

PROVE DI LOTTA BIOLOGICA CON NEMATODI ENTOMOPATOGENI CONTRO HAPLIDIA

ETRUSCA KRAATZ NEI NOCCIOLETTI IN CAMPANIA NEGLI ANNI 1985 - 1987

K.V. DESEO*, A.TARTAGLIA**, R.BARTOCCI**

* Dipartimento di Protezione e Valorizzazione Agroalimentare

Centro di Fitofarmacia - Università di Bologna

** Consorzio Fitosanitario Obbligatorio di Napoli e Caserta

Introduzione

In Campania la coltivazione del nocciolo, in coltura principale, si estende per 26.557 Ha di superficie pari ad 1/3 della totale superficie investita in Italia. Il fitofago più dannoso è Haplidia etrusca Kraatz (Scarabaeidae). Recentemente sono state osservate altre specie di Scarabeidi (Bianco e Viggiani 1988).

Gli adulti di Aplidia compaiono in giugno-luglio e depongono le uova nel terreno. Nel periodo dei voli essi compaiono di sera all'imbrunire e si posano sulle piante, ove si accoppiano, per poi portarsi nel terreno alle prime luci dell'alba. Dalle uova fuoriescono le larve che si evolvono nel terreno danneggiando le radici e il colletto delle piante dal luglio agosto al maggio - giugno dell'anno successivo. In quest'ultimo periodo, esse, raggiunta la maturità, si trasformano in pupa e quindi in adulti (Viggiani 1969).

Per il controllo del coleottero finora è stata impostata una metodologia di lotta con l'impiego esclusivo di mezzi chimici sia contro gli stadi larvali che contro gli adulti. Questo tipo di lotta, oltre a dare risultati non definitivi, presenta diverse difficoltà di applicazione (Viggiani 1969). Pertanto, ci si è proposti di cercare metodi alternativi di lotta, come la lotta biologica. Oggetto della prova è l'uso di nematodi entomopatogeni contro le larve di Aplidia.

MATERIALI E METODI

1) Saggi di Laboratorio

Per valutare l'efficacia delle diverse specie di nematodi entomoparassiti contro le larve di *Aplidia* sono state effettuate delle prove in laboratorio. Nella Tab.n.1 sono riportate le specie e i ceppi dei nematodi esaminati.

Il prelievo delle larve di *Aplidia* è avvenuto in aziende situate nei comuni di Nola ed Avellino che presentavano un grado di infestazione medio. Le stesse larve sono state prelevate nel periodo primaverile (marzo - aprile) a circa 20 - 25 cm di profondità.

I nematodi sono stati mescolati a torba e introdotti in vasetti di 2 l entro i quali sono poi state introdotte 8 larve del coleottero.

Tab.n.1 - Nematodi entomopatogeni utilizzati nei saggi di laboratorio,

SPECIE	CEPPO	PROVENIENZA
<i>Steinernema bibionis</i> Bov.	Australiano	Tasmania (Australia)
<i>S. feltiae</i> Filip.	45	Durazzano (Italia)
" "	95	Cotignola (Italia)
" "	42	Bulgarno (Italia)
" "	100	Alfonsine (Italia)
" "	44	Martorano (Italia)
" "	43	S. Carlo (Italia)
" "	109	Massa Foresi (Italia)
" "	23	Villalta (Italia)
" "	Bretone	Francia
<i>S. glaseri</i> Glas.	Australiano	Australia
<i>Heterorhabditis</i> spp.	23	Villalta (Italia)
"	29	Cesena (Italia)
"	25	Castrocaro (Italia)
"	54	Finale Emilia (Italia)
"	8	Longiano (Italia)
"	Olandese	Groenevlieg (Olanda)

Il primo controllo, per verificare la mortalità in vaso delle larve, è stato eseguito dopo 7 - 10 giorni. In seguito è stato effettuato un secondo controllo a distanza di 10 - 15 giorni dal primo.

Successivamente le larve sono state sezionate ed osservate per accertare la presenza dei nematodi.

2)a. Sperimentazione in pieno campo

L'azienda scelta per la prova era ubicata nel comune di Nola. Il nocciolo, di età media 30 anni, ha un sesto di impianto di 5m x 5m. Le colture presenti sono la "Mortarella" e la "S.Giovanni". Il terreno tende al sabbioso e consente una scarsa umidità nel suolo.

Le spugnette imbibite di nematodi sono state messe in acqua tiepida per circa 2 ore. Attratti dall'acqua, i nematodi, ne fuoriescono per sedimentarsi sul fondo del recipiente. Aggiungendo IROL (0,05 %) si ottiene una sospensione di nematodi che agitata bene è pronta per l'uso. Sono state eseguite 2 prove in pieno campo.

Prova n.1

In pieno campo è stata sperimentata l'efficacia del nematode entomoparassita S.glaseri contro le larve di Aplidia. I nematodi sono stati prodotti in larve di Galleria mellonella L. presso il Centro di Fitofarmacia dell'Università.

La prima prova è stata effettuata nel mese di aprile su 50 m² con quattro ripetizioni. Su ciascuna parcella sono stati distribuiti 50 milioni di nematodi (1 milione/m²). Per la distribuzione della sospensione è stata adoperata una pompa a spalla. Successivamente il terreno è stato abbondantemente innaffiato in modo da mantenere l'ambiente umido e garantire una buona parassitizzazione.

Il rilievo per valutare la mortalità delle larve è avvenuto dopo 7 giorni dal trattamento. In diversi punti, sino ad una profondità di 20 - 25 cm, sono state prelevate 200 larve per parcella per un totale di 800 larve.

Prova n.2

I nematodi usati provenivano dall'Australia e precisamente dalla ditta BIOTECH tramite S.I.A.P.A.

La seconda prova, realizzata nella stessa azienda, si differenzia dalla prima per l'epoca dei trattamenti e per la metodologia di applicazione.

Infatti la sospensione dei nematodi è stata distribuita nel terreno a 15 cm di profondità con palo iniettore facendo iniezioni ogni 20 cm nel periodo autunnale (fine ottobre - inizio novembre) quando nel terreno erano presenti larve prevalentemente di seconda età; tali larve sono state trovate in strati a 20 cm di profondità.

Il rilievo dell'efficacia è avvenuto dopo 10 giorni dal trattamento a causa della bassa temperatura. Sono state prelevate, in diversi punti del campo, 200 larve per parcella.

In entrambe le prove, nei mesi successivi al trattamento, si sono eseguiti, in pieno campo, diversi rilievi.

2)b. Osservazioni sulla persistenza

Nella prova n.1 sono stati prelevati campioni nel terreno ad una distanza di 6 e 12 mesi dal trattamento. La presenza di nematodi è stata controllata tramite trappole di G.mellonella (Bedding - Akhurst, 1975). Inoltre, si è osservata la presenza e la eventuale parassitizzazione di larve di Aplidia.

RISULTATI

1) Saggi di laboratorio

Esaminando i dati della Tab.n.2 si evince che tutti i nematodi entomoparassiti impiegati nei saggi biologici in laboratorio hanno evidenziato un'efficacia contro le larve di Aplidia.

Si nota, infatti, che ad eccezione dell'Heterorhabditis sp. ceppo 29 che esercitava una mortalità delle larve del 50 %, tutti gli altri hanno ottenuto una percentuale di mortalità piuttosto alta come lo S.glaseri con una mortalità pari all'85 % nel caso di larve giovani, fino al caso limite di S.feltiae nei ceppi 44 e Breton e dell'Heterorhabditis spp. ceppi 25 e olandese, ceppi che hanno raggiunto punte massime del 100 % di mortalità.

2)a. Sperimentazione in pieno campo

I risultati ottenuti con rilievi effettuati dopo 7 - 10 giorni dal trattamento con S.glaseri sono stati poco soddisfacenti pur essendo le prove state eseguite in condizioni ottimali di temperatura.

Tab.n.2 - Efficacia dei nematodi entomopatogeni sulle larve di *Aplidia*
in laboratorio

SPECIE	CEPPO	N° LARVE	% PARASSITIZ.
<u>Steinernema bibionis</u> Bov.	Australiano	8	62,5
<u>S. feltiae</u> Filip.	45	8	62,5
" "	95	8	62,5
" "	42	8	62,5
" "	100	8	75,0
" "	44	8	100,0
" "	43	8	75,0
" "	109	8	87,5
" "	23	8	87,5
" "	Bretone	8	100,0
<u>S. glaseri</u> Glas.	Australiano	50*	85,0
" "	"	50**	65,0
<u>Heterorhabdtis</u> spp.	23	8	75,0
"	29	8	50,0
"	25	8	100,0
"	54	8	87,5
"	8	8	87,5
"	Olandese	8	100,0

* Lunghezza larvale inferiore ad 1 cm

**Lunghezza larvale superiore ad 1 cm.

Solo una parte delle larve prelevate dalle parcelle di terreno della prima e della seconda prova, presentava segni dell'avvenuta parassitizzazione da parte del nematode. Infatti nella prova n.1 (tab.n.3) la percentuale di mortalità delle larve è pari al 15%, mentre nella seconda prova la percentuale è leggermente superiore raggiungendo il 20%.

Le larve morte si presentano immobili e di colore chiaro. Sezione ed osservate al microscopio stereoscopico si notavano nel loro interno i vari stadi larvali del nematode.

2)b. Persistenza

I risultati ottenuti esaminando i campioni di terreno prelevati dopo 6 mesi dal trattamento sono stati incoraggianti. Infatti nel terreno era sempre presente S.glaseri, mentre si notava, con diversi saggi effettuati

Tab.n.3 - Risultati delle prove in pieno campo sulle larve di H.etrusca con S.glaseri

Prova n.1

Epoca del trattamento: aprile

Dose: 1 milione di nematodi / m²

Trattamento eseguito con pompa a spalla su 50 m²

Ripeti- zioni	N° Larve Prelevate	N° Larve morte	% Parasitiz- zazione
1	200	31	15,5
2	200	27	13,5
3	200	30	15,0
4	200	33	16,5
TOTALE	800	121	\bar{X} 15,1

Prova n.2

Epoca del trattamento: fine ottobre-inizio novembre

Dose: 1 milione di nematodi / m²

Trattamento eseguito con palo iniettore su 50 m²

Ripeti- zioni	N° Larve Prelevate	N° Larve morte	% Parasitiz- zazione
1	200	43	21,5
2	200	34	17,0
3	200	38	19,0
4	200	45	22,5
TOTALE	800	160	\bar{X} 20,0

con scavo di buche a diversa profondità, una presenza ridotta di giovani larve di Aplidia. Nei rilievi eseguiti dopo 12 mesi (maggio 1987) non sono state trovate presenze di nematodi.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

La bassa percentuale di parassitizzazione da S.glaseri non va ricercata nè nella variabile patogenicità del nematode nè nel metodo di applicazione. Infatti la persistenza del nematode nel terreno dopo 6 mesi dal trattamento esclude l'ipotesi della scarsa qualità dello S.glaseri; inoltre pur variando il metodo di applicazione, nelle prove in pieno campo i risultati sono stati simili (Tab.n.3)

Non è da escludere una certa non suscettibilità da parte delle larve di Aplidia nei confronti del nematode. Akhurst e Bedding (1986) hanno osservato un certo grado di resistenza dalle larve dello Scarabeide, resistenza la cui causa va ricercata:

- 1) nella bassa produzione di CO₂ tale da non attirare i nematodi;
- 2) nell'allontanamento dei nematodi tramite l'azione dell'apparato boccale;
- 3) nella produzione di escrementi che inibiscono l'attacco dei nematodi.

Le considerazioni n.2 e 3 si contrappongono ai risultati ottenuti da noi in laboratorio dove si evidenzia l'efficacia dei nematodi contro le larve di Aplidia. Pertanto la bassa percentuale di parassitizzazione può essere dovuta alla bassa produzione di CO₂ delle larve di Aplidia.

Inoltre la scarsa umidità del terreno limita la mobilità dei nematodi per raggiungere l'insetto in breve tempo. Infatti, in pieno campo l'efficacia dello S.glaseri contro le larve di Aplidia è risultata scarsa nei rilievi effettuati dopo 7 - 10 giorni dal trattamento, nonostante che questa specie è considerata la più mobile nel terreno.

Successivamente da controlli eseguiti, a distanza di 6 mesi dal trattamento si è notata una presenza ridotta di giovani larve di Aplidia e contemporaneamente presenza di S.glaseri. Ciò fa supporre che, probabilmente, l'azione parassitaria del nematode sia lenta e costante nel tempo.

In ogni caso risulta valido continuare questo tipo di ricerca con altre specie di nematodi e su terreni di natura diversa. In tal senso numerosi sono i lavori incoraggianti eseguiti da altri autori.

L'efficacia di S.glaseri contro scarabeidi era stata dimostrata già nel 1932 da Glaser che lo ha applicato per la prima volta contro le larve di Popillia japonica Newn con risultati più del 50 % (Burgess and Hussey 1971).

In sperimentazioni in pieno campo si raggiungeva il 40 % di parassitizzazione (Glaser e Farrel 1935) in New Jersey. In seguito l'esame di 73 parcelle diverse di terreno trattate in date differenti con S.glaseri ha evidenziato che i trattamenti con S.glaseri effettuati in superficie sono stati più efficaci di quelli effettuati ad una certa profondità (Glaser ed altri 1940). Questa ultima osservazione è in contrasto con quella di Georgis e Poinar (1983) che hanno avuto risultati migliori iniettando le sospensioni di S.glaseri alla profondità di 15 cm.

In altre sperimentazioni S.glaseri è stato provato contro altre specie di Scarabeide in Alabama, Florida, Louisiana, Missisipi e Nord Carolina (Swain ed altri 1944). Una prova è stata fatta in Nuova Zelanda (1952) in pieno campo ma sempre con risultati poco soddisfacenti.

Jackson ed altri nel 1981 hanno conseguito nei saggi biologici risultati eccellenti contro le larve di Costelytra zealandica White. Nel 1982 Jackson e Trought trattando, in pieno campo, 1 ha di terreno con un miliardo di nematodi hanno ottenuto una mortalità variabile dallo 0 al 92 %.

Nel 1984, in Australia, Berg ed altri hanno ottenuto con S.glaseri (1,5 milioni di nematodi/m²) il 25 % di mortalità dopo 6 settimane dal trattamento. Dopo 15 mesi si poteva ancora reperire S.glaseri nel terreno trattato. Nelle sperimentazioni recenti condotte da Wang Jing-Xian (1986) contro lo Scarabeide della canna da zucchero, la parassitizzazione da S.glaseri ha raggiunto il 70 % .

Questi dati anche se non sempre convalidati confermano la possibilità di applicare S.glaseri e probabilmente altri nematodi contro H.etrusca, ma nello stesso tempo richiamano l'attenzione alla ricerca su altri patogeni, come per esempio Bacillus thuringiensis, B.popilliae, Beauveria brogniartii ecc.

RIASSUNTO

In Campania l'H.etrusca provoca gravissimi danni ai nocciuoli e la lotta con mezzi chimici presenta diverse difficoltà. Pertanto ci si è proposti di cercare metodi alternativi di lotta come l'uso di nematodi entomopato

geni contro le larve del fitofago. Diversi ceppi di S.feltiae, S.bibionis, Heterorhabditis spp e S.glaseri sono stati saggiati in laboratorio (Tab.n.2).

In pieno campo si è adoperato lo S.glaseri per la sua maggiore capacità di mobilità nel terreno. Nonostante il metodo diverso di applicazione i risultati ottenuti con rilievi effettuati dopo 7 - 10 giorni dal trattamento sono stati poco soddisfacenti: 15 % e 20 % di parassitizzazione delle larve. (Tab.n.3)

Successivamente da controlli eseguiti, a distanza di 6 mesi dal trattamento si è notata una presenza ridotta di giovani larve di Aplidia e contemporaneamente presenza di S.glaseri. Ciò fa supporre che, probabilmente, la azione parassitaria del nematode sia lenta e costante nel tempo.

EXPERIMENTS WITH ENTOMOPATHOGENOUS NEMATODES AGAINST HAPLIDIA ETRUSCA Kraatz (Scarabeidae) IN HAZELNUT ORCHARDS IN CAMPANIA (1985-87)

In the county of Campania the larvae of H. etrusca cause heavy damages on the root of hazelnut-trees. However, there is no satisfactory control against this pest.

Entomopathogenous nematodes parasitized successfully in bioassay the larvae of H. etrusca, i.e. several strains of Steinernema feltiae, S. bibionis, S. glaseri and Heterorhabditis spp.(Table 1.). However, experiments carried out on 10 sqm in spring and autumn in hazelnut orchards with the juveniles of S. glaseri resulted in 15-20% parasitism (Tables 2.,3.). The nematodes were applied in a rate of 1 million/sqm by irrigation in spring, and in autumn by injecting them in the root system. The type of soil was silica sand with clay becoming compact after irrigation.

S. glaseri was detected 6 months later of the first outdoor application, but at the same time and same plot only some small, new larvae of the scarab were found. Therefore there exist a probability of the longlasting effect of the treatment but not longer than the winter period. By the following spring namely, no S. glaseri was detected in the experimental sites.

BIBLIOGRAFIA

- BEDDING, R.A., and AKHURST, R.J. - 1975 - A simple technique for the detection of insect parasitic rhabditid nematodes in soil. *Nematologica*, 21, 109 - 110.
- BERG, G.N., BEDDING, R.A., WILLIAMS,P. and AKHURST, R.J. - 1984 - Developments

- in the application of nematodes for the control of subterranean pasture pests. " Proc. Fourth Australian Applied Entomological Research Conference" 352 - 356.
- BIANCO, M., VIGGIANI, G. - 1988 - Coleotteri Scarabeidi dannosi al nocciolo in Campania. Informatore Fitopatologico. In corso di stampa.
 - BURGESS, H.D. and HUSSEY, N.W. - 1971 - Microbial Control of Insects and Mites. " Academic Press London and Toubridge ", 861.
 - Georgis R., Poinar G.O.jr. - 1983 - Effect of soil texture on the distribution and infectivity of Neoplectana glaseri (Nematoda: Steinernematidae). J. of Nematology, 15, 329 - 332
 - GLASER, R.W. - 1932 - Studies on Neoplectana glaseri, a nematode parasite of the Japanese beetle (Popillia japonica), " N.J.Agric ", 34, 211.
 - GLASER, R.W. and FARREL, C.C. - 1935 - Field experiments with the Japanese beetle and its nematode parasite, "J.N.Y. Entomol. Soc.", 43, 345.
 - GLASER, R.W., MCCOY, E.E., and GIRTH, H.B. - 1940 - The biology and economic importance of a nematode parasite in insects, " J.Parasitol" , 26, 479.
 - JACKSON, T.A., BEDDING, R.A., TROUGHT, T.E.T., KAIN, W.M., EAST, R.
- 1981 - The potential of nematodes for the control of pasture pests. " Weed and Pest Control Conf." Proc. 34th N.Z., 170 - 172.
 - JACKSON, T.A., TROUGHT, T.F.T. - 1982 - Progress with the use of nematodes and bacteria for the control of grass grub. "Weed and Pest Control Conf." Proc. 35th N.Z., 103 - 106.
 - SWAIN, R.B., LITTING, K.S., BARTLETT, F.J., and GORDON, M.F. - 1944 - Studies on nematodes of the genus Neoplectana - factors in the biological control of the white - fringed beetles. Special Rep. White fringed Beetle Investigations, " Gulfport, Miss. ", 33.
 - VIGGIANI, G. - 1969 - Ricerche sull'entomofauna del nocciolo I. Contributo alla conoscenza della Haplidia etrusca Kr. - Note morfo-etologiche e mezzi di lotta. " Boll. Lab. Ent. Agr. Portici ", 27: 89 - 152.
 - WANG JIN-XIAN - 1986 - Controlling insects in soil with entomopathogenic nematodes. "Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology". Proceedings of the Fourth International Colloquium of Invertebrate Pathology; Veldhoven (The Netherlands) from 18 - 22 August, 265 - 267.