POTENZIAMENTO DELL'INSEDIAMENTO DI *MACROLOPHUS PYGMAEUS* SU POMODORO COLTIVATO IN SERRA ATTRAVERSO LA SOMMINISTRAZIONE DI UNA PREDA DI SOSTITUZIONE

M. NANNINI, F. ATZORI, F. FODDI, G. MURGIA, R. PISCI, F. SANNA
AGRIS Sardegna, DIRVE – V.le Trieste, 111, 09123 Cagliari
mnannini@agrisricerca.it

RIASSUNTO

Negli ultimi decenni l'impiego di miridi predatori per la difesa delle colture di pomodoro in ambiente protetto ha trovato vasta applicazione in alcuni paesi europei. Sono tuttavia segnalate situazioni nelle quali l'insediamento nelle colture di questi entomofagi e la loro moltiplicazione avvengono con difficoltà, e in sensibile ritardo rispetto ai fitofagi bersaglio. Ciò si verifica di frequente nelle serre di pomodoro della Sardegna meridionale, in seguito ai lanci inoculativi del Miride *Macrolophus pygmaeus*. La possibilità di accelerare l'accrescimento numerico del predatore attraverso la somministrazione periodica di uova di *Ephestia kuehniella*, utilizzate per l'allevamento massale del Miride, è stata valutata nel corso di esperienze di laboratorio, semi-campo e campo. In ambiente confinato (test di laboratorio e semi-campo), la disponibilità della preda di sostituzione ha sensibilmente migliorato la fertilità e la sopravvivenza dell'entomofago. Nelle prove di campo, la distribuzione delle uova ha determinato significativi aumenti della progenie di *M. pygmaeus* solo quando il Miride è stato isolato nei punti di somministrazione delle prede, coprendo le piante con tessuto non tessuto.
Parole chiave: controllo biologico, *Ephestia kuehniella*, Miridi predatori

SUMMARY

ENHANCEMENT OF THE ESTABLISHMENT OF *MACROLOPHUS PYGMAEUS* (RAMBUR) ON GREENHOUSE TOMATOES BY SUPPLYING AN ALTERNATIVE FOOD SOURCE

During the last decades the use of predatory mirids for the protection of greenhouse tomato crops has found wide application in some European countries. However some cases are reported of poor establishment of the predator into crops and delayed population build-up with respect to target pests. This occurs frequently in southern Sardinian tomato greenhouses where inoculative release of the mirid *Macrolophus pygmaeus* are carried out. The possibility to enhance predator population growth by supplying *Ephestia kuehniella* eggs, currently used for mass-rearing the mirid, was evaluated by laboratory, semi-field and field experiments. In confined arenas (laboratory and semi-field tests) the availability of the supplementary food markedly improved predator fertility and survivorship. In field trials the dispensing of eggs determined significant increases of *M. pygmaeus* progeny only when the predatory mirid was released on food supply points isolated under non-woven covers.
Keywords: biological control, *Ephestia kuehniella*, predatory mirids

INTRODUZIONE

Dal momento della prima commercializzazione di predatori del genere *Macrolophus* Fieber (Heteroptera: Miridae) per il controllo degli Aleurodidi che attaccano il pomodoro coltivato in serra, risalente ai primi anni novanta, questo gruppo di antagonisti naturali ha trovato una crescente applicazione in diversi paesi europei (van Lenteren, 2003). L'introduzione nella regione mediterranea della tignola del pomodoro *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera:

Gelechiidae) ha di recente rinnovato l'interesse per questi entomofagi, in ragione della loro capacità di alimentarsi delle uova e delle larve giovani del fitofago (Urbaneja *et al*., 2009).

Le due specie attualmente disponibili sul mercato italiano, il *Macrolophus pygmaeus* (Rambur)*,* commercializzato come *Macrolophus caliginosus*, e il *Nesidiocoris tenuis* (Reuter), appartengono alla tribù dei Dicifini. Si tratta di insetti caratterizzati da un regime alimentare zoo-fitofago, in grado cioè di alimentarsi non solo di prede animali ma anche a spese della pianta ospite. La fitofagia di questi Miridi in alcuni casi può rappresentare una seria minaccia per le coltivazioni, come si verifica per esempio quando la specie *N. tenuis* raggiunge densità elevate su pomodoro, determinando danni non trascurabili alle piante e significative perdite di produzione (Arnó *et al*., 2010). Se la possibilità di alimentarsi sulle piante sembra costituire un vantaggio per questi insetti, favorendone la sopravvivenza in assenza di prede (Albajes e Alomar, 1999), è pur vero che la disponibilità di alimenti di origine animale ne migliora le performance biologiche. È stato pertanto suggerita da alcuni produttori di entomofagi la distribuzione nei punti di introduzione dei predatori di uova della tignola grigia della farina *Ephestia kuehniella* (Zeller), correntemente utilizzate per l'allevamento massale dei Miridi, al fine di migliorarne l'insediamento nelle colture in periodi di scarsa disponibilità di prede naturali. Se i positivi effetti di questa preda di sostituzione sulla fecondità, lo sviluppo e la sopravvivenza di alcuni Dicifini sono stati dimostrati in diversi lavori sperimentali (Fauvel *et al*., 1987; Vandekerkhove *et al*., 2006), meno evidente è la possibilità di poter migliorare l'insediamento e la moltiplicazione di questi entomofagi in condizioni di campo, nelle quali diversi fattori possono contribuire a limitare la crescita delle popolazioni dei predatori (Nannini *et al*., 2006).

Al fine di valutare gli effetti su alcuni aspetti della biologia di *M. pygmaeus* di una dieta a base di uova di *E. kuehniella*, e il contributo che può venire della distribuzione di questo alimento artificiale alla moltiplicazione del Miride in colture commerciali, tra il 2007 e il 2009 sono state condotte alcune esperienze di laboratorio, semi-campo e campo.

MATERIALI E METODI

Prove di laboratorio

Per valutare l'effetto della somministrazione di 8 mg di uova di *E. kuehniella*, acquistate presso un produttore di insetti utili (Koppert B.V.), su alcuni parametri biologici di *M. pygmaeus*, sono state condotte due prove in camera climatizzata (temperatura: 23,0 ± 2,0°C; umidità relativa: 70 ± 20%; fotoperiodo: 16L:8D). In considerazione del fatto che la fitness di un entomofago dipende in larga misura dal grado di stress al quale è stato esposto nel corso delle operazioni legate alla sua commercializzazione, sono stati studiati sia Miridi provenienti da un allevamento di laboratorio, dove sono stati mantenuti su piante di tabacco in condizioni climatiche e di alimentazione favorevoli e analoghe a quelle in cui si sono poi svolte le prove, che altri acquisiti attraverso i normali canali commerciali. Nel primo esperimento (Prova 1) sono state stimate la fertilità e la mortalità di coppie di *M. pygmaeus* adulti (una femmina e un maschio) alimentati o meno con uova della tignola, isolate su una piantina di pomodoro per coppia all'interno di gabbie di plastica trasparente aerate da 800 ml di volume. A sei giorni dall'introduzione degli adulti sono stato contati e rimossi gli individui vivi e morti presenti nelle gabbie. Le neanidi nate da ciascuna femmina sono state rilevate e raccolte a intervalli di 2-3 giorni. Ogni trattamento sperimentale è stato replicato 15 volte.

Nella seconda prova (Prova 2) è stata valutata la progenie prodotta da 5 coppie di *M. pygmaeus* adulti alimentati o meno con uova di *E. kuehniella*. I predatori sono stati isolati per due settimane su piantine di pomodoro in gabbie aerate da 10 l in plastica trasparente. Al termine delle due settimane gli insetti presenti sono stati contati e asportati dalle gabbie. Come

nella prova precedente, i giovani Miridi sono stati registrati e raccolti 2-3 volte la settimana. Ogni trattamento è stato replicato 5 volte.

Prove di semi-campo

Due esperimenti sono stati condotti in una serra sperimentale del Laboratorio Allevamento Insetti Utili di Ussana (Cagliari), rispettivamente tra i mesi di gennaio-marzo e febbraio-aprile del 2008. Nel primo test (Prova 3) 20 Miridi adulti, provenienti dall'allevamento di laboratorio o acquistati, sono stati isolati in gabbie costituite da un telaio d'acciaio (dimensioni: h 1,4 x l 2,5 x p 1,3 m), coperto da rete anti-insetto a maglia stretta, che ospitavano tre piante di pomodoro in vaso. Gli stessi quantitativi di prede di sostituzione utilizzati nelle prove in laboratorio (8 mg/individuo introdotto/settimana) sono state distribuite per 6 settimane. A 3, 6 e 9 settimane dall'introduzione dei predatori è stato contato il numero di Miridi adulti e giovani presenti.

Nel secondo esperimento (Prova 4), 20 predatori adulti allevati in laboratorio sono stati isolati in gabbie che contenevano 10 piante di pomodoro. In questo caso tre trattamenti sperimentali sono stati messi a confronto: somministrazione di uova di *E. kuehniella* su piante isolate sotto tessuto non tessuto, somministrazione di uova su piante scoperte e nessuna distribuzione di alimenti supplementari. Mentre la distribuzione di uova è avvenuta come nella prova precedente, il rilevamento dei predatori è stato effettuato solo due volte, a 6 e 9 settimane dall'introduzione. In entrambe le prove è stato adottato uno schema sperimentale a blocchi randomizzati con 4 ripetizioni.

Prove di campo

Tra il 2008 e il 2009 sono state condotte alcune esperienze in condizioni di campo, in una serra sperimentale di 400 m^2 e in 4 serre commerciali di 2.500 m^2, ubicate rispettivamente la prima nell'azienda "S'Appassiu" di Uta (CA) e le altre a S. Margherita di Pula (CA). In tutte le prove le osservazioni sono state portate a termine entro 6 settimane dall'introduzione del Miride, periodo durante il quale non sono stati effettuati trattamenti insetticidi. Nell'esperienza condotta in serra sperimentale (Prova 5) il predatore è stato introdotto in gruppi di 50 individui su 30 piante scelte a caso. In 20 punti di lancio, costituiti da una pianta, gli insetti sono stati isolati utilizzando una copertura in tessuto non tessuto; gli altri 10 punti di lancio sono rimasti scoperti. Mentre sulle piante isolate sono stati introdotti Miridi provenienti da un allevamento di laboratorio o acquistati sul mercato, in quelle non confinate sono stati lanciati solo insetti provenienti dal laboratorio. Nei punti di lancio i predatori sono stati alimentati per 4 settimane con 8 mg di *E. kuehniella*/individuo introdotto/settimana o non sono stati alimentati. Ciascun trattamento sperimentale è stato replicato 5 volte.

Le prove in serre commerciali (Prove 6-9) hanno interessato 4 colture impiantate nel mese di settembre, nelle quali sono stati individuati 16 punti di lancio costituiti ciascuno da 3 piante adiacenti sulla stessa fila. I predatori, acquistati dalla ditta Koppert B.V., sono stati liberati in gruppi di circa 50 individui per area di lancio. Mentre nelle prove 6-8 le prede di sostituzione sono state distribuite, nella quantità e con la frequenza già descritte per la prova 5, in metà dei punti di lancio, lasciati scoperti, nella prova 9 sono state distribuite in tutti i punti di introduzione, metà dei quali coperti con tessuto non tessuto per 4 settimane. In tutte le esperienze di campo il numero di Miridi presenti è stato rilevato a 1, 3 e 6 settimane dai lanci, ma mentre nella Prova 5 l'area oggetto del campionamento ha coinciso con il punto di introduzione, nelle Prove 6-9 sono state osservate non solo le 3 piante di ciascun punto di lancio, ma anche 2 gruppi di 3 piante nelle file adiacenti.

La maggior parte dei dati rilevati è stata analizzata, dopo trasformazione logaritmica, per mezzo di test Anova, utilizzando il test di Duncan per separare le medie. La percentuale di mortalità nelle prove di laboratorio e il numero di Miridi rilevato nelle serre commerciali sono stati confrontati con il test di Kruskal-Wallis, seguito, quando necessario, dal test U di Mann-Whitney corretto secondo il metodo di Bonferroni.

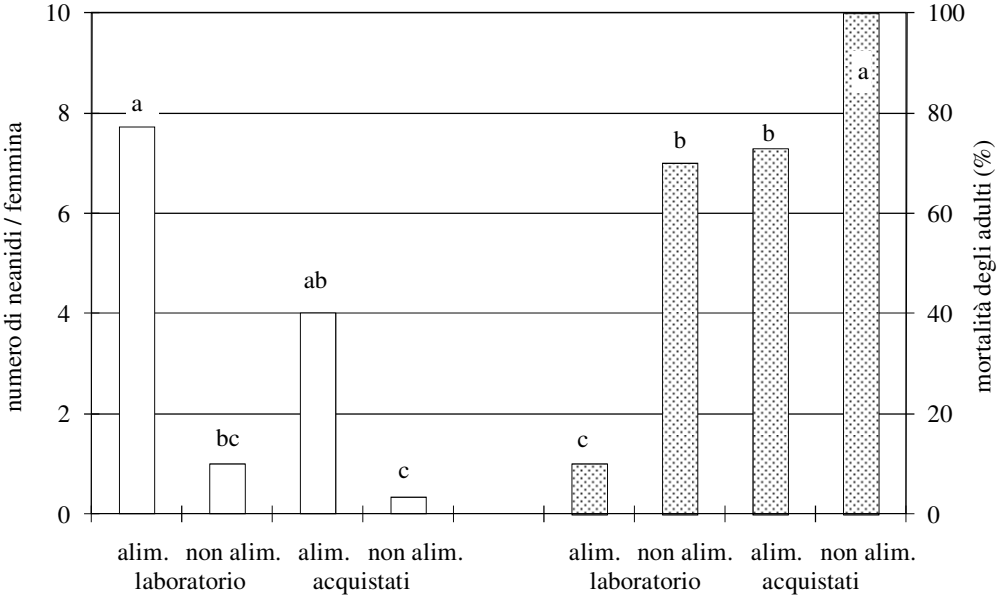
RISULTATI

Prove di laboratorio

Nella Prova 1, mentre il numero di discendenti prodotto in 6 giorni di ovideposizione non è risultato differente per predatori allevati in laboratorio o acquistati, le femmine alimentate con uova della tignola della farina hanno evidenziato una fertilità più elevata degli individui non alimentati (figura 1). La disponibilità di prede di sostituzione ha ridotto in misura significativa la mortalità degli adulti, a prescindere dalla provenienza degli insetti, ma in minore misura nei predatori acquisiti sul mercato che in quelli allevati in laboratorio (27 e 85% di riduzione rispettivamente).

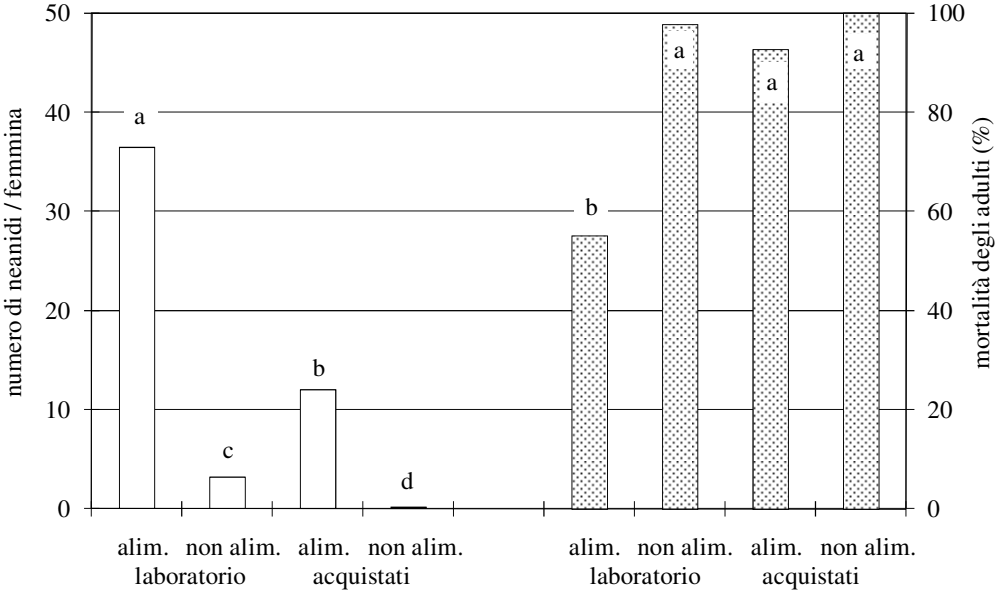
Nella Prova 2 è stata confermata la migliore fertilità delle femmine alimentate artificialmente, ma in questo caso i Miridi allevati in laboratorio hanno mostrato una maggiore prolificità di quelli acquistati (figura 2). Inoltre negli insetti sottoposti allo stress della commercializzazione non è stata messa in luce una riduzione della mortalità associata alla somministrazione di uova di *E. kuehniella*.

Figura 1. Effetto sulla fertilità (a sinistra) e sulla mortalità (a destra) di *M. pygmaeus* dello stress sperimentato prima della prova (insetti di laboratorio o acquistati) e della possibilità di accesso a una preda di sostituzione (insetti alimentati e non alimentati) durante la Prova 1



Lettere diverse indicano differenze significative ai test di Duncan (fertilità) e di Mann-Whitney (mortalità) per p = 0,05

Figura 2. Effetto sulla fertilità (a sinistra) e sulla mortalità (a destra) di *M. pygmaeus* dello stress sperimentato prima della prova (insetti di laboratorio o acquistati) e della possibilità di accesso a una preda di sostituzione (insetti alimentati e non alimentati) durante la Prova 2



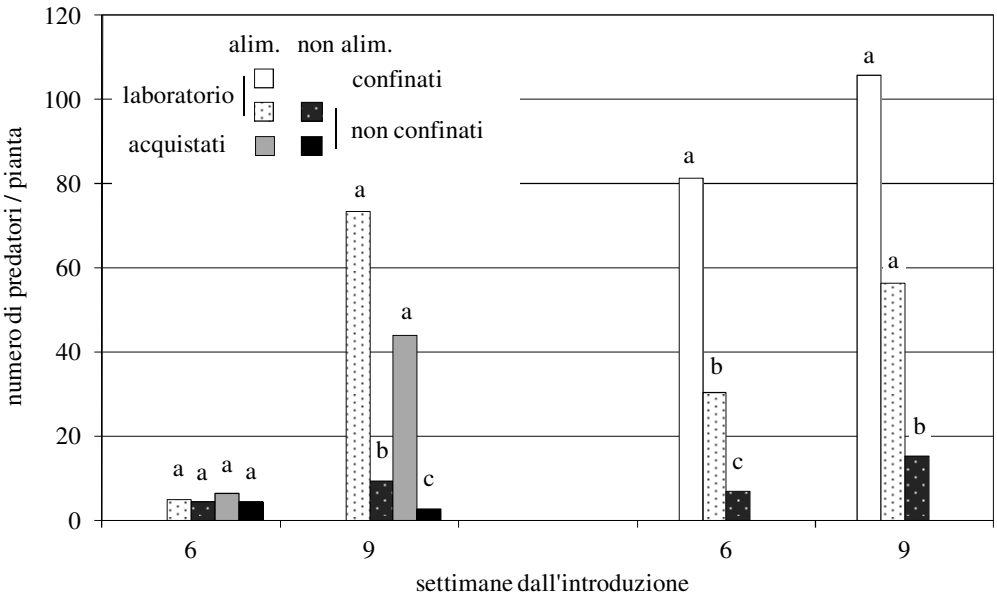
Lettere diverse indicano differenze significative ai test di Duncan (fertilità) e di Mann-Whitney (mortalità) per p = 0,05

Prove di semi-campo

Nella Prova 3, a tre settimane dall'introduzione dei predatori è stato osservato un più elevato numero di adulti ancora in vita tra i Miridi allevati in laboratorio che tra quelli acquistati (rispettivamente 4,8 contro 0,7 individui/gabbia; F = 95,84; g.l. = 1, 1, 1, 9; p < 0,01; test Anova). Mentre a 6 settimane dalle introduzioni è stato rilevato un numero di giovani piuttosto basso e non significativamente differente tra le tesi in esame, a 9 settimane sono emerse differenze nella consistenza numerica della progenie prodotta da adulti alimentati e non alimentati, ma non nella discendenza di individui provenienti dal laboratorio o acquistati, se alimentati durante l'esperimento (figura 3).

Nella Prova 4, al momento della scopertura delle piante, a 6 settimane dall'introduzione dei predatori, è stato osservato un numero significativamente più elevato di individui in corrispondenza dei punti di lancio confinati dove sono state distribuite uova della tignola che in quelli non approvvigionati con l'alimento artificiale o rimasti scoperti (figura 3). Tuttavia nelle settimane successive il numero di Miridi osservati nelle tesi sperimentali che prevedevano la somministrazione di prede di sostituzione è cresciuto più rapidamente nei punti di lancio scoperti che in quelli coperti, riducendo la differenze tra le due tesi a livelli non significativi.

Figura 3. Effetto sulla progenie prodotta da *M. pygmaeus* dello stress sperimentato prima della prova (insetti di laboratorio o acquistati), della possibilità di accesso a una preda di sostituzione (insetti alimentati o non alimentati) e dell'introduzione dei predatori in punti di lancio confinati sotto tessuto non tessuto (insetti confinati o non confinati) durante la Prova 3 (a sinistra) e la Prova 4 (a destra)



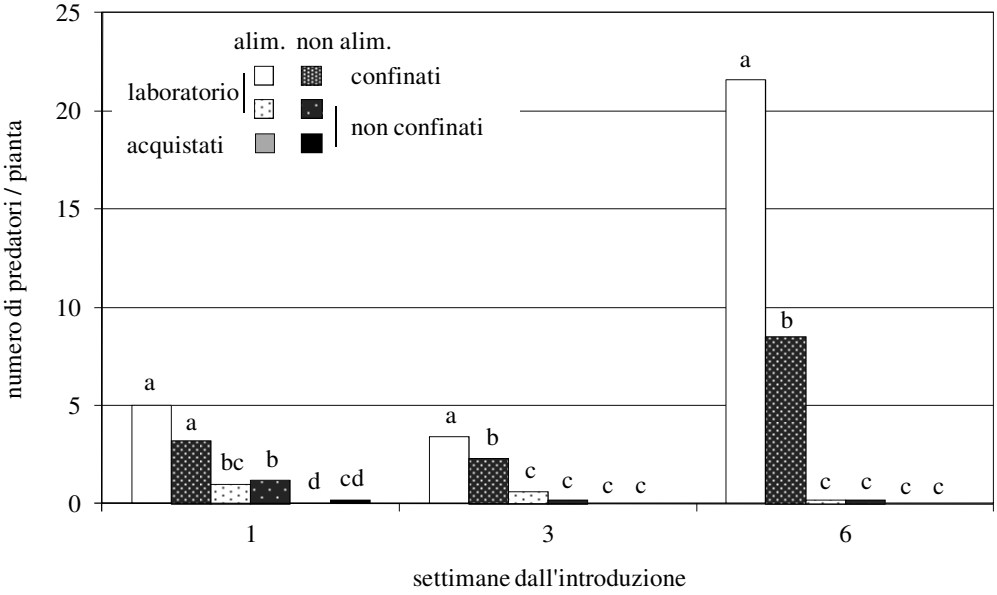
Lettere diverse indicano differenze significative al test di Duncan per p = 0,05

Prove di campo

Nella Prova 5 è stato rilevato un numero significativamente maggiore di Miridi nelle piante dove gli entomofagi sono stati liberati sotto la copertura di tessuto non tessuto che sulle piante scoperte (figura 4). Differenze nella discendenza di individui alimentati e non alimentati artificialmente sono state evidenziate solo per gli insetti introdotti in punti di lancio confinati, mentre nelle aree di lancio scoperte differenze dipendenti dalla provenienza dei predatori sono state osservate solo a una settimana dalle liberazioni.

Nelle Prove 6-8, condotte in serre commerciali, la distribuzione di uova di *E. kuehniella* in punti di lancio scoperti non ha permesso di evidenziare differenze nel numero di Miridi rilevati nelle aree di rilevamento (figura 5). Tuttavia sono state osservate differenze significative nel numero di Miridi registrati nelle diverse colture in esame ($p < 0,05$ in tutte le date di campionamento; test di Kruskal-Wallis). Nella prova 9, nel corso della quale sono stati raggiunti livelli di densità del predatore sensibilmente superiori a quelli rilevati nelle esperienze precedenti, a una e tre settimane dalle introduzioni è stato osservato un numero significativamente superiore di individui nelle aree di lancio coperte che in quelle scoperte (figura 5). Nell'ultimo rilevamento, effettuato a due settimane dalla rimozione del tessuto non tessuto, non sono state registrate differenze significative tra le due tesi in esame.

Figura 4. Effetto sulla progenie prodotta da *M. pygmaeus* dello stress sperimentato prima della prova (insetti di laboratorio o acquistati), della possibilità di accesso a una preda di sostituzione (insetti alimentati o non alimentati) e dell'introduzione dei predatori in punti di lancio confinati sotto tessuto non tessuto (insetti confinati o non confinati) durante la Prova 5

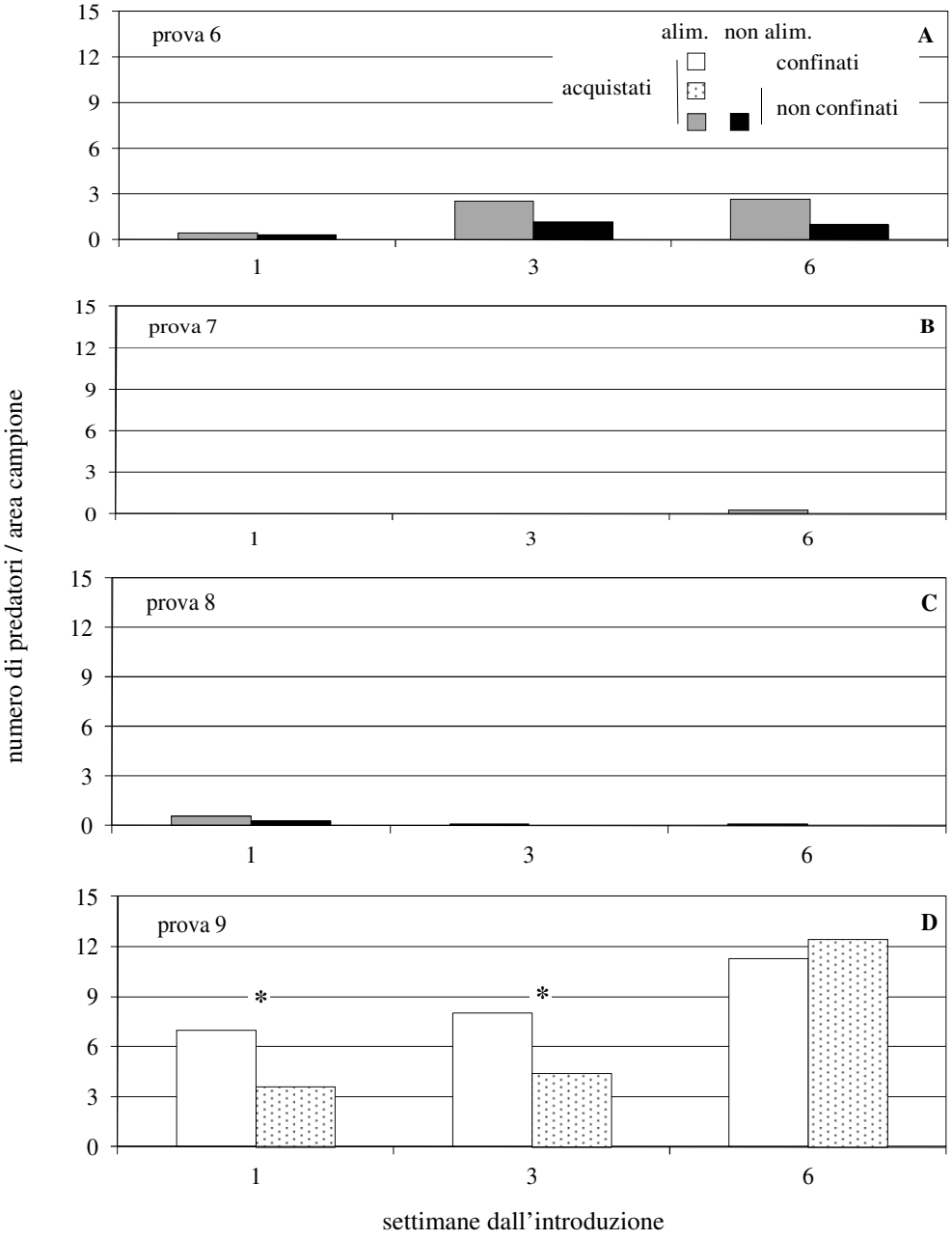


Lettere diverse indicano differenze significative al test di Duncan per p = 0,05

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Le esperienze svolte in laboratorio e semi-campo hanno messo in evidenza i positivi effetti sulla fertilità e la sopravvivenza di *M. pygmaeus* della disponibilità di uova di *E. kuehniella*, confermando l'esigenza del Miride di disporre di alimenti di origine animale per raggiungere adeguate performance biologiche (Vandekerkhove *et al*., 2006). A ciò può aver contribuito anche il fatto che nel corso di tali esperienze le piante di pomodoro non sono state sottoposte alle normali pratiche colturali (eliminazione dei germogli laterali, sfogliatura, ecc.), la cui applicazione può determinare un ritardo nell'accrescimento delle popolazioni dei predatori dovuto alla rimozione dalle piante di uova e neanidi (Bonato e Ridray, 2007). Anche il diverso grado di stress al quale sono stati sottoposti gli insetti prima dei test ha dimostrato di avere un'influenza sulla consistenza numerica della progenie prodotta. Tuttavia questo fattore si è dimostrato meno condizionante rispetto al precedente, come dimostra il fatto che in alcune prove non siano emerse differenze tra individui di laboratorio e acquistati, purché alimentati con uova della tignola. Questi risultati sembrano evidenziare la possibilità di un certo grado di recupero della fitness conseguente a un miglioramento delle condizioni ambientali e alimentari, come già dimostrato per altri Eterotteri zoo-fitofagi, quali il *Podisus maculiventris* (Say), in seguito a un periodo di digiuno (Wiedenmann *et al*., 1996). Ciò potrebbe costituire un vantaggio nei casi in cui gli entomofagi destinati ai lanci si trovino in condizioni fisiologiche non ottimali.

Figura 5. Effetto sul numero di *M. pygmaeus* rilevati nelle aree campione della possibilità di accesso a una preda di sostituzione (insetti alimentati o non alimentati), durante le Prove 6, 7 e 8 (grafici A, B e C), e dell'introduzione dei predatori in punti di lancio confinati sotto tessuto non tessuto (insetti confinati o non confinati) durante la Prova 9 (grafico D)



*: differenza significativa tra i trattamenti per p = 0,05 (test di Duncan)

Tuttavia la semplice somministrazione di prede di sostituzione in serre commerciali non sembra rappresentare una soluzione alla scarsa disponibilità di prede naturali, come risulta dalle prove in campo nel corso delle quali i Miridi sono stati lasciati liberi di allontanarsi dai punti di distribuzione dell'alimento supplementare. Le differenze tra le diverse colture evidenziate nelle prove 6-8 sono probabilmente da attribuire a sensibili difformità del livello di infestazione di Aleurodidi esistente nelle serre in esame (fino a 50 volte più elevato nella prova 6 che nelle prove 7 e 8). Risultati più vicini a quelli conseguiti in laboratorio e semi-campo sono stati ottenuti nelle prove 5 e 9, quando i Miridi sono stati isolati nei punti di somministrazione delle prede. Inoltre la sospensione della sfogliatura delle piante coperte da tessuto non tessuto può aver contribuito a rendere più evidente i positivi effetti dell'alimentazione artificiale. Riguardo al fatto che nella prova 9 il numero di predatori rilevato nelle aree di lancio confinate e non confinate sia risultato simile, a due settimane dalla scopertura delle piante, questo potrebbe dipendere tanto dalla dispersione degli entomofagi dai punti di introduzione, una volta raggiunto lo stadio di adulto, quanto da un ritardo nello sviluppo del predatore nei punti di lancio scoperti, rispetto a quelli coperti, determinato dal riscaldamento dell'aria al di sotto del tessuto non tessuto.

In conclusione, i risultati delle prove svolte sembrano confermare la possibilità di accelerare l'insediamento del Miride nelle colture di pomodoro in serra attraverso la somministrazione di uova di *E. kuehniella* e la copertura dei punti di lancio dei predatori con tessuto non tessuto. Almeno per la durata del periodo di isolamento degli entomofagi nelle aree di introduzione, tali interventi consentono di ovviare alla scarsa disponibilità di prede naturali che di frequente si verifica nelle prime fasi di coltivazione. La copertura delle piante di pomodoro nelle prime settimane successive all'impianto è peraltro una tecnica già adottata nella zona di S. Margherita di Pula per la difesa delle colture dall'accartocciamento fogliare giallo. Ulteriori indagini sono in corso per verificare gli effetti della distribuzione di prede di sostituzione, effettuata all'introduzione dell'ausiliario, sulla dinamica di popolazioni di *M. pygmaeus* nel corso delle successive fasi di coltivazione del pomodoro e sul contenimento delle infestazioni dei fitofagi bersaglio.

LAVORI CITATI

Albajes R., Alomar O., 1999. Current and potential use of polyphagous predators. *In*: Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops (Albajes R., Gullino L., van Lenteren J.C., Elad Y. coord.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 265-275.

Arnó J., Castañe C., Riudavets J., Gabarra R., 2010. Risk of damage to tomato crops by the generalist zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae). *Bulletin of Entomological Research*, 100, 105-115.

Bonato O., Ridray G., 2007. Effect of tomato deleafing on mirids, the natural predators of whiteflies. *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 167-170.

Fauvel G., Malausa J.C., Kaspar B., 1987. Étude en laboratoire des principales caractéristiques biologiques de *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera, Miridae). *Entomophaga*, 32, 529-543.

Nannini M., Foddi F., Murgia G., Pisci R., Sanna F., Spanedda S., 2006. Alternative whitefly biocontrol options for greenhouse tomatoes. *IOBC/WPRS Bulletin*, 29 (4), 65-70.

Urbaneja A., Montón H., Mollá O., 2009. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Journal of Applied Entomology*, 133, 292-296.

van Lenteren J.C., 2003. Commercial availability of biological control agents. *In*: Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures (van Lenteren J.C. coord.), CABI Publishing, Wallingford, 167-179.

Vandekerkhove B., Van Baal E., Bolckmans K., De Clercq P., 2006. Effect of diet and mating status on ovarian development and oviposition in the polyphagous predator *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae). *Biological Control*, 39, 532–538.

Wiedenmann R.N., Legaspi J.C., O'Neil R.J., 1996. Impact of prey density and facultative plant feeding on the life history of the predator *Podisus maculiventris* (Say). *In*: Zoo-phytophagous Heteroptera: Implications for Life History and Integrated Pest Management (Alomar O., Wiedenmann R.N. coord.). Thomas Say Publications in Entomology, ESA, Lanham, 94-118.