

## UN LABORATORIO PER L'ALLEVAMENTO DI ENTOMOFAGI IN SARDEGNA

V. BROTZU<sup>1</sup>, M. CUBEDDU<sup>1</sup>, P. M. MARRAS<sup>1</sup>, M. NANNINI<sup>1</sup>,  
M. VERDINELLI<sup>1</sup>, G. DELRIO<sup>2</sup>, S. ORTU<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro Regionale Agrario Sperimentale, Cagliari - Laboratorio Allevamento Insetti Utili

<sup>2</sup>Istituto di Entomologia agraria, Università di Sassari, Via E. de Nicola, 1 - 07100 Sassari

### Riassunto

Un nuovo laboratorio per l'allevamento di insetti utili è in attività nella Sardegna meridionale. Il presente lavoro descrive le tecniche di allevamento di *Opius concolor* Szep. (Hym.: Braconidae), *Leptomastix dactylopii* (How.) (Hym.: Encirtidae), *Macrolophus caliginosus* Wagn. (Rhynch.: Miridae) e *Nesidiocoris tenuis* (Reut.) (Rhynch.: Miridae) in uso presso il Laboratorio Allevamento Insetti Utili di Ussana (Cagliari). Sono state condotte prove di lancio in pieno campo e in serra allo scopo di valutare l'efficacia degli insetti allevati quali agenti di contenimento biologico.

**Parole chiave:** allevamento, *Opius concolor*, *Leptomastix dactylopii*, *Macrolophus caliginosus*, *Nesidiocoris tenuis*

### Summary

#### A REARING LABORATORY OF ENTOMOPHAGOUS INSECTS IN SARDINIA

A new insect rearing laboratory is become operative in the South of Sardinia. This paper deals with the rearing methods of *Opius concolor* Szep. (Hym.: Braconidae), *Leptomastix dactylopii* (How.) (Hym.: Encirtidae), *Macrolophus caliginosus* Wagn. (Rhynch.: Miridae) and *Nesidiocoris tenuis* (Reut.) (Rhynch.: Miridae) used by the Beneficial Insect Rearing Laboratory of Ussana (Cagliari). Release technique trials have been carried out in the field and in the greenhouse in order to evaluate the effectiveness of the reared insects as biological control agents.

**Key words:** rearing, *Opius concolor*, *Leptomastix dactylopii*, *Macrolophus caliginosus*, *Nesidiocoris tenuis*

## Introduzione

Il Laboratorio Allevamento Insetti Utili del Centro Regionale Agrario Sperimentale di Cagliari (realizzato nell'ambito del programma operativo plurifondo C.E.E. e con i contributi della Regione Autonoma della Sardegna) ha dimensioni, finalità e criteri operativi diversi da quelli di una biofabbrica e tuttavia ha lo scopo di mettere a punto tecnologie di produzione suscettibili di una loro pratica utilizzazione. Ha inoltre il fine di portare avanti, collaborando anche con varie istituzioni scientifiche nazionali ed internazionali, un progetto sperimentale basato sul potenziamento dei meccanismi di regolazione naturali del nostro ambiente. Altro obiettivo è quello di pervenire alla formazione di tecnici e ricercatori altamente specializzati nelle varie metodologie di intervento compatibili con il mantenimento degli ecosistemi naturali.

Il laboratorio è ubicato all'interno dell'Azienda sperimentale "S. Michele" di Ussana (Ca), ed occupa una superficie coperta di circa 900 m<sup>2</sup> così suddivisa:

- n° 9 Celle di allevamento	133 m <sup>2</sup>
- n° 4 Laboratori	100 m <sup>2</sup>
- n° 5 Locali tecnici	96 m <sup>2</sup>
- n° 5 Uffici	90 m <sup>2</sup>
- Biblioteca e sala riunioni	84 m <sup>2</sup>
- Serra di allevamento insetti	300 m <sup>2</sup>
- Locali tecnici annessi	100 m <sup>2</sup>

Tutti i parametri climatici (temperatura, U.R., fotoperiodo) sono regolati da un sistema di controllo gestito da una rete di elaboratori.

L'attività svolta dal L.A.I.U. nel 1995 è stata rivolta essenzialmente all'avvio e al successivo potenziamento degli allevamenti degli entomofagi *Opius concolor* Szep. (Hym.: Braconidae), *Leptomastix dactylopii* (How.) (Hym.: Encyrtidae), *Macrolophus caliginosus* Wagn. (Rhynch.: Miridae) e *Nesidiocoris tenuis* (Reut.) (Rhynch.: Miridae). Dopo una preliminare fase progettuale, che ha tenuto conto della disponibilità di spazi e manodopera (costituita da 7 tecnici specializzati), si è passati alla fase di realizzazione dei moduli di allevamento. Nello stesso tempo sono iniziate le prime osservazioni sulla biologia delle diverse specie allevate allo scopo di ottimizzare le produzioni e di programmare gli interventi.

Nella fase di avvio del laboratorio si sono dovute superare alcune difficoltà legate alla taratura degli impianti climatici ed alla necessità di progettazione e di realizzazione di tutte quelle attrezzature necessarie ma non reperibili sul mercato. Questi fatti hanno condizionato l'attività di produzione che, nel complesso, è risultata soddisfacente.

### Allevamento di *Opius concolor* Szep.

L'allevamento dell'Imenottero Braconide *Opius concolor* Szep. avviene utilizzando la *Ceratitis capitata* Wied. (mosca mediterranea della frutta) quale ospite di sostituzione (Biliotti e Delanoue, 1959). L'intera produzione si svolge in 4 celle climatizzate, una per ogni fase del ciclo produttivo:

- linea adulti *C. capitata*;
- linea larve *C. capitata*;
- linea adulti *O. concolor*;
- stoccaggio pupe parassitizzate.

Gli adulti di *C. capitata* sono mantenuti a 24°C, 60 % U.R., 14:10 h L:D all'interno di gabbie in acciaio (200 x 180 x 20 cm). Le due pareti maggiori, che fungono da superficie per

l'ovideposizione, sono costituite da una rete sintetica con fori di 0,1 mm<sup>2</sup> di superficie (Economopoulos e Judt, 1989). Le uova, previa incubazione per 48 h in acqua aerata, sono seminate su una dieta artificiale a base di crusca di grano duro, zucchero semolato, torula, benzoato di sodio, acido citrico e acqua. L'allevamento delle larve è condotto in vassoi impilabili (60 x 40 x 5 cm) forniti di una apertura laterale. Alle condizioni ambientali in uso (26°C, 80 % U.R., 14:10 h L:D), le larve raggiungono la maturità in 7 giorni e saltano dai vassoi di allevamento in vasche piene d'acqua. Il salto si protrae per un periodo di 3-4 giorni al termine del quale le diete esauste sono sottoposte a trattamenti ad alta temperatura per poter essere successivamente riutilizzate quale alimento per il bestiame.

La produzione massale è iniziata nella prima settimana di giugno ed è proseguita sino al mese di ottobre. Durante questo periodo sono state allevate circa 210.000 larve/giorno di *C. capitata* delle quali circa 145.000 sono state esposte al parassitoide (tab. 1).

Tabella 1 - Produzioni mensili di *Ceratitis*, *Opius* (in migliaia) nel periodo giugno-ottobre 1995

	UOVA CERATITIS		LARVE CERATITIS*			ADULTI OPIUS	
	prodotte	utilizzate	prodotte	esposte	rimonta	prodotti	rimonta
Giugno	37.950	10.700	3.483	2.427	302	540	82
Luglio	58.450	21.425	5.830	3.762	440	818	171
Agosto	51.100	24.200	8.350	5.234	432	1.174	49
Settembre	60.187	21.397	7.287	5.715	350	917	103
Ottobre	46.375	10.175	5.495	3.902	112	974	112
Tot. gen.	254.062	87.897	30.447	21.042	1.637	4.424	518
Media gior.	1.694	606	210	145	11	30	3

\* Delle larve prodotte, una parte è stata esposta alla parassitizzazione, una è stata utilizzata per il mantenimento del ceppo di *Ceratitis* e l'ultima parte è stata eliminata.

L'*O. concolor* è allevato (26°C, 65 % U.R., luce naturale) in gabbie di materiale plastico trasparente (80 x 60 x 30 cm) con la parete superiore in reticella. Le larve di *C. capitata*, poggiate sulla sommità della gabbia, sono raggiunte dal parassitoide che inserisce l'ovopositore attraverso le maglie della rete (Piedade-Guerreiro e Guardado, 1988). Le pupe, senza alcun substrato per l'impupamento, sono successivamente conservate in cella a 20°C, 70 % U.R., 0:24 h L:D. In tali condizioni il ciclo del parassitoide ha una durata di circa 26-28 giorni.

La produzione di *Opius* è stata di circa 30.000 adulti/giorno. La resa parassitoide/ospite ottenuta, considerando i dati aggregati, è stata di circa il 21 %. Il valore, non molto soddisfacente, è comunque suscettibile di un notevole miglioramento. In alcune prove, condotte utilizzando un rapporto ospite/parassitoide di 8:1 e tempi di esposizione di circa 5 ore, sono state raggiunte percentuali di parassitizzazione di oltre il 70 %. In un solo giorno sono stati prodotti sino a circa 180.000 *Opius*.

La produzione, con il sistema di allevamento utilizzato, è comunque promettente e con la razionalizzazione delle tecniche in uso sarà possibile anche contenere i costi di produzione. In particolare sarà necessario migliorare le tecniche di allevamento dell'ospite la cui disponibilità è stata influenzata dalla difficoltà di reperire sul mercato crusche di qualità soddisfacente.

Nella tabella 2 sono riportate le località sarde dove sono state eseguite le prove di lotta biologica contro la mosca delle olive (*Bactrocera oleae* Gmel.). A cura dei tecnici delle Cooperative Olearie e dei Centri di Assistenza Tecnica, cui fanno capo le aree prescelte, si è proceduto al monitoraggio dei voli del fitofago e al controllo dei livelli di infestazione.

Tabella 2 - *Opius* lanciati nel periodo luglio-novembre 1995

Località	Sup. (ha)	n° <i>Opius</i>
Cuglieri	82	725.183
Seneghe	80	116.825
Villasor	1	12.300
Gonnosfanadiga	250	2.180.258
Dorgali	40	563.916
Dolianova	40	307.244
TOT.	493	3.905.726

Le aree olivicole prescelte presentano caratteristiche pedoclimatiche, varietali e di densità del fitofago differenti, in modo da poter stimare il ruolo svolto dal parassitoide in condizioni diverse. I primi interventi sono stati effettuati tenendo conto sia delle disponibilità produttive che della impossibilità di conservare gli insetti da lanciare per un tempo indefinito. In linea generale si è proceduto alle liberazioni sulla base della presenza, nelle olive infestate, di stadi della mosca suscettibili alla parassitizzazione. Sono stati immessi in campo i pupari con il parassitoide prossimo allo sfarfallamento (Liotta e Manzella, 1994) utilizzando delle buste di carta. Tale sistema, molto semplice ed economico, deve essere ancora migliorato soprattutto per evitare la predazione da parte delle formiche che è stata registrata in alcuni casi. I dati sull'infestazione e sul parassitismo sono ancora in corso di elaborazione; tuttavia nella maggioranza delle località è stato necessario ricorrere ad un trattamento insetticida nel periodo autunnale in quanto sono state superate le soglie di intervento. In futuro saranno studiate tecniche di lancio nel periodo primaverile, diverse densità di liberazione e le capacità di spostamento dell'*Opius* dati gli altissimi tassi di parassitismo rilevati in aree non interessate alla lotta biologica.

#### Allevamento di *Leptomastix dactylopii* (How.)

Il metodo seguito per l'allevamento dell'Imenottero Encirtide *Leptomastix dactylopii* (How.) segue sostanzialmente quello proposto da Viggiani (1975) e si articola in tre fasi distinte:

- germogliamento delle patate;
- allevamento del *Planococcus citri* (Risso) su germogli di patate;
- allevamento del *L. dactylopii* su *P. citri*, suo ospite naturale.

Alcune differenze rispetto al modello seguito riguardano la tecnica di infestazione dei germogli di patate con *P. citri* e il tipo di gabbie usato per l'allevamento del parassitoide.

Tutte le fasi avvengono all'interno di celle climatizzate in condizioni di temperatura ed umidità controllate. Il germogliamento delle patate si ottiene a 17°C, 85 % U.R., 0:24 h L:D; quando il germoglio raggiunge i 4-5 cm di lunghezza viene infestato con neanidi di prima età (in alternativa alle uova) della cocciniglia: germogli di patate ricoperti da colonie di femmine ovideponenti vengono disposti all'interno di particolari scatole con una parete in reticella a trama molto sottile (0,1 mm). Le giovani neanidi appena sgusciate, date le loro ridotte dimensioni, riescono ad attraversare la sottile trama e insediarsi sui germogli di patate.

L'allevamento del *P. citri* avviene a 25 °C, 60-70 % U.R., 0:24 h L:D; quando la popolazione della cocciniglia è formata in prevalenza da individui che hanno raggiunto uno stadio di sviluppo parassitizzabile (neanidi di III età e femmine adulte) le patate infestate vengono disposte all'interno delle gabbie di allevamento del parassitoide.

*L. dactylopii* è mantenuto a 26-27 °C, 60-70 % U.R. e in condizioni di luce naturale, all'interno di gabbiette (54 x 34 x 36 cm) in materiale plastico trasparente con 2 pareti in reticella per consentire una buona aerazione. Il materiale scelto per la realizzazione delle gabbie, usato in alternativa al legno, consente una loro maggiore maneggevolezza e agevola l'operazione di raccolta degli insetti.

Nelle condizioni ambientali indicate il ciclo di sviluppo dell'Imenottero dura circa 16-18 giorni, al termine del quale gli adulti neosfarfallati vengono raccolti tramite aspirazione. Gli Imenotteri vengono confezionati in barattoli di plastica da 200 ml e alimentati con miele; ogni barattolo contiene non più di circa 200 esemplari per consentire loro una maggiore sopravvivenza (Battaglia e Tranfaglia, 1994). Se non è possibile un'immediata liberazione in campo, gli insetti così confezionati vengono conservati per uno o due giorni a 17 °C (Battaglia et al., 1994).

Nel corso del periodo compreso tra maggio e ottobre sono stati prodotti complessivamente circa 268.000 adulti di *L. dactylopii*. Le produzioni medie settimanali sono variate in base alle necessità di intervento in campo: nei mesi estivi, in coincidenza con il periodo di più intense liberazioni, la produzione media settimanale è stata di circa 15.000 individui (tabella 3).

Tabella 3 - Produzioni mensili di *Leptomastix dactylopii* relative al periodo maggio-ottobre 1995

	prod. mensili	medie sett.	quota di produzione destinata a:		
			rimonta	liberazioni	prove di lab.
maggio	8.200	4.100	4.000	0	4.200
giugno	60.440	15.110	10.000	33.800	16.640
luglio	58.490	14.622	8.000	45.200	5.290
agosto	64.350	16.087	10.000	54.200	150
settembre	43.930	10.982	8.000	25.000	10.930
ottobre	33.200	8.300	1.600	28.800	2.800
TOT.	268.610		41.600	187.000	40.010
media	44.768		6.935	31.167	6.668

Il 70 % circa degli esemplari prodotti, corrispondenti a 187.000 individui, è stato liberato in pieno campo nell'ambito dei programmi di lotta integrata, il 15% circa (41.600 individui) è stato riutilizzato come quota di rimonta all'interno dell'allevamento e l'altro 15% circa (40.010 individui) impiegato per osservazioni biologiche in laboratorio sulla possibilità di stoccaggio e per il controllo di qualità.

Le liberazioni in pieno campo di *L. dactylopii* contro la cocciniglia cotonosa degli agrumi sono iniziate nel mese di giugno e sono proseguite sino ad ottobre, interessando complessivamente una superficie di circa 86 ha. L'attività di campo si è svolta in aree agrumicole della Sardegna centro-meridionale aventi caratteristiche pedoclimatiche e floricole diverse. Il numero di insetti lanciati per unità di superficie è risultato estremamente variabile (da circa 1.000 a circa 4.000/ha) in quanto, al momento delle liberazioni, si è tenuto conto sia della diversa densità delle piante per unità di superficie che dei differenti livelli di infestazione da *P. citri*.

Alla liberazione degli insetti hanno fatto seguito osservazioni su:

- percentuale e grado di infestazione dei frutti;
- percentuale di parassitizzazione da *L. dactylopii*.

I risultati ottenuti nei diversi agroecosistemi possono essere considerati, in generale, soddisfacenti e particolarmente importanti per l'agrumicoltura sarda: nella maggior parte dei casi sono stati eliminati i trattamenti anticoccidici che di norma vengono fatti durante il periodo estivo.

#### Allevamento di *Macrolophus caliginosus* Wagn. e *Nesidiocoris tenuis* (Reut.)

L'attività sperimentale è stata orientata prevalentemente verso la messa a punto di un metodo di allevamento di Miridi predatori da realizzare nella serra del laboratorio. E' stato adottato uno schema che prevedeva l'allevamento delle due specie *Macrolophus caliginosus* Wagn. e *Nesidiocoris tenuis* (Reut.) sulla preda naturale *Trialeurodes vaporariorum* West. (mosca bianca delle serre), mantenuto su piante di tabacco in gabbie di rete di materiale plastico.

Dopo aver condotto brevi esperienze relative alla coltivazione del tabacco e alle modalità di infestazione delle piante ad opera dell'aleurodide, a partire dal mese di giugno sono state svolte prove di allevamento per studiare alcuni aspetti della tecnica impiegata, quali l'influenza della varietà di tabacco, del numero di piante per gabbia e del rapporto numerico preda/predatore sulla moltiplicazione degli insetti (tabelle 4 e 5).

Sulla base dei primi risultati ottenuti, vengono attualmente svolte osservazioni per valutare l'importanza del cannibalismo, fenomeno ben conosciuto in queste specie (Benuzzi e Mosti, 1994), quale fattore di mortalità nelle prime fasi di sviluppo dei Miridi nelle condizioni di allevamento adottate. Le produzioni ottenute nel corso di 7 mesi di allevamento sono state di circa 17.000 *M. caliginosus* e 8.000 *N. tenuis*.

Tabella 4 - Effetto della densità di piante di tabacco, della cultivar, della densità numerica dell'ospite *Trialeurodes vaporariorum* e del numero iniziale di predatori sul coefficiente di moltiplicazione di *Macrolophus caliginosus* allevato in serra (inizio prova 01/08/95, fine prova 23/10/95).

n° piante/gabbia	varietà	n° adulti di <i>T. vaporariorum</i> iniziali	n° Miridi iniziali	n° Miridi adulti ottenuti	coeff. di moltiplicazione
8	V. Bright	800	100	1.083	10.83
8	V. Bright	800	100	582	5.82
8	Xanthi	800	100	430	4.30
8	Xanthi	800	100	563	5.63
16	V. Bright	1600	200	803	4.01
16	V. Bright	1600	200	246	1.23
16	Xanthi	1600	200	701	3.50
16	Xanthi	1600	200	736	3.68

Tabella 5 - Moltiplicazione di *Nesidiocoris tenuis* allevato in gabbie con 16 piante di tabacco cv. Xanthi infestate da *Trialeurodes vaporariorum* (inizio prova 05/06/95, fine prova 04/08/95)

n° gabbia	n° Miridi iniziali	n° Miridi adulti ottenuti	coeff. di moltiplicazione
1	108	462	4,28
2	103	398	3,86
3	108	402	3,72
4	100	403	4,03
5	100	256	2,56

Parallelamente alle prove in serra, sono state avviate esperienze di allevamento in cella climatizzata su piante di tabacco in gabbie di materiale plastico trasparente, alimentando i Miridi con larve mature di *C. capitata* devitalizzate in acqua calda.

Al fine di valutare il ruolo svolto da ciascuna delle due specie di Miridi come limitatrice delle pullulazioni di Aleurodidi e di studiare la competizione tra predatori inoculati e selvaggi, a partire dal mese di novembre 1995 vengono condotte osservazioni su una superficie di circa 4750 m<sup>2</sup>, in serre coltivate a pomodoro da mensa difese con tecniche di lotta integrata. Nel corso di tali esperienze, su una parte della superficie controllata, sono stati liberati circa 2 Miridi adulti/m<sup>2</sup> di superficie coltivata (Benuzzi e Mosti, 1994), impiegando circa 4.500 *M. caliginosus* e 500 *N. tenuis*.

In un prossimo futuro verranno studiate soluzioni per la raccolta e lo stoccaggio dei Miridi e saranno effettuati controlli di qualità per valutare la valenza biologica degli insetti prodotti in rapporto alle tecniche di allevamento adottate.

#### Lavori citati

- BATTAGLIA D., SPICCIARELLI R., DI LEO A., TRANFAGLIA A. (1994). Influenza della temperatura sullo sviluppo e sulla sopravvivenza dello stadio pupale e adulto di *Leptomastix dactylopii* (How) (*Hymenoptera Encyrtidae*). Atti Convegno "Lotta biologica", Acireale 1991, 133-138
- BATTAGLIA D., TRANFAGLIA A. (1994). Longevità degli adulti di *Leptomastix dactylopii* (How) (*Hymenoptera Encyrtidae*) in diverse condizioni di stoccaggio. Boll. Lab. Ent. Agr. "Filippo Silvestri", Portici 49, 207-212.
- BENUZZI M., MOSTI M. (1994). I miridi predatori di aleurodidi. Informatore Fitopatologico 11/1994, 25-30.
- BILIOTTI E., DELANOUE P. (1959). Contribution à l'étude biologique d'*Opius concolor* Szep. (Fam. *Braconidae*) en élevage en laboratoire. Entomophaga (1), 7-14.
- ECONOPOULOS A. P., JUDT S. (1989). Artificial rearing of the Mediterranean fruit fly (*Diptera: Tephritidae*): size of oviposition holes. Journ. Econ. Entomol. 82 (2), 668-674.
- LIOTTA G., MANZELLA S. (1994). La lotta biologica con *Opius concolor* Szep. (*Hym.: Braconidae*) contro *Bactrocera oleae* (Gmelin) (*Dipt.: Tephritidae*). II. Tecnica di lancio del parassitoide. Atti Giornate Fitopatologiche (2), 173-178.

PIEADADE-GUERREIRO J., GUARDADO M. I. (1988). Uma nova técnica para criação em laboratório de *Opius concolor* Szepi. (Hym. - Braconidae). Bol. Soc. Portuguesa de Entomologia III-27 (97), 1-11.

VIGGIANI G. (1975). Possibilità di lotta biologica contro alcuni insetti dagli Agrumi (*Planococcus citri* -Risso- e *Dialeurodes citri* -Ashm-). Boll. Lab. Ent. Agr. "Filippo Silvestri", Portici 32, 3-10.