

Società Italiana per la Ricerca sugli Oli Essenziali

**IV Congresso Nazionale**

Roma, 25-26 novembre 2016

**Efficacia dell'olio essenziale  
di *Cannabis sativa* e di *Coridothymus capitatus*  
come bioinsetticidi contro  
*Tribolium castaneum* e *Sitophilus* spp.  
infestante delle derrate**

G. Bazzocchi e P. Radeghieri

Dr Giovanni Bazzocchi

Dipartimento di Scienze Agrarie – Università di Bologna

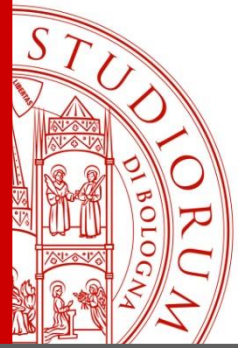


# *Tribolium castaneum* Herbst

Principale insetto infestante mulini, pastifici  
e industrie di trasformazione dei cereali



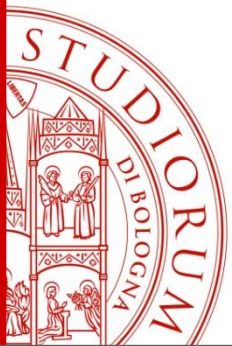
- Piccolo coleottero (2-4 mm) appartenente alla famiglia Tenebrionidae;
- Attacca diverse tipologie di derrate alimentari ma in particolare cariossidi di cereali, **crusca e sfarinati** →



# *Tribolium castaneum* Herbst



- È dannoso sia l'**adulto** che la **larva**, entrambi gli stadi hanno un apparato boccale masticatore;
- Specie molto longeva e di difficile lotta;
- Alcune popolazioni hanno manifestato resistenza agli insetticidi chimici.



# *Sitophilus spp*

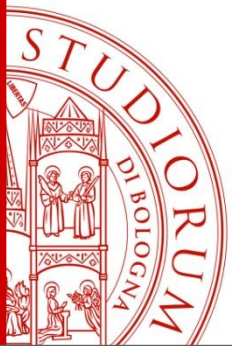
Calandra o Punteruolo

*Sitophilus granarius* e *Sitophilus oryzae*



- Piccoli coleotteri (2-5 mm) appartenente alla famiglia Curculionidae;
- Attaccano diverse tipologie di derrate alimentari → frumento, orzo, mais, riso, segale, avena, sorgo, saltuariamente leguminose e castagne

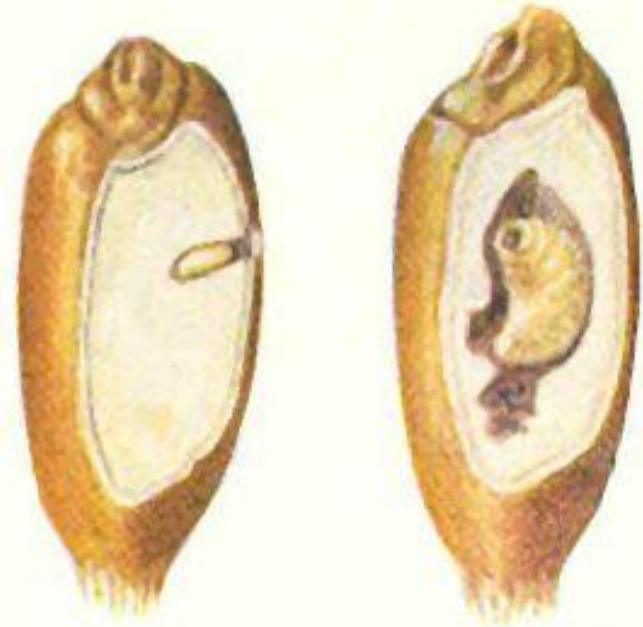




# *Sitophilus* spp

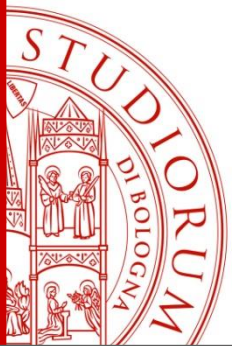


- Specie molto longeva e di difficile lotta
- Alcune popolazioni hanno manifestato resistenza agli insetticidi chimici
- A causa dell'azione delle larve ed il conseguente aumento di umidità e temperatura interna, possono contrarre infezioni secondarie ad opera di funghi e muffe (tossine)





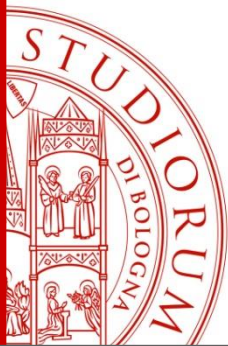




# Scopo della Ricerca

- Valutare e confrontare l'**attività insetticida** di due diversi oli essenziali estratti da *Cannabis sativa* L. (Futura 75) e *Coridothymus capitatus* (L.) su *T. castaneum* e di *Cannabis sativa* su *Sitophilus* spp a due diverse condizioni termiche:
  - Temperatura AMBIENTE (23°C)
  - Temperatura MODIFICATA (36°C)
- Valutare un possibile **effetto sinergico** tra trattamento con gli oli essenziali e calore;
- **Caratterizzazione chimica degli oli essenziali** utilizzati.





# Materiali e Metodi

## Allestimento dei campioni

(10 insetti adulti per ciascuna provetta)



## Elaborazione dati



## Dosaggio e trattamento con i **2 OE**

### Concentrazione OE ( $\mu\text{L}/50\text{ mL}$ ) ( $\mu\text{L}/\text{L}$ )

1,25 - 25,00

2,50 - 50,00

5,00 - 100,00

10,00 - 200,00

20,00 - 400,00



Campioni di controllo  
trattati con 20 $\mu\text{L}$  H<sub>2</sub>O

*Tribolium castaneum*

Ulteriori conteggi  
dopo **3, 4, 8, 18 gg.**

(T. ambiente e  
condizioni  
**ARIEGGIATE**)

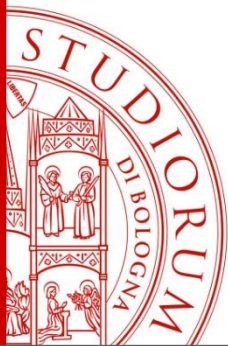
Controlli di mortalità  
a **24 e 48 h**

(ambiente  
**ERMETICO**)

**Campioni a T  
ambiente**

**Campioni a  
36°C**





# Materiali e Metodi

## Allestimento dei campioni

(10 insetti adulti per ciascuna provetta)



## Elaborazione dati



## Dosaggio e trattamento con OE canapa

### Concentrazione OE ( $\mu\text{L}/50\text{ mL}$ ) ( $\mu\text{L}/\text{L}$ )

1,25 - 25,00

2,50 - 50,00

5,00 - 100,00

10,00 - 200,00

20,00 - 400,00



1 campione di controllo  
con 20 $\mu\text{L}$  H<sub>2</sub>O

*Sitophilus spp*

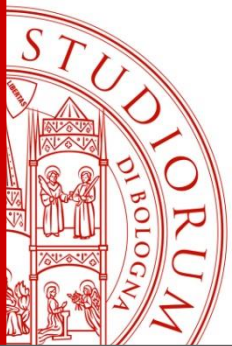
Ulteriori conteggi  
dopo **3, 4, 8, gg.**  
(T. ambiente e  
condizioni  
ARIEGGIATE)

Controlli di mortalità  
a **24 e 48 h**  
(ambiente  
ERMETICO)

Campioni a T  
ambiente

Campioni a  
**36°C**





# Materiali e Metodi

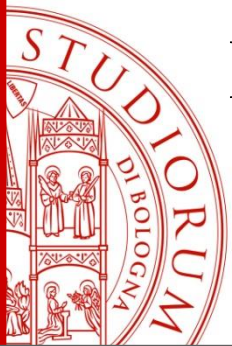
## CARATTERIZZAZIONE CHIMICA OLI ESSENZIALI

- Olio essenziale di *Cannabis sativa*;
- Olio essenziale di *Coridothymus capitatus*
- Diluizione degli OE in una matrice neutra (olio di arachide raffinato);
- Analisi dello spazio di testa degli OE mediante **strumentazione HS-SPME-GC-MS** alla temperatura di **40 °C**;





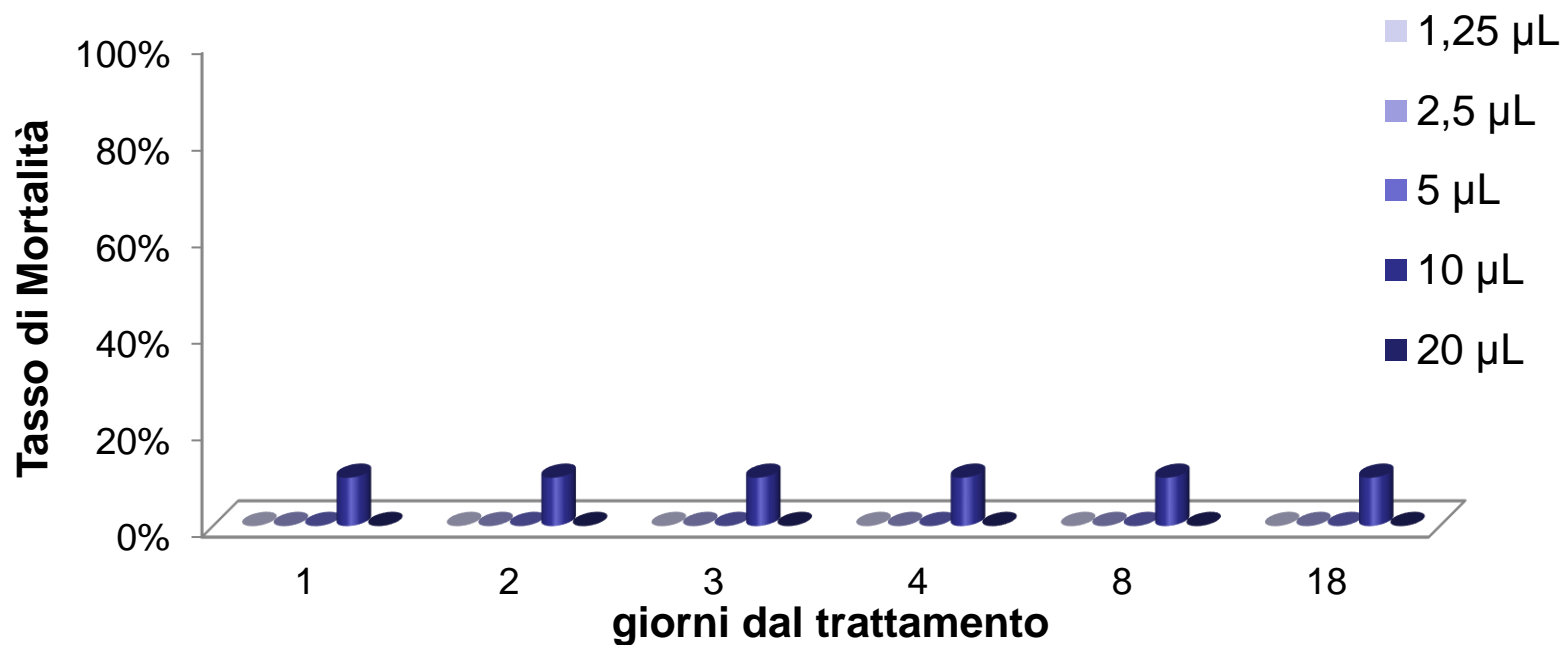
# Efficacia insetticida - Risultati a T ambiente



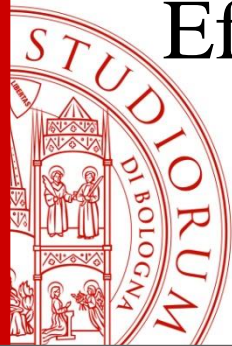
*Tribolium castaneum*



## CANAPA



Non vi è mortalità differente rispetto ai campioni di controllo

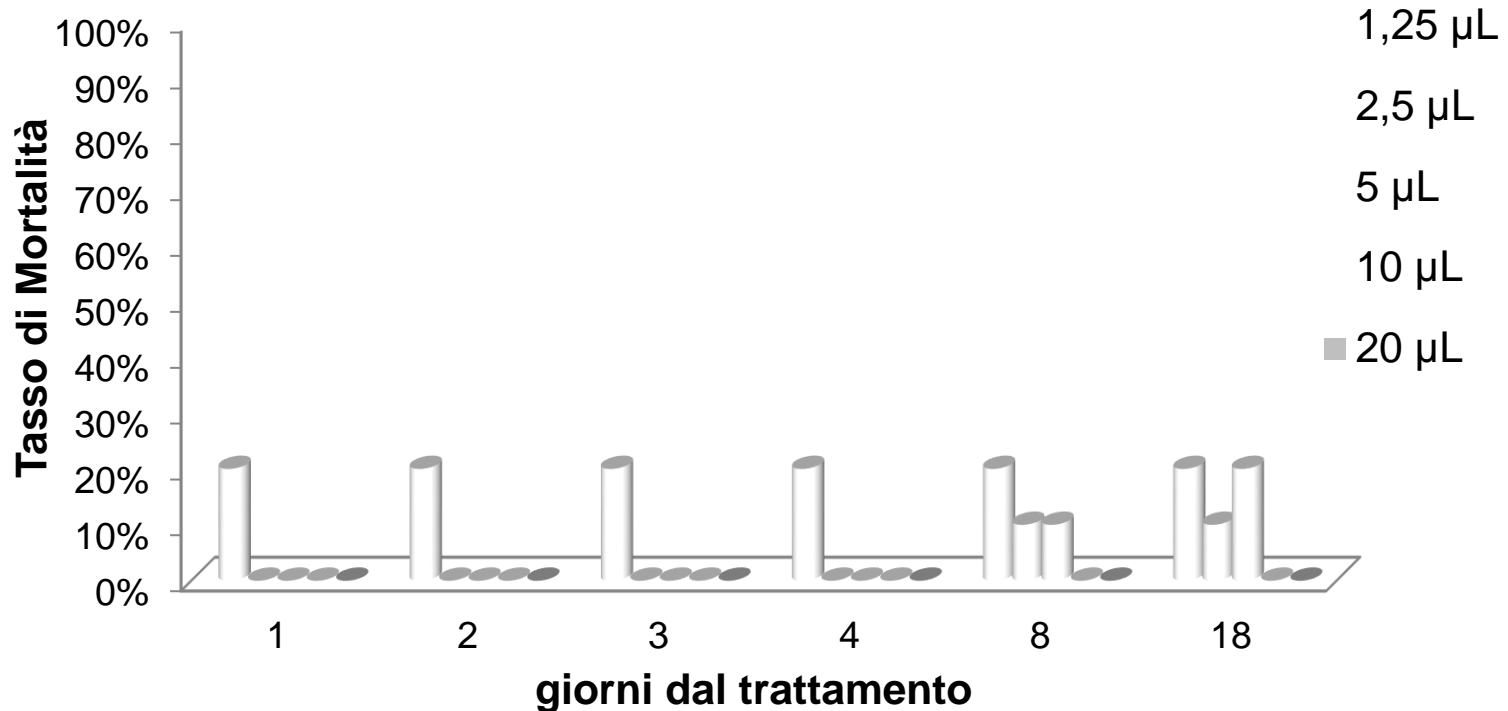


# Efficacia insetticida- Risultati a **T ambiente**

*Tribolium castaneum*

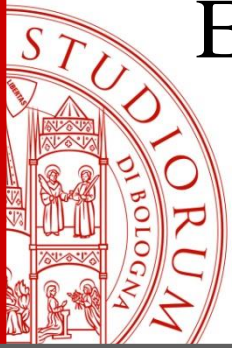


## ORIGANO DI SPAGNA



Non vi è mortalità differente rispetto ai campioni di controllo

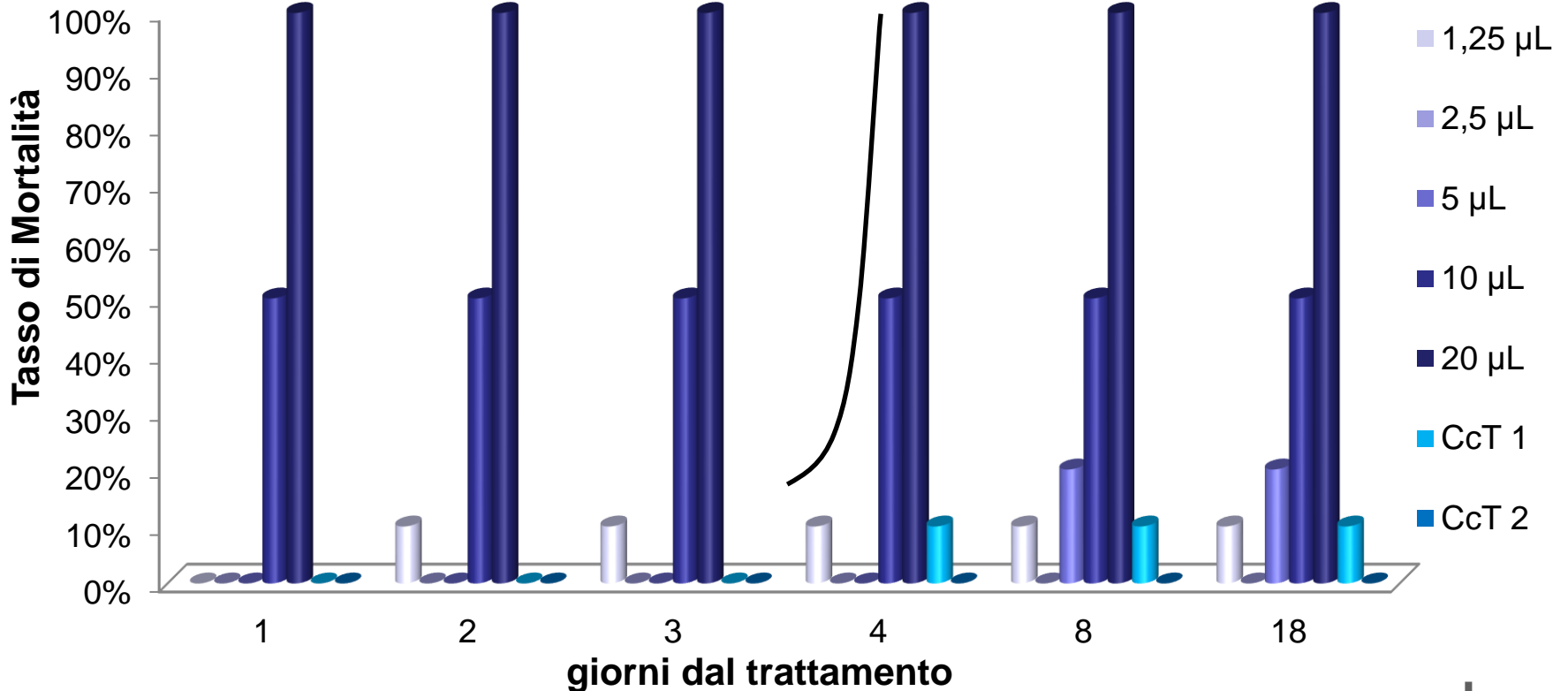
# Efficacia insetticida - Risultati a $T = 36^{\circ}\text{C}$



*Tribolium castaneum*

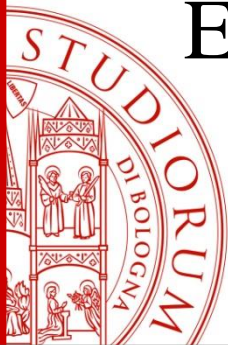


## CANAPA





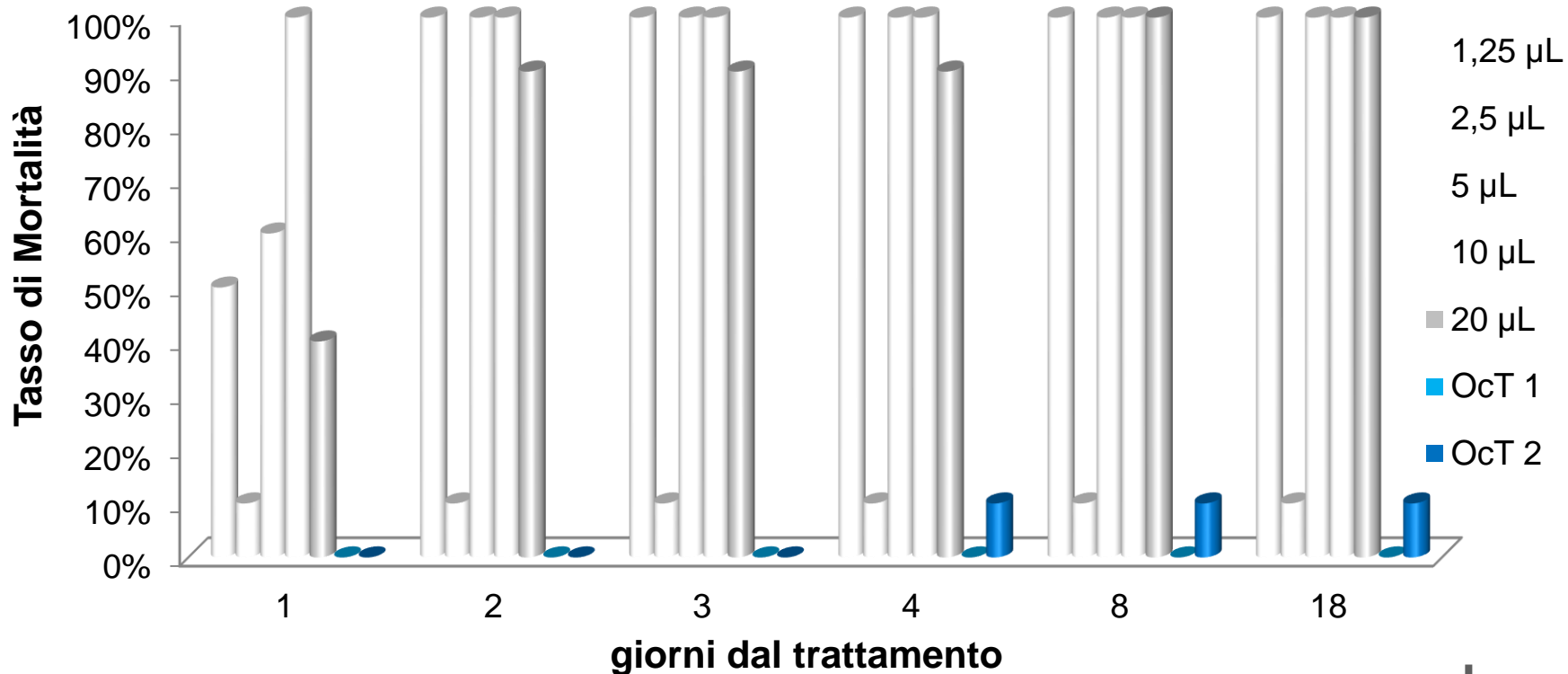
# Efficacia insetticida - Risultati a $T = 36^{\circ}\text{C}$



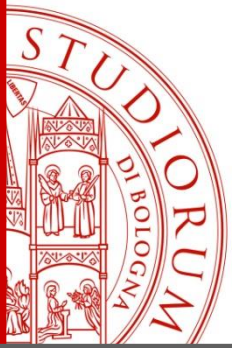
*Tribolium castaneum*



## ORIGANO DI SPAGNA



# Efficacia insetticida – Risultati

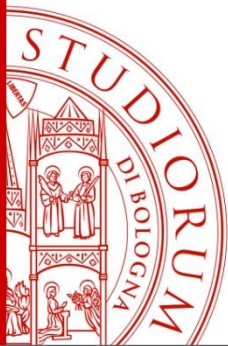


*Tribolium castaneum*



- 1) Il **calore accentua l'attività insetticida** di entrambi gli OE;
- 2) per OE di ***Corydothymus capitatum*** elevata attività insetticida anche alle dosi più basse a 36°C;
- 3) per OE di **canapa** chiara correlazione tra efficacia abbattente sugli insetti e concentrazione di OE.

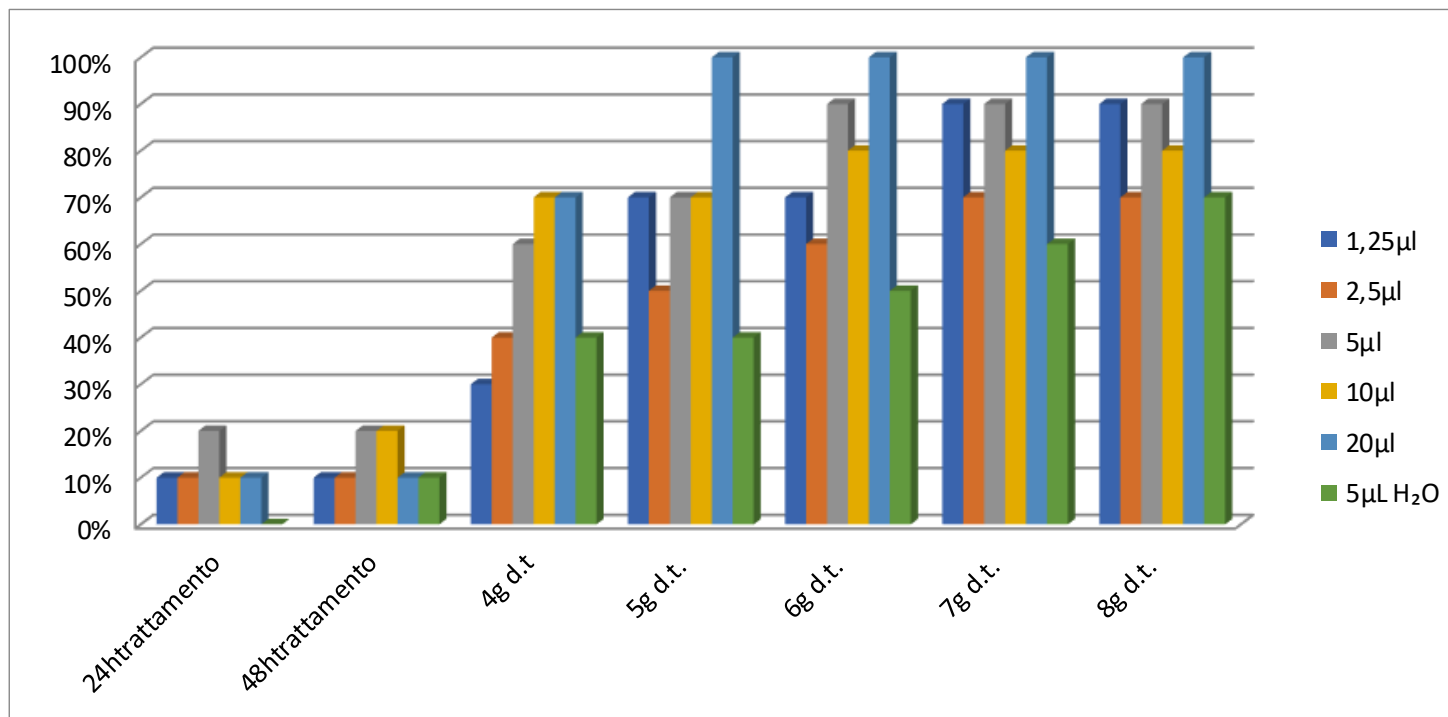
# Efficacia insetticida - Risultati a T ambiente



*Sitophilus* spp



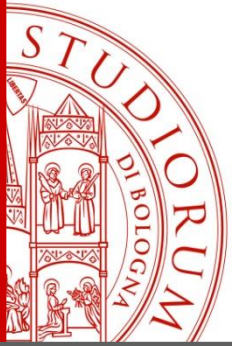
## CANAPA



Mortalità differente solo nei confronti della concentrazione più alta



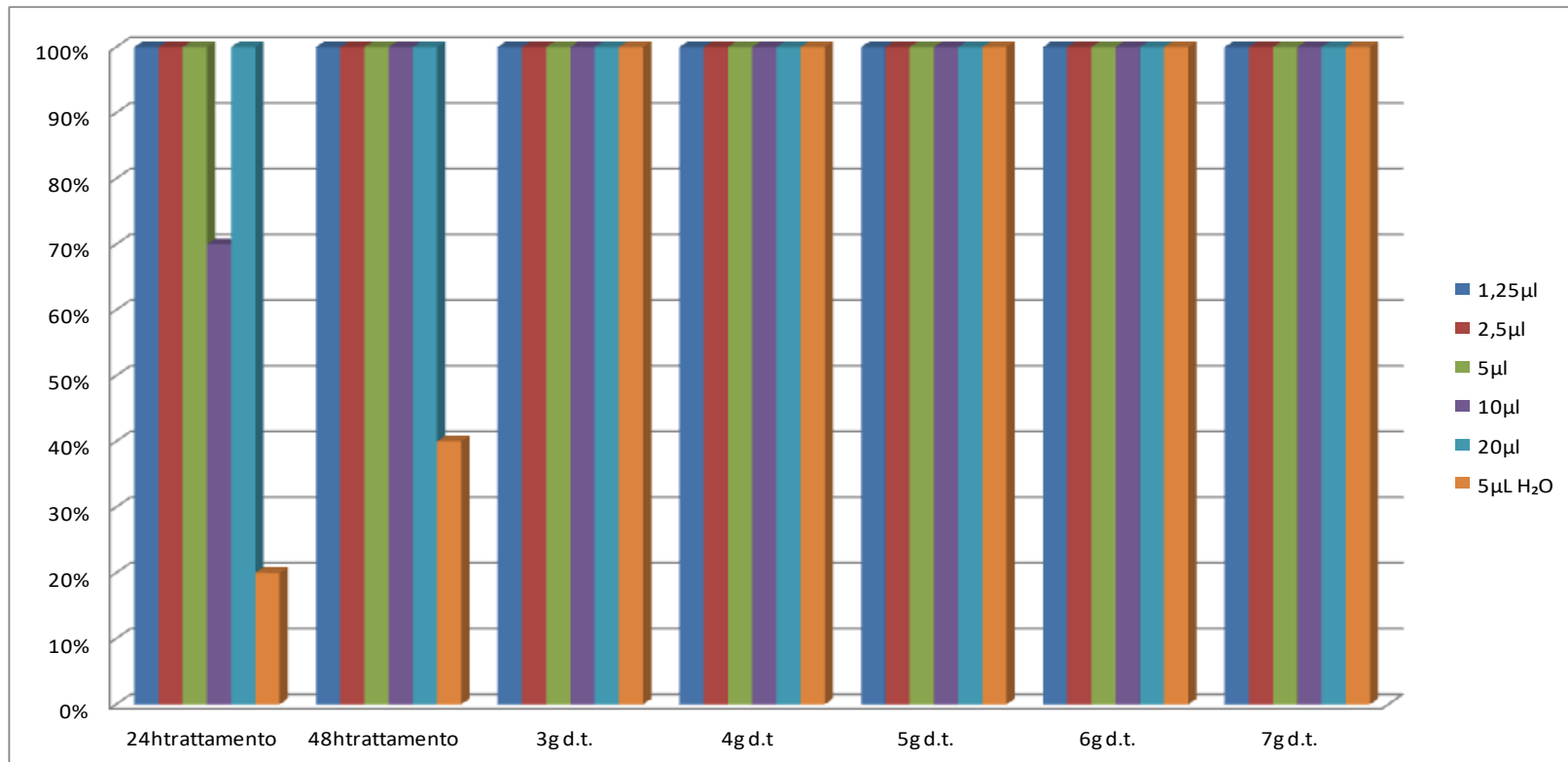
# Efficacia insetticida - Risultati $T = 36^{\circ}\text{C}$



*Sitophilus* spp

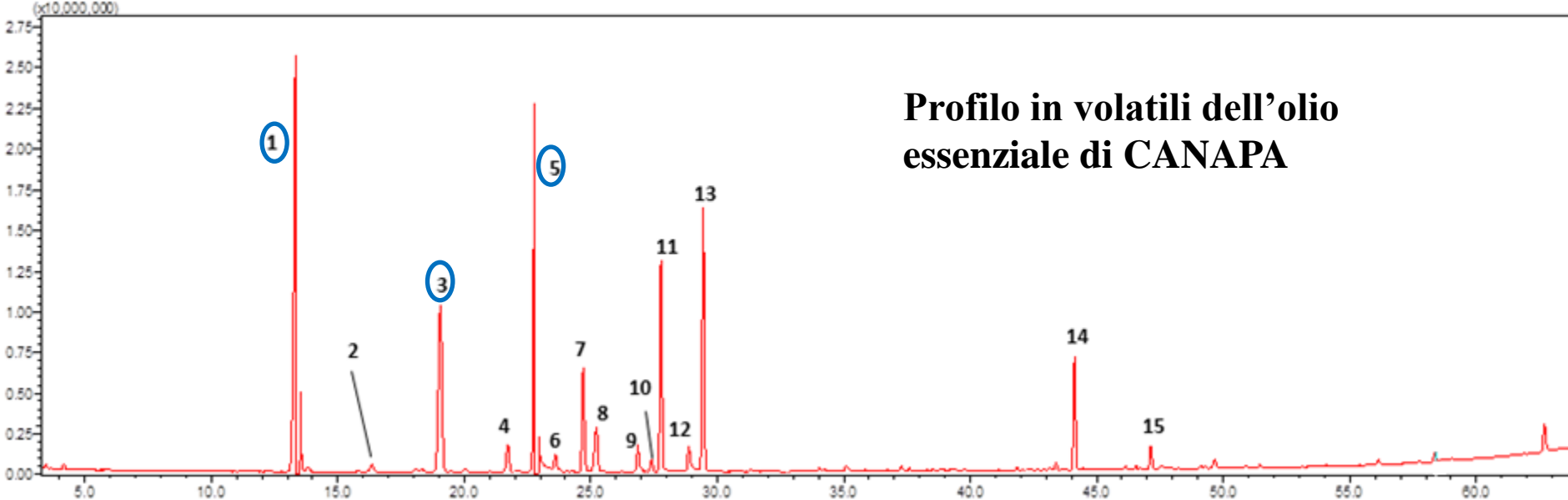


## CANAPA



Alta mortalità, differenze significative solo nelle prime 48 ore

# Analisi HS-SPME-GC-MS dello spazio di testa dell'OE di *Cannabis sativa*



Profilo in volatili dell'olio essenziale di CANAPA

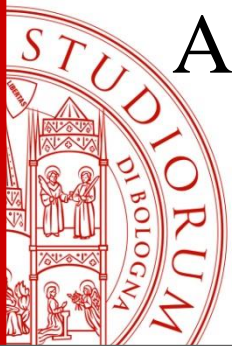
N.	Composto	Rt (min)	CAS	media %
1	$\alpha$ -pinene	13,39	80-56-8	49,77
2	canfene	16,38	79-92-5	0,67
3	$\beta$ -pinene	19,07	127-91-3	11,23
4	$\beta$ -carene	21,74	13466-78-9	0,8
5	$\beta$ -mircene	22,84	123-35-3	21,77
6	$\alpha$ -terpinene	23,62	99-86-5	0,28
7	limonene	24,73	138-86-3	2,34
8	$\beta$ -fellandrene	25,24	555-10-2	1,41
9	$\beta$ -trans-ocimene	26,88	3779-61-1	0,45
10	$\gamma$ -terpinene	27,43	99-85-4	0,21
11	$\beta$ -cis-ocimene	27,80	3338-55-4	3,77
12	<i>p</i> -cimene	28,90	527-84-4	0,41
13	4-carene	29,46	5208-49-1	4,19
14	$\beta$ -cariofillene	44,16	87-44-5	1,79
15	$\alpha$ -cariofillene	47,18	6753-98-6	0,35

Molecole prevalenti nello spazio di testa:

$\alpha$ -pinene  
 $\beta$ -pinene  
 $\beta$ -mircene

- per tutte e tre le molecole terpeniche è stata dimostrata un'attività insetticida (Mossa *et al.*, 2016);
- L' $\alpha$ -pinene è risultato tossico nei confronti di **diverse specie di coleotteri** in particolare alla stadio **adulto** (Wang *et al.*, 2016).

# Analisi GC-FID dell'OE di *Cannabis sativa*

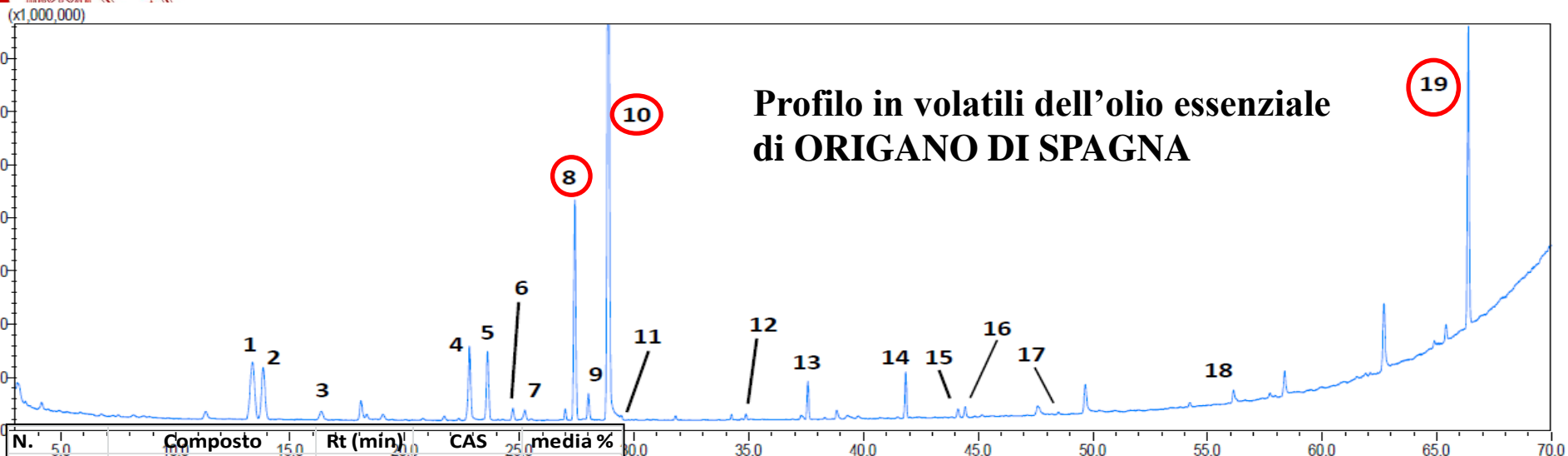


## Profilo in volatili dell'olio essenziale di CANAPA

	%
$\alpha$ -thujene	0,25
$\alpha$ -pinene	21,72
Canfene	0,37
$\beta$ -pinene	6,23
$\beta$ -mircene	10,35
$\alpha$ -fellandrene	0,19
$\Delta$ -3-carene	0,45
$\alpha$ -terpinene	0,17
<i>p</i> -cimene	0,16
limonene	1,92
1,8-cineolo	0,32
<i>cis</i> -ocimene	0,37
<i>trans</i> -ocimene	3,19
$\gamma$ -terpinene	0,18
terpinolene	4,05
$\beta$ -cariofillene	24,77
<i>trans</i> - $\alpha$ -bergamotene	0,10
$\alpha$ -umulene	9,17

N.	Composto	Rt (min)	CAS	media %
1	$\alpha$ -pinene	13,39	80-56-8	49,77
2	canfene	16,38	79-92-5	0,67
3	$\beta$ -pinene	19,07	127-91-3	11,23
4	3-carene	21,74	13466-78-9	0,8
5	$\beta$ -mircene	22,84	123-35-3	21,77
6	$\alpha$ -terpinene	23,62	99-86-5	0,28
7	limonene	24,73	138-86-3	2,34
8	$\beta$ -fellandrene	25,24	555-10-2	1,41
9	$\beta$ - <i>trans</i> -ocimene	26,88	3779-61-1	0,45
10	$\gamma$ -terpinene	27,43	99-85-4	0,21
11	$\beta$ - <i>cis</i> -ocimene	27,80	3338-55-4	3,77
12	<i>p</i> -cimene	28,90	527-84-4	0,41
13	4-carene	29,46	5208-49-1	4,19
14	$\beta$ -cariofillene	44,16	87-44-5	1,79
15	$\alpha$ -cariofillene	47,18	6753-98-6	0,35

# Analisi HS-SPME-GC-MS dello spazio di testa dell'OE di *Coridothymus capitatus*



Profilo in volatili dell'olio essenziale di ORIGANO DI SPAGNA

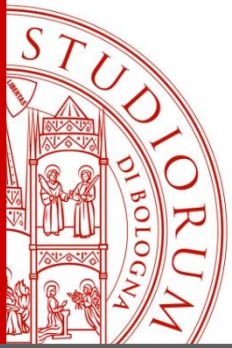
N.	Composto	Rt (min)	CAS	media %
1	$\alpha$ -pinene	13,38	80-56-8	7,66
2	origanene	13,85	5715-79-6	5,63
3	canfene	16,38	79-92-5	0,88
4	$\beta$ -mircene	22,85	123-35-3	5,75
5	$\alpha$ -terpinene	23,63	99-86-5	4,32
6	limonene	24,74	138-86-3	0,79
7	$\beta$ -fellandrene	25,26	555-10-2	0,75
8	$\gamma$ -terpinene	27,44	99-85-4	13,85
9	3-octanone	28,03	106-68-3	1,51
10	<i>p</i> -cimene	28,89	99-87-6	47,58
11	4-carene	29,46	5208-49-1	0,13
12	amil-etil-carbinolo	34,89	589-98-0	0,28
13	amil-vinil-carbinolo	37,59	3391-86-4	1,95
14	$\beta$ -linalolo	41,86	78-70-6	2,35
15	$\beta$ -cariofillene	44,14	87-44-5	0,27
16	4-terpineolo	44,45	562-74-3	0,60
17	borneolo	48,52	507-70-0	0,12
18	butilidrossitoluene	56,14	128-37-0	0,83
19	carvacrolo	66,39	499-75-2	12,76

Molecole prevalenti nello spazio di testa:

$\gamma$ -terpinene  
*p*-cimene  
carvacrolo

- **Carvacrolo e  $\gamma$ -terpinene** hanno una documentata attività insetticida e agiscono in sinergia (Maedeh *et al.*, 2011);
- Il **carvacrolo** possiede una spiccata attività biologica nei confronti degli insetti e maggiore rispetto ai terpeni (Mossa *et al.*, 2016);
- Bouchikhi Tani *et al.* (2013) hanno attribuito l'attività insetticida dell'OE di *C. capitatus* alla presenza di **carvacrolo**.





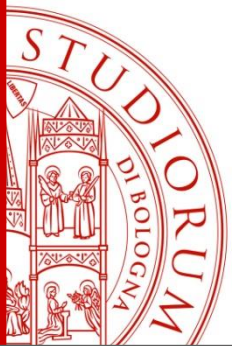
# Conclusioni

Pur trattandosi di uno studio preliminare è stato possibile dedurre che:

- La temperatura di 36 °C, di per sé non dannosa per *T. castaneum*, abbinata al trattamento con gli OE ne accentua in modo importante l'azione tossica rendendo il metodo efficace;
- La temperatura di 36 °C risulta letale per *Sitophilus*, ma l'olio essenziale di canapa, già attivo anche a temperatura ambiente, aumenta l'efficacia già nelle prime 48 ore tale temperatura;

(la quantità di sostanza tossica inalata aumenta, inoltre il calore incrementa l'attività respiratoria dell'insetto che di conseguenza assume più vapori sprigionati dall'OE);

- Un approccio integrato tra effetto fumigante degli OE e calore si rivela promettente;
- L'impiego di temperature più basse rispetto a valori letali per l'insetto porterebbe ad abbassare i costi attualmente elevati che il solo trattamento fisico con calore comporta.

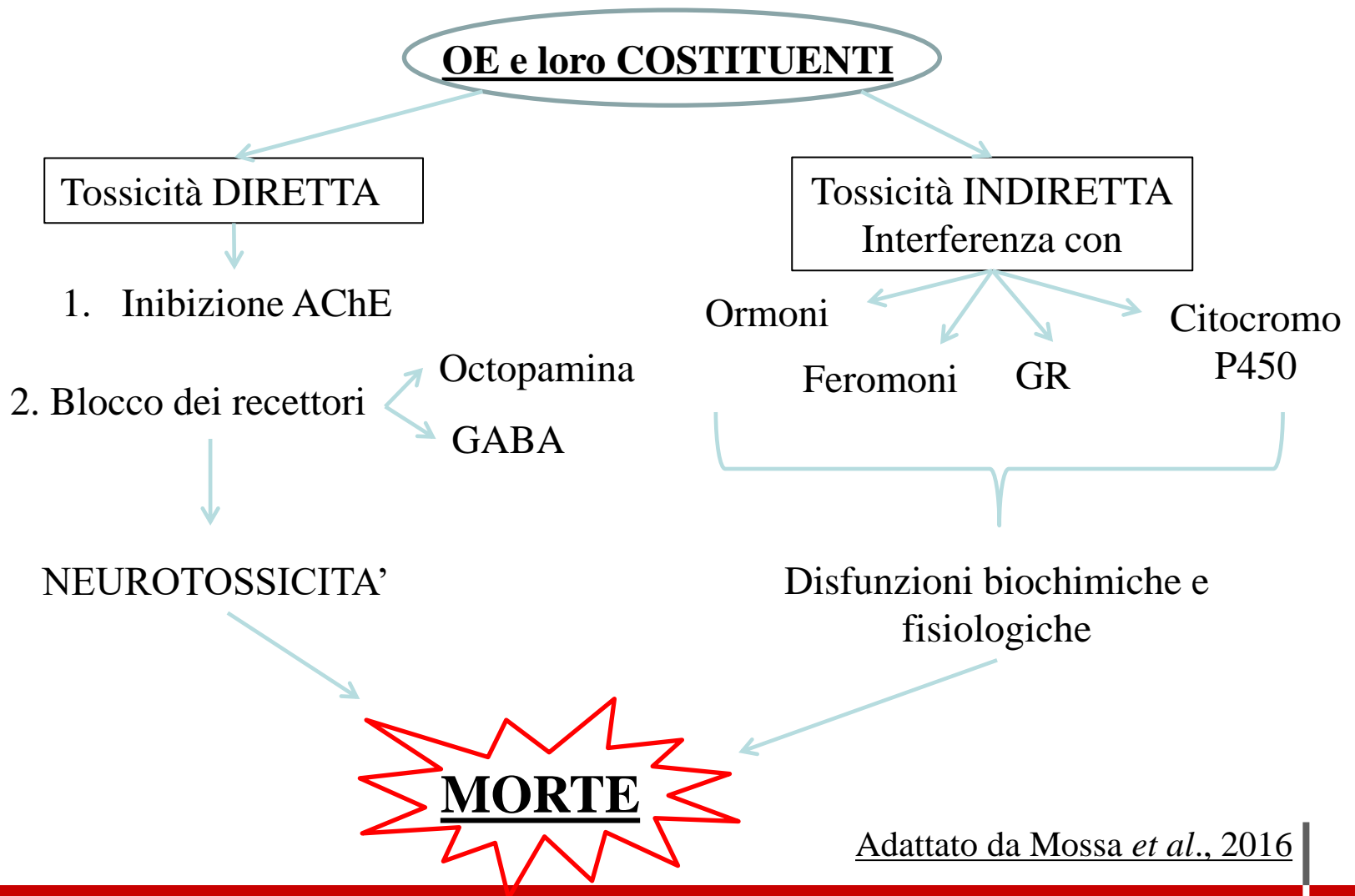


# Considerazioni finali

- In un moderno protocollo di gestione integrata agli insetti delle derrate, gli oli essenziali rappresentano un'alternativa sostenibile agli insetticidi di sintesi, tuttavia:
  1. Sono **necessarie ulteriori sperimentazioni** atte a incrementare e approfondire le informazioni raccolte;
  2. Ad oggi sono sconosciuti eventuali interferenze degli OE con componenti della derrata, pertanto è necessario estendere gli studi sulla derrata infestata → **possibile impatto sulle caratteristiche sensoriali e organolettiche.**



# Meccanismi di azione dei componenti degli OE sugli insetti



Adattato da Mossa *et al.*, 2016

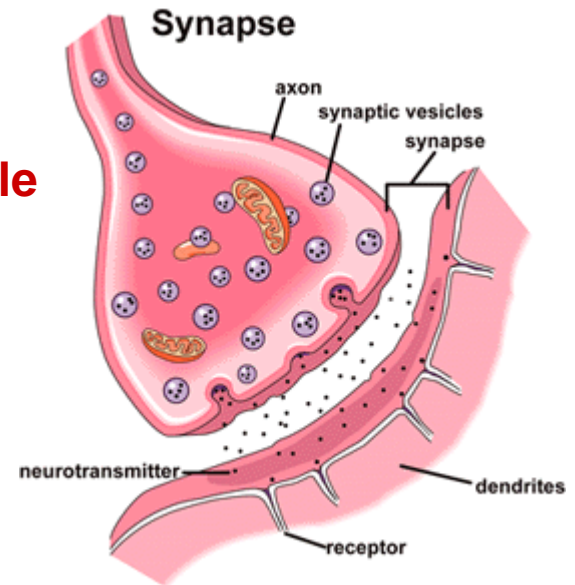
# Oli essenziali nella lotta agli insetti dannosi

## MODALITÀ D'AZIONE

Effetti neurotossici su:

- Sistema Octopaminergico  
(es. Eugenolo)
- GABA (acido  $\gamma$ -amminobutirrico)  
(es. Timolo)

**Target bio-razionale**

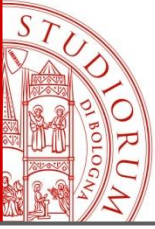


## EFFICACIA

- Diversità e ridondanza fitochimica (blend funziona meglio dei singoli componenti)
- Liposolubilità

**No fenomeni di resistenza**





# Oli essenziali nella lotta agli insetti dannosi

---

## PRO E CONTRO

### **Pro:**

- sicuri ed ecocompatibili (no tossicità vertebrati, poco persistenti, compatibili con metodi di lotta biologica e naturale)
- ben accetti dal consumatore (e dal coltivatore)
- vasta diversità specifica e fitochimica (e modalità d'azione)
- basso impatto ambientale nella produzione

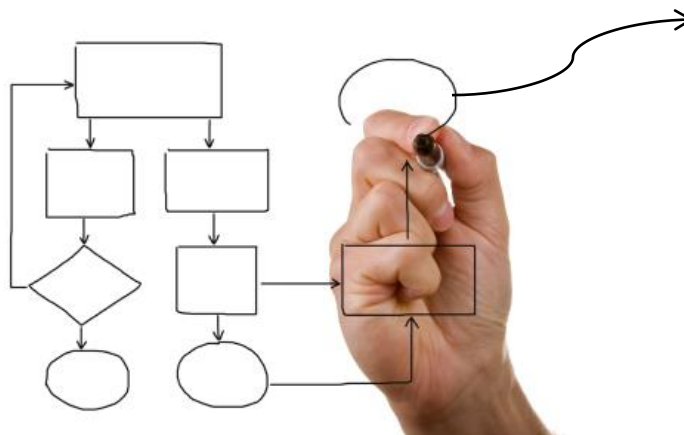
### **Contro:**

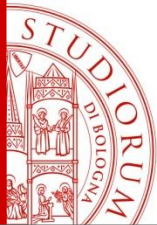
- alti costi di produzione (con eccezioni)
- poco persistenti (!)
- standardizzazione del prodotto (e mancanza di una regolazione precisa)
- necessità di ricerca (pro o contro?)

# Oli essenziali: ricerca e mercato

## Ruolo della ricerca

- **efficacia specie-specifica e**
  - per inalazione/asfissia
  - per contatto (studio coformulanti sinergici e associazione con altri metodi)
  - per ingestione (formulati più persistenti)
- **effetti su organismi non target e benefici**
- **standardizzazione dei prodotti?**
  - **certificazione di processo**

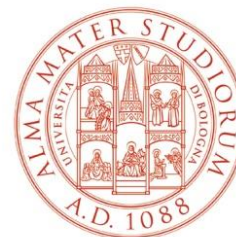




# Ringraziamenti

Dott. Sara Turci,  
dott. Federico Rossi,  
dott. Andrea Bilancioni.  
Dr.ssa Alessandra Bendini

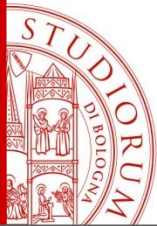
Prof. Stefania Benvenuti



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA



**UNIMORE**  
UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI  
MODENA E REGGIO EMILIA



# Grazie dell'attenzione!!!



ALMA MATER STUDIORUM  
UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

Giovanni Bazzocchi

Dipartimento di Scienze Agrarie

[giovanni.bazzocchi@unibo.it](mailto:giovanni.bazzocchi@unibo.it)

*www.unibo.it*

#### NOTA COPYRIGHT

Salvo eventuali più ampie autorizzazioni dell'autore, il contributo può essere liberamente consultato e può essere effettuato il salvataggio e la stampa di una copia per fini strettamente personali di studio, di ricerca e di insegnamento, con espresso divieto di qualunque utilizzo direttamente o indirettamente commerciale. Ogni altro diritto sul materiale è riservato.”