

## CONTROLLO DELLA TIGNOLETTA DELLA VITE (*LOBESIA BOTRANA*) MEDIANTE L'USO DI DIVERSE FORMULAZIONI DI *BACILLUS THURINGIENSIS*.

D. FORTI, C. IORIATTI, M. DELAITI, L. DELAITI  
Istituto Agrario Via Mach n.1 S.Michele all'Adige (TN)

### Riassunto

Sono state realizzate prove di laboratorio e di pieno campo al fine di valutare l'efficacia e la persistenza d'azione di quattro formulazioni commerciali di *Bacillus thuringiensis* (Delfin, Agree, Dipel 2X, e MVP<sup>®</sup> bioinsetticida). Le esperienze di campo sono state realizzate per tre anni consecutivi in un vigneto di "Chardonnay" allevato a pergola trentina. Le quattro formulazioni, addizionate di zucchero alla dose di 500 g/hl, sono state impiegate per il controllo della seconda generazione di *Lobesia botrana*. A tal fine sono stati eseguiti due interventi, il primo all'inizio della schiusa delle uova, il secondo dopo circa una settimana, ed in ogni caso alla fine dell'ovideposizione. I risultati sono stati confrontati con quelli ottenuti da un prodotto di riferimento (chlorpyrifos-m) e l'efficacia è stata quantificata sulla base dell'attacco riscontrato nel testimone non trattato. I preparati a base di *B.thuringiensis* hanno dimostrato alti valori di efficacia, comparabili con quelli ottenuti con chlorpyrifos-m, se applicati all'inizio della schiusa delle uova di *L.botrana*. I trattamenti con *B.thuringiensis* sono stati ripetuti a breve distanza per assicurare la completa protezione degli acini. Inoltre sono state eseguite corrette pratiche agronomiche (sfogliatura, cimatura ...) per assicurare una buona bagnatura dei grappoli. Al fine di valutare la persistenza d'azione dei prodotti a confronto, sono stati raccolti in campo gli acini trattati, sui quali, in laboratorio, sono state poste larve di terza età provenienti dall'allevamento. L'efficacia così misurata appare decrescere rapidamente, dimostrando l'indispensabilità dell'esecuzione di un secondo trattamento, per ripristinare un'efficace copertura insetticida.

Parole chiave: vite, *Lobesia botrana*, *Bacillus thuringiensis*, efficacia, persistenza.

### Summary

#### CONTROL OF THE GRAPE MOTH (*Lobesia botrana*) WITH DIFFERENT *Bacillus thuringiensis* PRODUCTS.

Different *Bacillus thuringiensis* products (Delfin, Agree, Dipel 2x e MVP<sup>®</sup> bioinsetticida) were evaluated for persistence and efficacy against grape moth *Lobesia botrana* in Trentino (Italy). Three-years field trials have been carried out on "Chardonnay". Treatments were arranged as a completely randomized design. *B.thuringiensis* products were applied twice on the 2nd generation at the recommended field rates using a conventional speed sprayer operating at 12 hl/ha. 500 gr/hl of sugar were added to each of the *B.thuringiensis* formulations. When the applications are well positioned, at the beginning of egg hatching and some days later, the effectiveness of the treatments with *B.thuringiensis* products are comparable to the chemical standard. Effect of field-aged residue degradation of *B.thuringiensis* products was studied in laboratory using 2 to 3-d-old grape moth larvae. Results confirm the necessity of two treatments on the 2nd generation.

Key words: vineyard, *Lobesia botrana*, *Bacillus thuringiensis*, efficacy, persistence

## Introduzione

L'utilizzo di preparati a base di *Bacillus thuringiensis* Berliner nella lotta contro gli insetti dannosi alle colture è noto fin dagli anni '50. Tuttavia il loro impiego è rimasto limitato, rispetto a quello degli insetticidi di sintesi, a motivo della difficoltà di garantire la riproducibilità dei risultati con alti livelli di efficacia. La caratterizzazione di ceppi di *B.thuringiensis* migliorati sul piano dell'efficacia insetticida presentati recentemente da diverse Società, unitamente all'accresciuta sensibilità dell'opinione pubblica sui problemi dell'ambiente, ripropongono l'interesse per questi prodotti nella lotta contro le larve di numerosi lepidotteri dannosi.

L'obiettivo del presente lavoro è quello di riferire le caratteristiche di efficacia e le modalità di impiego di alcuni preparati a base di *B.thuringiensis* nella lotta contro la tignoletta della vite (*Lobesia botrana*).

## Materiali e metodi

### I. Sperimentazione in campo.

**Appezamento:** Prove pratiche sono state realizzate negli anni 1993, 1994 e 1995 in un vigneto di Chardonnay dell'Istituto Agrario di S.Michele all'Adige (TN) allevato a pergola doppia trentina. L'appezzamento, di 1,5 ha, è stato completamente randomizzato. Ogni tesi è stata ripetuta 4 volte e ogni parcella aveva una superficie di circa 600 mq.

I trattamenti sono stati realizzati sulla seconda generazione di tignoletta con atomizzatore a 11-13 bar, impiegando 1.500 l/ha di miscela. Al fine di ottenere una buona bagnatura dei grappoli, i trattamenti, preceduti da un'accurata sfogliatura, sono stati eseguiti trattando le singole "ali" della pergola.

**Scelta dei momenti d'intervento:** Le epoche di intervento sono state individuate seguendo il volo degli adulti con trappole a feromoni (ISAGRO) e l'evoluzione della schiusa delle uova di *L.botrana*. Ogni giorno, dall'inizio del volo degli adulti, sono stati osservati 100 grappoli, scelti a caso, contando le uova e annotando lo stadio di maturazione. Le uova individuate durante i controlli sono state segnate in modo da poterne seguire lo sviluppo embrionale.

**Prodotti:** Delfin (Sandoz) è un insetticida biologico a base di *B.thuringiensis* Berliner var. Kurstaki sierotipo 3a, 3b, ceppo SA11, che agisce per ingestione sulle larve di molte specie di Lepidotteri. E' presente sul mercato formulato in granuli disperdibili con almeno  $60 \times 10^6$  spore/mg e con attività insetticida pari a 32.000 U.I. (Sgarzi *et al*, 1990).

MVP<sup>®</sup> bioinsetticida (Mycogen), precedentemente codificato Myx 84860, è un prodotto ottenuto attraverso il processo brevettato denominato CellCAP. Questo consiste nell'ottenere la produzione naturale della sola  $\delta$  endotossina pura incapsulata in cellule morte di *Pseudomonas fluorescens* (Gelernter, 1990).

Dipel 2X (Abbott) è un formulato a base di *B.thuringiensis* var. Kurstaki con 32.000 U.I..

Agree (Ciba-Geigy) è un formulato a base di *B.thuringiensis* (ceppo GC-91 sierovar. Aizawai) con una potenza insetticida pari a 25.000 U.I. (Bernhard, 1992).

Come prodotto di riferimento è stato utilizzato Reldan 22D (22,1 % chlorpyrifos methyl), già largamente utilizzato nella pratica.

Con i prodotti a base di *B. thuringiensis* (tab.1) sono stati eseguiti due trattamenti a breve distanza l'uno dall'altro, a cui sono stati aggiunti 500 g/hl di zucchero; il prodotto di riferimento (chlorpyrifos-m) è stato invece impiegato una sola volta, in concomitanza alla esecuzione del secondo trattamento con i prodotti a base di *B. thuringiensis*.

prodotto	ditta	dose	
Delfin	Sandoz	WG	50 g
Agree	Ciba-Geigy	WP	100 g
Dipel 2X	Abbott	WP	50 g
MVP 84860	Mycogen	SC	200 cc
Reldan 22 D	Dow Elanco	EC	200 cc

Tabella 1: Caratteristiche e dosaggi dei formulati utilizzati nella prova.

Valutazione dell'efficacia: L'attività dei prodotti è stata valutata controllando 100 grappoli per parcella nella prima quindicina di agosto. I valori relativi al numero di larve vive per 100 grappoli sono stati sottoposti all'analisi della varianza (ANOVA) e test di Duncan, dopo la loro normalizzazione mediante trasformazione logaritmica.

## II. Prove di laboratorio

A completamento della sperimentazione di campo, nel 1993, sono state condotte prove di laboratorio con lo scopo di misurare l'efficacia e la persistenza di azione dei formulati a base di *B. thuringiensis* saggianti, nonché la loro prontezza di azione in funzione dei parametri ambientali rigidamente controllati.

Dalle singole parcelle di campo, trattate con i prodotti sopra elencati, sono stati prelevati grappoli i cui acini sono stati utilizzati per le prove. Le raccolte degli acini sono state effettuate subito dopo il primo intervento e sono state ripetute il giorno prima e subito dopo il secondo trattamento. I prelievi successivi sono stati eseguiti 8 e 14 giorni dopo il secondo trattamento.

Sono state utilizzate larve di *L. botrana* di 2-3° età larvale provenienti da allevamento.

Per ogni prodotto e data di prelievo sono state utilizzate 90 larve ripartite in tre ripetizioni. Ogni larva è stata posta in una provetta con tre acini. Le prove sono state condotte in ambiente controllato a 25° C e 70% di UR.

Il controllo è stato eseguito dopo 12 giorni dal trattamento. I valori di mortalità (Charmillot *et al.*, 1991) sono stati corretti con quelli dei testimoni non trattati mediante la formula di Abbott (Abbott, 1925).

Altro parametro valutato è stato la prontezza di azione, che rappresenta la percentuale di larve morte prima di avere procurato danni agli acini.

## Risultati

### Prove di campo.

Nella fig.1 è riportato l'andamento della schiusa delle uova, sui cui valori si è fondata la scelta dei momenti di intervento. Nonostante il diverso decorso stagionale, nei tre anni di prova la schiusa delle uova si è completata in meno di due settimane (10-13 giorni).

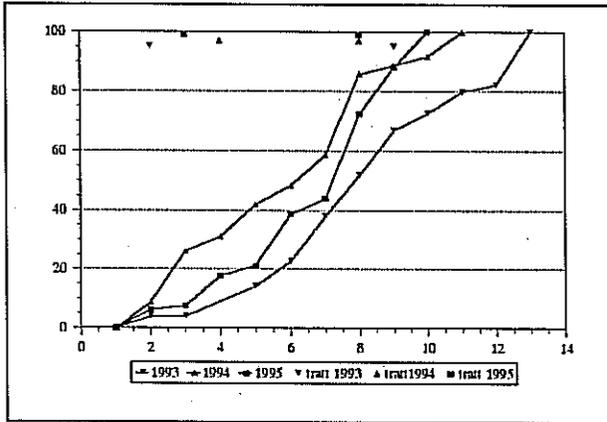


Figura 1: Schiusa delle uova (percentuale) e posizionamento dei trattamenti nei tre anni di sperimentazione.

e Agree siano attestati su valori di efficacia paragonabili fra di loro, mentre MVP-84860 (endotossina) abbia sviluppato una maggiore attività, avvicinandosi al risultato ottenuto con il prodotto di riferimento (chlorpyrifos-m). Il 1993 è stato l'anno in cui il periodo di schiusa delle uova di *L.botrana* si è prolungato a 13 giorni. Fra il primo e il secondo trattamento sono intercorsi 6 giorni e si è verificata la schiusa di circa il 70% delle uova. La minore persistenza dei preparati a base di *B.thuringiensis* rispetto a quelli contenenti la sola  $\delta$  endotossina può averne determinato la riduzione di efficacia. (Ioriatti *et al.*, 1994).

Nel 1994, invece, il primo trattamento con i prodotti a base di *B.thuringiensis* e di

due settimane (10-13 giorni).

Ciò spiega l'alta efficacia ottenuta con un unico trattamento a base di chlorpyrifos-m, tenuto conto della sua potente azione curativa e della relativa persistenza.

I preparati a base di *B.thuringiensis* hanno comportato invece valori di efficacia diversi nei vari anni di prova ed anche fra i singoli prodotti.

Esaminando i risultati del primo anno, riferiti al numero di larve vive su 100 grappoli, si può evidenziare come Dipel 2X, Delfin

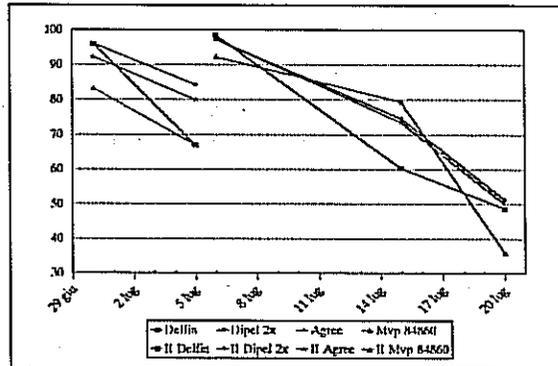


Figura 2: Persistenza dell'efficacia ottenuto dalle prove di laboratorio.

ò endotossina incapsulata è stato ritardato di qualche giorno a causa delle cattive condizioni meteorologiche, quando alcune larve erano già penetrate negli acini. Questo può spiegare la non completa efficacia di alcuni di essi.

Nel 1995, infine, tutti i prodotti saggiati hanno fatto registrare valori di efficacia molto alti, paragonabili a quelli ottenuti con chlorpyrifos-m e ciò, con buona probabilità, è stato dovuto alla corretta esecuzione dei due interventi e al breve lasso di tempo in cui è avvenuta la schiusa delle uova.

tesi	anno		
	1993	1994	1995
testimone	168,75 A	38,5 A	87,5 A
Delfin	13,75 B	1,5 CB	1,25 B
Agree	11,5 B	0,5 CB	1,25 B
Dipel 2x	16 B	3,25 B	3,25 B
MVP 84860	8 CB	2,75 B	0,75 B
chlorpyrifos-m	4,75 C	0,25 C	2 B

Tabella 2: Risultati ottenuti dai diversi prodotti allo studio nelle tre annate. Medie contraddistinte da lettere uguali non differiscono in maniera significativa per  $p > 0,001$ .

#### Prove di laboratorio.

I valori di efficacia e di persistenza dei prodotti a base di *B.thuringiensis* sono riportati nella figura 2. A seguito del primo trattamento Delfin e Dipel 2X hanno ottenuto un'efficacia iniziale pari al 95,15% superando di poco Agree (92,3%). MVP-84860 ha provocato invece una mortalità iniziale minore (83,3%).

Migliori sono i risultati ottenuti il giorno del secondo trattamento con Delfin, Dipel 2X e Agree. La loro efficacia infatti si è collocata su valori compresi fra 97 e 99%. MVP\* bioinsetticida è risultato, anche in questo secondo intervento, il prodotto meno efficace (92,3%).

Per quanto riguarda la prontezza di azione, misurata il giorno del primo trattamento, tutti i prodotti hanno evidenziato ottimi risultati (Fig.3.).

### Conclusioni

Per quanto attiene ai risultati delle prove di laboratorio occorre rilevare che il test adottato, pure con la severità che lo caratterizza, tende a sottostimare l'efficacia ottenuta in condizioni di campo, ciò in considerazione del fatto che sono state utilizzate larve di 2-3<sup>a</sup> età, meno vulnerabili all'azione del *B.thuringiensis* rispetto a quelle più giovani. I dati hanno tuttavia consentito di evidenziare la scarsa persistenza dei prodotti a base di *B.thuringiensis*, fatta eccezione per MVP<sup>®</sup>

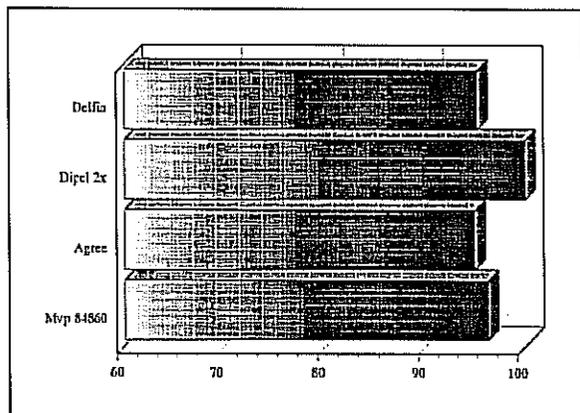


Figura 3: Prontezza d'azione registrata il giorno del primo trattamento.

aiuto è il controllo dell'inizio e della durata della schiusa delle uova. Tale controllo, che viene attualmente eseguito dal tecnico o dall'agricoltore esperto, potrebbe, in futuro, essere supportato da un modello di previsione facilmente adottabile. Risulta invece difficile riferirsi soltanto alla curva di volo (fig.4) realizzata con le catture dei maschi nelle trappole sessuali per la programmazione dei trattamenti, poichè la dinamica del volo è variabile nelle diverse annate.

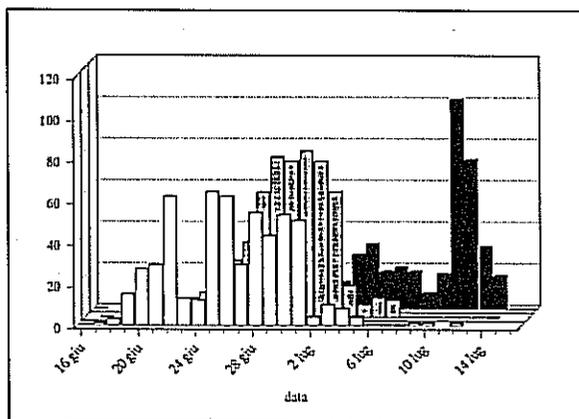


Figura 4: Voli di *L.botrana* registrati nei tre anni ('93, '94, '95) con trappole sessuali.

l'inizio della schiusa delle uova di *L.botrana*, vengono ripetuti a breve distanza per

bioinsetticida che mantiene, dopo 8 giorni dal secondo trattamento, ancora alti valori di efficacia.

I risultati che si riferiscono alle prove di campo sono di più difficile interpretazione, anche se alla base della eterogeneità dei dati ottenuti sono da considerare la difficoltà della scelta del momento di intervento, la modesta persistenza dei preparati a base di *B.thuringiensis* e il differente grado di attacco registrato nelle tre annate. Per quanto riguarda il primo aspetto, di grande

aiuto è il controllo dell'inizio e della durata della schiusa delle uova. Tale controllo, che viene attualmente eseguito dal tecnico o dall'agricoltore esperto, potrebbe, in futuro, essere supportato da un modello di previsione facilmente adottabile. Risulta invece difficile riferirsi soltanto alla curva di volo (fig.4) realizzata con le catture dei maschi nelle trappole sessuali per la programmazione dei trattamenti, poichè la dinamica del volo è variabile nelle diverse annate.

I preparati a base di *B.thuringiensis* hanno dimostrato di fornire alti valori di efficacia, comparabili con quelli ottenuti con chlorpyrifos-m, quando sono applicati al

ripetuti a breve distanza per

assicurare la completa protezione degli acini e sono state eseguite corrette pratiche agronomiche (sfogliatura, cimatura ...) per assicurare una buona bagnatura dei grappoli.

#### Lavori citati

ABBOTT W.S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18:165-267.

BERNHARD K. (1992) Quantitative determination of delta-endotoxin contents in spray dried preparations of *B.thuringiensis* strain GC-91. World Microbiol Biotechnology 8:24-29.

CHARMILLOT P.J., PASQUIER D., ANTONIN P. (1991) Efficacité et rémanence de quelques préparations à base de *Bacillus thuringiensis* (BT) dans la lutte contre les vers de la grappe eudémis et cochylis. Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic. 23:187-194.

GELERNTER W.D. (1990) *Bacillus thuringiensis*, bioengineering and the future of bioinsecticides. Proc. Brighton Crop Prot. Conf. 2:617-624.

IORIATTI C., FORTI D., DELAITI M., DELAITI L. (1994) Efficacia e persistenza d'azione di MVP 84860, bioinsetticida per la lotta a *Lobesia botrana* Den. & Schiff. Atti Giornate Fitopatologiche 2:129-136.

SGARZI B., BERTONA A. (1990) Delfin: un nuovo ceppo di *Bacillus Thuringiensis* var. *Kurstaki* attivo sui lepidotteri nottuidi. Atti Giornate Fitopatologiche 1:63-74.