento dell'incidenza di casi legati a malattie di cui le zanzare sono vettori, siano il risultato congiunto di globalizzazione e sviluppo di resistenze agli insetticidi chimici (Becker et al. 2020).

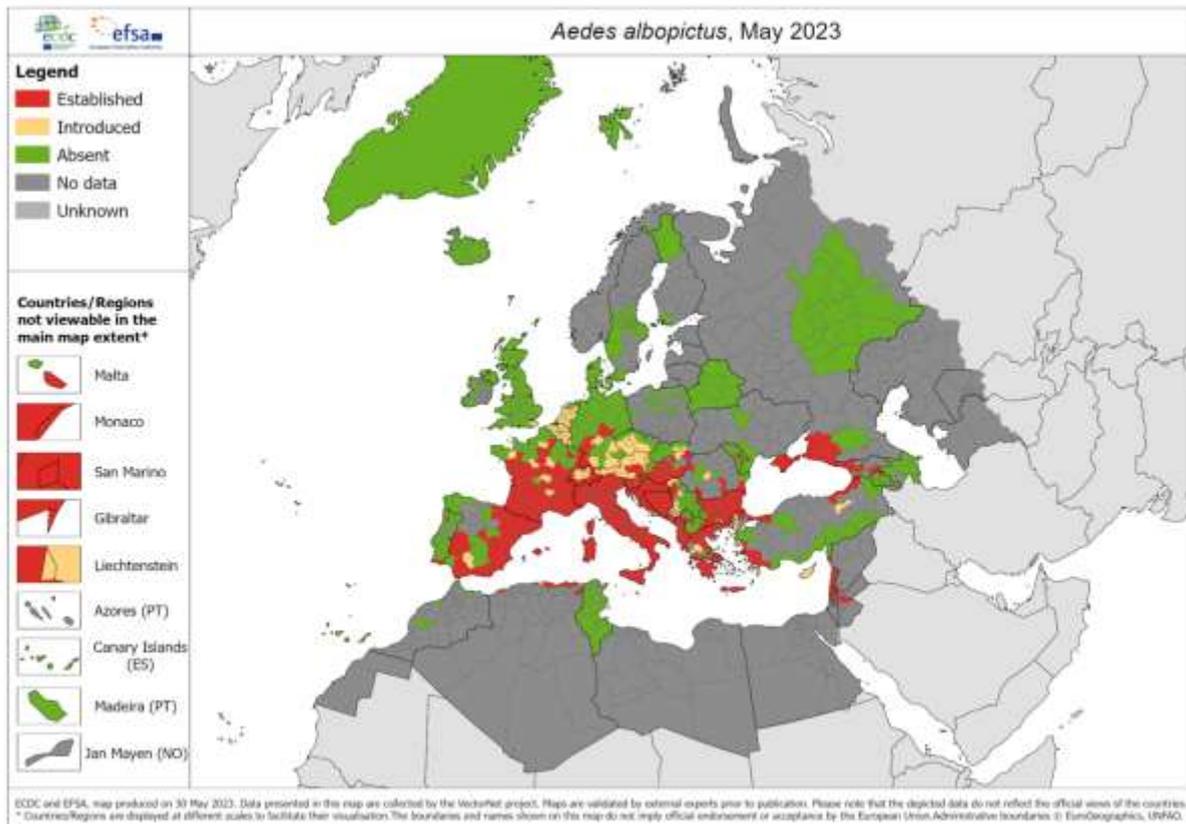


Figura 6: distribuzione di *Aedes albopictus* in Europa nel 2023 (<https://www.ecdc.europa.eu>)

1.1.7 Monitoraggio delle zanzare e lotta antilarvale

Il monitoraggio per tenere sotto controllo la proliferazione delle zanzare può essere attuato su adulti, uova o larve; queste ultime, permettono un intervento mirato, immediato e accurato per interrompere in maniera tempestiva il ciclo biologico dell'insetto, concentrando l'intervento di disinfestazione in aree circoscritte e note.

La sorveglianza delle larve, che si effettua mediante sopralluoghi, in area pubblica avviene prevalentemente sulla rete di sgrondo superficiale della tombinatura stradale, che solitamente costituisce il focolaio maggiore.

I prodotti utilizzati nella lotta antilarvale possono essere biocidi (Reg. UE 582/2012), PMC, ovvero presidi medico chirurgici, (D.P.R 392/1998) o prodotti ad azione fisico-meccanica, con regolazione variabile a seconda dell'ente che ne stabilisce l'utilizzo.

I principi attivi utilizzati ad oggi risultano essere:

- Diflubenzuron in formato liquido o pastiglie, per tombini
- Pyriproxyfen, in pastiglie, per tombini

- PDMS-Polidimetilsilossano olio siliconico in formato liquido/blocco/capsule, per tombini
- *Bacillus thuringensis* var. *israelensis* in formato liquido/granulare/pastiglie, per tombini e fossati
- *Bacillus thuringensis* var. *israelensis* combinato con *Lysinbacillus sphaericus* in formato granulare, per tombini e fossati (DGR n. 346 4-04-2024, s.d.).

1.1.8 Evoluzioni e problematiche dei metodi di contenimento chimici

La quantità di resistenza nelle popolazioni di insetti vettori dipende sia da volume e frequenza delle applicazioni di insetticidi usati contro di loro e il caratteristiche intrinseche delle specie di insetti coinvolte. Le zanzare hanno tutte le caratteristiche adatte al rapido sviluppo di resistenze, compresa la breve durata cicli con abbondante progenie. I principali vettori delle zanzare appartengono ai generi *Culex*, *Aedes* e *Anopheles* (Hemingway e Ranson 2000).

Dal 1920, l'aumento della potenza degli insetticidi chimici ha portato alla loro predominanza nell'approccio al controllo degli insetti (Becker et al. 2020).

La prima generazione di insetticidi è formata da composti inorganici, spesso a base di arsenico, la seconda include insetticidi di contatto, ampiamente utilizzati, in passato spesso con scarsa o assente regolamentazione, che hanno favorito lo sviluppo di resistenze in molti insetti trattati.

Gli insetticidi di seconda generazione usati nel controllo degli artropodi appartengono a quattro principali gruppi di composti chimici: idrocarburi clorurati, organofosfati, carbammati e piretroidi. (Becker et al. 2020).

Gli idrocarburi clorurati sono composti chimicamente stabili, poco solubili in acqua e mediamente solubili in solventi organici, con bassa pressione di vapore (Thurston 1982). Sono altamente persistenti e bioaccumulabili, hanno azione ad ampio spettro e per queste ragioni sono stati vietati nella maggior parte dei paesi. Il DDT, appartenente a questa classe di composti, è stato introdotto per la prima volta per il controllo delle zanzare nel 1946. Nel 1947 si sono verificati i primi casi di resistenza al DDT in *Aedes tritaeniorhynchus* e *Ae. sollicitans*. Da allora sono state segnalate più di 100 specie di zanzare resistenti a uno o più insetticidi (Hemingway e Ranson 2000).

Gli organofosfati (OP), chimicamente meno stabili, e maggiormente tossici degli organoclorurati, agiscono inibendo l'acetilcolinaesterasi, enzima fondamentale nel sistema nervoso. La resistenza agli organofosfati, si verifica nei principali vettori di *Culex* e *Anopheles* (Hemingway e Ranson 2000).

Il malatione in particolare ha effetti nocivi anche su altri organismi non target ed effetti avversi sulla salute umana (Becker et al. 2020).

Anche il fenitrothion, e il temephos, appartenenti agli OP, causano resistenze in diverse specie di *Aedes* e *Culex* (Becker et al. 2020).

I carbamati agiscono per contatto o ingestione, allo stesso modo degli OP, inibendo la funzione di enzimi e del sistema nervoso dell'insetto target.

I piretroidi agiscono a livello cellulare sui canali del sodio, portando a disfunzioni neuronali, che causano paralisi e morte nell'insetto.

Essi derivano dalle naturali piretrine e sono caratterizzati da maggiore stabilità, sono un efficace larvicida contro le fasi immature delle zanzare; tuttavia, risultano tossici per specie non target, come i pesci. La resistenza ai piretroidi è un fenomeno piuttosto diffuso nei diversi esemplari di artropodi, e di zanzare nel mondo (Hemingway e Ranson 2000).

In particolare, questa si manifesta come resistenza multipla o combinata, generata dal DDT o dagli OP: ciò è emerso in alcune specie di moscerini e di zanzare. Questo è uno dei maggiori fattori che rendono difficoltoso ad oggi tenere sotto controllo la malaria, di cui le zanzare sono vettori (Becker et al 2020).

Tali agenti chimici di controllo oggi sono vietati in molti paesi, o poco usati, a causa delle loro proprietà ambientali persistenti e dei potenziali effetti dannosi che hanno sulla salute umana e sull'ambiente (Becker et al 2020).

1.1.9 Lo sviluppo di resistenze

La resistenza in un insetto è definita come lo sviluppo dell'abilità di resistere a dosi di tossine che sarebbero letali per la maggior parte degli individui della stessa specie in una normale popolazione (Cremlyn 1978).

Gli individui resistenti possono moltiplicarsi in assenza di competizione intraspecifica, diventando la componente dominante della popolazione che costituiscono. Si può incorrere anche nello sviluppo di resistenze multiple, non solo a un tipo di insetticida, ma anche a tutti gli insetticidi appartenenti ad una

certa classe di composti, il che rende il controllo di tale popolazione molto difficile. Le resistenze tendenzialmente si evolvono con il susseguirsi dei diversi tipi di prodotti chimici usati, anche se questi vengono poi abbandonati per tempi più o meno lunghi. Per esempio, la resistenza a BHC e dieldrin è diffusa nonostante la mancanza di utilizzo di questi insetticidi per molti anni (Hemingway e Ranson 2000).

Emerge inoltre che, ad oggi, ci siano più di cento specie di zanzara che risultano essere resistenti ad almeno un insetticida (Becker et al. 2020).

Per evitare l'insorgere di tali fenomeni, come emerge nel cap. 7 del Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle arbovirosi (PNA 2020-2025), ogni regione deve attuare attività di controllo e monitoraggio delle eventuali resistenze ai prodotti insetticidi utilizzati.

1.1.9.1 Il meccanismo biochimico delle resistenze

I meccanismi di resistenza spesso dipendono da singoli fattori genetici, che si sono sviluppati a causa della continua pressione selettiva legata ad uno o più insetticidi. Il metabolismo degli insetti può presentare enzimi responsabili di resistenze metaboliche, basate su diverse attività enzimatiche, verso i più noti pesticidi, ovvero organoclorurati, organofosfati, carbammati e piretroidi, che agiscono tutti a livello del sistema nervoso (Hemingway e Ranson 2000).

Normalmente, un insetticida penetra rapidamente attraverso l'involucro esterno dell'insetto, raggiungendo il sito d'azione, che può essere un enzima vitale, un tessuto nervoso o una proteina recettore. Le molecole di insetticida si legano al sito e, raggiunta la concentrazione di soglia, causano l'interruzione dei processi vitali, e la morte dell'insetto.

Ad oggi, sono stati descritti quattro tipi di meccanismi di resistenza agli insetticidi chimici: resistenza metabolica, resistenza al sito target, resistenza alla penetrazione e resistenza comportamentale (Becker et al. 2020).

La penetrazione dell'insetticida attraverso l'involucro può essere ridotta, con cambiamenti morfologici a livello della cuticola; si possono altresì avere meccanismi di amplificazione genica o mutazioni per produrre nuovi enzimi metabolici o enzimi più abbondanti, che portano alla detossificazione e degradazione dell'insetticida in modo più efficiente. Infine, si possono avere

mutazioni dei siti bersaglio dell'insetto, a cui l'insetticida non è più in grado di legarsi. (European Chemicals Agency. 2023).

Vi è anche la forma di resistenza comportamentale, nella quale le abitudini dell'insetto si modificano, in modo tale che esso non entri più sufficientemente in contatto con l'insetticida.

Per esempio, la DDT-deidroclorinasi, è un enzima coinvolto nella metabolizzazione del DDT che comunemente limita l'efficacia del DDT nelle zanzare anofeline e *Aedes* (Clark e Shamaan 1984).

1.1.10 Metodi fisici di contenimento

Tecniche di controllo fisico esistono per il controllo sia delle larve di zanzara sia degli adulti. Esse entrano in gioco in integrazione e combinazione con tecniche di catture massive e metodi attrattivi. (Becker et al. 2020).

È bene tenere presente che, in generale, è improbabile che le zanzare sviluppino resistenza a questi metodi di contenimento, a differenza di molti mezzi chimici.

1.1.10.1 Oli e film superficiali

Per quanto riguarda il controllo fisico degli stadi immaturi dei culicidi, i primi mezzi usati sono stati oli derivanti dal petrolio, ad alto tasso di efficacia ma, in generale, diversi studi hanno dimostrato l'impatto negativo di questi trattamenti sulla vita acquatica di organismi non target (Becker et al. 2020).

Ad oggi, gli effetti fisiotossici con prodotti di nuova generazione sono meno comuni.

I film superficiali sono l'evoluzione dei precedenti larvicidi a base di oli.

Questi agiscono formando un film sottilissimo sul pelo dell'acqua, che risulta impossibile da penetrare agli apparati respiratori delle larve di zanzara, che per questo motivo non possono assumere l'ossigeno atmosferico a loro necessario per svilupparsi.

L'efficacia di questi prodotti nel controllo di larve e pupe di zanzara deriva anche dalla riduzione di tensione superficiale dell'acqua che essi causano, che rende impossibile la normale attività respiratoria dei culicidi.

In particolare, i film superficiali monomolecolari (MSF), vengono applicati alla superficie di acqua interessata, formando un film mono strato, ad azione fisica

piuttosto che chimica, abbassando la tensione superficiale dell'acqua e inibendo il normale sviluppo degli stadi immaturi delle zanzare, che normalmente usano la superficie dell'acqua per emergere a respirare, mediante sifone apposito, nutrirsi, filtrando le particelle presenti nel liquido, e/o riposare. La presenza di film derivanti da prodotti MSF uccide gli stadi giovanili delle zanzare limitando la loro capacità di ancoraggio al pelo dell'acqua, per perdita della tensione superficiale, e portandole all'anossia (Becker et al. 2020). Questi film sono stati sviluppati negli anni '80, e ad oggi tre di questi sono in commercio:

- Arosurf® MSF
- Agnique® MMF
- Aquatain AMF

I primi due sono composti da oli vegetali e hanno tendenza a gelificare sulla superficie a cui vengono applicati, mentre l'Aquatain risulta di più facile applicazione e ha maggiore capacità di formare film sottilissimi sulla superficie dell'acqua. La sua efficacia è stata dimostrata su diverse specie di zanzare in vari ambienti acquatici (Bukhari et al. 2011).

L'eventuale scarsa efficacia immediata del prodotto sulle larve deriva dal fatto che esse sono in grado di avere scambi gassosi in acqua attraverso la cuticola permeabile, cosa che invece risulta molto difficoltosa alle pupe, che presentano un rivestimento protettivo maggiormente sclerificato e rigido.

In generale, gli stadi immaturi delle zanzare risultano più suscettibili agli MMFs in quest'ordine: pupe > larve L3-L4 > larve L1-L2.

Essenzialmente, i film monomolecolari possono essere usati nel controllo delle zanzare in aree dove i film superficiali possono restare indisturbati per un tempo sufficientemente lungo da interferire con lo sviluppo di pupe e larve, che è strettamente legato alla loro interazione con il pelo libero dell'acqua (Becker et al. 2020).

1.2 Aquatain

1.2.1 Descrizione

Questo prodotto è un film monomolecolare a base di silicone formato da oli di origine vegetale, e tensioattivi non ionici.

Esso si auto diffonde su grandi superfici d'acqua e intorno alla vegetazione, fornendo una copertura completa di un'ampia superficie d'acqua. Gli strati monomolecolari differiscono dagli altri agenti di controllo delle zanzare per la loro capacità di colpire più stadi del ciclo di vita delle zanzare e di altri moscerini pungenti (Dawood, Baz, e Ibrahim 2020).

Normalmente, i valori di tensione superficiale per l'acqua non trattata, ovvero per il campione di controllo, variano da 70,3 a 74,5 dyne/cm per le temperature selezionate. In queste condizioni, la tensione superficiale diventa forte e coerente, il che consente alla zanzara adulta di stare sulla superficie dell'acqua per l'ovideposizione o il riposo e consente alle larve e alle pupe di rimanere all'interfaccia acqua-aria per la respirazione. La tensione superficiale e la temperatura sono inversamente proporzionali (Becker et al. 2020).

Se la temperatura aumenta, ciò favorisce l'annegamento degli adulti, e il soffocamento delle larve, perché la tensione superficiale dell'acqua cala, e non è in grado di supportare la zanzara adulta o di consentire alle larve di rimanere con il sifone respiratorio sulla superficie dell'acqua.

Per quanto detto sin qui, data la sua azione fisico-meccanica e non chimica, il prodotto Aquatain non fa parte di quella categoria di prodotti che potrebbero indurre l'insorgenza di resistenze negli insetti target.

Nella scheda tecnica informativa del prodotto Aquatain, questo viene descritto come rispettoso dell'ambiente, non appartiene alla classe dei biocidi (ai fini dell'articolo 3, paragrafo 1, lettera a), del regolamento (UE) n. 528/2012 per decisione di esecuzione 2015/655 della commissione del 23 aprile 2015), è applicabile ad acque stagnanti ferme, l'uso è consigliato per le caditoie o le acque grigie. Allo stato attuale, questo larvicida non risulta essere pericoloso per l'ambiente acquatico e o per la salute umana (European Chemicals Agency. 2023).

La sua efficacia è testata e confermata essere di almeno quattro settimane. Aquatain AMFTM non modifica i parametri dell'acqua in cui viene immesso, come temperatura, ossigeno disciolto, pH, durezza, valori di composti azotati e ammoniacali; l'azione del prodotto, oltre che su larve e pupe di zanzara, si ha anche sulle uova delle stesse, che, per via del calo di tensione superficiale, non vengono deposte a pelo d'acqua.

1.2.2 Specifiche chimiche

Il prodotto è composto da ingredienti inerti e coadiuvanti, tra cui olio minerale bianco, per il 7-8% e polidimetilsilossano (PMDS) per l'86-90%.

I siliconi o polisilossani, che costituiscono in parte maggioritaria il prodotto Aquatain, sono polimeri inorganici con catena centrale formata da silicio e ossigeno, e gruppi funzionali organici laterali metilici, che sono legati al silicio. Da silicio e cloruro di metile, si ottiene dimetilclorosilano, da cui deriva il PMDS, che presenta svariate applicazioni d'uso, per via delle sue proprietà. Esso presenta stabilità termica e tolleranza ad ampio range di temperature, assenza di aderenza con altri materiali, come vetro, metallo o plastica, proprietà idrorepellenti; da questo composto si possono ottenere emulsioni, liquidi, elastomeri, resine, gomme, protesi e lubrificanti. (Mata, Fleischman, e Roy 2005).

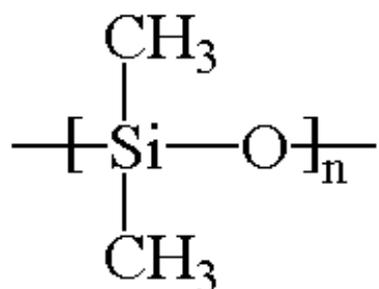


Figura 7: monomero della catena componente il polidimetilsilossano

2. Scopo della tesi

Il presente lavoro si pone il fine di analizzare la reazione ed efficacia del prodotto Aquatain, in relazione alla presenza di prodotti di uso comune in ambito urbano e domestico, che potrebbero finire in caditoie pubbliche e private. In particolare, in questo studio si va a testare l'effetto di oli alimentari o tensioattivo, come i detersivi, che, per via della loro composizione chimica, potrebbero interferire con l'azione larvicida dell'Aquatain.

Tale prodotto, la cui efficacia è invece assicurata in assenza di altri agenti inquinanti nei siti in cui viene applicato, non è un insetticida e presenta un ridotto impatto ambientale, soprattutto se applicato in ambienti urbani antropizzati.

3. Materiali e metodi

La parte sperimentale si è svolta nel periodo compreso tra marzo e luglio 2024, presso l'azienda entomologica Entostudio S.r.l, a Roncajette (PD) e la serra entomologica del DAFNAE.

I test definitivi sono stati preceduti da una serie di prove preliminari al fine di mettere a punto i dosaggi e metodi.

Le prove preliminari sono state condotte utilizzando vaschette mono-replica da 0,5 L, con dimensioni di 11x17,6x10 cm, mentre per le prove definitive sono state impiegate vasche in plastica modello "samla" IKEA da 22 litri, misuranti 39x28x28 cm, al fine di simulare, per quanto possibile, le dimensioni medie di una caditoia in ambiente urbano.

Le diverse tesi messe a confronto sono state replicate 5 volte, per ridurre la variabilità ed ottenere risultati maggiormente attendibili e affidabili. Le sperimentazioni sono avvenute a temperatura pari a 24 ± 1 C°.

3.1 Prodotti interferenti testati

Nei test sono stati utilizzati come agenti interferenti sapone per auto e olio di semi di girasole per uso alimentare:

- Olio alimentare di semi di girasole marca Prix quality in bottiglie da 1 L ciascuna; data di scadenza: 19/08/25; lotto n°: L402123
- Detersivo per auto shampoo Arexons® concentrato per auto (27 lavaggi, 1L); lotto n°: 10323. Dalle istruzioni riportate in etichetta esso, per il suo uso standard, va applicato in dose pari a 7 mL per ogni litro di acqua utilizzata



Figura 8: olio di semi di girasole utilizzato per la prova



Figura 9: sapone per auto utilizzato per la prova

3.1.1 Materiale biologico

Nell'esperimento sono state utilizzate larve di III-IV stadio di *Aedes albopictus*, fornite da Entostudio S.r.l. (PD); tali larve sono state alimentate con $0,04g \pm 1$ di mangime, per ogni vasca, così composto: 66% cibo ratti, 33% cibo pesci, 1% colina.

Le larve sono state rilasciate nei contenitori di plastica, usati per simulare le caditoie, in numero pari a 25 per ogni vasca.

3.1.2 Aquatain

Il prodotto utilizzato consiste in un flacone da 50 ml di Aquatain, con le seguenti specifiche:

- Lotto: 210201M1

- Data di produzione: 01-2021
- Azienda produttrice: Bleu Line S.r.l, Villanova (FC)

Come da istruzioni, per ogni tombino, che ha dimensioni circa doppie rispetto alle vasche usate, vanno applicati 2 ml di liquido; pertanto, si introduce 1 ml di prodotto per ogni vasca. Tale quantità è stata anche usata per precedenti test eseguiti dall'azienda Entostudio S.r.l.

In 100 grammi di prodotto vi sono 89,00 g di polidimetilsiloxano (PDMS) e 11,00 g di coadiuvanti e ingredienti inerti



Figura 10: Aquatain

3.2 Fase operativa preliminare I

Data della prova: 14-03-2024

In questa fase, per andare ad indagare sull'interazione tra i diversi prodotti in esame, sono state usate 7 vasche IKEA samla da 22L, riempite con 21 L d'acqua dechlorata, così ripartite:

- Controllo non trattato contenente solamente acqua dechlorata a temperatura ambiente, nominato NT
- Controllo trattato, nominato T, contenente acqua dechlorata a temperatura ambiente e 1 mL di Aquatain, applicato in quantitativo conforme alle indicazioni da etichetta
- Tesi contenente olio, in concentrazione pari a 0,5 mL, e Aquatain, nominata TO0,5

- Tesi contenente olio, in concentrazione pari a 1 mL, e Aquatain, nominata TO1
- Tesi, nominata TA, contenente Aquatain e sapone per auto alla concentrazione consigliata in etichetta per l'applicazione, pari a 147 mL di prodotto in 21 L di acqua
- Tesi, nominata TA/5, contenente Aquatain e sapone per auto alla concentrazione TA diluita per 5 volte, pari a 30 mL di prodotto in 21 L di acqua
- Tesi, nominata TA/10, contenente Aquatain e sapone per auto alla concentrazione TA diluita per 10 volte, pari a 15 mL di prodotto in 21 L di acqua

Per introdurre il corretto quantitativo di sapone per auto sono state utilizzate delle falcon da 50 mL, mentre l'olio e l'Aquatain sono stati prelevati mediante l'ausilio di pipette Pasteur, con capacità di 1 mL e graduazione di 0,25 mL.

In fase di applicazione, nelle tesi trattate sia con il prodotto presunto interferente, sia con l'Aquatain, il larvicida è stato introdotto per primo nella vasca.

A seguito del trattamento, sono state introdotte le larve di *Aedes albopictus* di III-IV stadio e il cibo apposito, in tutte le tesi presenti.

3.3 Fase operativa preliminare II

Data della prova: 5-04-24

In questa fase, per i risultati di quasi immediata mortalità avuti nelle tesi con il detersivo per auto, si è ricercata la dose di sapone massima che da sola non ha effetto sulla vitalità delle larve, indipendentemente dall'Aquatain, andando quindi a diluire la concentrazione usata in TA/10.

Le tesi analizzate risultano quindi essere:

- Controllo non trattato NT contenente 0,5 L di acqua dechlorata a temperatura ambiente
- Tesi con diluizione di detersivo e acqua dechlorata, nominata D1
- Tesi con diluizione di detersivo e acqua dechlorata, nominata D2
- Tesi con diluizione di detersivo e acqua dechlorata, nominata D3
- Tesi con diluizione di detersivo e acqua dechlorata, nominata D4

Per motivi logistici, sono state usate vasche da 0,5 L, della misura di 11x17,6x10 e, seguendo opportune proporzioni, sono state ricavate le seguenti concentrazioni di prodotto da applicare in 4 diverse tesi:

Diluzioni	Quantità di detersivo (μL)
D1	175
D2	116,7
D3	87,5
D4	43,7

Tabella 1: diluizioni detersivo parte preliminare II

In ogni vasca sono state inserite 25 larve di III-IV stadio di *Aedes albopictus*, alimentate con cibo apposito.

3.4 Fase operativa preliminare III

Data della prova: 9-04-2024

In questa fase si è andati ad indagare se l'olio di per sé compromettesse lo sfarfallamento e/o lo sviluppo delle larve di zanzara. Per una questione di logistica e spazi, questo esperimento è stato effettuato in vaschette in plastica della misura di 11 x 17,6 x 10 cm, andando ad attuare opportune proporzioni per ricavare i quantitativi di olio da applicare, a partire da quelli usati nelle tesi della parte preliminare I nelle vasche IKEA, di dimensioni maggiori.

Non sapendo se di per sé l'olio inficiasse le funzioni vitali delle larve, abbiamo proceduto per tentativi, provando quindi ad abbassare la quantità di olio utilizzata in precedenza.

Le tesi analizzate risultano quindi essere:

- Controllo non trattato NT contenente 0,5 L di acqua dechlorata a temperatura ambiente
- Tesi con diluizione di olio e acqua dechlorata, nominata O1
- Tesi con diluizione di olio e acqua dechlorata, nominata O2
- Tesi con diluizione di olio e acqua dechlorata, nominata O3
- Tesi con diluizione di olio e acqua dechlorata, nominata O4

Tesi	Diluizione (μL)
O1	88,64

O2	44,32
O3	22,16
O4	11,08
NT	-

Tabella 2: diluizioni olio parte preliminare III

3.5 Fase operativa preliminare IV

Data della prova: 8-05-2024

In questa fase, visti i risultati della parte preliminare III e, appurato che di per sé le concentrazioni di olio usate non interferivano con lo sfarfallamento delle larve, si è andati a ricercare la dose massima di olio che da sola non influenzava la vitalità e attività delle larve di zanzara, in assenza del prodotto larvicida Aquatain, basandosi sulla percentuale di superficie dell'acqua ricoperta dall'olio di girasole.

Dunque, è stata attuata l'introduzione di 25 larve per ogni tesi, di cui è stata fatta una sola replica, trattandosi di una parte preliminare, sempre in vaschette da 0,5 L.

Le tesi, con i diversi dosaggi di olio, sono state così ripartite:

- Replica di controllo non trattato NT contenente acqua dechlorata
- Tesi con olio e acqua dechlorata, nominata O'1, con copertura parziale del 20%
- Tesi con olio e acqua dechlorata, nominata O'2, con copertura parziale superficiale del 30 %
- Tesi con olio e acqua dechlorata, nominata O'3, con copertura parziale superficiale del 50 %
- Tesi con olio e acqua dechlorata, nominata O'4, con copertura parziale superficiale del 80%

Tesi	Dosaggio (mL)
O'1	0,45
O'2	2,27
O'3	4,45
O'4	11,36
NT	-

Tabella 3: concentrazioni di olio introdotti nella parte preliminare IV

3.6 Fase operativa definitiva

3.6.1 Interazione detersivo-Aquatain

Data della prova: 8-05-2024

Sono state usate 20 vasche in plastica, modello ‘‘samla’’ IKEA da 22 litri, ripartite in 4 diverse tesi, ognuna replicata 5 volte:

- Controllo negativo non trattato (NT)
- Controllo positivo tratto con 1 mL di Aquatain (T)
- Trattato con 1 mL di Aquatain e 2 mL di detersivo (TD)
- Trattato con 2 mL di detersivo (D)

Per la determinazione della concentrazione di detersivo è stata attuata una proporzione a partire dal volume della dose usata nella tesi D4 della parte preliminare II.

Dopo aver allestito le vasche, è stata attuata l’introduzione di 25 larve di *Aedes albopictus* di III-IV stadio per ogni vasca, alimentate con 0,04 g di cibo.

3.6.2 Interazione olio-Aquatain

Data della prova: 4-06-2024

Sono state usate 30 vasche in plastica, modello ‘‘samla’’ IKEA da 22 litri, ripartite in 6 diverse tesi, ognuna replicata 5 volte:

1. Controllo negativo non trattati (NT)
2. Controllo positivo tratto con 1 mL di Aquatain (T)
3. Trattato con 50 mL di olio (ricoprente il 50% della superficie) (OP)
4. Trattato con 250 mL di olio (ricoprente il 100% della superficie) (OT),
5. Trattato con 50 mL di olio (ricoprente il 50% della superficie) e 1 mL di Aquatain (TOP)
6. Trattato con 250 mL di olio (ricoprente il 100% della superficie) e 1 mL di Aquatain (TOT)

Le concentrazioni di olio impiegate sono state scelte sulla base dei dati ottenuti nella fase preliminare IV, al fine di testare delle concentrazioni intermedie tra quelle analizzate in precedenza, su superficie più ampia, in presenza di Aquatain. Bisogna però tenere anche conto del fatto che l’olio, non tende ad espandersi nell’acqua ma a restare separato da essa, formando delle chiazze, pertanto, per

garantire una copertura del 100% della superficie, bisogna quadruplicare le dosi, passando da 50 mL a 250 mL.

4. Risultati ed elaborazione dati

4.1 Interferenza causata dal sapone tensioattivo

Dalla rielaborazione dei dati emerge, dalla tabella 4, dalla tabella 5 e dal grafico 1, che la tesi trattata con Aquatain (T) porta la mortalità del 100% delle larve dopo 10 giorni, così come nelle tesi con Aquatain e detersivo (TD), che quindi va ad accelerare l'effetto del larvicida. Nel controllo non trattato (NT) si ha una bassa mortalità, poiché le larve si ritrovano ad avere condizioni ambientali adatte al loro sviluppo. Nel caso delle tesi con detersivo (D), si ottiene una mortalità parziale, che inizia a manifestarsi prima che nelle tesi trattate (T); la massima mortalità viene raggiunta dopo 10 giorni dall'inizio dell'esperimento, come emerge nel grafico 1.

Parte degli individui delle tesi D sono sfarfallati, anche se con un'incidenza media molto minore rispetto al controllo NT, e con andamento altalenante, come emerge dagli errori standard molto ampi, visibili nel grafico 1 e, in misura minore, anche nel grafico 2.

Gli errori standard, se ampi, indicano che nelle repliche si hanno valori differenti, ovvero si ha ampia varianza, ciò emerge nelle tesi con detersivo (D), dove l'azione del prodotto risulta non omogenea, mentre nelle tesi trattate T si ha bassa varianza, poiché il larvicida causa mortalità di tutte le larve nelle diverse repliche.

replica	Mortalità larve e pupe										
	08/05/24	09/05/24	10/05/24	13/05/24	14/05/24	15/05/24	16/05/24	17/05/24	18/05/24	19/05/24	24/05/24
NT1	0	0	0	0	0	1	1	3	3	3	3
NT2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1
NT3	0	0	0	0	0	0	1	2	2	3	3
NT4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NT5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tot.	0	0	0	0	0	1	2	5	6	7	7
Media	0	0	0	0	0	0,2	0,4	1	1,2	1,4	1,4
Varianza (s ²)	0	0	0	0	0	0,2	0,3	2	1,7	2,3	2,3
Deviaz. st.(s)	0	0	0	0	0	0,4472 13595	0,5477 22558	1,4142 13562	1,3038 40481	1,5165 75089	1,5165 75089

Errore stand.	0	0	0	0	0	0,2	0,2449 48974	0,6324 55532	0,5830 95189	0,6782 32998	0,6782 32998
T1	0	0	0	0	2	7	15	20	24	25	25
T2	0	0	0	0	1	5	12	15	25	25	25
T3	0	0	0	0	0	4	11	25	25	25	25
T4	0	0	0	0	0	6	10	25	25	25	25
T5	0	0	0	0	2	8	17	25	25	25	25
Tot.	0	0	0	0	5	30	65	110	124	125	125
Media	0	0	0	0	1	6	13	22	24,8	25	25
Varianza (s ²)	0	0	0	0	1	2,5	8,5	20	0,2	0	0
Deviaz .st.(s)	0	0	0	0	1	1,5811 3883	2,9154 75947	4,4721 35955	0,4472 13595	0	0
Errore stand.	0	0	0	0	0,4472 13595	0,7071 06781	1,3038 40481	2	0,2	0	0
TD1	0	0	1	4	9	13	17	21	25	25	25
TD2	0	0	4	8	12	17	22	24	25	25	25
TD3	0	0	2	7	13	18	21	25	25	25	25
TD4	0	0	2	7	12	16	20	24	25	25	25
TD5	0	0	2	6	10	16	21	25	25	25	25
Tot.	0	0	11	32	56	80	101	119	125	125	125
Media	0	0	2,2	6,4	11,2	16	20,2	23,8	25	25	25
Varianza (s ²)	0	0	1,2	2,3	2,7	3,5	3,7	2,7	0	0	0
Deviaz .st.(s)	0	0	1,0954 45115	1,5165 75089	1,6431 67673	1,8708 28693	1,9235 38406	1,6431 67673	0	0	0
Errore stand.	0	0	0,4898 97949	0,6782 32998	0,7348 46923	0,8366 60027	0,8602 32527	0,7348 46923	0	0	0
D1	0	0	0	2	4	7	10	17	22	22	22
D2	0	0	0	1	3	4	6	11	16	16	16
D3	0	0	0	1	3	4	6	13	15	15	15
D4	0	0	2	9	25	25	25	25	25	25	25
D5	0	0	2	4	7	8	9	12	14	14	16

Tot.	0	0	4	17	42	48	56	78	92	92	94
Media	0	0	0,8	3,4	8,4	9,6	11,2	15,6	18,4	18,4	18,8
Varianza (s ²)	0	0	1,2	11,3	88,8	77,3	62,7	32,8	23,3	23,3	19,7
Deviaz. st.(s)	0	0	1,0954 45115	3,3615 47263	9,4233 75192	8,7920 41856	7,9183 33158	5,7271 28425	4,8270 07354	4,8270 07354	4,4384 68204
Errore stand.	0	0	0,4898 97949	1,5033 29638	4,2142 61501	3,9319 2065	3,5411 86242	2,5612 49695	2,1587 03314	2,1587 03314	1,9849 43324

Tabella 4: dati repliche con tensioattivo e Aquatain – interferenza tensioattivi

	Mortalità larve e pupe										
	08/05 /24	09/05 /24	10/05 /24	13/05 /24	14/05 /24	15/05 /24	16/05 /24	17/05 /24	18/05 /24	19/05 /24	24/05 /24
NT	0	0	0	0	0	0,2	0,4	1	1,2	1,4	-
T	0	0	0	0	1	6	13	22	24,8	25	-
TD	0	0	2,2	6,4	11,2	16	20,2	23,8	25	-	-
D	0	0	0,8	3,4	8,4	9,6	11,2	15,6	18,4	-	-

Tabella 5: andamento medio della mortalità di larve e pupe nel tempo – interferenza tensioattivi

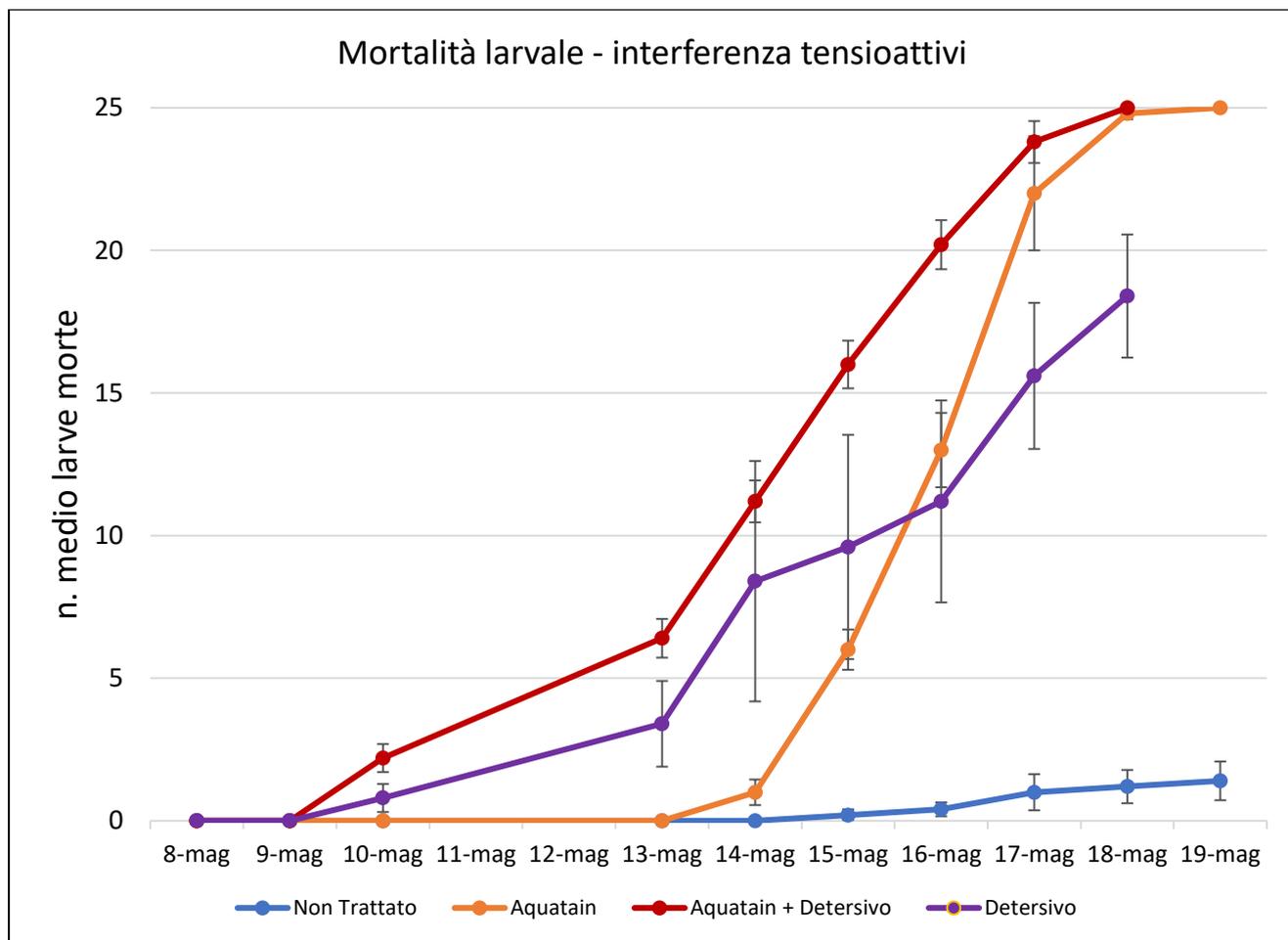


grafico 1: andamento della percentuale di mortalità e relativi box plot dell'errore standard – interferenza tensioattivi

replica	n. sfarfallati									
	08/05 /24	09/05 /24	10/05 /24	13/05 /24	14/05 /24	15/05 /24	16/05/2	17/05/2	18/05/2	19/05/2
NT1	0	0	0	0	0	0	4	12	19	22
NT2	0	0	0	0	0	0	5	10	18	23
NT3	0	0	0	0	0	0	3	9	18	23
NT4	0	0	0	0	0	0	5	10	20	25
NT5	0	0	0	0	0	0	5	11	18	22
Tot.	0	0	0	0	0	0	22	52	93	115

Media	0	0	0	0	0	0	4,4	10,4	18,6	23
Varianza (s ²)	0	0	0	0	0	0	0,8	1,3	0,8	1,5
Deviaz. st.(s)	0	0	0	0	0	0	0,89442 7191	1,14017 5425	0,89442 7191	1,22474 4871
Errore stand.	0	0	0	0	0	0	0,4	0,50990 1951	0,4	0,54772 2558
D1	0	0	0	0	0	0	1	3	3	3
D2	0	0	0	0	0	0	3	6	9	9
D3	0	0	0	0	0	0	2	6	10	10
D4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D5	0	0	0	0	0	0	1	4	9	9
Tot.	0	0	0	0	0	0	7	19	31	31
Media	0	0	0	0	0	0	1,4	3,8	6,2	6,2
Varianza (s ²)	0	0	0	0	0	0	1,3	6,2	19,7	19,7
Deviaz. st.(s)	0	0	0	0	0	0	1,14017 5425	2,48997 992	4,43846 82	4,43846 82
Errore stand.	0	0	0	0	0	0	0,50990 1951	1,11355 287	1,98494 332	1,98494 332

Tabella 6: dati relativi a media, mediana, deviazione standard e varianza del numero di sfarfallati nelle tesi NT – interferenza tensioattivi

	n. medio sfarfallati									
	08/05/	09/05/	10/05/	13/05/	14/05/	15/05/	16/05/	17/05/	18/05/	19/05/
	24	24	24	24	24	24	24	24	24	24
NT	0	0	0	0	0	0	4,4	10,4	18,6	23
T e TD	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
D	0	0	0	0	0	0	1,4	3,8	6,2	6,2

Tabella 7: numero medio degli sfarfallati nelle diverse tesi – interferenza tensioattivi

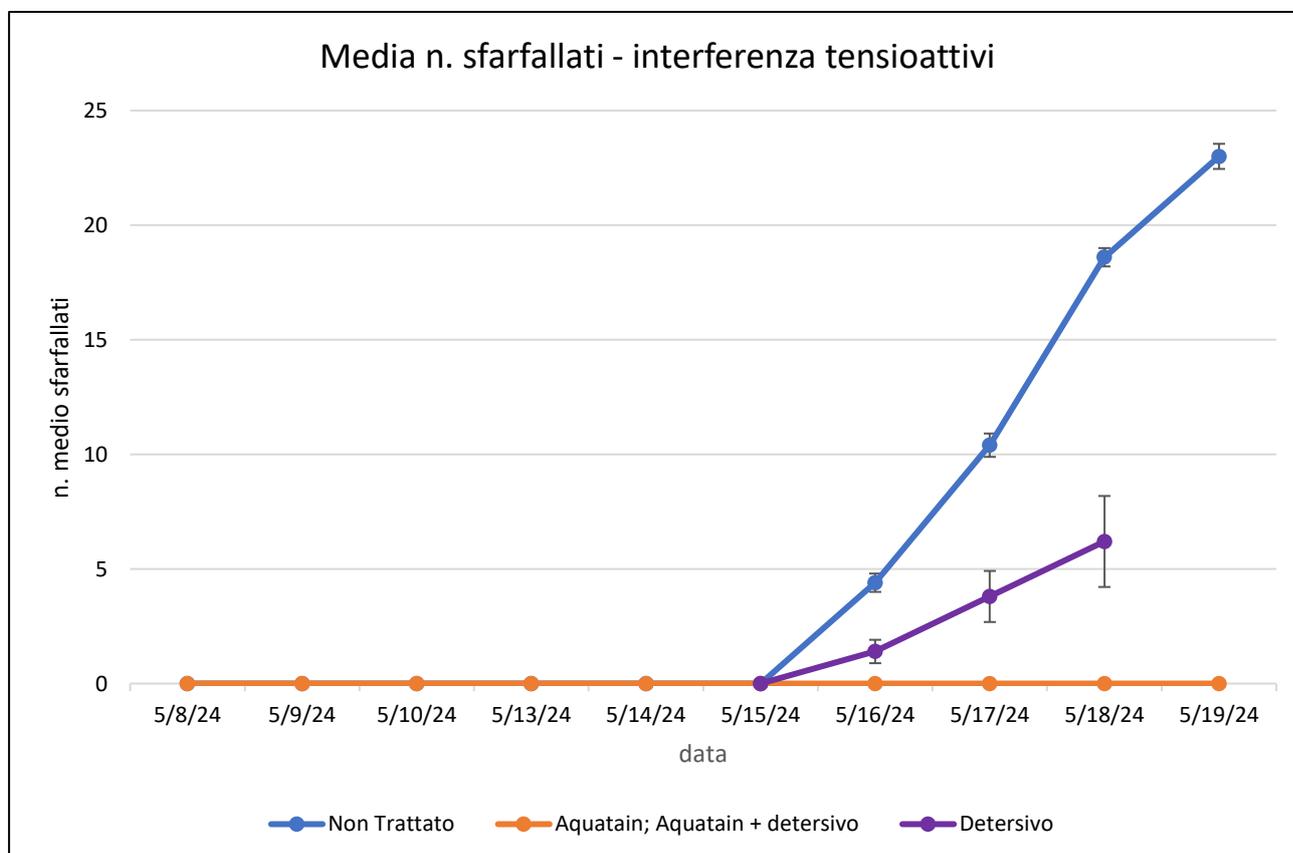


grafico 2: andamento medio degli sfarfallamenti, con relativi box plot degli errori standard – interferenza tensioattivi

4.2 Interferenza causata dall'olio

Dalla rielaborazione dei dati emerge, dalle tabelle da 8 a 13, e dal grafico 5, che nelle tesi trattate T si ha mortalità totale dopo 13 giorni dall'impianto, mentre nelle tesi di controllo NT si ha bassa percentuale di mortalità e importante numero di sfarfallamenti, per via delle condizioni di vita idonee allo sviluppo delle larve di *A. albopictus*.

Per quanto riguarda le repliche con l'olio e con olio e Aquatain, si ha una durata della vita delle larve nettamente più lunga rispetto ai trattati T, anche se queste non vanno a sfarfallare.

La durata della vita nelle tesi OP è di massimo 38 giorni, mentre nelle tesi TOP si arriva a 36 giorni, così come nelle tesi TOT. Nelle tesi OT, come emerge in tabella 13, la mortalità totale viene raggiunta dopo 28 giorni.

Emerge dunque che l'azione combinata di Aquatain e olio sopprime le larve più lentamente rispetto alle tesi contenenti solo olio a copertura totale (OT) o solo Aquatain (T).

Gli errori standard visibili nei grafici 3 e 4, evidenziano che si ha maggiore variabilità nei dati ottenuti dalle tesi con olio e Aquatain (TOP e TOT), o con solo olio (OP e OT), rispetto che al controllo trattato (T) e al non trattato (NT). In queste ultime due tesi si ha, rispettivamente, l'azione dell'Aquatain, che risulta essere omogenea, e lo svolgimento del normale ciclo di vita delle larve nei controlli NT.

replica	Larve morte								
	04/06/24	11/06/24	13/06/24	15/06/24	17/06/24	19/06/24	21/06/24	23/06/24	25/06/24
NT1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NT2	0	1	1	1	1	1	1	1	1
NT3	0	1	1	1	1	1	1	1	1
NT4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NT5	0	0	1	1	1	1	1	1	1
Tot.	0	2	3	3	3	3	3	3	3
Media	0	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Varianza (s ²)	0	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3

Deviaz.st . (s)	0	0,547722 558							
Errore stand.	0	0,244948 974							
T1	0	9	15	15	25	25	25	25	25
T2	0	8	17	17	25	25	25	25	25
T3	0	7	18	18	25	25	25	25	25
T4	0	9	16	16	25	25	25	25	25
T5	0	8	17	17	25	25	25	25	25
Tot.	0	41	83	83	125	125	125	125	125
Media	0	8,2	16,6	16,6	25	25	25	25	25
Varianza (s ²)	0	0,7	1,3	1,3	0	0	0	0	0
Deviaz.st . (s)	0	0,836660 027	1,140175 425	1,140175 425	0	0	0	0	0
Errore stand.	0	0,374165 739	0,509901 951	0,509901 951	0	0	0	0	0
TOP1	0	0	4	8	8	9	12	14	18
TOP2	0	1	5	9	9	12	13	14	16
TOP3	0	0	3	6	6	6	6	6	8
TOP4	0	1	5	9	10	12	15	17	19
TOP5	0	1	3	5	5	5	7	9	11
Tot.	0	3	20	37	38	44	53	60	72
Media	0	0,6	4	7,4	7,6	8,8	10,6	12	14,4
Varianza (s ²)	0	0,3	1	3,3	4,3	10,7	15,3	19,5	22,3
Deviaz.st . (s)	0	0,547722 558	1	1,816590 212	2,073644 135	3,271085 447	3,911521 443	4,415880 433	4,722287 581
Errore stand.	0	0,244948 974	0,447213 595	0,812403 84	0,927361 85	1,462873 884	1,749285 568	1,974841 766	2,111871 208

Tabella 8: larve morte con media, varianza, deviazione standard ed errore standard nelle tesi NT, T, TOP fino alla data 25/06/24 – interferenza oli

replica	Larve morte						
	27/06/24	29/06/24	31/06/2024	02/07/24	04/07/24	06/07/24	08/07/24
TOP1	20	20	22	24	25	25	25
TOP2	19	19	23	24	25	25	25
TOP3	10	13	17	20	24	25	25
TOP4	20	21	23	24	25	25	25
TOP5	12	15	17	19	22	25	25
Tot.	81	88	102	111	121	125	125
Media	16,2	17,6	20,4	22,2	24,2	25	25
Varianza (s ²)	23,2	11,8	9,8	6,2	1,7	0	0
Deviaz.st.(s)	4,816637832	3,435112807	3,130495168	2,48997992	1,303840481	0	0
Errore stand.	2,154065923	1,53622915	1,4	1,113552873	0,583095189	0	0

Tabella 9: larve morte TOP dal 27/06/2024 al 08/07/2024 – interferenza oli

	Larve morte								
	04/06/24	11/06/24	13/06/24	15/06/24	17/06/24	19/06/24	21/06/24	23/06/24	25/06/24
TOT1	0	0	2	4	4	4	4	4	6
TOT2	0	1	2	3	4	5	8	11	12
TOT3	0	5	15	25	25	25	25	25	25
TOT4	0	2	4	6	9	12	13	13	16
TOT5	0	0	2	4	5	6	8	11	16
Tot.	0	8	25	42	47	52	58	64	75
Media	0	1,6	5	8,4	9,4	10,4	11,6	12,8	15
Varianza (s ²)	0	4,3	32	87,3	80,3	76,3	66,3	58,2	48
Deviaz.st.(s)	0	2,073644135	5,656854249	9,343446901	8,961026727	8,734987121	8,142481194	7,628892449	6,92820323

Errore stand.	0	0,92736185	2,529822128	4,178516483	4,007492982	3,906404997	3,641428291	3,411744422	3,098386677
OP1	0	0	0	0	0	0	2	3	3
OP2	0	0	0	0	0	0	5	9	12
OP3	0	0	1	2	2	3	9	14	18
OP4	0	0	2	4	4	5	10	14	20
OP5	0	0	0	0	1	1	3	4	4
Tot.	0	0	3	6	7	9	29	44	57
Media	0	0	0,6	1,2	1,4	1,8	5,8	8,8	11,4
Varianza (s ²)	0	0	0,8	3,2	2,8	4,7	12,7	27,7	60,8
Deviaz.st .(s)	0	0	0,894427191	1,788854382	1,673320053	2,167948339	3,563705936	5,263078947	7,797435476
Errore stand.	0	0	0,4	0,8	0,748331477	0,969535971	1,593737745	2,353720459	3,487119155
OT1	0	20	21	22	24	25	25	25	25
OT2	0	1	2	3	8	16	18	24	25
OT3	0	2	4	6	7	13	18	22	25
OT4	0	1	2	3	5	8	14	20	22
OT5	0	2	4	6	7	12	17	21	21
Tot.	0	26	33	40	51	74	92	112	118
Media	0	5,2	6,6	8	10,2	14,8	18,4	22,4	23,6
Varianza (s ²)	0	68,7	65,8	63,5	60,7	40,7	16,3	4,3	3,8
Deviaz.st .(s)	0	8,288546314	8,111719916	7,968688725	7,791020472	6,379655163	4,037325848	2,073644135	1,949358869
Errore stand.	0	3,706750599	3,627671429	3,563705936	3,484250278	2,853068524	1,805547009	0,92736185	0,871779789

Tabella 10: larve morte con media, varianza, deviazione standard ed errore standard nelle tesi TOT, OP, OT fino alla data 25/06/2024 – interferenza oli

	larve morte						
	27/06/24	29/06/24	31/06/2024	02/07/24	04/07/24	06/07/24	08/07/24

TOT1	8	12	15	18	23	25	25
TOT2	13	15	17	20	25	25	25
TOT3	25	25	25	25	25	25	25
TOT4	18	20	21	22	23	25	25
TOT5	19	21	22	24	25	25	25
Tot.	83	93	100	109	121	125	125
Media	16,6	18,6	20	21,8	24,2	25	25
Varianza (s ²)	41,3	26,3	16	8,2	1,2	0	0
Deviaz.st.(s)	6,426507605	5,128352562	4	2,863564213	1,095445115	0	0
Errore stand.	2,874021573	2,293468988	1,788854382	1,280624847	0,489897949	0	0
OP1	6	9	12	14	20	23	23
OP2	13	13	15	17	18	23	23
OP3	20	20	22	23	23	25	25
OP4	21	22	24	24	24	25	25
OP5	6	8	13	16	19	21	21
Tot.	66	72	86	94	104	117	117
Media	13,2	14,4	17,2	18,8	20,8	23,4	23,4
Varianza (s ²)	52,7	40,3	29,7	19,7	6,7	2,8	2,8
Deviaz.st.(s)	7,259476565	6,348228099	5,449770637	4,438468204	2,588435821	1,673320053	1,673320053
Errore stand.	3,246536616	2,839013913	2,437211521	1,984943324	1,15758369	0,748331477	0,748331477
OT1	25	25	25	25	25	25	25
OT2	25	25	25	25	25	25	25
OT3	25	25	25	25	25	25	25
OT4	23	24	24	25	25	25	25
OT5	23	24	25	25	25	25	25
Tot.	121	123	124	125	125	125	125
Media	24,2	24,6	24,8	25	25	25	25
Varianza (s ²)	1,2	0,3	0,2	0	0	0	0
Deviaz.st.(s)	1,095445115	0,547722558	0,447213595	0	0	0	0
Errore stand.	0,489897949	0,244948974	0,2	0	0	0	0

Tabella 11: larve morte con media, varianza, deviazione standard ed errore standard nelle tesi

TOT, OP, OT fino dalla data 25/06/2024 alla data 08/07/2024 – interferenza oli

	Mortalità media					
	NT	T	TOP	TOT	OP	OT
04/06/24	0	0	0	0	0	0
11/06/24	0,4	8,2	0,6	1,6	0	5,2
13/06/24	0,6	16,6	4	5	0,6	6,6
15/06/24	-	16,6	7,4	8,4	1,2	8
17/06/24	-	25	7,6	9,4	1,4	10,2
19/06/24	-	-	8,8	10,4	1,8	14,8
21/06/24	-	-	10,6	11,6	5,8	18,4
23/06/24	-	-	12	12,8	8,8	22,4
25/06/24	-	-	14,4	15	11,4	23,6
27/06/24	-	-	16,2	16,6	13,2	24,2
29/06/24	-	-	17,6	18,6	14,4	24,6
31/06/2024	-	-	20,4	20	17,2	24,8
02/07/24	-	-	22,2	21,8	18,8	25
04/07/24	-	-	24,2	24,2	20,8	-
06/07/24	-	-	25	25	23,4	-
08/07/24	-	-	-	-	25	-

Tabella 12: mortalità media delle larve nelle diverse tesi – interferenza oli

	Larve morte olio					
	NT	T	TOP	TOT	OP	OT
04/06/24	0	0	0	0	0	0
11/06/24	0,4	8,2	0,6	1,6	0	5,2
13/06/24	0,6	16,6	4	5	0,6	6,6
15/06/24	-	16,6	7,4	8,4	1,2	8
17/06/24	-	25	7,6	9,4	1,4	10,2

19/06/24	-	-	8,8	10,4	1,8	14,8
21/06/24	-	-	10,6	11,6	5,8	18,4
23/06/24	-	-	12	12,8	8,8	22,4
25/06/24	-	-	14,4	15	11,4	23,6
27/06/24	-	-	16,2	16,6	13,2	24,2
29/06/24	-	-	17,6	18,6	14,4	24,6
31/06/2024	-	-	20,4	20	17,2	24,8
02/07/24	-	-	22,2	21,8	18,8	25
04/07/24	-	-	24,2	24,2	20,8	-
06/07/24	-	-	25	25	23,4	-
08/07/24	-	-	-	-	25	-

Tabella 13: mortalità media delle larve nelle diverse tesi – interferenza oli

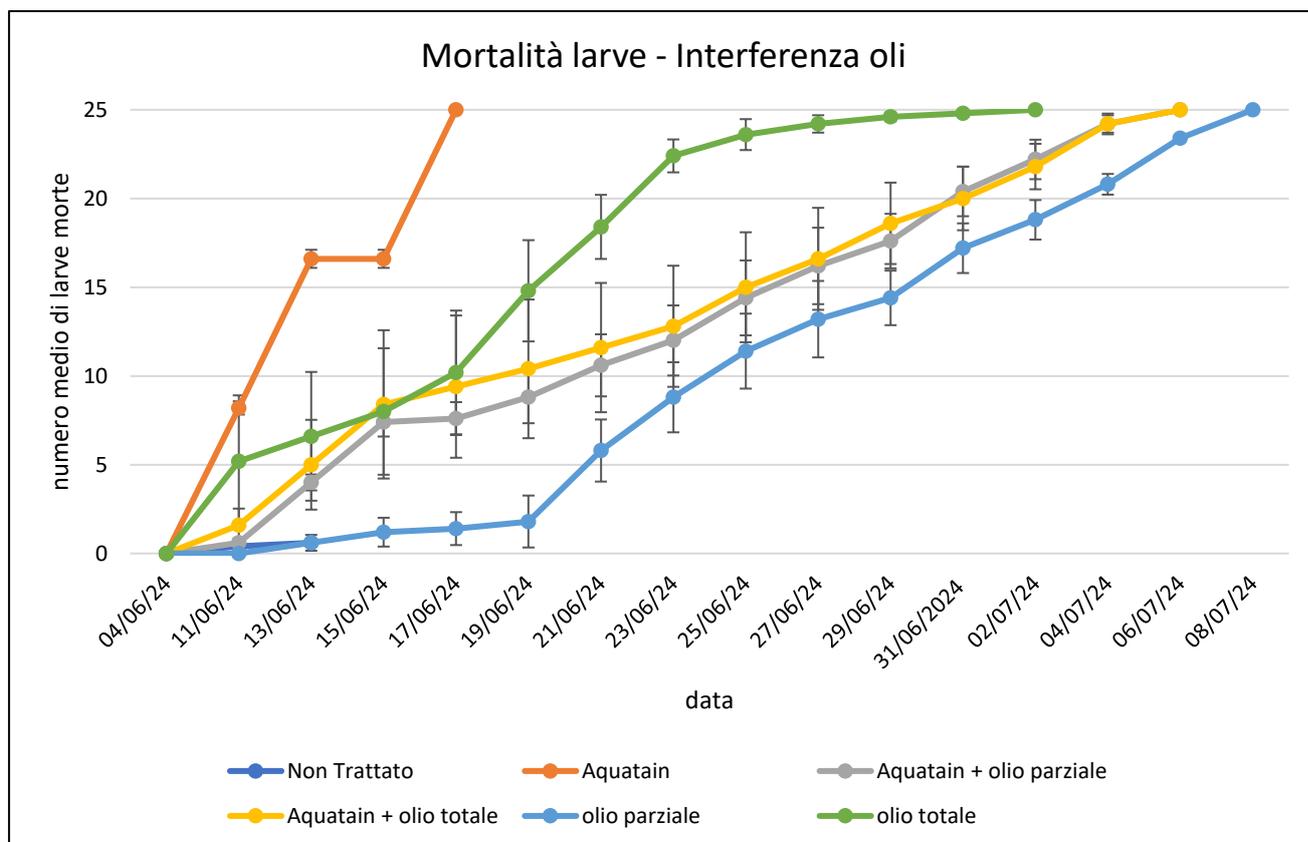


grafico 3: mortalità media nelle diverse tesi di interferenza oli

	Sfarfallati olio						
replica	04/06/24	11/06/24	13/06/24	15/06/24	17/06/24	19/06/24	08/07/24
	4	4					4
NT1	0	0	9	14	23	25	-
NT2	0	0	9	13	23	24	-
NT3	0	0	10	15	23	24	-
NT4	0	0	9	15	24	25	-
NT5	0	0	7	14	23	24	-
Tot.	0	0	44	71	116	122	-
Media	0	0	8,8	14,2	23,2	24,4	-
Varianza (s ²)	0	0	1,2	0,7	0,2	0,3	-
Deviaz.st.(s)	0	0	1,0954451 2	0,8366600 3	0,44721359 5	0,54772255 8	-
Errore stand.	0	0	0,4898979 5	0,3741657 4	0,2	0,24494897 4	-

Tabella 14: sfarfallati NT olio fino alla data 19/06/2024, in cui si ha l'ultimo sfarfallamento

	Media adulti sfarfallati olio					
Data	04/06/24	11/06/24	13/06/24	15/06/24	17/06/24	19/06/24
NT	0	0	8,8	14,2	23,2	24,4
T	0	0	0	0	0	0
TOP	0	0	0	0	0	0

TOT	0	0	0	0	0	0
OP	0	0	0	0	0	0
OT	0	0	0	0	0	0

Tabella 15: media adulti sfarfallati – interferenza oli

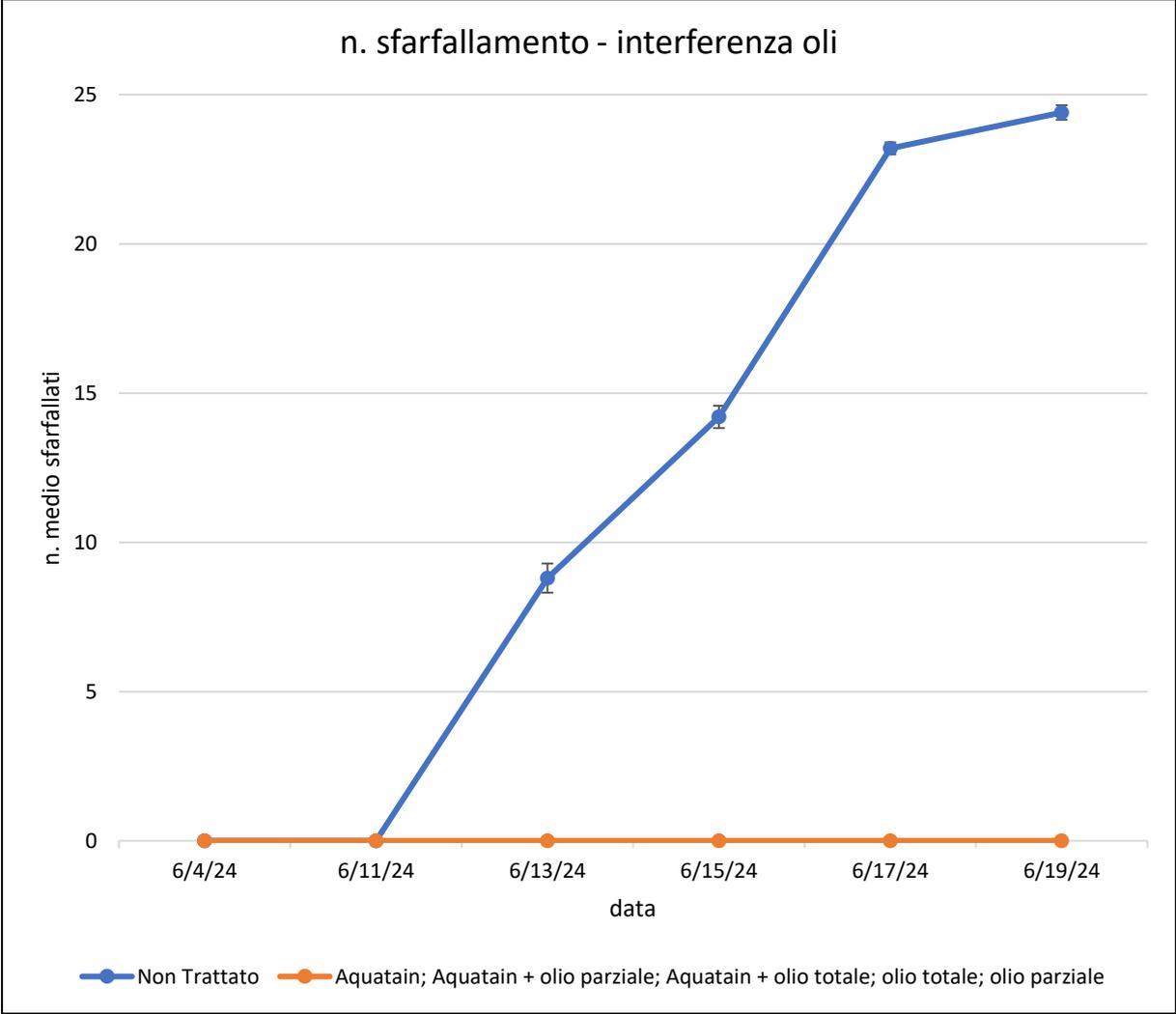


grafico 4: andamento degli sfarfallamenti medi nelle diverse tesi

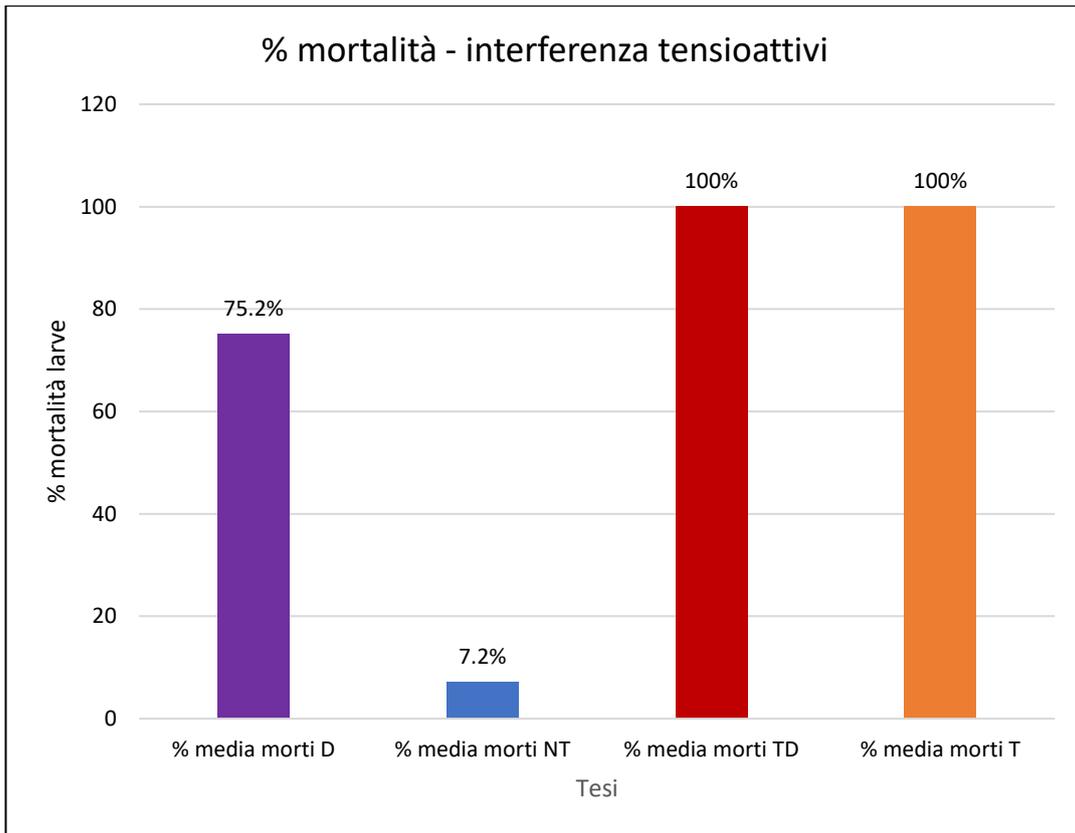


grafico 5: interferenza tensioattivi

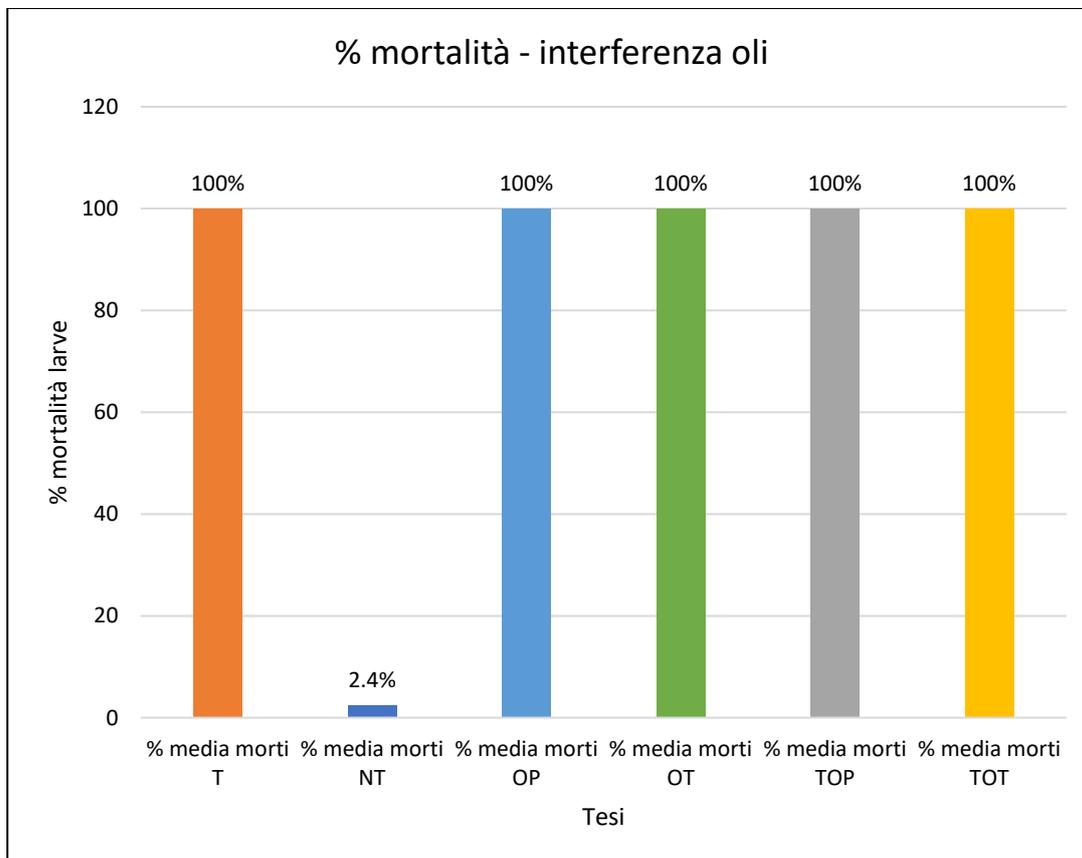


grafico 6: interferenza oli

Riassumendo, come emerge dai grafici 5 e 6 in entrambi gli esperimenti svolti, viene confermata l'efficacia delle tesi contenenti Aquatain (T) su larve mature di III-IV stadio, che presentano una cuticola sclerificata, e non possono attuare sufficienti scambi gassosi attraverso questa.

Per soddisfare il fabbisogno di ossigeno, le larve, con il sifone respiratorio, devono avere la possibilità di bucare il film presente sulla superficie dell'acqua, che è però assente o ridotto per la presenza del larvicida ad azione meccanica.

In tutte le tesi trattate si nota comportamento tipico di ambiente ipossico, con le larve che giacciono su fondo delle vasche, o che salgono in superficie leccandosi il sifone respiratorio, per tentare di liberarlo da eventuali ostruzioni, che sono causate dall'azione del prodotto Aquatain. Al contrario, nelle tesi non trattate la mortalità rilevata in entrambe le fasi sperimentali risulta essere molto bassa, sempre inferiore al 7%.

Per quanto riguarda le tesi contenenti oli, si raggiunge il 100% della mortalità dopo più di un mese dall'inizio della sperimentazione.

Nelle tesi contenenti detersivo, a bassa concentrazione, si hanno sfarfallamenti parziali e non si raggiunge il 100% di mortalità, mentre ciò avviene combinando tensioattivo e Aquatain, che in questo caso si rivela efficace.

5. Conclusioni

Sulla base dei dati analizzati, emerge che, in una ipotetica caditoia in ambito urbano, la presenza del detersivo non va ad influenzare negativamente l'azione dell'Aquatain, mentre si osserva una sopravvivenza delle larve maggiore rispetto agli standard nelle tesi contenenti olio e Aquatain.

Ciò fa ipotizzare che, per via della sua composizione chimica e delle interazioni che ha con il larvicida, l'olio possa far diminuire l'efficacia dell'Aquatain.

In futuro, modificando opportunamente la parte sperimentale alla luce dei dati e dei risultati ottenuti, si potrebbe quindi ripetere il test per la parte riguardante l'olio, poiché la lunga durata della vita degli stadi larvali nelle tesi analizzate, suggerisce che, alle opportune concentrazioni, in caditoie o tombini contenenti olio e Aquatain, si potrebbero avere degli sfarfallamenti, con annesse tutte le problematiche sanitarie, di inquinamento, e di turbamento della quiete pubblica.

Operativamente, si potrebbe dunque ripetere il test con delle concentrazioni di olio intermedie a quelle provate nelle tesi TOT e TOP, per scongiurare future problematiche nell'impiego di questo larvicida.

6. Bibliografia

- Becker, Norbert, Dušan Petrić, Marija Zgomba, Clive Boase, Minoo B. Madon, Christine Dahl, e Achim Kaiser. 2020. *Mosquitoes: Identification, Ecology and Control*. 3rd ed. Vol. 1. 1 vol. Springer.
- Bukhari, Tullu, Willem Takken, Andrew K. Githeko, e Constantianus J. M. Koenraadt. 2011. "Efficacy of Aquatain, a Monomolecular Film, for the Control of Malaria Vectors in Rice Paddies". *PLoS ONE* 6 (6): e21713. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021713>.
- Cancrini, G., P. Scaramozzino, S. Gabrielli, M. Di Paolo, L. Toma, e R. Romi. 2007. "Aedes Albopictus and Culex Pipiens Implicated as Natural Vectors of Dirofilaria Repens in Central Italy". *Journal of Medical Entomology* 44 (6): 1064–66. [https://doi.org/10.1603/0022-2585\(2007\)44\[1064:aaacpi\]2.0.co;2](https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44[1064:aaacpi]2.0.co;2).
- Clark, A. G., e N. A. Shamaan. 1984. "Evidence that DDT-dehydrochlorinase from the house fly is a glutathione S-transferase". *Pesticide Biochemistry and Physiology* 22 (3): 249–61. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(84\)90018-X](https://doi.org/10.1016/0048-3575(84)90018-X).
- Cremllyn, R. J. 1978. *Pesticides: Preparation and Mode of Action*. John Wiley and Sons.
- Dawood, Abdel-Fattah D., Mohamed M. Baz, e Moustafa I. Ibrahim. 2020. "Influence of AquatainTM, a monomolecular surface film on surface tension for controlling the filarial vector Culex pipiens (Diptera: Culicidae)". *Heliyon* 6 (10): e05314. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05314>.
- DGR n. 346 4-04-2024.pdf. s.d. <https://www.aulss4.veneto.it/sites/default/files/Linee%20operative%20per%20la%20sorveglianza%20e%20il%20controllo%20delle%20Arbovirosi%20nella%20Regione%20Veneto%202024.pdf>.
- EpiCentro. s.d. "Febbre dengue - EpiCentro - Istituto Superiore di Sanità". <https://www.epicentro.iss.it/febbre-dengue/>.
- European Chemicals Agency. 2023. *Guidance on the Biocidal Products Regulation: Version 6.0 August 2023. Volume II, Efficacy, Parts B+C. Assessment and Evaluation*. LU: Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2823/55971>.

- Ferrarese, Uberto. 2003. "monitoraggio di aedes albopictus (Skuse) (diptera, culicidae) attorno a un focolaio nel comune di rovereto (Trento)". 19: 281–95.
- Gratz, N. G. 2004. "Critical Review of the Vector Status of Aedes Albopictus". *Medical and Veterinary Entomology* 18 (3): 215–27. <https://doi.org/10.1111/j.0269-283X.2004.00513.x>.
- Hemingway, J., e H. Ranson. 2000. "Insecticide Resistance in Insect Vectors of Human Disease". *Annual Review of Entomology* 45: 371–91. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.371>.
- Mata, Alvaro, Aaron J. Fleischman, e Shuvo Roy. 2005. "Characterization of Polydimethylsiloxane (PDMS) Properties for Biomedical Micro/Nanosystems". *Biomedical Microdevices* 7 (4): 281–93. <https://doi.org/10.1007/s10544-005-6070-2>.
- McKenzie, Benjamin A., Alan E. Wilson, e Sarah Zohdy. 2019. "Aedes albopictus is a competent vector of Zika virus: A meta-analysis". *PLoS ONE* 14 (5): e0216794. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0216794>.
- Ministero della Salute s.d. Consultato 3 luglio 2024. <https://www.salute.gov.it/portale/home.html>.
- Paupy, C., H. Delatte, L. Bagny, V. Corbel, e D. Fontenille. 2009. "Aedes Albopictus, an Arbovirus Vector: From the Darkness to the Light". *Microbes and Infection* 11 (14–15): 1177–85. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2009.05.005>.
- Safi NH, Ahmadi AA, Nahzat S, Ziapour SP, Nikookar SH, Fazeli-Dinan M, Enayati A, Hemingway J. Evidence of metabolic mechanisms playing a role in multiple insecticides resistance in Anopheles stephensi populations from Afghanistan. *Malar J.* 2017 Mar 3;16(1):100. doi: 10.1186/s12936-017-1744-9. PMID: 28253925; PMCID: PMC5335852.
- Severini, Francesco, Luciano Toma, Marco Di Luca, e Roberto Romi. 2009. "Le zanzare italiane: generalità e identificazione degli adulti (diptera, culicidae)". *Fragmenta Entomologica* 41 (2): 213. <https://doi.org/10.4081/fe.2009.92>.
- Thurston, H.D. 1982. "Tropical Plant Diseases". In *Tropical Plant Diseases*.

7. Ringraziamenti

Ringrazio la mia famiglia, i miei amici e tutti coloro che hanno contribuito a farmi raggiungere questo traguardo.