

ORESTE TRIGGIANI

Istituto di Entomologia Agraria dell'Università di Bari

**Sensibilità del *Tomicus (Blastophagus) piniperda* L.
(Col. Scolytidae) ai Nematodi della famiglia *Steinernematidae*
e *Heterorhabditidae***

Il *Tomicus piniperda* è un Coleottero Scolitide corticicolo dannoso a varie specie di *Pinus* diffuso in tutta la Regione Palearctica Euro-Asiatica e in alcune Regioni del Nord Africa ed è stato introdotto nel Nord America (JOLY, 1975). In questi anni, soprattutto a causa della crescente antropizzazione e degli incendi estivi ricorrenti, esso sta causando ingenti danni alle pinete del litorale ionico pugliese.

Al fine di individuare agenti biologici patogeni che possano essere impiegati in programmi di lotta contro questo insetto, sono state effettuate alcune prove con Nematodi entomopatogeni. A tal proposito, sono stati presi in esame i Nematodi *Steinernematidae*: *Steinernema feltiae* Filip. (*Neoaplectana carpocapsae* Weiser) vari ceppi, *Neoaplectana glaseri* Steiner e gli *Heterorhabditidae*: *Heterorhabditis helioidis* (KERAN, BROOK e HIRSCHMAN, 1976), POINAR, THOMAS e HESS e *H. bacteriophora* Poinar.

Il Nematode *Steinernema feltiae* associato con il Batterio *Xenorhabdus nematophilus* Poinar e Thomas e l'*Heterorhabditis bacteriophora* con *Xenorhabdus luminescens*, erano già stati utilizzati come potenziali agenti per il controllo di un elevato numero di insetti (BENHAM e POINAR, 1973; LAUMOND *et al.*, 1979). I Batteri associati ai succitati Nematodi penetrano con questi nell'ospite attraverso le vie naturali (apertura boccale ed anale, stigmi) (TRIGGIANI e POINAR, 1976), lo uccidono in breve tempo e creano un ambiente favorevole allo sviluppo ed alla moltiplicazione dei Nematodi stessi. Le nuove generazioni, quindi, escono dal corpo della vittima e si riversano nell'ambiente alla ricerca di nuovi ospiti da parassitizzare.

La mancanza di patogenicità nei riguardi dei mammiferi (GAUGLER e BOUSH, 1979; POINAR *et al.*, 1982) e dei lombrichi nel terreno (CAPINERA *et al.*, 1982) la bassissima patogenicità nei confronti delle api (KAYA *et al.*, 1982), la resistenza a numerosi insetticidi, fungicidi ed erbicidi (KOVACS, 1982), la capacità degli stadi infettivi («dauerlarvae») di rimanere vitali per lungo

tempo e la facilità di distribuzione con i mezzi convenzionali, rendono questi Nematodi interessanti per il controllo biologico, sebbene essi siano legati a limitazioni ambientali che devono essere ancora completamente superate.

Prove di lotta, in laboratorio ed in campo, per il controllo dei Coleotteri Scolitidi sono state condotte in molte regioni del globo; la *N. carpocapsae*, in particolare, è stata utilizzata da MORE (1970) contro *Dentroctonus frontalis* Zim. e *Scolytus scolytus* F. con successo; MAC VEAN e BREVER (1981) hanno messo in evidenza la sensibilità di tutti gli stadi di *Scolytus multistriatus* (Marsham) e di *D. ponderosae* Hopkins allo stesso Nematode e POINAR e DESCHAMPS (1981) ed indi FINNEY (1973, 1977) hanno provato l'efficacia di *N. carpocapsae* e di *H. bacteriophora* nel parassitizzare *S. multistriatus*.

L'intendimento di questa nota è di accertare la capacità di alcuni Nematodi, in particolare di ceppi dello *Steinermia feltiae*, di *Neoaplectana glaseri*, dell'*Heterorhabditis heliothidis* e dell'*H. bacteriophora* di uccidere le larve, le pupe e gli adulti del *Tomicus piniperda*.

MATERIALI E METODI

I Nematodi utilizzati nelle prove sono stati: *Steinermia feltiae* ceppo bretonese, *S. feltiae* ceppo « agriotos », *S. feltiae* ceppo messicano, *N. glaseri*, *Heterorhabditis bacteriophora* e *H. heliothidis*, ottenuti dal Dr. POINAR Jr. della Università di California (Berkeley - USA) e *Steinermia feltiae* Filip. « 95 » ceppo italiano, fornito dalla Dr. DESEO del Centro Studi di Fitofarmacia di Bologna.

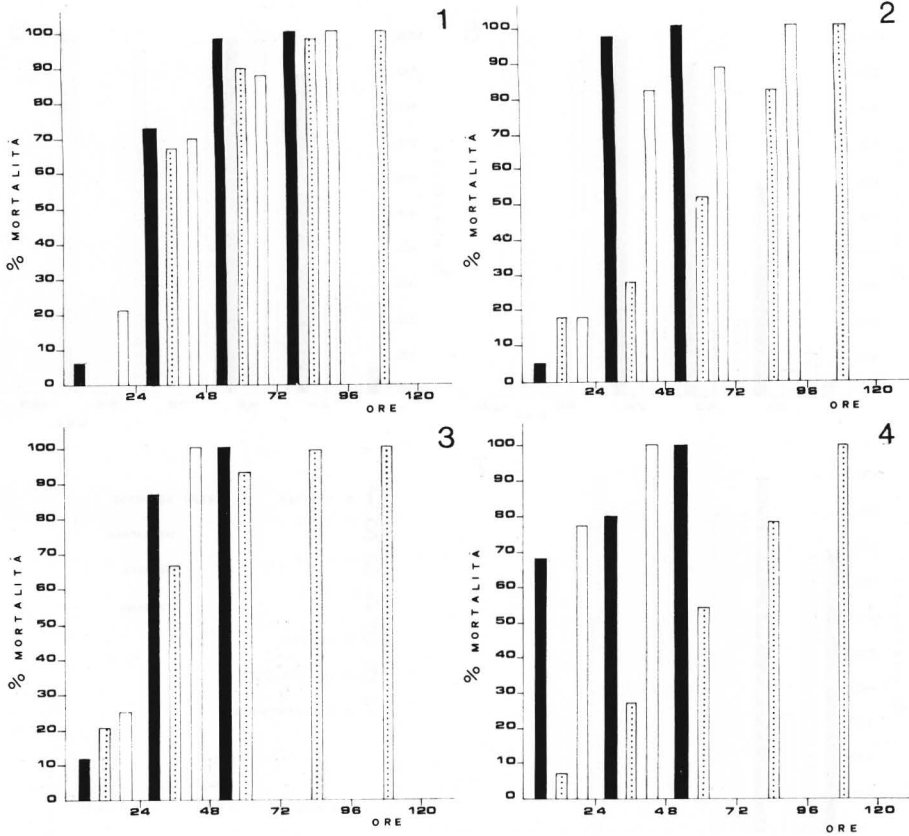
L'allevamento dei Nematodi è stato realizzato in larve di *Galleria mellonella* L. (Lep.: *Pyralidae*) secondo la tecnica descritta da DUTKY (1964).

I Nematodi ottenuti sono stati conservati in frigorifero alla temperatura di 6-7° C, alla concentrazione di circa 15.000 stadi infettivi per ml di acqua; nel caso degli *Heterorhabditis*, all'acqua si è aggiunto lo 0,25% di cloruro di sodio per una migliore conservazione delle « dauerlarvae ».

Larve mature, pupe ed adulti del *T. piniperda* da utilizzare nelle prove di laboratorio, sono stati prelevati dalle gallerie e dalle cellette di impupamento di numerosi campioni di Pino provenienti da varie località del litorale ionico pugliese.

Per le prove sono stati utilizzati 3 gruppi, costituiti ciascuno da 30 larve mature, 30 pupe e 30 adulti del *T. piniperda*, posti in capsule Petri di 10 cm di diametro contenenti sul fondo 2 dischi di carta bibula di eguali dimensioni; sia le capsule Petri che la carta bibula erano state preventivamente sterilizzate in autoclave.

Dopo 24 ore i gruppi sono stati ricostituiti, sostituendo gli insetti morti in seguito a danni riportati durante l'estrazione dalle cortecce.



Grafici rappresentanti la percentuale di mortalità procurata dagli stadi infettivi di varie specie di Nematodi alle larve, pupe ed adulti del *Tomicus piniperda*.

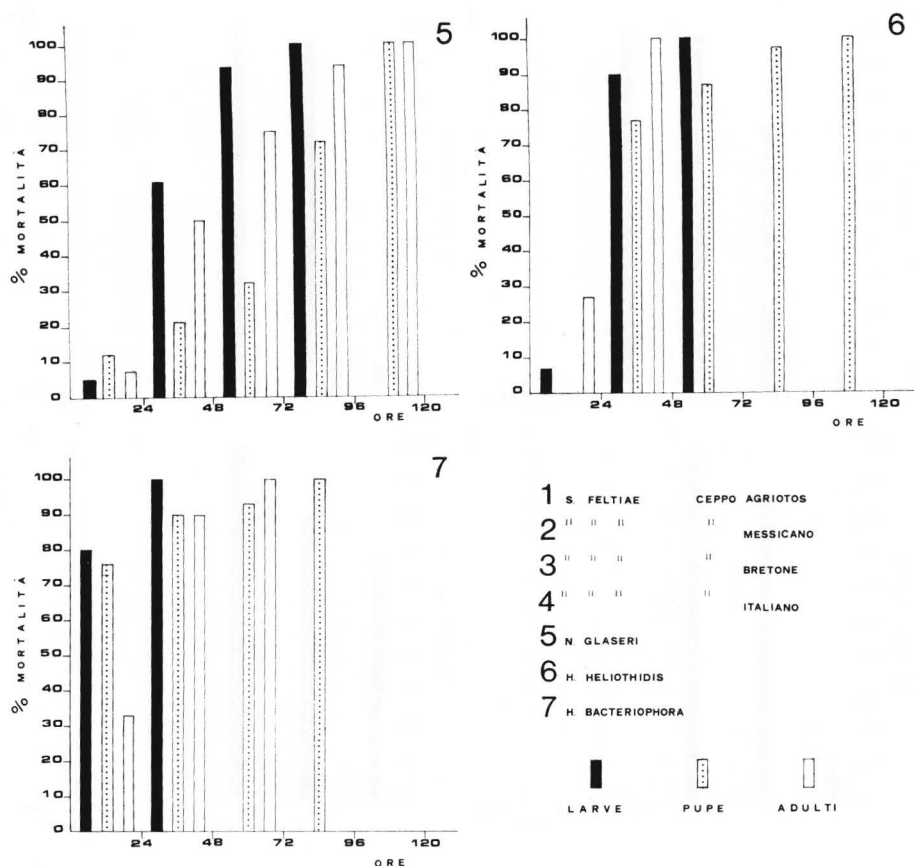
Le prove di sensibilità del *Tomicus* sono state realizzate aggiungendo in ogni capsula Petri 2 ml di acqua contenenti all'incirca 15.000 stadi infettivi per ml, dei Nematodi succitati.

Per ciascun ceppo e specie di Nematode sono state effettuate 3 ripetizioni.

Per testimone sono stati utilizzati 30 esemplari di ciascuno stadio dello Scolitide in capsule Petri con carta bibula imbevuta con 2 ml di acqua sterile.

Le capsule sono state indi collocate in cella climatica alla temperatura di $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ed alla U.R. del $75 \pm 5\%$ e giornalmente si è proceduto al conteggio ed all'allontanamento degli insetti morti.

I vari stadi dello Scolitide uccisi dai Nematodi, sono stati indi collocati su carta bibula in capsule Petri per la raccolta e successivo conteggio dei Nema-



Grafici rappresentanti la percentuale di mortalità procurata dagli stadi infettivi di varie specie di Nematodi alle larve, pupe ed adulti del *Tomiscus piniperda*.

todi da essi emergenti, i quali sono stati utilizzati per provare nuovamente la loro infettività nei riguardi di altri esemplari di *T. piniperda* e delle larve mature della *G. mellonella*.

RISULTATI

Dalle prove effettuate e dai risultati riportati nella tab. 1 e nei grafici, si evidenzia la elevata capacità dei Nematodi nel causare, in un tempo limitato, la morte della totalità delle larve dello Scolitide.

Tab. 1 - Mortalità dei vari stadi del *Tomicus piniperda* esposti alle larve («dauerlarvae») di varie specie di Nematodi.

Nematodi	Larve mortalità in %			Pupe mortalità in %			Adulti mortalità in %			
	ore	24	48	72	96	24	48	72	96	120
<i>Steinernia feltiae</i> ceppo «agriotos»	6	73	98	100	—	67	90	98	100	100
<i>Steinernia feltiae</i> ceppo messicano	5	97	100	—	18	28	52	82	100	100
<i>Steinernia feltiae</i> ceppo bretone	12	87	100	—	21	67	93	99	100	100
<i>Steinernia feltiae</i> ceppo italiano	68	80	100	—	7	27	54	78	100	100
<i>Neoaplectana glaseri</i>	5	61	93	100	12	21	33	72	100	100
<i>Heterorhabditis heliothidis</i>	7	90	100	—	—	77	87	97	100	100
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	80	100	—	—	76	90	93	100	—	100

Tale risultato è stato conseguito in tre giorni dai ceppi messicano, bretone e italiano dello *Steinermia feltiae* e dall'*Heterorhabditis heliothidis*; il ceppo « agriotos » dello *S. feltiae* e la *N. glaseri* hanno invece impiegato quattro giorni, mentre l'*H. bacteriophora* si è dimostrata la più efficace avendo conseguito lo stesso risultato in solo 48 ore.

Notevole efficacia i Nematodi hanno dimostrato anche nei confronti delle pupe del *T. piniperda*, riuscendo a controllarne la totalità in cinque giorni; solo l'*H. bacteriophora* ha evidenziato una migliore attività uccidendo le pupe dello Scolitide in quattro giorni.

Gli adulti, tra gli stadi del fitofago, sono risultati i più sensibili all'attacco dei Nematodi e infatti, già dopo 48 ore dall'inoculo il ceppo bretone ed italiano dello *S. feltiae* e l'*H. heliothidis* avevano causato la morte di tutti gli adulti. Tre giorni sono stati necessari all'*H. bacteriophora*, quattro ai ceppi « agriotos » e messicano dello *S. feltiae* e 120 ore alla *N. glaseri*.

Alcune ore dopo morti, gli Scolitidi sono stati collocati in capsule Petri di 16 cm, per la raccolta dei primi stadi larvali infettivi dei Nematodi.

Dopo 30 giorni si è proceduto alla raccolta ed al conteggio delle nuove generazioni dei Nematodi.

Il numero degli stadi infettivi delle nuove generazioni dei Nematodi sviluppati a spese dei tessuti interni dei vari stadi del *T. piniperda* e riferiti ad 1 mg di tessuto, sono riportati nella tab. 2.

Tab. 2 - Numero di larve prodotte da 1 mg di tessuto interno di *Tomicus piniperda*.

	Larve	Pupe	Adulti
<i>Steinermia feltiae</i> ceppo « agriotos »	1.043	966	576
<i>Steinermia feltiae</i> ceppo messicano	1.300	1.036	898
<i>Steinermia feltiae</i> ceppo bretone	1.071	901	985
<i>Steinermia feltiae</i> ceppo italiano	914	848	644
<i>Neoaplectana glaseri</i>	269	136	80
<i>Heterorhabditis heliothidis</i>	904	940	873
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	1.196	901	736

Da essa risulta che, in genere, da 1 mg di tessuto di una larva del *T. piniperda* (peso medio di una larva = 12 mg) si sono ottenuti da 269 stadi infettivi (nel caso della *N. glaseri*) ad un massimo di 1.300 (per il ceppo messicano della *S. feltiae*); da 1 mg di tessuto delle pupe (peso medio di una pupa = 7,4 mg) si sono ricavati 1.036 larve (per il ceppo messicano della *S. feltiae*), sino ad un minimo di 136 per la *N. glaseri*.

Per gli adulti del *T. piniperda* (peso medio di un adulto = 5,7 mg) da 1 mg di tessuto si sono ricavati da un massimo di 985 larve di Nematodi (per il ceppo bretone dello *S. feltiae*), ad un minimo di 80 (per la *N. glaseri*).

Il maggior numero di « dauerlarvae » per mg di tessuto in « toto » ottenuto dagli stadi preimmaginali del *T. piniperda*, si spiegherebbe con il fatto che gli adulti sono costituiti in gran parte da chitina, la quale non è utilizzabile come alimento da parte dei Nematodi.

OSSERVAZIONI FINALI E CONCLUSIONI

Dalle prove condotte in laboratorio si è evidenziato che i vari stadi del *Tomiscus piniperda* vengono facilmente controllati dalle « dauerlarvae » dei Nematodi, associati ai Batteri. In particolare, le larve e le pupe hanno dimostrato una maggiore sensibilità all'*Heterorhabditis bacteriophora*, mentre gli adulti l'hanno manifestata nei riguardi dei ceppi bretone ed italiano dello *Steinernema feltiae* ed all'*Heterorhabditis bacteriophora*.

Rispetto alle larve ed agli adulti, le pupe hanno denotato una maggiore resistenza ai vari Nematodi, probabilmente a causa dell'apertura anale e boccale chiusa e per le aperture stigmatiche più difficili da superare da parte delle « dauerlarvae ».

I Nematodi, inoltre, si sono moltiplicati in tutti gli stadi dello Scolitide dando origine a nuove generazioni le quali, sono risultate dalle prove, egualmente patogene nei confronti di altri esemplari di *T. piniperda* e delle larve mature della *G. mellonella*.

La capacità quindi, di questi Nematodi entomopatogeni, di moltiplicarsi nel corpo delle vittime e la possibilità di uccidere nuovi ospiti, potrebbe costituire un grosso vantaggio in natura essendo gli stadi infettivi neo-emersi dei Nematodi in grado di parassitizzare le successive generazioni dell'ospite riducendo i danni ai Pini.

Preliminari prove di campo condotte con l'*Heterorhabditis bacteriophora* su coppie di adulti di *T. piniperda* nei tronchi di Pino, iniettando nei fori una sospensione ad elevata concentrazione di « dauerlarvae » (25.000 larve/ml), hanno dimostrato la capacità di questo Nematode di uccidere gli adulti all'inizio

della colonizzazione dei tronchi, quando lo scavo delle gallerie è arrivato alla camera nuziale.

RIASSUNTO

Larve, pupe ed adulti del *Tomicus (Blastophagus) piniperda* Coleottero Scolitide molto dannoso ai Pini nelle pinete del litorale ionico pugliese, hanno dimostrato elevata suscettibilità agli stadi infettivi («dauerlarvae») di Nematodi della famiglia *Steinernematidae* (*Steinernema feltiae* ceppo «agrios», *S. feltiae* ceppo messicano, *S. feltiae* ceppo bretone, *S. feltiae* ceppo italiano, *Neoaplectana glaseri*) ed alla famiglia *Heterorhabditidae* (*Heterorhabditis helioidis* e *H. bacteriophora*).

Le larve e le pupe dello Scolitide sono risultate più sensibili all'*H. bacteriophora*, mentre gli adulti al ceppo bretone ed italiano dello *S. feltiae* ed all'*H. helioidis*.

Da 1 mg di tessuto di una larva sono stati prodotti mediamente più Nematodi che dalle pupe e dagli adulti perché, in questi ultimi, parte del peso in «toto» è costituito da chitina la quale non è utilizzabile da parte dei Nematodi per nutrimento.

Preliminari prove di campo hanno messo in luce anche la possibilità delle coppie di adulti del *T. piniperda*, in attività di scavo nei tronchi dei Pini, ad essere parassitizzate dalle «dauerlarvae» dell'*H. bacteriophora*.

SUMMARY

SUSCEPTIBILITY OF *Tomicus (Blastophagus) piniperda* L. (Col. Scolytidae) TO NEMATODES OF THE *Steinernematidae* FAMILY AND *Heterorhabditidae* FAMILY

Larvae, pupae and adults of *Tomicus piniperda* a very serious pest on Pine woods on the Ionic-Coast (Apulia, Southern-Italy) have proved to be very susceptible to «dauerlarvae» of Nematodes of the *Steinernematidae* Family (*Sternerma feltiae* «agrios» strain, *S. feltiae* mexican strain, *S. feltiae* breton strain, *S. feltiae* italian strain, *N. glaseri*) and the *Heterorhabditidae* Family (*Heterorhabditis helioidis* and *H. bacteriophora*).

T. piniperda larvae and pupae are more susceptible to *H. bacteriophora* while *T. piniperda* adults are to *S. feltiae* breton and italian strains and *H. helioidis*.

A gram larva tissue on the average produces more Nematodes than a gram pupa or adults tissue because in the latter, part of the total weight is composed of chitin which is not consumed by Nematodes as food.

The preliminary field tests showed the possibility of *T. piniperda* (both females and males) being parasitized by *H. bacteriophora* «dauerlarvae» while actively digging in Pine wood.

BIBLIOGRAFIA

- CAPINERA J.L., BLUE S.L., WHEELER G.S., 1982 - Survival of eartworm exposed to *N. carpocapsae* Nematodes. *Journ. Inv. Path.* 39, 419-421.

- DUTKY S.R., THOMPSON J.V., CANTWELL G.E., 1964 - A technique for the mass propagation of the DD 136 Nematode. *Journ. Inv. Path.* 61, 417-422.
- FINNEY J.R., 1977 - The DD 136 strain of *Neoapectana* sp. as potential biological control agent for the European Elm Bark Beetle, *Scolytus scolytus*. *Journ. Inv. Path.* 29, 7-9.
- JOLY R., 1975 - Les insectes ennemis des pins I-II.
- KAYA H.K., MARTSON J.M., LINDEGREN J.E., PENG Y.S., 1982 - Low susceptibility of the honey bee *Apis mellifera* L. (*Hymenoptera Apidae*) to the entomogenous nematode, *Neoapectana carpocapsae* Weiser. *Envir. Entom.* 11, 920-924.
- KOVACS A., 1982 - Sensibilità del Nematode entomopatogeno *Neoapectana carpocapsae* Weiser and antiparassitari. *Giornate Fitopat.* 3, 11-19.
- LAUMOND C., MAULEIN H., KERMARREC A., 1979 - Données nouvelles sur le spectre d'hôtes et le parasitisme du Nématode entomophage *Neoapectana carpocapsae*. *Entomophaga* 24, 13-27.
- MAC VEAN C.M., BREWER J.W., 1981 - Suitability of *Scolytus multistriatus* and *Dendroctonus ponderosae* as hosts for the entomogenous nematode *N. carpocapsae*. *Journ. Econ. Entom.* 74, 601-607.
- OBENDORF D.L., PEEL B., AKHURST R.J., MILLER L.A., 1983 - Non susceptibility of Mammals to the entomopathogenic bacterium *Xenorhabdus nematophilus*. *Env. Ent.* 12, 368-370.
- POINAR Jr. G.O., DESCHAMPS N., 1981 - Susceptibility of *Scolytus multistriatus* to Neoapectanid and Heterorhabditid Nematodes. *Env. Ent.* 10, 13-27.
- POINAR Jr. G.O., THOMAS G.M., PRESSER S.B., HARDY J.L., 1982 - Inoculation of Entomogenous Nematodes *Neoapectana* and *Heterorhabditis* and their associated bacteria, *Xenorhabdus* spp. into ticks and mice. *Env. Ent.* 11, 137-138.
- TRIGGIANI O., POINAR Jr. G.O., 1976 - Infection of adult Lepidoptera by *Neoapectana carpocapsae* (Nematoda). *Journ. Inv. Path.* 27, 413-414.