

MARIA RITA RAPAGNANI, VINCENZO CAFFARELLI, MARCELLO BARLATTANI,  
FORTUNATA MINELLI

E.N.E.A. Casaccia - Dip. TECAB  
Lab. di Entomologia - 00060 ROMA

Descrizione di un allevamento, in laboratorio, della tignoletta  
dell'uva *Lobesia botrana* Den. e Schiff. (Lepidoptera -  
Tortricidae) su un nuovo alimento semi-sintetico.

Lo studio dell'influenza dei fattori abiotici, quali ad esempio la temperatura, l'umidità e il fotoperiodo, sul ciclo di sviluppo di un insetto fitofago è di fondamentale importanza per la messa a punto di metodi di difesa razionale.

Tale studio può essere realizzato in laboratorio, con prove sperimentali condotte in ambiente controllato, e in campo con prove mirate alla validazione dei risultati ottenuti.

Le prove sperimentali, che generalmente si protraggono per alcuni anni e richiedono una notevole disponibilità di insetti, sono rese più agevoli dall'esistenza di una produzione continua in laboratorio dell'insetto dannoso, laddove possibile.

È da alcuni anni che presso il laboratorio di Entomologia dell'ENEA - Casaccia (Roma) si stanno conducendo degli studi per approfondire le conoscenze sulle relazioni esistenti tra ciclo di sviluppo della Tignoletta dell'uva *Lobesia botrana* Den. e Schiff. e la temperatura (Rapagnani et al., 1988, 1990).

In base a queste esigenze è stata realizzata e messa a punto una tecnica di allevamento di *L. botrana* su un mezzo semi-sintetico.

La Tignoletta dell'uva può essere alimentata in laboratorio con i grappoli fiorali e gli acini della vite di cui le larve si nutrono rispettivamente in primavera ed in estate.

L'uso dell'alimento naturale presenta, però, diversi inconvenienti quali la rapida deteriorabilità e l'impossibilità di avere materiale disponibile per tutto l'anno.

Alcuni Autori hanno cercato di sostituire la vite con altre piante, ad esempio Roehrich (1968) ha ottenuto lo sviluppo di larve di *L. botrana* su foglie di ligustro, lattuga, lauroceraso, maonia, fusaggine, cavolo e su mele.

Una tecnica di allevamento su mele è stata messa a punto da Maison e Pargade (1967).

Touzeau e Vonderheydden (1968), utilizzando lo stesso metodo, hanno realiz-

zato un allevamento destinato alla produzione di femmine di *Lobesia* da utilizzare in trappole sessuali.

Moreau (1965) ha ottenuto lo sviluppo dell'insetto su una dieta semi-sintetica nella quale erano presenti foglie di vite finemente triturate e lievito di birra.

Guennelon et al. (1970, 1975) hanno ripreso questo tentativo migliorando alcuni aspetti tecnici dell'allevamento e modificando la composizione chimica della dieta di Moreau non svincolandosi comunque dall'impiego della vite.

La prima dieta semi-sintetica completamente svincolata dall'uso di parti della vite è stata messa a punto da Tzanakakis e Savopoulou nel 1973.

Successivamente anche Gabel (1980) realizzò un allevamento permanente di *L. botrana* utilizzando una dieta semi-sintetica messa a punto da Podmanicka e Weismann (1975) per *Scotia sequetum* Den. e Schiff.

Nel presente lavoro viene descritta una metodologia di allevamento per una produzione continua di *L. botrana* su una nuova dieta semi-sintetica derivata da quella messa a punto da Guennelon et al. (1975), nella quale è stata completamente eliminata la presenza della pianta ospite naturale.

#### MATERIALI E METODI

Gli insetti utilizzati per avviare l'allevamento provenivano da materiale infestato da *L. botrana* raccolto nel 1982 nell'area viticola di Cerveteri (Roma).

L'allevamento si svolge all'interno di celle climatiche mantenute a temperature comprese tra i 20 e i 26°C e ad una U.R. del 70%  $\pm$  10%. I valori scelti sono quelli ottimali per lo sviluppo di *L. botrana* (Gabel, 1981; Rapagnani et al. 1988, 1990).

Il fotoperiodo è fissato su 16 ore di luce e 8 di buio per evitare l'entrata in diapausa delle larve.

L'ovideposizione e lo sviluppo larvale avviene all'interno di scatole di plastica trasparente di 650 cm<sup>3</sup> di volume (Fig. 1).

Lo stoccaggio viene fatto allo stadio di crisalide a 10°C e 70% U.R.

Per ottenere e mantenere nel tempo una certa variabilità genetica all'interno della popolazione allevata sono state tenute presenti le seguenti regole (Bartlett, 1984):

- l'allevamento ha avuto inizio con il prelievo in campo di una popolazione di grandi dimensioni (alcune migliaia di individui);
- durante l'allevamento periodicamente viene variata la temperatura fra 20 e 26°C e l'umidità fra il 50% e l'80% di U.R.;
- gli individui di scatole diverse sono stati incrociati ad ogni nuovo ciclo;
- sono stati periodicamente introdotti nell'allevamento insetti selvatici, con la cautela di procedere prima ad un loro allevamento separato per alcuni mesi per evitare l'introduzione di malattie.

L'alimento artificiale, da noi messo a punto, ha la composizione seguente:

Dosi rapportate ad 1 kg di alimento

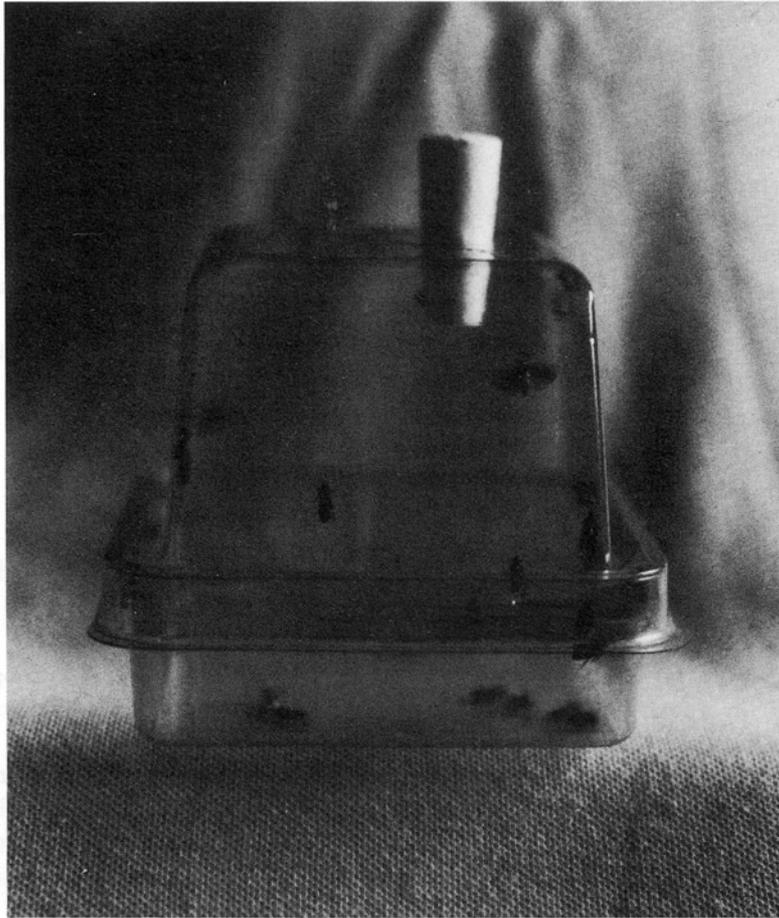


Fig. 1 - Adulti di *Lobesia botrana* nella scatola di plastica trasparente utilizzata per l'allevamento.

Acqua .....	750.0 gr
Agar .....	25.0 gr
Germe di Grano .....	93.5 gr
Farina di Erba Medica .....	25.0 gr
Caseina .....	44.0 gr
Lievito di Birra .....	19.0 gr
Olio di Oliva .....	2.5 gr
Zucchero .....	37.0 gr
Acido Sorbico .....	2.0 gr
Colesterolo .....	1.3 gr
Nipasol .....	1.3 gr
Acido Ascorbico .....	20.0 gr
Acido Acetico .....	2.5 ml

Aureomicina.....	0.3 gr
Complesso vitaminico .....	5.0 gr

Preparazione:

Si pone in un recipiente l'acqua e si porta ad ebollizione. Si fa poi scendere la temperatura fino a circa 65°C e si aggiunge l'agar mescolando.

In un altro recipiente vengono posti insieme e mescolati tutti gli ingredienti in polvere cercando di ottenere un preparato il più omogeneo possibile.

Si aggiungono alle polveri, lentamente e mescolando, l'acqua con agar e i restanti ingredienti liquidi.

Il preparato viene, quindi, frullato per qualche minuto e lasciato raffreddare per circa 12 ore in modo che possa solidificarsi.

La dieta può essere così conservata a 4 - 8°C.

Descrizione dell'allevamento

Il ciclo di allevamento ha inizio con l'inserimento di dieci coppie di adulti in ciascuna scatola di plastica (Fig. 1).

Le uova vengono deposte separatamente sulla parete della scatola.

Per tutto il periodo dell'ovideposizione gli adulti sono trasferiti ogni due giorni in un nuovo contenitore per evitare che una scatola venga a contenere troppe uova.

Quindi, sulla base di ciascuna scatola vengono aggiunti circa 50 gr di alimento artificiale sul quale si porteranno le larve appena fuoriuscite dalle uova.

Quando le larve giungono all'ultima età (5<sup>a</sup> età), vengono introdotti nella scatola alcuni cartoncini ondulati nei quali le larve andranno ad introdursi per incrisalidarsi (Fig. 2).

Ogni 2 giorni i cartoncini vengono prelevati e sostituiti con altri.

Le crisalidi, così ottenute, possono essere poste a sfarfallare nelle gabbie dalle quali verranno successivamente prelevati gli adulti per ripetere il ciclo di allevamento.

In alternativa le crisalidi possono essere poste a 10°C per rallentare lo sviluppo e consentire la realizzazione di una riserva di materiale da utilizzare secondo le necessità.

È bene comunque evitare uno stoccaggio per tempi lunghi in quanto, come verrà mostrato successivamente, con lo stoccaggio diminuisce la produzione di uova per femmina.

RISULTATI

L'allevamento di *L. botrana* così realizzato consente, a 25°C, una produzione media di  $155.6 \pm 23.3$  uova/femmina. Il coefficiente di riproduzione, per ciascuna generazione, calcolato secondo la formula

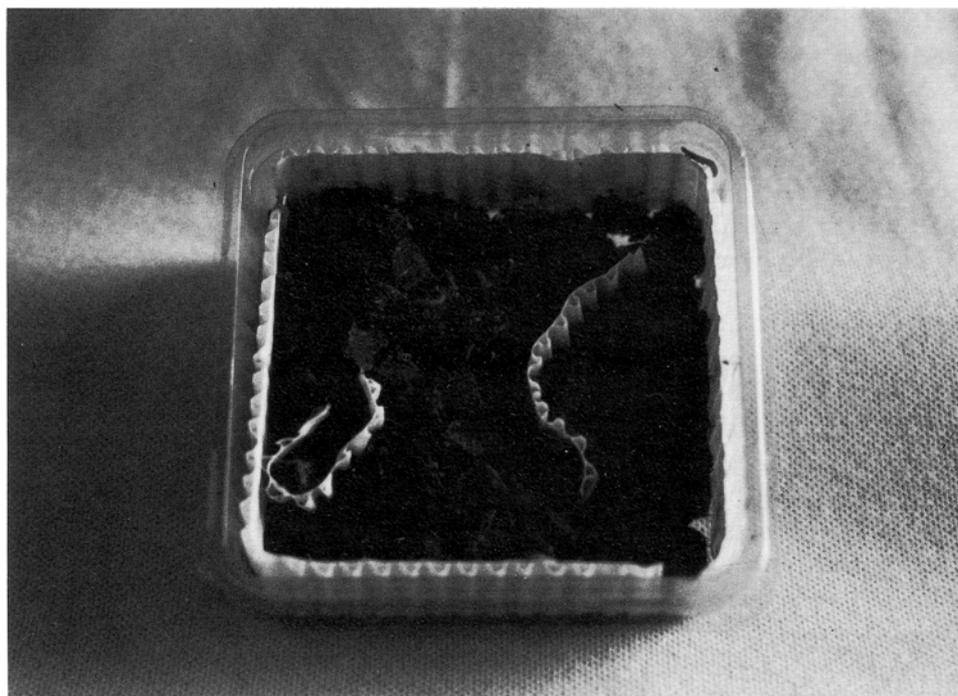


Fig. 2 - Scatola con alimento artificiale e cartoncini ondulati utilizzati per la raccolta delle crisalidi.

$$C = R/2 \times E \times M$$

dove R = adulti ottenuti sul totale di larve;

E = numero uova schiuse su uova totali deposte;

M = numero medio di uova deposte per femmina.

è in media pari a  $11.7 \pm 5.0$  (Tab. 1).

Tab. 1 - Rendimento medio dell'allevamento, a 25°C (Osservazioni 1988).

N. Scatole Osserv.	Uova/Fem. $\pm$ Dev. St.	% Schius. $\pm$ Dev. St.	R $\pm$ Dev. St.	Coeff. di Riproduzione $\pm$ Dev. St.
A 20	$155.6 \pm 23.3$	$81.4\% \pm 7.9$	$0.185 \pm 0.03$	$11.7 \pm 5.0$
B 7	$41.5 \pm 23.4$	$63.8\% \pm 4.2$	$0.326 \pm 0.02$	$4.3 \pm 1.7$

A - 10 coppie di adulti/scatola

B - 10 coppie di adulti/scatola provenienti da crisalidi stoccate per 1 mese a 10°C.

Stoccando le crisalidi a 10°C già dopo un mese si ha una notevole diminuzione del rendimento. Infatti la produzione di uova a 25°C si abbassa, in media,

a  $41.5 \pm 23.4$  uova per femmina e il coefficiente di riproduzione per ciascuna generazione scende a  $4.3 \pm 1.7$  (Tab. 1).

La tecnica di allevamento descritta garantisce, a 25°C, lo svolgimento di una generazione, in media, ogni 36 giorni, con un massimo di 45 giorni, di cui 20 di sviluppo larvale, 8 di sviluppo delle crisalidi, 3 di pre-ovideposizione e 5 di incubazione delle uova.

A queste condizioni si hanno circa 10 generazioni l'anno.

La sex-ratio (femm./masc.) è pari a circa 1.2.

## CONCLUSIONI

L'allevamento di *L. botrana* su dieta artificiale, secondo le modalità descritte, garantisce da 7 anni (1982-1989) una produzione continua di insetti in grado di soddisfare le esigenze sperimentali del nostro laboratorio.

La velocità del ciclo di produzione dell'allevamento può essere variato, a seconda delle necessità, modificando la temperatura. Difatti essa è massima per le temperature ottimali (23-25°C), diminuisce per temperature che vanno da 20 a 14°C ed è nulla alla temperatura di 10°C (temperatura utilizzata per lo stoccaggio).

Nel nostro allevamento, a 25°C, la media di uova deposte per femmina (in scatole contenenti 10 coppie) è di 155.6.

Guennelon et al. (1970) riportano una media di 105 uova/femmina deponente a 25°C, mentre Gabel (1980) a 20-27°C ha ottenuto una media di 158 uova/femmina deponente. Il nostro valore di ovideposizione per femmina deponente a 25°C è di 158.7 uova (Rapagnani et al. 1990).

Il coefficiente di riproduzione ottenuto per 10 coppie di adulti di *L. botrana* per scatola è risultato, a 25°C, uguale a 11.7 (Tab. 1).

Se si utilizzano, invece, i dati di deposizione e schiusura delle uova di singole coppie poste a riprodurre in provetta e di produzione di adulti a partire da larve allevate singolarmente si ricava, sempre a 25°C, un coefficiente di riproduzione pari a 42.2 (Rapagnani et al., 1988, 1990).

In questo caso l'aumento del coefficiente di riproduzione è da imputare, probabilmente alla competizione larvale poiché il solo fattore che varia notevolmente è R (adulti/larve) il cui valore passa da 18.5% quando si allevano nella stessa scatola le larve ottenute da 10 coppie a 72.6% quando le larve vengono allevate singolarmente. Anche confrontando le prove A e B (Tab. 1) ad una diminuzione del livello di ovideposizione e quindi della densità larvale corrisponde un aumento di R.

L'allevamento messo a punto da Guennelon et al. (1970) aveva, con cinque coppie per scatola, un coefficiente di riproduzione pari a 16.5 mentre quello di Gabel (1980) era pari a 36.0.

Le differenze anche rilevanti riscontrate per il coefficiente di riproduzione dei diversi allevamenti possono essere dovute sia alla diversa composizione della dieta che ai diversi ceppi di *Lobesia* impiegati.

Gli Autori ringraziano il Prof. E. Tremblay e la Dott.ssa K.V. Deseo per il prezioso contributo critico nella discussione del lavoro.

#### RIASSUNTO

Viene descritto un allevamento di *Lobesia botrana* Den. e Schiff. realizzato in laboratorio su substrato artificiale a partire dal 1982.

Durante questo periodo non si sono verificati episodi patologici rilevanti e gli insetti hanno sempre presentato un aspetto normale. Il metodo descritto consente, a 25°C, lo svolgimento, in media, di una generazione ogni 36 giorni con un massimo di 45 giorni ed un coefficiente di riproduzione pari a  $11.7 \pm 5.0$ .

A laboratory rearing of *Lobesia botrana* Den. and Schiff. on artificial substrate

#### SUMMARY

A semi-synthetic diet has been perfected for continual laboratory rearing of *Lobesia botrana* Den. e Schiff.

The artificial medium consists of 15 ingredients including wheat germ, alfalfa flour, casein, sugar, cholesterol, brewers' yeast and vegetable oil.

The diet preparation is described as well as the rearing techniques adopted for the different instars of *L. botrana*.

Since 1982, seventy consecutive generations have been completed and the colony has been growing without signs of weakening.

In climatized cells, at 25°C and 70% R.H., the period required for a complete generation and the reproduction coefficient averaged about 36 days and 11.7 respectively.

#### BIBLIOGRAFIA

- BARTLETT A. C., 1984. - Genetic processes of domestication. - Advances and Challenges in Insect Rearing, U.S. Department of Agriculture Handbook. King and Leppla (Editors): 2-8 p.
- BERATLIEF C., 1975. - Versuche zur Massenzucht des Bekreuzten Traubenwicklers, *Lobesia botrana* Schiff. (Lepidoptera, Tortricidae). - *Arch. Phytopath. Pfl. Schtz.*, 11: 413-420.
- GABEL B., 1980. - Über eine neue semisynthetische Nahrung für die Raupen des Bekreuzten Traubenwicklers, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepid., Tortricidae). - *Anz. Schädlingsskde, Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 54: 83-87.
- GUENNELON G., SENDER C., D'ARCIER E. & AUDEMARD H., 1970. - Mise au point d'un milieu artificiel pour l'élevage au laboratoire des larves de l'Eudemis de la vigne, *Lobesia botrana* Den. et Schiff. (Lepidoptera Tortricidae). - *Ann. Zool.-Ecol. anim.*, 2(1): 51-77.
- GUENNELON G., D'ARCIER F. & TRINCAL J., 1975. - Description d'une production massive de l'Eudemis de la vigne sur milieu artificiel (*Lobesia botrana* Schiff., Lepidoptera Tortricidae). - *Ann. Zool.-Ecol. anim.*, 7(3): 295-309.
- MAISON P. & PARCADE P., 1967. - La piégage séxuel de l'Eudemis au service de l'Avertissement Agricole. - *Phytoma*, 190: 9-13.
- MOREAU J. P., 1965. - Comportement des vers de la grappe vis-à-vis de divers cépages et essais d'alimentation artificielle. - *Rev. Zool. agric. appl.*, 1-3: 13-16.
- PODMANICKA D. & WEISMANN L., 1975. - Einfluss von Riboflavin auf die Fruchtbarkeit der Imagines von *Scotia segetum* Den. e Schiff. (Lepidoptera). - *Biologia* (Bratislava), 30: 361-368.
- RAPAGNANI M.R., CAFFARELLI V. & BARLATTANI M., 1988. - *Lobesia botrana* Schiff.: studio in

- laboratorio del ciclo di sviluppo in funzione della temperatura. - *Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent.* (L'Aquila 1988): 973-980.
- RAPAGNANI M.R., CAFFARELLI V. & BARLATTANI M., 1990. - Ovideposizione a diverse temperature costanti e variabili di *Lobesia botrana* Den. e Schiff. (Lepidoptera - Tortricidae). (in stampa).
- ROEHRICH R., 1967. - Élevage des chenilles de l'Eudemis (*Lobesia botrana* Schiff.) sur des aliments naturels de remplacement. - *Rev. Zool. agric. appl.*, 7-8: 111-115.
- TOUZEAU J. & VONDERHEYDEN F., 1968. - L'élevage semi-industriel des Tordeuses de la grappe destinées au piégeage séxuel. - *Phytoma*, 197: 25-30.
- TZANAKAKIS M.E. & SAVOPOULOU M.C., 1973. - Artificial diets for larvae of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). - *Ann. Ent. Soc. Amer.*, 66: 470-471.