Quali impatti provoca l'utilizzo di *Bacillus thuringiensis* israelensis (*Bti*) quale larvicida nella lotta alle zanzare, sulla biodiversità degli ecosistemi delle Bolle di Magadino?

Resoconto della bibliografia e delle conoscenze acquisite fino al 31.12.2014

A cura di Begoña Feijoó Fariña, Eleonora Flacio e Nicola Patocchi.



Fondazione Bolle di Magadino – www.bolledimagadino.com

SOMMARIO

1	Ва	Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti): caratteristiche e utilizzo	
2	Bti	alle Bolle di Magadino	5
	2.1	Trattamenti a base di Bti contro le pullulazioni di zanzare	5
	2.2	Studi per valutare effetti del Bti su organismi non mirati a seguito dei trattamenti nella riserva	6
3	Sin	tesi di studi che valutano l'effetto del Bti su organismi non mirati	7
	3.1	Effetti diretti su organismi non mirati	7
	3.2	Effetti indiretti su organismi non mirati	10
4	Bib	oliografia	_12

1 Bacillus thuringiensis var. israelensis (Bti): caratteristiche e utilizzo

Bacillus thuringiensis var israelensis (Bti) è un batterio naturale (non è un organismo modificato geneticamente OGM) con note capacità larvicide sulle zanzare (Charles & Nielsen-Leroux 2000), dovute alla produzione di tossine che, quando entrano in contatto, per ingestione, con l'intestino delle larve di zanzara, si legano a recettori specifici alterandone la funzionalità e provocando la morte delle stesse. È la presenza di tali recettori specifici ed del pH nell'intestino a determinare la specificità dell'azione larvicida del Bti.

In **Chappuis 1999** sono riassunte le caratteristiche del batterio, le modalità di formazione del cristallo e il posizionamento tassonomico della varietà *israelensis* rispetto ai ceppi batterici dei *Bacillus spp*. con le conseguenti difficoltà di determinazione e differenziazione nel suolo.

L'utilizzo di *Bti* in aeree naturali innesca una serie di quesiti che devono trovar risposta:

- 1. Prima di tutto la specificità dell'insetticida e i suoi effetti sugli organismi che vivono nello stesso ambiente come le larve di zanzara. Si parla dunque nel caso delle Bolle di organismi bersaglio o mirati come le larve di zanzara, oggetto del trattamento e di organismi non bersaglio o non mirati per le specie che convivono nello stesso ambiente e che potrebbero subire effetti indesiderati provocati dal trattamento.
 - Il presente contributo si concentra su questo quesito e fa il punto delle conoscenze bibliografiche e acquisite fino al 31.12.2014.
- 2. Va tenuta seriamente in conto la possibilità che l'uso dell'insetticida possa provocare l'insorgere di forme di resistenza o tolleranza negli organismi mirati.
 - Uno studio specifico è stato realizzato sui popolamenti di *Aedes vexans* delle Bolle di Magadino (**FLACIO 2002**), non rilevando fenomeni di resistenza o tolleranza. Su questa problematica potenziale la comunità scientifica è molto sensibile essendo il *Bti* un insetticida molto usato e molto importante per la sua specificità. Sia in Europa che nel mondo si eseguono quindi verifiche regolari su eventuali modifiche di sensibilità alle tossine del *Bti*. Finora si è a conoscenza di risultati positivi solo in casi di ripetizioni di trattamenti selezionati sulla stessa filogenia in laboratorio e mai in campo.
- 3. Vi è la possibilità che il batterio, sparso nell'ambiente sottoforma di spore, possa accumularsi nel terreno, proliferare e formare colonie autoriproducenti. Inoltre vi è la possibilità che la tossina stessa (endotossina delta) si accumuli nel suolo e conservi attività insetticida.
 - Per affrontare questa problematica si è dovuto dapprima risolvere gli aspetti metodologici di rilevamente del batterio stesso, dovuti alla vicinanza tassonomica del *Bti* con altri batteri *Bacillus thuringiensis* presenti nel suolo. Due tesi di dottorato (**Chappuis 2002**, **Guidi** *et al.* **2011**) hanno studiato questa tematica nella riserva Bolle di Magadino e hanno potuto dimostrare che finora né il *Bti* e né le sue tossine non si accumulano nel terreno con il tempo.

4. Vi è inoltre il rischio di transfer orizzontale di materiale genetico codificante la tossina, dal *Bti* ad altri batteri creando così nuovi ceppi di *Bacillus* con competenze insetticide. Questo rischio è maggiorato dal fatto che il DNA codificante la tossina insetticida nel *Bti* si trova in un plasmide citoplasmatico, quindi più facilmente trasferibile da un batterio ad un altro.

Chappuis 2002 ha potuto verificare con un campionamento statistico che non sono avvenuti fino allora fenomeni di transfer orizzontali che interessano il plasmide del *Bti*.

Prodotti insetticidi che si basano sul *Bti* sono considerati fino ad oggi altamente specifici. Questi prodotti vengono usati per il controllo di stadi larvali di alcune famiglie Ditteri (insetti con 2 ali) come zanzare, insetti ematofagi che creano disturbo e possono essere vettori di alcune malattie, Simulidi, insetti ematofagi presenti in acque correnti anch'essi potenziali vettori di alcune malattie, e Sciaridi, moscerini dei funghi che creano danni ad alcune piante (MARGALITH & BENDOV 2010)

Questi insetti, che si vuole controllare con prodotti a base di *Bti*, sono chiamati organismi bersaglio o mirati. Eventuali altri organismi che possono venire colpiti direttamente o indirettamente dall'azione di questi insetticidi, sono chiamati organismi non bersaglio o non mirati.

Quale base di partenza, va segnalata la documentazione prodotta per la valutazione dei criteri ambientali stabiliti nelle procedure d'autorizzazione del prodotto *Bt* dall'Organizzaione mondiale della sanità. Esse risalgono al 1999 (**WHO 1999**) e possono essere così riassunte riguardo al *Bti* e tenendo conto dei risultati positivi per Culicidae, Simulidae e Sciaridae:

Таха	Esperienza	Effetti
MammRoditori	esposizione delle uova	NO
	inalazione	NO
	esposizione al derma	NO
	inoculazione sottocutanea	NO
	inoculazione intracelebrale	NO, effetti indiretti
	Inoc. intraperitonite	NO, effetti indiretti
	virulenza	NO
	test su popolazioni selvatiche	NO
MammLagomorfi	esposizione sugli occhi	NO
	scarificazione del derma	NO
Uccelli	test sul Colino della virginia	NO
Pesci	test su Lepomis (pesce sole)	NO
	test su O. mykiss (trota arc.)	NO
	test su Cyprinodon sp.	NO
Coleotteri acquatici	test laboratorio e terreno	NO
adulti		
Coleotteri acquatici	test laboratorio e terreno	NO
larve		
Idrofilidi e Ditiscidi	test sul terreno su 3 anni	NO
Ditteri - Chironomidi	test in lab. e sul terreno	SI ma solo a concentrazioni molto
		elevate (da 13 a 100 volte di più)
		rispetto a quelle usata per Culicidi
	test sul terreno	SI ma solo per alcune specie dove si può
		osservare una riduzione del 40-70%
F(C)	Land to late and the same and the same	dopo trattamento BTi
Effemerotteri	test in lab. e sul terreno per i generi	NO
Eterotteri	Baetis sp. e Cleon sp.	NO
Corixidi	esposizione per 48h	
COLIXIUI	test sul terreno prima e dopo trattamento	NO
Eterotteri	esposizione per 48h	NO
Notonectidi	test sul terreno prima e dopo	NO
NOTOHECTION	trattamento	
	nutriti con larve contaminate da BTi	NO
Libellule	larve nutrite con ditteri contaminati	NO
Libellale	sia per zigotteri che anisotteri	NO
	test sul terreno prima e dopo	NO
	test sui terreno prima e dopo	IVO

(WHO 1999 – Organismi non mirati dal *Bti*, senza Culicidae, Simulidae, Sciaridae)

2 Bti alle Bolle di Magadino

2.1 Trattamenti a base di Bti contro le pullulazioni di zanzare

Il livello del lago di Locarno è soggetto a frequenti oscillazioni causate essenzialmente da due fattori: le precipitazioni abbondanti o prolungate e la regolazione artificiale del livello del lago tramite la diga di Sesto Calende, in territorio italiano. Questi cambiamenti di livello del lago causano periodiche inondazioni nella riserva delle Bolle di Magadino, creando aree temporaneamente inondate. Queste pozze temporanee sono il luogo dal quale si sviluppano indisturbatamente, non avendo competitori acquatici quali i pesci o larve acquatiche di insetti, specie di zanzara molto aggressive per l'uomo, come Aedes vexans e Aedes sticticus (Flacio et al. 2014). Queste pullulazioni di zanzare causano fastidio alla popolazione residente nelle aree limitrofe alla riserva e un danno economico per il turismo presente nella regione (LÜTHY 1987; LÜTHY 2001)).

Per combattere tali disagi, la Fondazione Bolle di Magadino ha effettuato nel 1987 uno studio sulla possibilità di interventi per il controllo delle zanzare (LÜTHY 1987). Tale studio ha promosso interventi con prodotti a base di *Bti* per il controllo delle zanzare. A partire dal 1988 il preparato commerciale a base di *Bti*, il VectoBac G[®] (Valent BioSciences) è regolarmente usato (Lüthy 2014) quando necessario.

La tabella 1.1 (**Luthy 2013**) mostra la quantità di VectoBac G[®] utilizzata per i trattamenti alle Bolle di Magadino fino al 2012 correlata con il livello massimo di primavera-inizio estate raggiunto quell'anno.

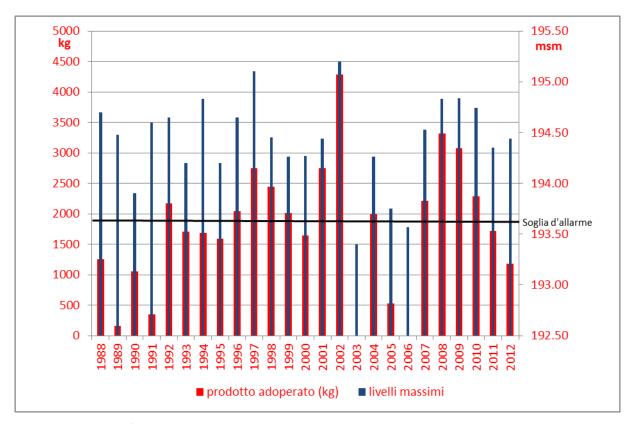


Tabella 1.1 Quantità annuale di Vectobac sparso nella riserva e livello massimo primaverile-inizio estate per ogni anno (da LÜTHY 2013).

2.2 Studi per valutare effetti del *Bti* su organismi non mirati a seguito dei trattamenti nella riserva

Al fine d'identificare eventuali effetti negativi causati dai regolari trattamenti a base di *Bti* sulla fauna di ditteri non mirati presente nella riserva delle Bolle di Magadino, sono state effettuate due diverse campagne di monitoraggio. Limite di questi monitoraggi è che il primo è avvenuto dopo già 10 anni di trattamenti (**Pollini Paltrinieri 2002**), per cui non è risultato possibile effettuare un confronto con dati precedenti sulla composizione, la diversità ed il numero delle popolazioni di ditteri all'interno dell'area della riserva. Tuttavia un confronto è fattibile fra aree trattate e non trattate come pure sull'arco temporale in anni successivi.

La prima campagna di campionamenti, effettuata fra il 1998 ed il 2001, non ha messo in evidenza alcuna influenza negativa del *Bti* sulla fauna di ditteri non mirati. Le fluttuazioni riscontrate nell'abbondanza di catture sono risultate essere legate nettamente alle variazioni del livello del lago. Dopo più di 10 anni di trattamenti si è ancora riscontrata una buona biodiversità nella fauna dei ditteri con larva nel terreno. In particolare l'abbondanza è stata quantificata in 5000 individui/m² all'anno, sono state identificate 146 specie diverse di ditteri, di cui 12 segnalate per la prima volta in Svizzera e 3 nuove per la scienza.

La successiva campagna di campionamenti, effettuata negli anni 2003 e 2004, ha confermato la variabilità dei risultati in relazione alle fluttuazioni del lago (**Pollini Paltrinieri 2010**). Non è stata dunque identificata, come per la campagna precedente, nessuna relazione tra le variazioni di abbondanza totale o relativa ed i trattamenti effettuati.

3 Sintesi di studi che valutano l'effetto del Bti su organismi non mirati

Gli effetti del *Bti* sugli organismi non mirati possono essere essenzialmente di due tipi: effetti diretti o effetti indiretti. Con effetti diretti si intende quelli compiuti direttamente sull'organismo in esame, vale a dire l'effetto che il *Bti* può avere su un organismo. Si parla di effetti indiretti quando il *Bti* colpendo un organismo, mirato o non mirato, causa un'alterazione nella rete ecologica su altri organismi ad esso correlati, come ad es. predatori, competitori o simbionti.

3.1 Effetti diretti su organismi non mirati

Nei lavori di revisione bibliografica di **Boisvert & Boisvert (2000)** e **Lacoursière & Boisvert (2004)** sono sintetizzati i diversi studi a livello mondiale sugli effetti su organismi non mirati fino al 2000.

In questi studi sono stati evidenziati effetti sul **15%** dei casi studiati. Per 98 taxa differenti si sono constati effetti indesiderati: nel 62% dei casi a causa di sovradosaggi da 5 a 1000 volte superiori a quelli consigliati per la lotta anti zanzare. Su questi 98 taxa sensibili, il 45% appartenevano alla famiglia dei Chironomidi. Questi studi hanno difatti hanno confermato che le famiglie di Ditteri più sensibili al *Bti* sono i **Culicidi, Simulidi, Chironomidi** e **Sciaridi**.

A contatto con **sovradosaggi importanti** altri gruppi di insetti (i Tricotteri, i Plecotteri, gli Effemerotteri, i Lepidotteri e gli Imenotteri) e altri taxa d'invertebrati (alcuni vermi, crostacei, Gasteropodi ed alghe) e pesci hanno segnalato effetti diretti negativi. (**Depres** et al. 2011)

Pochi studi a lungo termine sono stati effettuati prima del 2000 sugli effetti del *Bti* sulla struttura e la funzionalità degli ecosistemi. Fanno eccezione le considerazioni di **Hershey** *et al.* **(1998)** e **Niemi** *et al.* **(1999)**; secondo tali autori, a seguito di uno studio su 5 anni comprensivo di 3 anni di trattamenti, dopo 3 anni di trattamenti si sarebbe verificata una diminuzione nella ricchezza dei taxa e nel numero totale di invertebrati, ciononostante non è stato evidenziato alcun effetto su zooplancton e uccelli nidificanti. Secondo uno studio successivo (LACOURSIÈRE & BOISVERT 2004), che ha ripreso i lavori di **Hershey** e di **Niemi** nel **1997** e **1998**, tali effetti non si sono più verificati, nonostante i trattamenti ripetuti annualmente a partire dal 1991.

In uno studio condotto tra il 1998 ed il 2002 nel Nord Ovest della Francia da LAGADIC et al. (2002) sono stati monitorati il numero e l'abbondanza degli invertebrati acquatici non mirati e nessun effetto è stato evidenziato per le specie sentinella: Nereis diversicolor (policheta) e Chironomus salinarius (chironomide).

Uno studio comparativo tra due diverse formulazioni di *Bti* negli stessi habitat, condotto tra 2006 e 2007, non mostra alcun effetto sugli organismi d'importanza trofica per gli uccelli (**CAQUET 2011**). Va tuttavia preso in considerazione che in questo studio le concentrazioni di VectoBac[®] WG (Valent BioSciences) applicate sono inferiori a 1kg/ha.

ARAÚJO-COUTINHO *et al.* pubblicano nel **2003** i risultati di 3 anni di lavoro (1995-1997) in cui studiano e comparano gli effetti sulla fauna non mirata di due diversi pesticidi utilizzati per il controllo di Simulidi, nello stato di Rio de Janeiro in Brasile. Tale studio riguarda ambiente lotico,

cioè di acque correnti, per cui i risultati sono difficilmente confrontabili con ciò che ci si potrebbe aspettare in una zona come quella trattata alle Bolle di Magadino, dove si combattono le zanzare in acque ferme. I metodi d'applicazione e i possibili effetti dunque variano. Questo lavoro non ha comunque permesso di evidenziare, per quanto riguarda l'uso del *Bti*, nessuna differenza significativa tra zone trattate e non trattate nell'abbondanza delle famiglie di *Chironomidae* e *Blephariceridae* (*Diptera*), *Baetidae* e *Hydropsychidae* (*Trichoptera*), *Megapodagrionidae* (*Odonata*).

Tra il 2006 ed il 2007 sulla costa atlantica francese CAQUET et al. (2011) studiano l'effetto dei trattamenti del Bti su Nereis diversicolor (policheta), Corophium volutator (crostaceo) e larve di Chironomidi, non trovando effetti negativi. In uno dei due anni di studio nelle zone trattate viene inoltre riscontrata, dopo i trattamenti, un'abbondanza significativamente maggiore di Idrozoi, Chironomidi e Oligocheti. Gli autori ricordano come siano di grande importanza nella struttura delle comunità la variabilità dei fattori ambientali. Tale variabilità è molto importante nelle zone soggette ad allagamenti temporanei o grandi cambiamenti di livello dell'acqua, poiché da questi dipendono strettamente altri parametri, quali la temperatura, la concentrazione dei nutrienti e la salinità.

LAGADIC et al. (2014) affermano, dopo uno studio condotto tra il 2006 ed il 2012 sempre sulla costa Atlantica francese, che l'uso a lungo termine del prodotto a base di Bti, il VectoBac[®] WG (Valent BioSciences), non mostra avere influenza sulla struttura e sull'abbondanza di taxa nella comunità di invertebrati acquatici non mirati. Influenze sui taxa sono piuttosto attribuibili alla variabilità dei fattori abiotici. Gli autori suggeriscono che sarebbe importante poter effettuare tali studi su un arco temporale abbastanza ampio da comprendere i diversi scenari di variabili ambientali.

Nel parco francese della Camarga, 2 anni di monitoraggio hanno evidenziato la possibile e preoccupante scomparsa di una specie di libellula: Oxigastra curtisii (JAKOB 2010). Tale scomparsa è stata messa in relazione con i trattamenti con Bti. La breve durata del monitoraggio in questione ed il metodo di campionamento richiedevano, per verificare tale ipotesi, maggiori approfondimenti e il proseguirsi dei rilievi, come suggerito dall'autore del rapporto. La ripetizione dello studio nel 2010 ha permesso di confermare che la ricchezza generale in specie è effettivamente minore laddove vengono effettuati i trattamenti rispetto alla zona di controllo, per cui è possibile una diseguaglianza di partenza degli habitat confrontati e gli stessi autori dello studio segnalano la necessità di prendere tali risultati con prudenza, a causa dei numerosi imprevisti che hanno influenzato i campionamenti (Bourrié 2010)

Sempre in Camarga uno studio condotto tra il 2006 ed il 2009 (FAYOLLE & FRANQUET 2010), mirato ad evidenziare parallelamente eventuali effetti del *Bti* su Chironomidi e alghe, mostra in 2 casi su 3 un aumento dell'emersione di Chironomidi dopo i trattamenti. Nel caso rimanente è evidenziata una minor emersione di Chironomidi appartenenti alla tribù dei *Tanytarsinae*, per la quale non è possibile escludere un effetto dovuto al *Bti*. Per quanto riguarda invece la presenza di alghe nelle zone trattate è stato rilevato un aumento delle densità cellulari di fitoplancton con una grande variabilità fra gli anni. Tale aumento e variabilità potrebbero essere riconducibili a fattori differenti, come una maggiore eutrofizzazione dovuta ai trattamenti, irrigazione e precipitazioni variabili o effetti a lungo termine del *Bti*. Gli autori mettono in evidenza infine come la tendenza all'aumento algale sia da monitorare, essa infatti può contribuire a prolungare

nel tempo l'effetto del *Bti* (i tappeti algali trattengono il particolato di *Bti* ed essendo habitat privilegiato per le larve di Chironomidi possono prolungare l'effetto, come segnalato in **Boisvert & Lacoursière 2004).**

EDER & SCHÖNBRUNNER (2010) pubblicano i risultati di un lavoro mirato a determinare la tossicità del *Bti* su tre specie di brachiopodi (*Triops cancriformis, Branchipus schaefferi* e *Leptestheria dahalacensis*) per cui sottopongono giovani stadi postlarvali delle tre specie a dosi di *Bti* da 1 a 1000 volte la dose consigliata. Nessuna differenza significativa viene riscontrata tra la mortalità e la longevità nei test e nei controlli, che risulta essere sempre elevata. *T. cancriformis* inoltre mostra una maggior capacità di sopravvivenza ai trattamenti. Gli autori ipotizzano a tal proposito un utilizzo delle proteine contenute nel prodotto come fonte alimentare. Questo studio è tuttavia uno studio condotto in laboratorio e su breve periodo, per cui i suoi risultati non sono confrontabili con studi fatti in ambiente naturale.

Mansouri et al. nel 2013 pubblicano i risultati di uno studio in cui verificano la tossicità del *Bti* su *Eylais hamata* (acaro) e *Physa marmorata* (gasteropode). Gli autori evidenziano un effetto negativo sul gasteropode dopo 12 giorni, e nessun effetto significativo sull'acaro. Gli autori ipotizzano che la differenza di mortalità di cui sopra, dopo 12 giorni, sia dovuto ad un effetto dannoso sull'intestino del gasteropode, cumulato poiché la somministrazione di *Bti* avveniva ogni 3 giorni a seguito dei quali veniva valutata la mortalità dopo 24, 48 e 72 ore. Inoltre, l'attività del GST (proteina prodotta dall'animale per il processo di detossificazione) è risultata essere più elevata dopo le 48h in *Physa marmorata*. L'effetto cumulato dello stress che tale detossificazione causa all'animale potrebbe essere in parte responsabile dell'aumento di mortalità.

Anche questo studio, come il precedente, è svolto in laboratorio, per cui valgono le stesse considerazioni.

Un altro studio effettuato in laboratorio, sull'arco di 3 anni, in California (**Drake** *et al.* **2000**) ha dimostrato che il *Bti*, utilizzato secondo le dosi consigliate dal produttore, non ha effetti significativi sulla sopravvivenza del crostaceo *Brachinecta lindahli*.

Sempre da uno studio in laboratorio, in Florida nel 2007, che aveva lo scopo di individuare il miglior pesticida da utilizzare contro i Chironomidi nocivi, si identifica il *Bti* come migliore opzione, essenzialmente a causa dei minori effetti su altri organismi non mirati (Au et. al 2009).

Altro studio comparativo sull'effetto e l'efficacia di diversi larvicidi è anche quello condotto da Marina et al. (2014) nello stato del Chapas in Messico, in ambiente naturale. Il confronto fra tre diversi prodotti (Spinosad[®]; Vectobac[®] WDG e Temephos[®]) suggerisce come miglior larvicida contro le zanzare lo Spinosad, pur evidenziando la necessità di approfondire le conoscenze sui suoi effetti sugli organismi non mirati. Gli autori riconfermano infatti che il *Bti* ha il minor effetto sul numero di specie e generi.

Sempre in ambiente naturale, i risultati di uno studio condotto in Svezia tra il 2002 ed il 2007 (VINNERSTEN et al. 2010) evidenziano l'assenza di effetti negativi sulla produzione di Ceratopogonidi (Ditteri). Nessun effetto negativo dei trattamenti *Bti* sull'emergenza generale degli insetti viene rilevato dagli autori in questo studio. Ciò è in accordo con i lavori di Boisvert & Boisvert 2000, Davis & Peterson 2008 e Lundström et al. 2009b. I cambiamenti rilevati nella

struttura della comunità sono ricondotti statisticamente alla variabilità ambientale e di habitat, legata ad esempio all'idrologia e la copertura della vegetazione.

Lundström et al. (2010) inoltre concludono che nessun effetto negativo è stato evidenziato per i Chironomidi, la famiglia d'insetti maggiormente sensibile tra gli organismi non mirati. Quattro specie per contro sono risultate essere più abbondanti ed una meno abbondante, sul lungo termine, nelle zone trattate. Gli autori concludono che, poiché non è stata rilevata alcuna differenza significativa nella produzione, intesa in termini di biomassa, non si aspettano nemmeno effetti sulle specie predatrici di Chironomidi come uccelli, pipistrelli e altri predatori generalisti.

3.2 Effetti indiretti su organismi non mirati

Il problema degli effetti indiretti si pone se si vuole considerare quale impatto la diminuzione di Culicidi in un area, sia come larve sia come adulti, possa avere sulla rete trofica. Le zanzare infatti, nei loro differenti stadi, hanno più predatori possibili. Questi appartengono ai gruppi più svariati, dai mammiferi (pipistrelli) ai macroinvertebrati (ad esempio crostacei) passando per uccelli (rondini, storni), rane, salamandre, pesci, ragni e diversi insetti (libellule, Plecotteri, Coleotteri ed altri). Detto ciò appare evidente come le zanzare siano un'importante presenza nella rete trofica.

La maggior parte dei ricercatori è d'accordo con l'affermazione che il contenuto dello stomaco di un predatore riflette la disponibilità di prede. Da ciò si può dedurre che, a meno di una riduzione di più fonti trofiche contemporaneamente, la riduzione della disponibilità di una fonte può essere bilanciata grazie alle altre predi possibili viste le numerosi connessioni presenti in una rete trofica.

Il rapporto finale di uno studio di eventuali effetti della lotta alle zanzare in Camarga sull'attività e l'efficacia di caccia dei pipistrelli (KAPFER 2010) mette in relazione le differenze nell'attività con il periodo della stagione più che con la presenza o meno di trattamenti. In particolare l'attività di caccia dei pipistrelli è risultata non essere influenzata dai trattamenti nella stagione secca, prima delle abbondanti piogge di settembre, e negativamente influenzata dopo di esse, cioè nel periodo di maggior emergenza delle loro prede. Questo rapporto conclude dunque che nei periodi dopo le grandi piogge caratterizzati da elevate emergenze di zanzare, i pipistrelli cacciano preferibilmente e più efficacemente nelle zone non trattate.

ÖSTMAN et al. (2008), in uno studio effettuato nel 2006 nella zone del Lago Färnebofjärden in Svezia, evidenziano come la diminuzione delle larve di Culicidi abbia un effetto sulla comunità di protozoi (organismi monocellulari) acquatici. Si tratta del primo studio su larga scala che mostra l'effetto positivo del controllo delle zanzare sulle comunità di protozoi. In particolare la densità di protozoi nelle zone trattate a *Bti* risulta essere molto maggiore(> 60%), come anche la loro variabilità tassonomica. Gli autori evidenziano inoltre una correlazione positiva tra densità e variabilità tassonomica.

Nel **2010 Poulin** et al. pubblicano uno studio sull'impatto dei trattamenti con *Bti* in Camarga sul Balestruccio. Tale studio evidenzia come la diminuzione della disponibilità di Ditteri nelle zone

trattate dia luogo ad una diminuzione dei predatori che, originando una reazione a cascata, porterebbe a modificazioni del successo riproduttivo del Balestruccio, quantificando in media in un piccolo in meno che lascia il nido nel confronto tra aree trattate (2,3 piccoli all'involo/nidiata) e non trattate (3.2 piccoli all'involo/nidiata). Tuttavia nello studio il confronto tra aree trattate e aree controllo (senza trattamenti) e i relativi parametri idrometrici non sono stati descritti e parametrizzati per cui il confronto rimane delicato. Tali dati andrebbero approfonditi, considerando le diverse variabili ambientali e di habitat fra le zone trattate e non.

Alle Bolle di Magadino e alla foce della Maggia, subito a ridosso delle zona trattate regolarmente con VectoBac G[®], esistono le due colonie di Balestrucci più grandi della Svizzera (con centinaia di nidi). L'aspetto confortante è che dalla fine degli anni ottanta del secolo scorso (da quando si è iniziato a fare i trattamenti contro le zanzare) la colonia della Foce della Maggia è più che raddoppiata, mentre quella nelle Bolle di Magadino è perlomeno stabile con variabilità annuale legata piuttosto alle condizioni climatiche, per esempio la primavera 2012 con ondate di freddo in maggio che causarono la morte di tutte le primi nidiate. Queste due colonie e il loro andamento nel tempo assumono quindi anche una valenza importante quali sentinelle rispetto agli effetti dei trattamenti sulle larve di zanzare negli habitat contigui.

4 Bibliografia

- ALI A., LECKEL JR. R., JAHAN N., AL-SHAMI S. A. & RAWI S (2009). Laboratory and field investigations of Pestiferous Chironomidae (Diptera) in some man-made wetlands in Central Florida, USA. *Journal of the American Mosquito Control Association* 25.1 (2009): 94-99.
- ARAÚJO-COUTINHO C., BARROS PINTO VIVIANI CUNHA A., MAUÉS SERRA-FREIRE N., PINTO DE MELLO R. (2003). Evaluation of the impact of Bacillus thuringiensis serovar israelensis and Temephos, used for the control of Simulium (Chirostilbia) pertinax Kollar, 1832 (Diptera, Simuliidae) on the associated entomofauna, Paraty, state of Rio de Janeiro, Brazil." *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 98.5 (2003): 697-702.
- **BOISVERT M & BOISVERT J. (2000).** Effects of Bacillus thuringiensis var. israelensis on target and nontarget organisms: a review of laboratory and field experiments. *Biocontrol science and Technology* 10.5 (2000): 517-561.
- **BOISVERT J. & LACOURSIERE J. O. 2004**. Le Bacillus thuringiensis israelensis et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. *Envirodoq no ENV/2004/0278, Ministère de l'Environnement, Québec,* 2004.
- **BOURRIÉ F. (2010).** Suivi de l'impact de la démoustication sur la population d'Odonates en Camargue. Rapport de stage en BTSA GPN. (2010): 40pp.
- **CAQUET T., ROUCAUTE M., LE GOFF P. & LAGADIC L. (2011)**. Effects of repeated field applications of two formulations of Bacillus thuringiensis var. israelensis on non-target saltmarsh invertebrates in Atlantic coastal wetlands. *Ecotoxicology and environmental safety* 74.5 (2011): 1122-1130.
- CHARLES J.-F. & NIELSEN-LEROUX C. (2000). Mosquitocidal bacterial toxins: diversity, mode of action and resistance phenomena. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* 95 (2000): 201-206.
- **DEPRES L., LAGNEAU C., & FRUTOS R. (2011).** Using the Bio-Insecticide Bacillus thuringiensis israeliensis in Moschito control., Pesticides in the Modern World Pests Control and Pesticides Exposure and Toxicity Assessment, *Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.):* Cap. 6, 84-126
- DRAKE C., GOLDSWORTHY A., OWEN P., NUGUID PAULA C. & PATTERSON L. J. (2000). Toxicological Responses to Bacillus thuringiensis israelensis: Mortality Comparisons of two Vernal Pool Inhabitants. The UCI Undergraduate Research Journal (2000): 6pp.
- EDER E. & SCHÖNBRUNNER I. (2010). Toxicity of Bacillus thuringiensis israelensis on the nontarget organisms Triops cancriformis, Branchipus schaefferi, Leptestheria dahalacensis (crustacea: Branchiopoda: Notostraca, anostraca, spinicaudata). The Open Environmental Pollution & Toxicology Journal 2 (2010): 16-20.
- **CHAPPUIS S. (2002).** Approche moléculaire de l'impact de *Bacillus thuringiensis israelensis* en tant que biopesticide. Université de Genève (2002), Faculté des Sciences, Thèse n°3377.
- **CHAPPUIS S. (1999).** Impatto di *Bacillus thuringiensis israelensis* sugli ecosistemi del Piano di Magadino, dopo 10 anni di applicazione, per il controllo della zanzara *Aedes vexans*. Resoconto della bibliografia. *Boll. Soc. tic. Scie. nat* (1999), 87:15-27.
- **FAYOLE S. & FRANQUET E. (2010).** Mise en place d'un suivi écologique en parallèle à des opérations de démoustication au Bti sur le périmètre du Parc Naturel Régional de Camargue. Diptères chironomidés et algues. Rapport final de 3^e année, Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie.
- **FLACIO E. (2002).** Sulla resistenza di *Aedes vexans* nei confronti di *Bacillus thuringiensis israelensis*. Università degli Studi di Milano (2002), Facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali, Corso di laurea in Scienze Biologiche, Indirizzo Biologico Ecologico, Matr. n°459601.

- FLACIO E., ROSSI-PEDRUZZI A., BERNASCONI-CASATI E., PATOCCHI N. (2014). Culicidae fauna from Canton Ticino and report of three new species for Switzerland. Schweiz Entomol Gesell. (2014), 87: 163-182.
- GUIDI V., PATOCCHI N., LÜTHY P., TONOLLA M. (2011). Distribution of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* in Soil of a Swiss Wetland Reserve after 22 Years of Mosquito Control. *Applied and Environmental Microbiology* (2011). 77: 3663-3668.
- HERSHEY A. E., LIMA A. R., NIEMI G. J. & REGAL R. R. (1998). Effects of Bacillus thuringiensis israelensis (BTI) and methoprene on non target macroinvertebrates in Minnesota wetlands. *Ecological Applications* 8.1 (1998): 41-60.
- JAKOB C. (2010). Résultats du suivi écologique en parallèle à des opérations de démoustication au BTI sur le périmètre du Parc Naturel Régional de Camargue Partie ODONATES. (2010).
- **KAPFER G. (2010).** Ètude de l'influence du Bti sur les populations de Chiroptères dans le cadre des campagnes de démoustication en Camatgue." Rapport final, (2010) : 9pp
- **LACOURSIERE J. & BOISVERT J. (2004).** Le Bacillus thuringiensis israelensis et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. *Environnement Québec*, 2004.
- **LAGADIC L., ROUCAUTE M. & CAQUET T. (2014).** "Bti sprays do not adversely affect non-target aquatic invertebrates in French Atlantic coastal wetlands." *Journal of Applied Ecology* 51.1 (2014): 102-113.
- LUNDSTRÖM J. O., SCHÄFER M. L., PETERSSON E., PERSSON VINNERSTEN T. Z., LANDIN J. & BRODIN Y. (2010). Production of wetland Chironomidae (Diptera) and the effects of using Bacillus thuringiensis israelensis for mosquito control. *Bulletin of Entomological Research* 100.01 (2010): 117-125.
- LÜTHY P. (1987). Das Steckmückenproblem im Einzugsbereich der Bolle di Magadino. Magadino: Fondazione Bolle di Magadino, 21pp.
- LÜTHY P. (2001). La lotta biologica contro le zanzare alle Bolle di Magadino. In: Dadò editore, Contributo alla conoscenza delle Bolle di Magadino. Magadino: Fondazione Bolle di Magadino: 139-148.
- LÜTHY P. (2014). Rapporto sul controllo delle zanzare nel comprensorio del Piano di Magadino durante il 2013 e Resoconto attraverso 25 anni d'impiego. Gruppo di lavoro Zanzare, Cantone Ticino, gennaio 2014. Report: 12 pp.
- MANSOURI M., BENDALI-SAOUDI F., BENHAMED D. & SOLTANI N. (2013). Effect of Bacillus thuringiensis var israelensis against Culex pipiens (insecta: Culicidae). Effect of Bti on two non-target species Eylais hamata (Acari: Hydrachnidia) and Physa marmorata (Gastropoda: physidae) and Dosage of their GST biomarker. *Annals of Biological Research*, 4.11 (2013): 85-92.
- MARGALITH Y. & BEN-Dov E. 2010. Biological control by Bacillus thuringiensis subsp. israelensis. In Rechcigl, Jack E., e Nancy A. Rechcigl. Insect Pest Management: Techniques for Environmental Protection. CRC Press, pp. 243-304.
- MARINA C. F., BOND J. G., MUÑOZ J., VALLE J., NOVELO-GUTIÉRREZ R. & WILLIAMS T. (2014). Efficacy and non-target impact of spinosad, Bti and temephos larvicides for control of Anopheles spp. in an endemic malaria region of southern Mexico. *Parasites & Vectors* 7 (2014): 55.
- NIEMI G. J., HERSHEY A. E., SHANNON L., HANOWSKI J. M., LIMA A., AXLER R. P. & REGAL R. R. (1999). Ecological effects of mosquito control on zooplankton, insects, and birds. *Environmental Toxicology and Chemistry* 18.3 (1999): 549-559.
- ÖSTMAN Ö., LUNDSTRÖM J. O. & PERSSON VINNERSTEN T. Z. (2008). "Effects of mosquito larvae removal with Bacillus thuringiensis israelensis (Bti) on natural protozoan communities." *Hydrobiologia* 607.1 (2008): 231-235.

- **POLLINI PALTRINIERI L. (2002).** Utilizzo del larvicida Bti in ecosistemi naturali ed effetti sulla fauna ditterologica non mirata (non target) nella riserva delle Bolle di Magadino (Ticino, Svizzera). Risultati delle campagne 1998-2001. Fondazione Bolle di Magadino (2002). Rapporto interno: 51 pp.
- **POLLINI PALTRINIERI L. (2010).** Utilizzo del larvicida Bti in ecosistemi naturali ed effetti sulla fauna ditterologica non mirata (non target) nella riserva delle Bolle di Magadino (Ticino, Svizzera). Risultati delle campagne 2003-2004. Fondazione Bolle di Magadino (2010). Rapporto interno: 47 pp.
- **POULIN B., LEFEBVRE G. & PAZ L. (2010).** Red flag for green spray: adverse trophic effects of Bti on breeding birds. *Journal of Applied Ecology* 47.4 (2010): 884-889.
- VINNERSTEN T. Z., LUNDSTRÖM J. O., SCHÄFER M. L., PETERSSON E. & LANDIN J. (2010). A six-year study of insect emergence from temporary flooded wetlands in central Sweden, with and without Bti-based mosquito control. *Bulletin of Entomological Research* 100.06 (2010): 715-725.
- WHO WORLD HEALTH ORGANIZATION (1999). International programme on chemical safety (IPCS) Environmental Health Criteria: Bacillus thuringiensis israelensis. WHO-IPCS (1999), 217.