

ANNALI

DELLA FACOLTÀ DI AGRARIA DELL'UNIVERSITÀ

_____ SASSARI _____

DIRETTORE: P. BULLITTA

COMITATO DI REDAZIONE: P. BRANDANO - P. BULLITTA - P. DEIDDA
M. GREPPI - L. IDDA - F. MARRAS - G. PALMIERI - A. VODRET

studi sassaresi

ORGANO UFFICIALE
DELLA SOCIETÀ SASSARESE DI SCIENZE MEDICHE E NATURALI



**IMPIEGO DEL *BACILLUS THURINGIENSIS* BERL.
NELLA LOTTA ALLA *LYMANTRIA DISPAR* L. IN BOSCHI DI *QUERCUS SUBER* L.
III. RISULTATI DELLA SPERIMENTAZIONE CONDOTTA NEL 1992⁽¹⁾**

Pietro LUCIANO⁽²⁾, Andrea LENTINI⁽³⁾, Romolo PROTA⁽⁴⁾,
Marcello VERDINELLI⁽⁵⁾, Pietrino DEIANA⁽⁶⁾

RIASSUNTO

Nel 1992, in una sughereta della Sardegna settentrionale, è stata condotta una prova di lotta contro *L. dispar*, impiegando tre preparati a base di *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*: Activator THK, Bactospeine e Foray 48B. I prodotti sono stati distribuiti con elicottero, i primi due a basso volume ed il terzo ad ultra basso volume, quando l'80-90% della popolazione era costituito da larve di I-II età. Dopo 14 giorni dai trattamenti, l'Activator (distribuito alla dose di 5 l/ha) non ha causato significative riduzioni della popolazione, mentre il Bactospeine (32 miliardi di U.I./ha) ed il Foray 48B (31,75 miliardi di U.I./ha) hanno determinato mortalità medie rispettivamente del 40% e del 53%. Tutti i preparati si sono dimostrati compatibili con l'attività degli antagonisti naturali di *L. dispar*. Le limitate mortalità ottenute rispetto a precedenti prove di lotta si ritengono dovute alle basse temperature medie, varianti tra 13,9 e 16,8 °C, della settimana successiva al trattamento che hanno rallentato l'alimentazione ed il metabolismo delle larve quando maggiore era la presenza di spore sul fogliame.

Parole chiave: *Bacillus thuringiensis*, Applicazioni aeree, Influenza della temperatura.

SUMMARY

Utilization of *Bacillus thuringiensis* Berl. to control the gypsy moth in Sardinian cork oak forests. III. Results of the tests carried out in 1992

The study was carried out in a North Sardinian cork oak forest in 1992. To control the gypsy moth population three commercial preparations of *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* were applied by helicopter: Activator THK and Bactospeine at low volume and Foray 48B at ultra low volume, when 80-90% of the gypsy moth larvae were in 1st and 2nd instars. At 14d after treatment, Activator (applied at 5 l/ha) did not cause significant population reductions, while Bactospeine (applied at 32 B.I.U./ha) and Foray 48B (applied at 31.75 B.I.U./ha) caused average mortalities respectively of 40 and 53%. All preparations showed a good compatibility with the activity of the gypsy moth natural enemies. Smaller mortalities, compared with previous tests, seem to be related with the low average temperatures, between 13.9 and 16.8 °C, of the post-treatment week which slowed down both feeding and metabolism of the larvae just when there was the largest amount of spores on the foliage.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, Aerial spray, Effect of temperature.

⁽¹⁾ Ricerca effettuata con il finanziamento del Ministero dell'Agricoltura e Foreste nell'ambito del Progetto Finalizzato "Lotta biologica e integrata per la difesa delle piante agrarie e forestali" - Sottoprogetto "Piante forestali".

⁽²⁾ Professore associato di Entomologia delle piante ortensi, da fiore e ornamentali. Istituto di Entomologia agraria della Facoltà di Agraria dell'Università di Sassari - Via E. De Nicola - 07100 Sassari - Tel. 079/229245.

⁽³⁾ Tecnico laureato. Ibidem.

⁽⁴⁾ Professore ordinario di Entomologia agraria. Ibidem.

⁽⁵⁾ Borsista dell'Istituto di Ricerca sull'Inquinamento Ambientale, C. N. R., Sassari.

⁽⁶⁾ Professore associato di Microbiologia lattiero-casearia. Dipartimento di Scienze Ambientali Agrarie e di Biotecnologie Agroalimentari dell'Università di Sassari.

PREMESSA

Per limitare le estese defogliazioni operate periodicamente da *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera Lymantriidae) nelle sugherete della Sardegna (15), che si traducono in una notevole riduzione della produzione subericola (3) ed in un considerevole danno economico alle attività di trasformazione del sughero (8), con sempre maggiore frequenza vengono sollecitati alle Amministrazioni pubbliche interventi di contenimento del fitofago in questione. Per dare una concreta risposta a tale domanda si sono avviate ormai da un quadriennio prove di lotta microbiologica, che attualmente risulta l'unico metodo d'intervento a più basso impatto sugli equilibri ambientali (9). Infatti, la recente disponibilità di diversi preparati microbiologici a base di *Bacillus thuringiensis* Berl. subsp. *kurstaki* e l'adozione di nuovi e più puntuali criteri di distribuzione degli stessi consentono risultati soddisfacenti nel contenimento della popolazione del defogliatore (10) (11). Nel presente lavoro vengono riportati i risultati della sperimentazione condotta nella primavera del 1992 impiegando tre differenti formulati. Allo scopo di evitare nella valutazione dell'efficacia dei singoli preparati differenze imputabili alla diffusione attiva delle larve di *L. dispar*, si è operato su un'area forestale della Sardegna nord-orientale nella quale la popolazione del fitofago aveva una densità abbastanza contenuta.

METODOLOGIE SPERIMENTALI

I prodotti saggiati nel corso dell'esperienza sono stati l'Activator THK (commercializzato dalla Bionova s.r.l. di Castiglione Olona [Varese]), il Bactospeine (commercializzato dalla SIAPA e prodotto dalla DUPHAR B.V. Weesp, Holland) ed il Foray 48B (prodotto dalla Novo Nordisk Bio Industriale A/S, Bagsvaerd in Danimarca).

L'Activator THK, formulato come liquido (di cui non è attualmente nota la potenza in unità internazionali [U.I.]) è stato distribuito a basso volume alla dose di 5 l/ha con l'aggiunta di 50 l/ha di acqua.

Il Bactospeine, formulato come polvere bagnabile e caratterizzato da una potenza di 16 miliardi di U.I. per kg, è stato distribuito a basso volume, alla dose di 2 kg/ha (corrispondenti a 32 miliardi di U.I./ha) con l'aggiunta di 50 l/ha di acqua.

Il Foray, formulato come pasta fluida per applicazioni aeree ad ultra basso volume e caratterizzato dall'aver una potenza di 12,7 miliardi di U.I. per litro, è stato distribuito tal quale alla dose di 2,5 l/ha (corrispondenti a 31,75 miliardi di U.I./ha).

I primi due prodotti sono stati irrorati con un elicottero Alouette SA 313B dell'Aérospatiale munito di barre in alluminio della lunghezza complessiva di 12 m e fornite di 52 ugelli conici con fori di 1,8 mm di diametro. Il terzo prodotto è stato distribuito con lo stesso mezzo aereo munito in questo caso di 4 micronair (atomizzatore rotativo) con funzionamento elettrico, regolati per irrorare complessivamente 5 litri di prodotto al minuto.

I trattamenti sono stati eseguiti in un'area del comune di Calangianus (Sassari) posta fra i 500 ed i 600 m s.l.m.

Lo schema sperimentale adottato è stato quello a blocchi randomizzati con tre replicazioni su parcelle di forma quadrata di 25 ha ciascuna (complessivamente ogni prodotto è stato saggiato su 75 ha); ulteriori tre parcelle, di uguale estensione, sono state delimitate e mantenute come testimoni.

Ogni parcella, con lato di 500 m, è stata preliminarmente suddivisa con un reticolo a maglie quadrate con lato di 125 m. Si è poi proceduto a contrassegnare le 4 piante più prossime a ognuno dei 9 punti di intersezione delle maglie in corrispondenza delle quattro direzioni cardinali principali. Su ciascuna delle 36 piante così individuate è stata valutata la densità di popolazione della *L. dispar* con il conteggio, eseguito nel corso dei primi 15 giorni di aprile, delle ovature presenti.

Il giorno precedente ai trattamenti e dopo 7, 14, 21 e 28 giorni dall'esecuzione degli stessi, sulle medesime piante, è stata stimata la densità delle larve, procedendo al conteggio ed all'annotazione dell'età degli individui presenti su quattro rametti di circa 30 cm di lunghezza, prelevati, uno per direzione cardinale, nella parte più esterna della chioma di ciascuna pianta ad una altezza di 3-4 metri dal suolo. Per valutare in laboratorio i livelli di mortalità determinati dai tre prodotti e la loro possibile incidenza sull'attività degli entomofagi, nella parte centrale di una delle tre parcelle trattate con ciascuno di essi ed in una di quelle testimoni (scelte a caso), si è proceduto alla raccolta di campioni dei diversi stadi di sviluppo del fitofago in questione. Le larve sono state raccolte, con scuotimento della chioma delle piante, 3, 7, 14, 21 e 28 giorni dopo il trattamento ed alimentate con fogliame non trattato per 12-15 giorni o fino all'incrisalidamento, nel caso dei campioni prelevati più tardivamente. Delle crisalidi, anch'esse raccolte a caso, quelle integre sono state tenute in singoli contenitori fino allo sfarfallamento degli adulti o alla fuoriuscita dei parassitoidi mentre è stato annotato il numero di quelle che al momento del prelevamento risultavano attaccate dal Coleottero Carabide *Calosoma sycophanta* L. Gli individui morti per cause non rilevabili dall'esterno sono stati dissecati dopo 15-20 giorni dal prelevamento per evidenziare la presenza di eventuali entomofagi.

Allo scopo di accertare la vitalità nel tempo delle spore del batterio presenti sulla vegetazione e nell'apparato digerente delle larve sono state condotte indagini microbiologiche. Per le analisi sulla vegetazione si è proceduto, a 1, 3, 7, 14 e 28 giorni dai trattamenti, alla raccolta di campioni di foglie prelevate da almeno 10 piante scelte a caso nella parte centrale delle medesime parcelle in cui venivano condotti i rilievi di tipo entomologico e conservati in buste di plastica sterili fino all'arrivo in laboratorio. Le foglie provenienti da piante trattate e testimoni sono state poste in matracci da 300 ml contenenti 100 ml di soluzione fisiologica sterile e tenuti in agitazione per 3 ore. Da questi matracci venivano poi eseguiti i prelievi per le diluizioni seriali per le successive semine nei substrati colturali. Le foglie utilizzate, in numero tale da assicurare una superficie totale di almeno 30 cm², venivano poi recuperate per la misurazione di ciascuna. All'analisi microbiologica sono stati sottoposti anche gli apparati digerenti di larve morte (al momento della raccolta o nelle 24 h successive) a seguito del trattamento e vive. I campioni, ottenuti disseccando in laboratorio gli individui, sono stati pesati e posti in buste sterili, aggiunti di soluzione fisiologica sterile nella quantità necessaria per ottenere un rapporto di 1:10 e sottoposti a scuotimento per 2 minuti in Stomaker 80 (PBI). Dalle diluizioni seriali sono state poi eseguite le semine nel terreno di coltura. Tutte le diluizioni, previamente pastorizzate a 80 °C per 10 minuti allo scopo di eliminare le forme vegetative e stimolare la germinazione delle spore, sono state inoculate su terreno di coltura BHI (Brain Heart Infusion, Difco) agarizzato e incubate in aerobiosi a 32 °C per 48 ore per la determinazione delle spore vitali di *B. thuringiensis*.

I risultati delle indagini microbiologiche sono espressi in unità che formano colonie (u.f.c.) per grammo di apparato digerente o cm² di foglia.

RISULTATI

I rilievi eseguiti sulla popolazione di *L. dispar* allo stadio di uovo hanno evidenziato come la specie, dopo aver causato nell'anno precedente la defogliazione totale di buona parte del territorio scelto per la sperimentazione, avesse una densità abbastanza contenuta e fosse entrata in fase di retrogradazione (Tab. I).

Tab. I - Densità di popolazione di *Lymantria dispar* allo stadio di uovo nelle parcelle destinate al trattamento ed in quelle testimoni (espressa come n. medio \pm d.s. di ovature/pianta).

Tesi	Replicazioni		
	1	2	3
Activator	2,30 \pm 2,08	3,88 \pm 2,52	2,38 \pm 1,35
Bactospeine	1,94 \pm 1,35	2,22 \pm 1,94	1,63 \pm 1,17
Foray	5,25 \pm 3,47	1,97 \pm 2,18	0,69 \pm 0,92
Testimone	1,72 \pm 1,76	1,63 \pm 1,03	2,77 \pm 2,12

I trattamenti sono stati praticati il 21 maggio nella fascia oraria compresa tra le 10 e le 14 con cielo coperto da nubi, temperature che hanno variato fra i 12 e i 14,2 °C, valori di U. R. compresi fra il 70 ed il 75% ed una velocità del vento che è oscillata fra 0,1 e 3 m/s.

All'applicazione dei trattamenti, la popolazione larvale del defogliatore presentava nelle diverse parcelle una composizione per età abbastanza uniforme, costituita per l'80-90% da individui di I e II età (Tab. II).

Tab. II - Distribuzione per età larvali della popolazione di *Lymantria dispar* al momento del trattamento (come % del totale degli individui esaminati).

Tesi	Età larvale			
	I	II	III	IV
Activator	16,1	64,7	19,2	0,0
Bactospeine	12,5	78,6	8,9	0,0
Foray	12,1	65,8	21,5	0,6
Testimone	8,1	80,8	11,1	0,0

Efficacia dei trattamenti valutata con il metodo di campo

La valutazione della densità di popolazione del fitofago allo stadio di larva eseguita il giorno precedente ai trattamenti ha posto in evidenza una distribuzione abbastanza uniforme della stessa nelle diverse tesi e variabile fra 0,60 e 0,91 larve/rametto (Tab. III). Nelle parcelle trattate con Activator la riduzione della densità larvale è stata praticamente nulla nelle prime due settimane successive all'intervento. In quelle trattate con Bactospeine si è registrato invece un calo significativo della popolazione limitatamente alla prima settimana successiva all'intervento quando la densità larvale si è ridotta di

Tab. III - Densità della popolazione di *Lymantria dispar* allo stadio di larva il giorno precedente i trattamenti e dopo 7, 14, 21 e 28 giorni dalla loro esecuzione (espressa come n. medio \pm d.s. di larve/rametto).

Data	Tesi			
	Activator	Bactospeine	Foray 48B	Testimone
20.V.92	0,72 \pm 0,02 a*	0,77 \pm 0,10 a	0,60 \pm 0,21 a	0,91 \pm 0,13 a
28.V.92	0,71 \pm 0,28 a	0,46 \pm 0,60 b	0,38 \pm 0,05 ab	0,94 \pm 0,16 a
4.VI.92	0,70 \pm 0,29 a	0,45 \pm 0,00 b	0,28 \pm 0,02 b	0,83 \pm 0,07 a
11.VI.92	0,62 \pm 0,34 a	0,49 \pm 0,02 b	0,25 \pm 0,02 b	1,08 \pm 0,08 a
18.VI.92	0,68 \pm 0,39 a	0,39 \pm 0,04 b	0,23 \pm 0,01 b	0,88 \pm 0,05 a

* I valori nelle colonne seguiti dalla stessa lettera non differiscono significativamente per $P < 0,05$.

circa il 40%. Solo il Foray ha causato mortalità crescenti nel tempo; infatti, nelle parcelle trattate con tale prodotto, si sono osservate riduzioni della popolazione del fitofago rispettivamente del 37 e del 53% a 1 e 2 settimane dal trattamento. Il numero di larve per rametto annotate nelle parcelle testimoni ha fatto registrare contenute variazioni percentuali crescenti e decrescenti, non imputabili ad una effettiva variazione della densità larvale (Tab. III).

Le quantità di ovature presenti alla fine del periodo riproduttivo della specie (Tab. IV)

Tab. IV - Densità di popolazione di *Lymantria dispar* allo stadio di uovo nelle parcelle sottoposte al trattamento ed in quelle testimoni (espressa come n. medio \pm d.s. di ovature/pianta).

Tesi	Replicazioni		
	1	2	3
Activator	0,22 \pm 0,34	0,69 \pm 0,70	2,02 \pm 2,47
Bactospeine	0,94 \pm 1,07	2,16 \pm 2,27	1,55 \pm 1,25
Foray 48B	0,19 \pm 0,41	0,92 \pm 0,41	0,19 \pm 0,27
Testimone	1,11 \pm 1,73	1,00 \pm 0,95	1,69 \pm 1,52

non hanno sempre subito riduzioni comparabili con le mortalità dei primi stadi larvali dovute prevalentemente all'azione dei preparati a base di *B. thuringiensis*. Infatti, i rilievi condotti nel mese di settembre hanno evidenziato la minore presenza di ovature nelle parcelle trattate con Foray (in media $0,43 \pm 0,42$ ovature per pianta) seguite, in ordine crescente, dalle parcelle irrorate con Activator ($0,97 \pm 0,93$), da quelle testimoni ($1,26 \pm 0,37$) e da quelle su cui è stato impiegato il Bactospeine ($1,55 \pm 0,61$). Tali risultati, apparentemente contrastanti, risultano tuttavia più propriamente imputabili ad una differente incidenza delle cause naturali di mortalità sulle larve prossime alla maturità e sulle crisalidi, come evidenziato in particolare sui campioni biologici raccolti nelle diverse tesi poste a confronto (Tab. V e VI).

Mortalità larvale e pupale registrata negli allevamenti di laboratorio.

Sui campioni di larve raccolti a 3 giorni dal trattamento, le mortalità indotte da cause patogene sono risultate più elevate nella tesi trattata con Foray con un valore del 30% contro poco più del 10% delle tesi trattate con Bactospeine e con Activator e circa il 3% della tesi testimone (Tab. V). Ad una settimana dall'intervento, mentre non sono variati i tassi di mortalità osservati sui campioni raccolti nelle parcelle trattate con Foray e Bactospeine, si è quasi dimezzata l'incidenza dei patogeni in quello proveniente dalla parcella irrorata con Activator. A 14 giorni dal trattamento le malattie hanno causato una mortalità di circa il 10% nelle larve provenienti dalle parcelle irrorate con Foray e con Bactospeine mentre nelle altre due tesi si sono avute mortalità del 3-4%. Nelle settimane successive si è registrata una maggiore incidenza degli agenti patogeni presenti in natura, come attestato dalle mortalità verificatesi nei campioni di larve provenienti dalla parcella testimone (Tab. V).

La parassitizzazione delle larve giovani, raccolte durante la prima settimana successiva al trattamento, è risultata particolarmente contenuta e dovuta esclusivamente all'azione del Braconide *Meteorus pulchricornis* (Wesm.). Sul materiale prelevato nelle settimane successive si è avuto un particolare e progressivo incremento del parassitismo nella tesi testimone, mentre nelle altre tesi non si sono avuti incrementi della mortalità altrettanto elevati (Tab. V). Sulle ultime tre raccolte di larve il parassitoide che ha avuto la maggiore incidenza è stato il Tachinide *Blepharipa pratensis* (Meig.) che è fuoriuscito dall'81% degli individui parassitizzati. Un altro Tachinide, la *Parasetigena silvestris* (R.-D.), ha concorso per circa il 10% del parassitismo totale, mentre il restante 9% è stato determinato dai Braconidi *M. pulchricornis*, *Apanteles porthetriae* Mues. e *Apanteles melanoscelus* (Ratz.).

Gli agenti patogeni hanno determinato sulle crisalidi una mortalità abbastanza contenuta, variante tra lo 0 ed il 6,58% (Tab. VI). I tassi di parassitizzazione sono stati uniformi sulle crisalidi raccolte il 29 giugno attestandosi intorno all'80%. Nel campione successivo essi sono stati invece superiori nella parcella testimone ed in quella trattata con Activator rispetto alle altre due tesi (Tab. VI). Proprio a tale maggiore incidenza degli ausiliari, si ritiene di dover imputare la riduzione del numero di ovature osservata in queste parcelle nelle quali, come precedentemente detto, la mortalità delle prime età larvali è risultata molto contenuta. Il parassitoide più importante è stato il dittero *B. pratensis* che ha determinato tassi di mortalità varianti fra il 73 e l'80% nella prima raccolta e tra il 41 ed il 60% nella seconda. Sulle crisalidi provenienti dalla parcella testimone e da quella trattata con Activator è stata osservata una presenza particolarmente elevata di Ditteri Sarcofagidi, che sono fuoriusciti rispettivamente dal 40 e dal 27,5% degli individui esaminati; ciò fa presumere una notevole attività da parte di Imenotteri Icnemionidi (5), probabilmente attratti in queste aree, come fanno ipotizzare i rilievi sulla densità larvale condotti alla fine della seconda decade di giugno (Tab. III), da una maggiore disponibilità di vittime. Nelle stesse parcelle è stata anche rilevata una maggiore incidenza del Carabide predatore *Calosoma sycophanta* L. che ha attaccato fino al 5,5% delle pupe (Tab. VI).

Indagini microbiologiche

Le indagini eseguite ad un giorno dall'intervento hanno posto in evidenza la presenza di una maggiore quantità di spore nella vegetazione trattata con Foray (2 milioni per cm² di

Tab. V - Mortalità rilevata su campioni di larve di *Lymantria dispar*.

Data	Tesi	Individui osservati (n.)	Mortalità per cause patogene		Individui parassitizzati (%)	Mortalità totale (%)
			alla raccolta (%)	in allevamento (%)		
24.V.92	Activator	300	0,00	11,00	1,00	12,00
	Bactospeine	429	2,79	7,69	3,50	13,98
	Foray 48B	450	7,33	22,00	6,67	36,00
	Testimone	300	0,00	3,00	3,00	6,00
28.V.92	Activator	240	1,25	5,00	2,50	8,75
	Bactospeine	303	2,97	7,92	0,00	10,89
	Foray 48B	300	21,00	10,00	1,00	32,00
	Testimone	450	0,00	2,67	2,00	4,67
4.VI.92	Activator	300	2,00	1,00	10,00	13,00
	Bactospeine	291	6,19	4,11	6,19	16,49
	Foray 48B	276	5,43	4,35	1,09	10,87
	Testimone	300	0,00	4,00	9,00	13,00
11.VI.92	Activator	300	1,00	14,00	3,00	18,00
	Bactospeine	300	0,00	7,00	6,00	13,00
	Foray 48B	300	0,00	13,00	12,00	25,00
	Testimone	300	0,00	10,00	19,00	29,00
18.VI.92	Activator	300	1,00	15,00	26,00	42,00
	Bactospeine	300	1,00	30,00	12,00	43,00
	Foray 48B	300	0,00	23,00	13,00	36,00
	Testimone	300	0,00	17,00	43,00	60,00

Tab. VI - Mortalità rilevata su campioni di crisalidi di *Lymantria dispar*.

Data Tesi	29.VI.92			8.VII.92		
	Activator	Bactospeine	Foray Testimone	Activator	Bactospeine	Foray Testimone
Individui osservati	(n.) 188	243	160 181	182	200	200 180
Attaccati da <i>C. sycophanta</i>	(%) 1,07	0,00	0,00 3,31	2,75	0,00	1,00 5,55
Morti per malattia	(%) 3,19	6,58	0,00 4,43	2,75	6,50	5,50 3,33
Parassitizzati da:						
<i>B. pratensis</i>	(%) 74,46	75,72	80,00 72,93	59,34	53,00	60,50 41,11
<i>B. intermedia</i>	(%) 3,19	0,00	0,00 0,00	0,00	1,00	1,00 1,11
Sarcofagidi	(%) 4,26	0,00	0,00 11,04	27,47	5,50	5,00 40,00
Iperparassiti	(%) 0,00	0,00	0,00 0,00	0,00	0,00	0,00 1,11
Parassitismo totale	(%) 81,91	75,72	80,00 83,97	86,81	59,50	66,50 83,33
Mortalità totale	(%) 86,17	82,30	80,00 91,71	92,31	66,00	73,00 92,22
Individui sfarfallati	(%) 13,83	17,70	20,00 8,29	7,69	34,00	27,00 7,78

foglia) mentre su quella irrorata con Bactospeine è risultata di circa 10 volte inferiore (200 mila/cm²) e ancora più contenuta sul fogliame trattato con Activator (16 mila/cm²). Nelle prime due tesi la persistenza delle spore sulla vegetazione è andata gradualmente riducendosi, mentre nel caso dell' Activator si è registrato un rapido decremento già a tre giorni dal trattamento. Sulla vegetazione dell'area testimone non è stata riscontrata alcuna presenza del microrganismo (Tab. VII).

Negli intestini delle larve morte, provenienti dalla parcella trattata con Foray, il numero di spore è risultato proporzionale a quello riscontrato sulla vegetazione. Nel caso del Bactospeine, solo a 3 giorni dal trattamento, è stato possibile raccogliere un campione significativo di larve morte nelle quali il numero di spore per grammo di intestino è risultato pari a 16.000. Nei campioni di larve provenienti dalla tesi trattata con Activator e da quella testimone non è mai stata rilevata la presenza di larve morte nelle 24 ore successive alla raccolta (Tab. VII).

Negli intestini delle larve vive il numero di spore per grammo è stato consistente solo a tre giorni dall'intervento nella parcella trattata con Foray (1600) mentre nelle altre tesi i valori sono stati sempre inferiori a 130 (Tab. VII).

Tab. VII - Presenza di spore di *Bacillus thuringiensis* sulla vegetazione e nell'apparato digerente di larve morte e vive a tempi diversi di prelievo (valori espressi come u.f.c. per cm² o g).

Tesi	Giorni dal trattamento	Foglie	Larve morte	Larve vive
Activator	1	1,6 x 10 ⁴	n.r.	n.r.
	3	2,0 x 10 ¹	—	6,2 x 10 ¹
	7	2,0 x 10 ¹	—	1,5 x 10 ¹
	14	3,0 x 10 ¹	—	2,8 x 10 ¹
	28	0,0 x 10 ⁰	—	0,0 x 10 ⁰
Bactospeine	1	2,0 x 10 ⁵	n.r.	n.r.
	3	1,0 x 10 ⁵	1,6 x 10 ⁴	1,3 x 10 ²
	7	2,0 x 10 ²	—	3,0 x 10 ¹
	14	2,0 x 10 ¹	—	1,3 x 10 ¹
	28	0,0 x 10 ⁰	—	0,0 x 10 ⁰
Foray 48B	1	2,0 x 10 ⁶	n.r.	n.r.
	3	2,0 x 10 ⁴	5,4 x 10 ⁵	1,6 x 10 ³
	7	1,8 x 10 ⁴	4,0 x 10 ⁵	8,0 x 10 ¹
	14	2,0 x 10 ²	6,6 x 10 ³	1,0 x 10 ¹
	28	1,7 x 10 ¹	—	0,0 x 10 ⁰
Testimone	1	0,0 x 10 ⁰	n.r.	n.r.
	3	0,0 x 10 ⁰	—	0,0 x 10 ⁰
	7	n.r.	—	0,0 x 10 ⁰

(n.r.) Non rilevato.

(—) Assenza larve morte.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

I risultati conseguiti hanno messo in luce come la maggiore efficacia l'abbiano avuta i formulati industriali che in quantità più elevata e per più lungo tempo hanno persistito sulla vegetazione, come dimostrato dalle indagini microbiologiche sulla presenza di spore vitali sul fogliame. Infatti, proprio l'Activator, che è risultato il prodotto che ha dato luogo al deposito dei minori quantitativi di spore, ha provocato le più basse riduzioni delle popolazioni larvali. Bactospeine e Foray hanno invece avuto un'efficacia comparabile solo nel corso della prima settimana dopo il trattamento. Infatti, l'ultimo prodotto, probabilmente per effetto della distribuzione ad ultra basso volume, tecnica ritenuta particolarmente idonea a favorire una più uniforme distribuzione, maggiore adesione e migliore penetrazione dei prodotti all'interno delle chiome (2) (4), ha avuto una più lunga persistenza sulla vegetazione ed ha conservato una discreta capacità insetticida anche nel corso della seconda settimana successiva all'intervento.

L'effetto dei trattamenti in tutti i casi non è andato oltre le due settimane, quando la presenza di spore si è ridotta a qualche decina per cm² di foglia e la successiva mortalità larvale è risultata attribuibile all'attività degli antagonisti naturali. I prodotti impiegati non hanno dimostrato di avere effetti negativi sui parassiti, confermando quanto noto anche in ambienti fitoclimaticamente diversi dal nostro (1) (18), e la variabilità della loro incidenza si ritiene attribuibile alle diverse condizioni di densità del fitofago ospite nelle singole parcelle (12) (13).

L'efficacia del trattamento è risultata comunque, almeno per il Foray, molto inferiore ai risultati conseguiti nella sperimentazione effettuata nell'anno precedente, quando il prodotto, impiegato alla stessa dose e su una popolazione larvale costituita per oltre il 90% da individui di I-II età, ha determinato a 15 giorni dall'irrorazione una riduzione della popolazione dell'85%, cioè una maggiore mortalità del 32% (11). Tale differenza si ritiene attribuibile alle più basse temperature registrate il giorno dell'intervento (circa 10 °C in meno rispetto a quella media del 1991) e nei 5 giorni successivi (quando i valori termici medi hanno variato fra 13,9 e 16,8 °C risultando da 7 a 3 °C inferiori a quelli registrati nel 1991). Esse infatti hanno di certo limitato la quantità di cibo ingerito dalle larve, come noto positivamente correlata con la temperatura (19), proprio nel periodo in cui maggiore è stata la presenza del batterio sul fogliame, riducendo quindi la probabilità che le stesse assumessero dosi letali di prodotto prima della sua degradazione (7). Non è inoltre escluso che questo andamento termico, rallentando il metabolismo larvale, anch'esso positivamente correlato con le temperature, come dimostrato dagli studi sul tasso di sviluppo delle larve di *L. dispar* (14), abbia limitato gli effetti tossici del prodotto assunto. Tale negativa influenza delle basse temperature sull'efficacia dei preparati a base di *B. thuringiensis* è infatti già nota per qualche altra specie di Lepidottero. In particolare, nel caso del Nottuide *Trichoplusia ni* (Hübner) (6) e del Tortricide *Choristoneura fumiferana* Clemens (16) (17) è stata posta in luce che al ridursi della temperatura si ha una diminuzione di efficacia del prodotto impiegato ed un incremento del tempo richiesto per ottenere il 50% della mortalità larvale. Questi risultati sono stati attribuiti sia ad una riduzione nell'ingestione e nell'assorbimento della tossina da parte delle larve sia al rallentamento del metabolismo cellulare che si ripercuote direttamente sui meccanismi citolitici della stessa. Dalla nostra sperimentazione emerge quindi la necessità che anche in ambiente mediterraneo, oltre all'età delle larve bersaglio, alle modalità ed alle dosi di

distribuzione dei preparati, si tenga conto delle temperature alle quali si opera, evitando i trattamenti nelle settimane in cui si registrano tardivi ritorni di freddo se non si vuole compromettere almeno in parte l'efficacia degli interventi. Le considerazioni svolte evidenziano inoltre l'opportunità che nelle regioni, come la nostra, caratterizzate da una pronunciata variabilità primaverile del clima, si proceda all'acquisizione di maggiori elementi di tipo climatico (variazioni ed escursioni termiche, frequenza delle precipitazioni atmosferiche) nonché di ulteriori notizie sulla fenologia del vegetale ospite (ad es.: velocità di accrescimento dei germogli) e sull'etologia del fitofago (ad es.: ritmo ed intensità di alimentazione delle larve) al fine di stabilire con la dovuta precisione i tempi più favorevoli di intervento con i preparati a base di *B. thuringiensis*.

BIBLIOGRAFIA

- 1) ANDREADIS G. A., DUBOIS N. R., MOORE R. E. B., ANDERSON J. F., LEWIS F. B. (1983) - Single applications of high concentrations of *Bacillus thuringiensis* for control of gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) populations and their impact on parasitism and disease. - J. Econ. Entomol., 76: 1417-1422.
- 2) BRYANT J. E., YENDOL W. G. (1988) - Evaluation of the influence of droplet size and density of *Bacillus thuringiensis* against gypsy moth larvae (Lepidoptera: Lymantriidae). - J. Econ. Entomol., 81: 130-134.
- 3) CAMBINI A. (1971) - Valutazione dei danni causati dagli insetti defogliatori alla quercia da sughero. Atti del 1° Convegno Regionale del Sughero (Tempio Pausania, 14-16 ottobre 1971): 327-339.
- 4) CAMERON E. A. (1989) - *Bacillus thuringiensis* in the management of gypsy moth population eruptions. - In: Proc. "Lymantriidae: a comparison of features of New and Old World tussock moths" (June 26 - July 1, 1988, New Haven, Connecticut): 417-426.
- 5) CAMPBELL R. W. (1963) - Some Ichneumonid-Sarcophagid interaction in the gypsy moth *Porthetria dispar* (L.) (Lepidoptera Lymantriidae). Can. Ent., 95 (4): 337-345.
- 6) CHALFANT B. R. (1973) - Cabbage looper: effect of temperature on toxicity of insecticides in the laboratory. J. Econ. Entomol., 66: 339-341.
- 7) HARPER J. D. (1974) - Forest insect control with *Bacillus thuringiensis*. Survey of current knowledge. Auburn University, Printing Service, Auburn, Alabama: 64 pp.
- 8) IDDA L., GUTIERREZ M. (1984) - Economia del sughero. Bollettino degli Interessi Sardi, Quaderno n. 12: 60 pp.
- 9) LUCIANO P., DELRIO G., PROTA R. (1982) - I defogliatori delle foreste a *Quercus suber* L. Studi Sass., sez. III, Ann. Fac. Agr. Univ. Sassari, 29: 321-365.
- 10) LUCIANO P., FLORIS I., LENTINI A., PROTA R., DEIANA P., LANGIU G. (1991) - Impiego del *Bacillus thuringiensis* Berl. nella lotta alla *Lymantria dispar* L. in boschi di *Quercus suber* L. Atti Convegno "Problematiche fitopatologiche del genere Quercus in Italia" (Firenze, 19-20 novembre 1990): 341-355.
- 11) LUCIANO P., FLORIS I., LENTINI A., PROTA R., DEIANA P., LANGIU G. (1992) - Impiego del *Bacillus thuringiensis* Berl. nella lotta alla *Lymantria dispar* L. in boschi di *Quercus suber* L. II. Risultati della sperimentazione condotta nel 1991. Redia, 75 (2): 549-563.
- 12) LUCIANO P., PROTA R. (1982) - Indagini sul parassitismo in aree forestali ad alta densità di *Lymantria dispar* L. Studi Sass., sez. III, Ann. Fac. Agr. Univ. Sassari, 28: 153-167.
- 13) LUCIANO P., PROTA R. (1986) - La dinamica di popolazione di *Lymantria dispar* L. in Sardegna. III. Indicatori biologici della gradazione. Frustula Entomologica, 7-8: 613-630.
- 14) MAKSIMOVIC M. (1958) - Experimental research on the influence of temperature upon the development and the population dynamics of the gypsy moth. In: Population dynamics of the gypsy moth: an annotated bibliography. U.S.D.A. Forest Serv. Gen. Technical Report NE48 (1978): 124 pp.
- 15) PROTA R., LUCIANO P. (1989) - Elementi di previsione delle infestazioni in sugherete sarde e prospettive di difesa. Atti "Convegno sulle avversità del bosco e delle piante arboree da legno" (Firenze, 15-16 ottobre 1987): 287-304.
- 16) VAN FRANKENHUYZEN K. (1990) - Effect of temperature and exposure time on toxicity of *Bacillus thuringiensis* Berliner spray deposits to spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Ent., 122: 69-75.
- 17) VAN FRANKENHUYZEN K., NYSTROM C. W. (1987) - Effect of temperature on mortality and recovery of spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) exposed to *Bacillus thuringiensis* Berliner. Can. Ent., 119: 941-954.
- 18) WOLLAM J. D., YENDOL W. G. (1976) - Evaluation of *Bacillus thuringiensis* and a parasitoid for suppression of the gypsy moth. - J. Econ. Entomol., 69: 113-118.
- 19) YENDOL W. G., HAMLIN R. A., ROSARIO S. B. (1975) - Feeding behavior of gypsy moth larvae on *Bacillus thuringiensis*-treated foliage. J. Econ. Entomol., 68: 25-27.

Lavoro pervenuto in redazione il 12-7-1993.

Gli estratti possono essere richiesti a:

For reprints apply to:

Prof. Pietro Luciano, Istituto di Entomologia agraria - Facoltà di Agraria

Via E. De Nicola, 1 - 07100 Sassari - Italy - Tel. 079/229328.