

ORESTE TRIGGIANI - CIRIL SIDOR
Istituto di Entomologia Agraria dell'Università di Bari ed
Institut Novi Sad, Jugoslavia

Prove di controllo microbiologico della Processionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff., *Lepid. Thaumetopoeidae*) nelle pinete in Puglia

La Processionaria del pino (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.) in Puglia, rappresenta un insetto molto dannoso in continua espansione e che ogni anno colonizza nuovi areali; non solo i rimboschimenti a pino, ma anche i giardini pubblici e privati ed i viali alberati con questa essenza vengono attaccati dal fitofago. Soprattutto nei giardini e nei parchi, la presenza di queste larve è oltremodo fastidiosa, poiché i loro peli urticanti allorché arrivino a contatto con la cute provocano irritazioni e pruriti.

Annualmente sulle Murge, ed in particolare nel bosco di « Pulicchie » (Gravina di Puglia), ove su un terreno povero e sassoso, sorge un rimboschimento a Pino d'Aleppo (*Pinus halepensis* Mill.) di età aggirantesi sui quindici anni, si verificano forti attacchi di questo Lepidottero.

Mentre nella gravina, ove il terreno è più abbondante, queste piante di pino raggiungono una altezza di oltre cinque metri, sui costoni la loro altezza varia da uno a tre metri ed alcune piante hanno altezza inferiore al metro.

Poiché in queste zone, per molteplici motivi (pascolo, possibili squilibri faunistici, ecc.) l'uso dei presidi sanitari chimici non è consigliabile, o per lo meno deve essere ridotto al minimo, sono state condotte prove di lotta contro questo fitofago con microrganismi patogeni per le larve dell'insetto, i quali, da quanto è riportato in bibliografia (HEIMPEL, 1971; IGNOFFO, 1965-1968) non sono tossici per l'uomo, gli animali e le piante ed inoltre, sono piuttosto specifici.

PROVE DEL 1979

Materiali e metodi

Durante il 1979, per poter stimare la necessità o meno di interventi di lotta contro questo fitofago, furono da uno di noi (TRIGGIANI) effettuate perio-

diche raccolte di ovature, le quali erano molto abbondanti e diffuse tanto che, su un centinaio di piante scelte a caso, si individuarono da un minimo di 5 fino ad un massimo di 25-28 ovature per ciascuna pianta. Queste ovature, poste in allevamento in laboratorio, risultarono parassitizzate da oofagi per il 45-52%. Poiché questa parassitizzazione, dato l'elevato numero delle uova, non era certo sufficiente a frenare adeguatamente lo sviluppo del fitofago, si ritenne opportuno un intervento di lotta.

Il 13 settembre, quando la maggioranza delle larve era nel secondo stadio e quindi più facile da controllare, si effettuò un trattamento con i seguenti prodotti:

- Dipterex (40% tricolorfon p.a.) alle dosi di 150 e 300 g/hl;
- Thuricide HP (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sierotipo 3a-3b, 16.000 U.I./mg⁽¹⁾) alle dosi di 150 e 300 g/hl).

Le piante furono scelte a caso, e per ogni prodotto furono effettuate 3 ripetizioni di 5 alberi ciascuna. Per il controllo (testimone) furono prese in considerazione 20 piante.

La giornata era priva di vento e per il trattamento si utilizzò una pompa a spalla a volume normale.

Al momento del trattamento sulle piante di pino ed anche in prossimità dei nidi della *T. pityocampa*, erano presenti numerosi Artropodi: Neurotteri Crispidi allo stadio adulto e larvale, larve ed adulti di Coleotteri Coccinellidi (soprattutto la *Coccinella septempunctata*), Ditteri adulti, Imenotteri Crisidi adulti, ninfe ed adulti di Rincoti, Aracnidi.

Subito dopo il trattamento (dopo che la sospensione batterica si fu asciugata sulle piante) da alcune piante scelte casualmente, si raccolsero tre fascetti di due aghi ciascuno e si collocarono in provette con 10 cc di acqua distillata sterile. Le provette erano state preventivamente schermate con carta stagnola per evitare una ulteriore disattivazione delle spore ad opera dei raggi ultravioletti (R.U.), durante il trasporto.

In laboratorio, dopo aver agitato il contenuto delle provette per 10', si provvide ad inoculare 10 piastre di agar⁽²⁾ con sette gocce di ciascuna sospensione (ogni goccia 0,03 cc). Le piastre furono incubate a $27^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ per 24 ore, in modo che da ogni spora si sviluppasse una colonia batterica e fosse così possibile risalire al numero delle spore del batterio al momento del trattamento.

(1) Unità Internazionale: nel 1966 a Wageningen (Olanda), fu proposto che l'efficacia del cristallo (endotossina) del *Bacillus thuringiensis* venisse determinata attraverso prove biologiche in cui, la DL_{50} di un campione di *B. thuringiensis* non noto, fosse comparata con quella del *B. thuringiensis* standard. A questo standard, preparato presso l'Istituto Pasteur di Parigi (Francia), fu assegnata una efficacia pari a 1.000 U.I./mg.

(2) Le piastre di agar erano costituite da Brain heart infusion + Bacto agar (Difco).

Per conoscere la vitalità delle spore del *B. thuringiensis* in pieno campo ed in tempi successivi, dopo 5 e 12 giorni dal trattamento si provvide ad inoculare altre piastre di agar, con la medesima metodologia sopra descritta.

Risultati in campo ed in laboratorio

Dopo 5 giorni, da ogni pianta trattata furono prelevati 2 nidi per controllare la mortalità larvale (Tab. 1); dal loro esame risultò che a tale data, il Dipterex, ad ambedue le dosi utilizzate, aveva ucciso non solo la totalità delle larve del Lepidottero ma anche tutta la entomofauna e gli Aracnidi presenti sulle piante prima del trattamento. Infatti, si ritrovarono morte sul terreno sottostante molte specie di Artropodi precedentemente citati. Invece, i nidi prelevati dalle piante trattate con il *B. thuringiensis*, mostravano il 20% (Thuricide 150 g/hl) ed il 30% (Thuricide 300 g/hl) delle larve morte sulla superficie ed all'interno dei nidi, mentre le larve superstiti presentavano evidenti segni di una paralisi imminente.

Sugli alberi trattati con il *B. thuringiensis* erano presenti anche dopo 5 giorni dal trattamento altri Artropodi i quali, non mostravano di aver subito danni.

In laboratorio, le piastre di agar inoculate con le sospensioni di *B. thuringiensis* subito dopo il trattamento, presentavano uno sviluppo di colonie batteriche così elevato che non fu possibile procedere al loro conteggio.

Le piastre inoculate dopo 5 giorni evidenziarono che alcune spore erano ancora vitali, ed infatti furono conteggiate in media 140 spore di *B. thuringiensis*/cc da piante trattate con 150 g/hl del Batterio, e 400 spore/cc sulle piante trattate con 300 g/hl di *B. thuringiensis*.

Da un ulteriore esame della mortalità larvale effettuato in campo dopo 12 giorni, si osservò che le piante trattate sia con 150 g/hl che con 300 g/hl del *B. thuringiensis* presentavano tutte le larve di *T. pityocampa* morte. Inoltre, gli altri Artropodi presenti prima del trattamento, a tale data, erano vivi e soprattutto abbondanti erano le larve dei Neurotteri Crisopidi e numerose forficule presenti nei nidi; sul terreno sottostante non si trovarono di questi Artropodi morti.

Di contro, i testimoni apparivano molto danneggiati dalle larve del Lepidottero e numerosi apici con gli aghi mangiucchiati e secchi, denotavano chiaramente l'azione del fitofago.

Dopo 12 giorni dal trattamento con il Batterio, alcune spore risultarono ancora vitali e precisamente: 37 spore/cc per 150 g/hl di *B. thuringiensis* e 53 spore/cc per 300 g/hl del Batterio.

Dai risultati delle prove effettuate si possono trarre le seguenti conclusioni:

- a) Il triclorfon (Dipterex) alle dosi impiegate, controlla in breve tempo ed in maniera drastica le larve della *T. pityocampa* nel secondo stadio di sviluppo, però distrugge anche gli altri Artropodi predatori delle larve o frequentatori occasionali del pino.
- b) Il *Bacillus thuringiensis*, alle dosi utilizzate ha un effetto più lento rispetto al precedente ma, dopo 5 giorni le larve a causa della paralisi dell'intestino, causato dalla ingestione del Batterio, interrompono di alimentarsi e quindi, il danno è molto limitato. Inoltre, il controllo delle popolazioni larvali del fitofago è stata totale e nel rispetto degli altri Artropodi.
- c) Le spore del *B. thuringiensis* hanno dimostrato un discreto tempo di carenza infatti, sebbene soggette alla progressiva disattivazione da parte dei R.U. del sole, le rimanenti furono in grado di controllare anche quelle larve che erano schiuse dopo 5-6 giorni del trattamento.

PROVE DEL 1982

Materiali e metodi

Nel 1980-81, non fu possibile effettuare ulteriori prove di lotta, in quanto il Corpo Forestale aveva provveduto durante l'inverno alla raccolta dei nidi contenenti le larve della *T. pityocampa*, in essi svernanti, ed alla loro distruzione tramite fuoco.

Nel settembre 1982 invece, in una zona del bosco di « Pulicchie » ove durante l'inverno precedente era stato trascurato il taglio dei nidi, essendo già in atto una discreta infestazione di larve del fitofago, si decise di intervenire con alcuni microrganismi patogeni per queste larve, provenienti dalla Jugoslavia, ove questo insetto è molto diffuso e dannoso.

Per le prove di lotta furono utilizzati quattro diversi ceppi di *Bacillus thuringiensis*:

- B. thuringiensis* (n. 2) = *Bactucide*, sierotipo 3a-3b (prodotto dalla Compagnia di Ricerca, Svizzera)
- B. thuringiensis* (n. 3) = *Baktukal*, sierotipo 1 (prodotto in Jugoslavia)
- B. thuringiensis* (n. 4) = *Bacillus thuringiensis*, sierotipo 3 (isolato da *Eurygaster austriaca* presso l'Istituto Pasteur, Novi Sad)
- B. thuringiensis* (n. 5) = *Bactucide* (lot. B-86/61), sierotipo 3 (prodotto dalla Compagnia di Ricerca Chimica, Svizzera)

I ceppi di questo Batterio furono impiegati ciascuno alla dose di 100 e 500 g/hl di acqua con l'aggiunta del 3% di melassa.

Furono anche sperimentati due *Baculovirus* (Virus della poliedrosi nucleare VPN) ed un *Reovirus* (Virus della poliedrosi citoplasmatica VPC), i quali causano epizoozie naturali tra le popolazioni larvali di *T. pityocampa* nei boschi della Jugoslavia.

I Virus da noi utilizzati provenivano dalla regione di Sezãna.

I Virus furono impiegati alle seguenti concentrazioni:

- *Baculovirus* (VPN) con poliedri tetragonali, alla concentrazione di 6×10^4 poliedri/cc;
- *Baculovirus* (VPN) con poliedri esagonali, alla concentrazione di 6×10^8 poliedri/cc;
- VPC + VPN, con poliedri tetragonali, alla concentrazione di 6×10^5 poliedri/cc.

Poiché i poliedri virali, se utilizzati allo stato puro vengono rapidamente inattivati dai R.U., queste sospensioni vennero impiegate parzialmente purificate cioè, frammiste a pezzetti del tegumento delle larve morte (MAGNOLER, 1968). Inoltre, a queste sospensioni si aggiunse il 3% di melassa quale ulteriore protettivo per i poliedri ed adesivante sugli aghi di pino.

Furono effettuate due ripetizioni, ciascuna di 2 alberi, per un totale di 9 nidi per ciascun bioinsetticida. Per il controllo (testimone) furono scelte a caso una ventina di piante.

Per il trattamento furono utilizzati nebulizzatori manuali e su ogni pianta, di altezza 1-2 m, si impiegò circa $\frac{1}{2}$ litro di sospensione batterica o virale.

Anche in queste prove furono presi in considerazione gli altri Artropodi presenti sugli alberi di pino prima del trattamento; essi non variavano per numero di specie e numero di individui da quelli notati negli anni precedenti sui pini.

Per seguire il decorso delle malattie da noi trasmesse tra le popolazioni larvali della *T. pityocampa*, dopo il trattamento, quando sugli aghi dei pini le sospensioni utilizzate si furono asciugate, si provvide alla asportazione di un nido da ogni pianta trattata e al trasporto in laboratorio.

Risultati in campo ed in laboratorio

Dagli esami effettuati in laboratorio sulle larve, provenienti da alberi trattati con i bioinsetticidi (Tab. 2), risultò come tutti i *B. thuringiensis* utilizzati per le prove esplicassero efficacemente la loro azione nei riguardi delle larve del fitofago, sia alla dose di 100 che a quella di 500 g p.c./hl. Dalle osservazioni

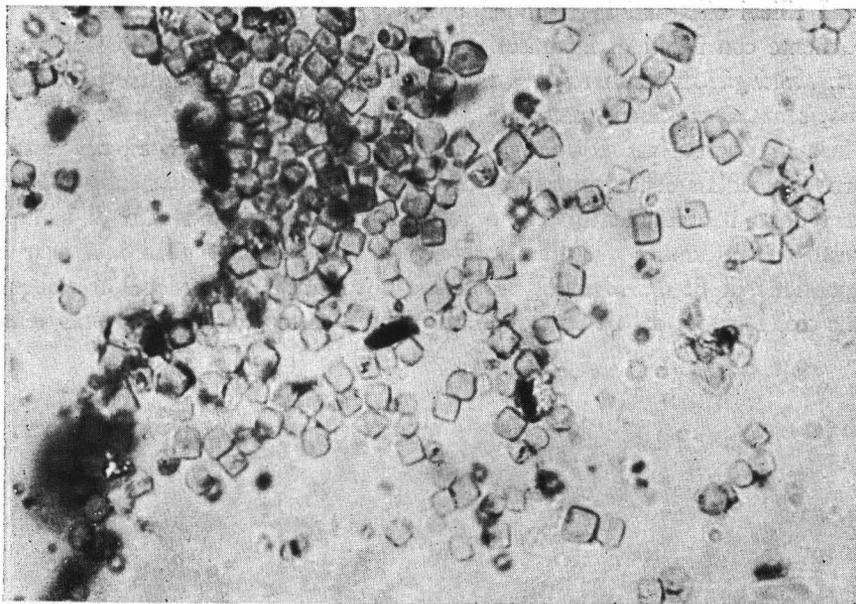


Fig. 1 - Poliedri tetragonali di poliedrosi nucleare delle larve della *Thaumetopoea pityocampa*. (Ingranditi circa 1750 volte).

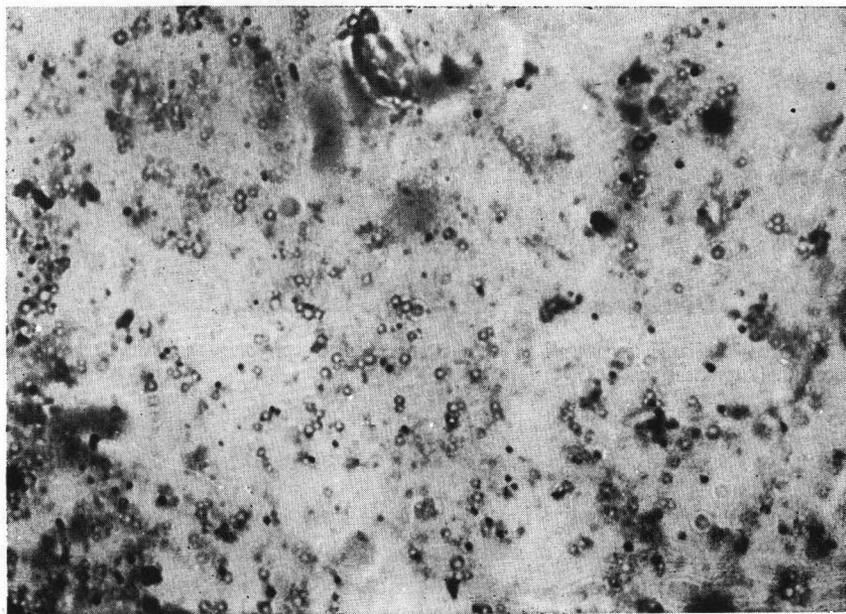


Fig. 2 - Piccoli poliedri di forma esagonale e rotondeggianti, riscontrati in larve di *T. pityocampa* infettate con poliedri tetragonali. (Ingranditi circa 1750 volte).

I rilievi effettuati in campo dopo 10 giorni dalle prove collimavano perfettamente con i dati di laboratorio; le larve che avevano ingerito i vari ceppi di *B. thuringiensis* risultarono, a tale data, tutte morte sui nidi e nel loro interno, senza aver abbandonato il nido originario. Inoltre, altre larve che erano schiuse in questo lasso di tempo, ad esclusione di quelle comparse qualche giorno immediatamente prima del controllo in campo (mediamente dopo 6-7 giorni dopo il trattamento), erano tutte morte nel primo stadio di sviluppo. Questo ci confermava quanto notato nel 1979 inoculando piastre di agar con sospensione di *B. thuringiensis*, effettuate dopo 5 e 12 giorni dal trattamento, e che cioè le spore del batterio presentavano un certo effetto residuo nel tempo.

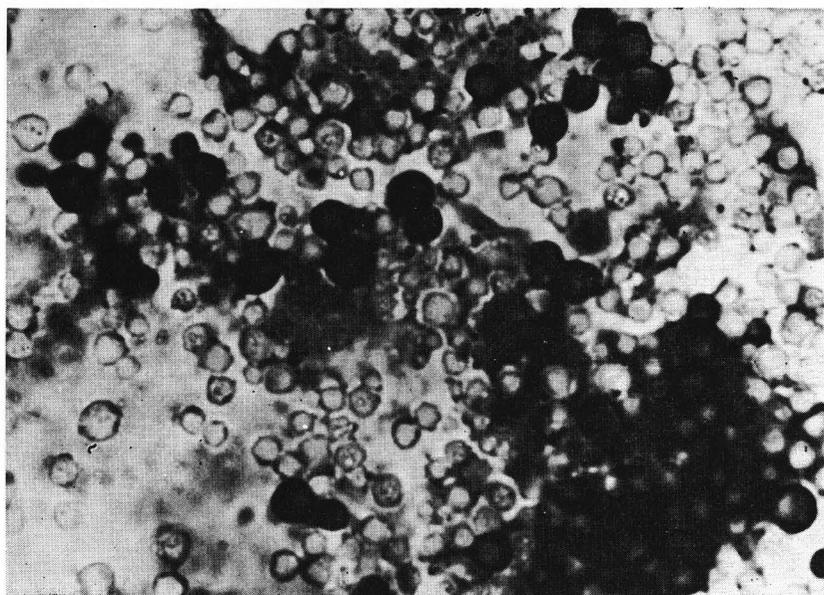


Fig. 3 - Grossi poliedri riscontrati nelle stesse larve di *T. pityocampa* infettate con poliedri tetragonali. (Ingranditi circa 1750 volte).

Le larve trattate con i Virus delle poliedrosi, portate in laboratorio dopo i trattamenti, cominciarono a mostrare i primi sintomi della malattia in atto dopo 5 giorni. Quelle che avevano ingerito i poliedri erano molto lente nei movimenti, e non si alimentavano. All'esame microscopico nei loro tessuti, a tale data, si notavano i primi poliedri.

SIDOR aveva accertato che le larve della *T. pityocampa*, proveniente da varie regioni della Jugoslavia, presentavano il Virus della poliedrosi citoplasmatica allo stato latente e che questo Virus, sotto l'influenza di « stressors », si moltiplicava all'interno delle larve causando grosse mortalità.

Durante i nostri esperimenti, allorché per infettare le larve di questo fitofago veniva utilizzato il Virus della poliedrosi nucleare, con poliedri tetragonali, nelle larve infettate si notavano anche poliedri di forma esagonale ed inoltre questi poliedri differivano in modo vistoso nelle loro dimensioni ed alcuni apparivano rotondeggianti (Figg. 1-2-3) ⁽³⁾.

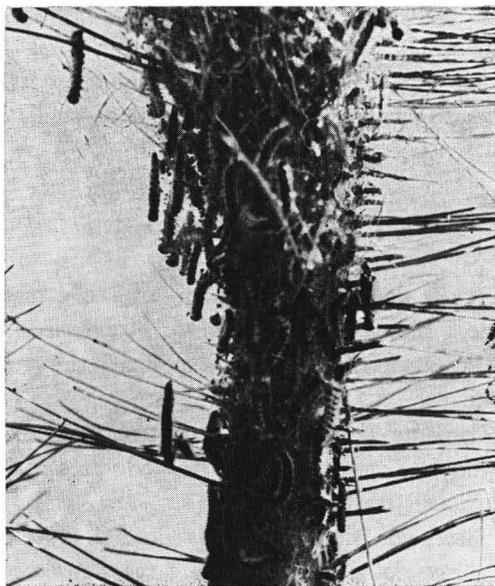


Fig. 4 - Larve di *T. pityocampa* morte per poliedrosi. Le larve sono morte all'esterno del nido e pendono dagli aghi e dai fili di seta.

Tra le popolazioni larvali trattate con il VPN con poliedri esagonali, per tutto il periodo della sperimentazione non si verificò alcuna mortalità. Questo è spiegabile in quanto si trattava di un Virus estratto dalla *Mamestra brassicae*

⁽³⁾ Sono in atto studi al microscopio elettronico per individuare la natura di questi poliedri.

(*Lep. Noctuidae*) in Jugoslavia. Di norma i Virus della poliedrosi nucleare sono piuttosto specifici, però le sperimentazioni condotte da SIDOR in Jugoslavia, avevano evidenziato una certa efficacia di questo Virus nei riguardi delle larve della *Thaumetopoea pityocampa*, per cui lo si era utilizzato per le nostre prove di lotta.

Dagli esami effettuati in campo, dopo 10 giorni dal trattamento si rilevò che, al contrario di quanto si era verificato per le larve che avevano ingerito il *B. thuringiensis*, le larve di *T. pityocampa* che avevano assunto il Virus, avevano abbandonato i nidi originari spostandosi su altri rami vicini. Da questi rami, che peraltro risultavano con gli aghi parzialmente mangiucchiati in prossimità del nuovo nido, si vedevano pendere in posizione tipica, cioè attaccate per un paio di pseudozampe e con la testa volta verso il basso, le larve del fitofago (fig. 4).

A tale data, cioè dopo 10 giorni dal trattamento, il 70-75% delle larve del Lepidottero, trattate con il VPN a poliedri tetragonali ed il 95% delle larve trattate con il VPC associato al VPN a poliedri tetragonali, erano morte.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Dai risultati emersi durante le prove di lotta effettuate nel 1979 e nel 1982, si rileva come i bioinsetticidi: *Bacillus thuringiensis* e VPN a poliedri tetragonali ed il VPC associato al VPN a poliedri tetragonali, abbiano dato risultati molto buoni.

Infatti, non solamente si è avuto un controllo efficace delle popolazioni larvali della *T. pityocampa* ma, gli altri Artropodi presenti sui pini non sono stati danneggiati da questi trattamenti.

Soprattutto il Bactucide sierotipo 3 alla dose di 500 g/hl ha dimostrato un effetto ottimo, riuscendo ad eliminare le larve del fitofago in un lasso di tempo molto breve anche rispetto agli altri ceppi del Batterio.

Inoltre, l'azione residua di tutti i ceppi del Batterio si è protratta per alcuni giorni colpendo anche le popolazioni larvali che schiudevano all'incirca entro una settimana dal trattamento.

Tra i Virus impiegati, il Virus della poliedrosi citoplasmatica associato al Virus della poliedrosi nucleare a poliedri tetragonali, ha avuto una efficacia migliore rispetto a quello della poliedrosi nucleare a poliedri tetragonali usato da solo ma, rispetto al *Bacillus thuringiensis* l'effetto dei Virus si è manifestato molto dopo rispetto a quello del Batterio, ed i danni procurati dalle larve al pino sono stati maggiori ma sempre trascurabili rispetto ai testimoni. Però, mentre il *B. thuringiensis* non perdura a lungo nell'ambiente ed i trattamenti

vanno ripetuti annualmente, i Virus hanno la possibilità di insediarsi tra le popolazioni larvali, di essere diffusi, di essere trasmessi da una generazione all'altra tramite le uova e di insediarsi stabilmente in una località e di qui diffondersi tramite i parassiti ed i predatori, divenendo uno dei fattori di mortalità naturali più importante (VAGO, 1966; BERGOIN, 1966; ENTWISTLE, 1978; BIRD, 1961). Molto importante è anche l'epoca del trattamento, che va effettuato quando le larve si trovano nei primi stadi larvali che sono i più recettivi alla malattia.

Un discorso a parte va fatto per il triclorfon (dipterex) il quale, a nostro parere, deve esser utilizzato solo in casi di estrema necessità ed in luoghi ben delimitati e non estesi, in quanto la sua azione è radicale e si esplica anche a danno degli altri Artropodi.

RIASSUNTO

Durante il 1979 ed il 1982 sono state condotte prove di lotta con microrganismi patogeni contro i primi stadi larvali della *Thaumetopoea pityocampa* in Puglia, nel bosco di Pulicchie.

Nel 1979 fu utilizzato il Thuricide HP (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* sierotipo 3a-3b) alle dosi di 150 e 300 g/hl, ottenendo la morte di tutte le larve in 12 giorni.

Nel 1982 si utilizzarono quattro ceppi di *Bacillus thuringiensis* (Bactucide sierotipo 3a-3b, Baktukal sierotipo 1, *Bacillus thuringiensis* sierotipo 3, Bactucide sierotipo 3), alle dosi di 100 e 500 g p.c./hl e due Virus della poliedrosi nucleare e citoplasmatica (Baculovirus VPN con poliedri tetragonali e VPN a poliedri tetragonali assieme ad un Virus della poliedrosi citoplasmatica).

Il Bactucide sierotipo 3 alla dose di 500 g p.c./hl risultò il migliore uccidendo le larve del fitofago in tempo più breve rispetto agli altri ceppi di *B. thuringiensis*.

Tra i Virus, il VPN associato al VPC ebbe una efficacia migliore rispetto al VPN utilizzato da solo.

SUMMARY

MICROBIAL CONTROL OF *Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF. (LEPID.: *Thaumetopoeidae*)
IN THE PINE-WOODS OF APULIA

During 1979 and 1982 experiments were carried out by using microorganisms against first instars of *Thaumetopoea pityocampa* in Pulicchie woods of Apulia.

In 1979 the Thuricide HP (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* ser. 3a-3b, 150-300 g/c.p./hl) gave good results killing all insects larvae within 12 days.

In 1982 four stocks of *B. thuringiensis* were used (*B. th.* n. 2 = Bactucide ser. 3a-3b; *B. th.* n. 3 = Baktukal ser. 1; *B. th.* ser. 3 from *Eurygaster austriaca*; *B. th.* n. 5 = Bactucide

ser. 3) at 100 and 500 g c.p./hl and two Viruses: a Baculovirus NPV with tetragonal polyedra shaped and the same NPV associated with a CPV, from Yugoslavia.

The *Bactucide* ser. 3 (500 g/c.p./hl) gave the best results killing all the larvae in a shorter time than those treated with *B. thuringiensis*. The Viruses NPV+CPV gave a better result than NPV used alone.

BIBLIOGRAFIA

- BERGOIN M., 1966 - Passage des corps d'inclusion de virus d'une polyédrie dans le tube digestif d'un Orthoptère detritivore « *Acheta domesticus* L. ». *Entomophaga*, 11, 253-259.
- DIRD F. T., BURK J. M., 1961 - Artificially disseminated Virus as a factor controlling the European Spruce Sawfly, *Diprion hercyniae* (Htg) in the absence of introduced parasites. *Can. Ent.*, 93, 228-238.
- ENTWISTLE P. F., ADAMS P. H. W., EVANS H. F., 1978 - Epizootiology of a Nuclear Polyhedrosis Virus in European Spruce Sawfly (*Gilpina hercyniae*): the rate of passage of infective virus through the gut of bird during cage tests. *Journ. Invert. Path.*, 31, 307-313.
- IGNOFFO C. M., 1968 - Specificity of Insect Viruses. *Boll. Ent. Soc. Amer.*, 14, 265-276.
- IGNOFFO C. M., HEIMPEL A. M., 1965 - The Nuclear Polyhedrosis Virus of *Heliothis zea* (Bodd.) and *Heliothis virescens* (Fab.) V. Toxicity Pathogenicity of Virus to White Mice and Guinea Pigs. *Journ. Invert. Path.*, 7, 329-340.
- MAGNOLER A., 1968 - Laboratory and field experiments on the effectiveness of purified and non-purified Nuclear Polyhedral Virus of *Lymantria dispar*. *Entomophaga*, 13, 335-344.
- TRIGGIANI O., 1980 - Controllo degli insetti fitofagi per mezzo dei microrganismi patogeni. In « Prospettive di controllo biologico degli insetti in agricoltura ». CNR AQ/1/51-56.