

CLAUDIO IORIATTI <sup>(1)</sup>, EDISON PASQUALINI <sup>(2)</sup>, MARCO DELAITI <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Istituto Agrario di S. Michele all'Adige, Trento.

<sup>(2)</sup> Istituto di Entomologia "G. Grandi", Università di Bologna.

## Studio dell'attività di *Bacillus thuringiensis* Berliner su tre specie di Tortricidi ricamatori del Melo. (\*)

### INTRODUZIONE

I Tortricidi ricamatori del Melo sono, dopo Afidi (in particolare *Dysaphis plantaginea* Pass.) e Carpocapsa (*Cydia pomonella* L.), fra i fitofagi che più assiduamente richiedono specifici interventi di controllo. La loro diffusione è generalizzata in tutti i comprensori melicoli italiani (Zangheri *et al.*, 1992), anche se la loro virulenza può assumere importanza diversa in ragione delle strategie di difesa applicate, delle tecniche colturali e delle specie presenti.

*Adoxophyes orana* (F.v.R.), *Pandemis heparana* (Den. e Schiff), ed *Archips podanus* (Scop.) sono le tre specie più diffuse in Trentino-Alto Adige. A queste saltuariamente si affiancano *Pandemis cerasana* (Hb.), *Spilonota ocellana* (F.), mentre molto rara è *Archips rosanus* L. (Angeli *et al.*, 1993; Castellari e Boscheri, 1985). In Emilia-Romagna le specie principali sono invece *P. cerasana* e *A. podanus* (Castellari *et al.*, 1979), mentre *Argyrotaenia pulchellana* (Hw.) è la specie più diffusa in provincia di Verona ed in Piemonte, zone nelle quali le altre specie, pur presenti, sono considerate di secondaria importanza. In Valtellina *A. orana* è reperibile negli ambienti nei quali il Melo viene intensamente coltivato, mentre *A. podanus* e *A. rosanus* sono presenti principalmente in vicinanza di aree boschive. *A. pulchellana*, *P. cerasana* e *P. heparana* sono state osservate in misura minore e sembrano preferire le piante erbacee (Lozzia e Trematerra, 1986).

Fino al 1988 la difesa era principalmente affidata all'impiego di esteri fosforici o carbammati ed in particolare ad acephate o methomyl, distribuiti in pre o postfioritura in funzione delle zone, e azinphos-methyl o chlorpyrifos-methyl per i trattamenti estivi. Il comportamento delle larve di ricamatori, spesso riparate nei ricoveri fogliari, ha sempre limitato fortemente l'efficacia degli insetticidi e, in caso di forti infestazioni, si era costretti a ripetere più volte l'intervento. Non rari, infatti, erano i meleti che ricevevano 5-6 trattamenti per anno con le ben

(\*) Lavoro accettato il 22 novembre 1995.

conosciute conseguenze ambientali e gli effetti distruttivi sugli organismi utili (Celli e Corazza, 1983). La situazione sembrò migliorare quando, nel 1988, venne autorizzato l'impiego di fenoxycarb (principio attivo appartenente al gruppo dei regolatori della crescita). La sua presunta selettività per gli organismi utili e la sua elevata efficacia sulle larve svernanti di alcune specie di ricamatori (de Reede *et al.*, 1984; Charmillot e Blaser, 1985; Gendrier e Audemard, 1987), furono le ragioni della sua rapida adozione anche in programmi di lotta integrata. La scoperta, però, della sua nefasta attività sul baco da seta (Cappelozza *et al.*, 1990; Cappelozza *et al.*, 1993) e sulle covate delle api (Arzone e Patetta, 1990; Nitsch, 1992), legata allo straordinario effetto deriva (Vidano, 1989; Cappelozza, *com. pers.*), hanno reso inevitabile che questa molecola fosse prima sospesa dal mercato e, in un secondo tempo, ne fosse limitato l'uso a livello regionale.

In seguito a ciò furono intensificate le ricerche sui mezzi e sui metodi di lotta utilizzabili ed in particolare verso formulazioni a base di *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki*. Esperienze di lotta ai Tortricidi ricamatori con l'impiego di *B. t.* sono state già da tempo realizzate con risultati contraddittori. Alle esperienze positive dell'Emilia-Romagna (Nicoli *et al.*, 1990; Pasqualini *et al.*, 1991) hanno fatto eco i risultati parziali di altre sperimentazioni realizzate sia in Italia (Girolami e Strapazzon, 1986; Strapazzon e Dalla Montà, 1986), che in altri Paesi (de Reede *et al.*, 1985).

Le ragioni di questi differenti risultati possono essere fatte risalire a più fattori, come per esempio la diversa sensibilità a *B. t.* delle diverse specie, le precarie conoscenze delle specie presenti non sempre fedelmente segnalate dal monitoraggio tramite trappole a feromoni, la non sempre scelta ottimale del momento d'intervento, la non sufficiente efficacia delle prime formulazioni di *B. t.*, ecc.

Scopo di questo lavoro è stato quindi di apportare utili informazioni sia relativamente alla diversa sensibilità di alcune specie, sia alla diversa efficacia di alcune formulazioni a base di *B. t.* attualmente disponibili. Una parte del lavoro è stata anche dedicata allo studio del comportamento alimentare del fitofago in presenza di alcuni formulati.

## MATERIALI E METODI

### Specie oggetto dello studio.

Le esperienze relative al comportamento alimentare e all'efficacia dei diversi formulati sono state condotte su *A. orana*, che è la specie più frequente nei meleti trentini. Per valutare la sensibilità le prove sono state realizzate su tre diverse specie: ad *A. orana* sono state affiancate anche *P. heparana* e *P. cerasana*.

In Trentino *A. orana* compie due generazioni all'anno. Sverna come larva di terza età, riprende l'attività durante la fioritura e completa lo sviluppo larvale in tempi relativamente brevi. La maggior parte degli individui della generazione svernante sfarfalla infatti in 15-20 giorni (Ioriatti *et al.*, 1991). Le larve della prima generazione sono attive sui germogli e quindi sui frutticini dalla metà di giugno alla metà di luglio, quelle della seconda sono attive a fine stagione soprattutto sui frutti.

Anche *P. heparana* compie due generazioni. Pur presentando un ciclo analogo a quello di *A. orana*, questa specie si differenzia per la notevole scalarità con cui le larve svernanti raggiungono lo stato adulto. Nelle condizioni climatiche trentine, infatti, lo sfarfallamento della generazione svernante si completa in un periodo di circa due mesi a partire dalla metà di maggio. Questo aspetto del comportamento complica notevolmente la strategia di difesa, richiedendo interventi ripetuti o l'impiego di prodotti ad elevata persistenza (Ioriatti *et al.*, 1991).

Il ciclo di sviluppo di *P. cerasana* è stato studiato soprattutto in Emilia-Romagna, ambiente nel quale il fitofago è particolarmente frequente. Le due generazioni annuali, ben separate fra loro e con rispettivi sfarfallamenti in maggio e luglio-agosto, sono contenute con due-tre trattamenti; le soglie di intervento sono basate sul numero di maschi catturati nelle trappole feromonalì (Barbara *et al.*, 1994; Pasqualini *et al.*, 1982).

#### A) Prove di laboratorio.

Al fine di mettere a punto la strategia di intervento più idonea a rendere massima l'efficacia della difesa con *B. t.* per alcune specie di Tortricidi ricamatori, si è inteso studiare l'effetto che la temperatura, lo stadio di sviluppo larvale, il comportamento alimentare, la sensibilità specifica, e la formulazione di alcuni prodotti a base di *B. t.* hanno nel determinismo dell'efficacia stessa.

La gran parte delle prove sono state realizzate utilizzando individui di *A. orana* provenienti da un allevamento permanente realizzato presso l'Istituto Agrario di S. Michele su dieta artificiale e mantenuto a temperatura costante di 25 °C, 70-75% di U. R. e con un fotoperiodo di 17 ore di luce e 7 ore di oscurità.

Indagini sulla sensibilità specifica sono state condotte anche sulle altre due specie considerate: *P. heparana* e *P. cerasana*. Entrambe provenivano da un allevamento provvisorio realizzato su foglie fresche. Gli individui di partenza sono stati raccolti in campo in post-fioritura al momento in cui i getti erano occupati dalle larve della generazione svernante. *P. heparana* è stata raccolta nei frutteti trentini, mentre *P. cerasana* proveniva da un frutteto della zona di Cento (FE).

#### 1 - Effetto della temperatura su *Adoxophyes orana*.

Alcune foglie di Melo raccolte in campo sono state trattate per immersione in una sospensione di *B. t.* Dopo l'asciugatura sono state messe in una capsula di Petri di Ø 9 cm nella quale è stata collocata una singola larva di II età. Le larve così preparate sono state poste in camere climatiche a tre diverse temperature: 15, 20 e 25 °C. In questa prova, come in tutte le altre di seguito riportate, i valori di U. R. e di fotoperiodo sono stati mantenuti invariati: 70-75% U.R. e 17/7 di fotoperiodo. Le foglie sono state sostituite dopo 3, 6 e 9 giorni con altre fresche appena trattate.

Per ogni temperatura sono state preparate 120 larve divise in 4 blocchi; lo stesso numero di larve è stato utilizzato nella preparazione dei testimoni non trattati. La mortalità è stata rilevata ad ogni cambio di foglia ed al termine della prova (12° giorno). I valori così ottenuti sono stati corretti in funzione della mortalità riscontrata nei testimoni trattati con acqua e sottoposti all'analisi del Probit (Finney, 1971) al fine di valutare i valori di  $LT_{50}$  (Letal Time).

## 2 - Valutazione della quantità di alimento ingerito.

Alcuni dischetti fogliari di superficie nota ( $\varnothing$  2,5 cm) sono stati collocati in una capsula di Petri ( $\varnothing$  14 cm) in presenza di due larve di *A. orana*. Le capsule così preparate sono state collocate in cella climatica a tre diverse temperature (15, 20 e 25 °C). Dopo un giorno i dischetti sono stati prelevati, essiccati ed infine si è misurata la superficie asportata dalle larve mediante un lettore di immagine (ARIA METER MK2  $\Delta$ T DEVICE BURWELL CAMBRIDGE). La prova è stata realizzata considerando due diversi stadi larvali (III e IV), effettuando per ciascun stadio e ciascuna temperatura tre ripetizioni di cinque dischetti. I dati così ottenuti, normalizzati mediante trasformazione in radice quadrata, sono stati elaborati con l'analisi fattoriale.

## 3 - Valutazione della mortalità in rapporto allo stadio larvale.

Per questa indagine le foglie di Melo sono state trattate per immersione in una sospensione di *B. t.*. Dopo l'asciugatura le foglie sono state poste in una capsula di Petri. Larve di cinque diverse età (I, II, III, IV, V) sono state collocate singolarmente in altrettante capsule e mantenute in cella climatica a 20 °C fino al dodicesimo giorno, sostituendone la foglia ogni tre. Per ogni età larvale sono state utilizzate 30 larve. La mortalità rilevata è stata corretta con quella riscontrata nel corrispondente lotto di larve testimone.

## 4 - Comportamento alimentare.

Allo scopo di valutare l'effetto della durata di esposizione a *B. t.*, due gruppi di larve di *A. orana* del III stadio sono state collocate singolarmente su dischetti ( $\varnothing$  2,5 cm) di foglie di Melo. Tali dischetti furono precedentemente trattati con *B. t.* con o senza l'aggiunta di zucchero (10 g/l), per periodi crescenti da 1 a 4 giorni e successivamente trasferiti su dieta artificiale fino al 12° giorno. Con altre larve, alimentate con dischetti fogliari non trattati o trattati con solo zucchero, sono stati allestiti alcuni testimoni.

Al termine del periodo di esposizione prestabilito si è verificato se le larve si erano o meno alimentate. La prova è stata realizzata in celle climatiche a due temperature (15 e 20 °C) impiegando complessivamente 760 larve. I dati sono stati elaborati con l'analisi del Probit per quantificare il tempo di esposizione necessario per determinare il 50% di mortalità (LTE<sub>50</sub>: Letal Time Exposure).

In una successiva indagine, condotta solo a 20 °C con la stessa metodologia della prova precedente, le larve al termine del periodo di esposizione sono state trasferite su foglie di melo non trattate allo scopo di verificare l'influenza del substrato sulla loro mortalità. Contemporaneamente è stata valutata l'attività dello zucchero trattando un substrato inerte (capsule di Petri di  $\varnothing$  5 cm) con *B. t.* con e senza zucchero e trasportando le larve, al termine del periodo di esposizione, su foglie di melo non trattate. I dati di mortalità ottenuti sono stati corretti in rapporto a quella osservata nel testimone (Abbott). In queste due ultime prove sono state impiegate rispettivamente 760 e 720 larve.

## 5 - Suscettibilità specifica.

Per valutare la suscettibilità delle tre specie considerate si è costruita la retta di attività esponendo le larve a diverse concentrazioni di prodotto. Quelle saggiate

sono state 1, 10, 100, 500, 1000 mg/l per *P. cerasana* e *P. heparana* e 1, 10, 100, 250, 500, 1000 mg/l per *A. orana*.

Le larve di *A. orana* impiegate nella prova avevano una capsula cefalica compresa fra 300-400  $\mu\text{m}$ , quelle di *P. heparana* 669  $\mu\text{m}$  e quelle di *P. cerasana* 740  $\mu\text{m}$  in media.

Le foglie utilizzate come substrato alimentare furono trattate per immersione e somministrate alle larve presenti singolarmente in ciascuna capsula di Petri ( $\varnothing$  5 cm). Le capsule così preparate sono state messe in cella climatica a 25 °C. Dopo 3, 6 e 9 giorni le foglie sono state rinnovate con altre fresche appena trattate. Al dodicesimo giorno si è quindi proceduto alla valutazione della mortalità. Per ogni specie è stato allestito un testimone non trattato. I dati di mortalità ottenuti sono stati utilizzati per il calcolo della retta di regressione fra la mortalità trasformata in Probit e il logaritmo delle concentrazioni saggate. Per questo scopo si è applicata l'analisi del Probit come descritta da Finney (1971).

#### 6 - Efficacia di cinque diverse formulazioni.

Per questa prova, condotta per due anni su una popolazione di larve di *A. orana* (1993 e 1994), sono stati utilizzati cinque diversi prodotti: Thuricide HP 25 (Sandoz) è stato scelto quale prodotto di confronto considerata l'ampia letteratura già esistente. Si tratta di una formulazione a base di *B. t.* (3,2%) var. *kurstaki*, sierotipo 3a e 3b con una attività insetticida pari a 16.000 U.I.; Dipel 2x (Abbott) è un formulato a base di *B. t.* (6,4%) var. *kurstaki* con potenziale insetticida pari a 32.000 U.I.; Delfin (Sandoz) è anch'esso a base di *B. t.* var. *kurstaki* sierotipo 3a 3b, ceppo SA 11 con una potenza insetticida di 32.000 U.I.; NN6018500 (Novo Nordisk) a base di *B. t.* var. *kurstaki* ceppo NB 75 con una potenza di 32.000 U.I. e infine XenTari™ (Abbott-ABG-6314) a base di *B. t.* (3,2%) var. *aizawai* con una potenza insetticida pari a 16.000 U. I. Era infine presente un testimone non trattato per ciascun blocco di prove.

I dosaggi utilizzati per la prova sono stati di 3, 30, 60, 120 e 240 g/hl per Thuricide HP 25; 0,3, 3, 15, 30, 60 e 120 g/hl per Dipel 2x e Delfin; 1, 5, 25 e 50 g/hl per NN6018500 e 3, 15, 30, 60, 120 e 240 g/hl per XenTari™.

Le larve di *A. orana* utilizzate per le prove, anch'esse ottenute dall'allevamento dell'Istituto Agrario, erano al II-III stadio ed avevano una capsula cefalica compresa fra 300-400  $\mu\text{m}$ .

Le parcelle utilizzate per la prova erano costituite di cinque piante di Melo di un frutteto dell'Istituto a S. Michele a/A. I trattamenti sono stati eseguiti con la lancia a mano. Dalle piante trattate sono successivamente state prelevate alcune foglie e collocate singolarmente in una scatola di Petri ( $\varnothing$  5 cm). In ciascuna capsula è stata sistemata una larva di *A. orana*. Le capsule così preparate sono state collocate in una camera climatica a 25 °C e 75% U. R. Dopo 3, 6 e 9 giorni le foglie sono state rinnovate con altre fresche provenienti dalle stesse piante. Al dodicesimo giorno le osservazioni sono terminate ed è stata calcolata la mortalità. Con i risultati ottenuti è stata calcolata la retta di regressione fra la mortalità trasformata in Probit (Finney, 1971) e il logaritmo delle concentrazioni saggate.

Nei due anni i trattamenti sono stati eseguiti rispettivamente il 2, 16 giugno, 28 luglio e 4 agosto nel 1993; 11 maggio, 8 giugno e 1 agosto nel 1994.

## B) Prova di campo.

Una prova preliminare di campo è stata realizzata allo scopo di valutare l'efficacia di un formulato di *B. t.* nel contenimento di una popolazione di Tortricidi ricamatori costituita da più specie compresenti nello stesso frutteto. Contemporaneamente è stata stimata la persistenza dell'attività del prodotto alimentando alcune larve di *A. orana*, provenienti dall'allevamento artificiale, con le foglie prelevate periodicamente dall'appezzamento.

### 1 - Condizioni sperimentali.

Il frutteto in cui è stata condotta la prova è sito a Besenello (sud di Trento). La superficie era di circa 4000 m<sup>2</sup> della cv. Golden Delicious innestata su M9 e con sesto d'impianto di 1,3 x 3,7 metri. Negli anni precedenti alla prova era stato progressivamente ridotto l'impiego di prodotti antiparassitari tradizionali, incentrando la difesa sull'uso di sali di rame abbinati ad alcuni trattamenti con dithianon per la ticchiolatura, e limitando i trattamenti insetticidi a formulati a base di *B. t.* e pirimicarb.

### 2 - Prodotto e modalità d'applicazione.

Il formulato di *B. t.* impiegato in questa esperienza è stato Thuricide HP 25 (Sandoz). I trattamenti sono stati eseguiti con l'atomizzatore aziendale distribuendo 15 hl/ha alla concentrazione di 100 g/hl di prodotto commerciale. Il primo intervento è stato eseguito il 19 giugno al momento dello sgusciamento delle prime larve della generazione estiva. Il trattamento è stato quindi ripetuto il 26 giugno. Su un lato dell'appezzamento, in corrispondenza di alcuni filari più corti, è stato localizzato il testimone; circa 300 m<sup>2</sup> sui quali non è stato eseguito alcun intervento insetticida.

### 3 - Campionamenti.

Il livello di infestazione iniziale è stato stimato con un campionamento post-fiorale esaminando 100 germogli per parcella il giorno 7 maggio. Le specie di Tortricidi ricamatori presenti sono state individuate campionando e prelevando a più riprese le larve presenti nel frutteto. A questo proposito sono stati eseguiti tre campionamenti (21 maggio, 19 giugno e 2 agosto), prelevando rispettivamente 102, 50 e 98 larve. Queste ultime sono state portate in laboratorio ed allevate singolarmente su dieta artificiale fino allo sfarfallamento degli adulti, che sono stati successivamente classificati.

L'efficacia del trattamento è stata valutata campionando 100 getti sulle piante trattate e 100 sul testimone osservandone la percentuale di occupazione. Alla raccolta è stato effettuato un controllo su 1000 frutti per ciascuna tesi.

### 4 - Valutazione in laboratorio dell'attività e della persistenza d'azione di *B.t.* su *Adoxophyes orana*.

Il giorno del trattamento (19/06) sono state raccolte casualmente, sia dalla parcella trattata che da quella testimone, alcune foglie da germogli localizzati a circa 1,5 metri di altezza. Le foglie, portate in laboratorio, sono state poste singolarmente in una capsula di Petri. In ognuna di esse è stata quindi riposta

una larva di *A. orana* di II-III età proveniente dall'allevamento. Dopo 3, 6 e 9 giorni le foglie sono state sostituite con altre di pari età provenienti dallo stesso frutteto. Al dodicesimo giorno la prova è stata sospesa e si è proceduto alla valutazione della mortalità. I valori così ottenuti sono stati corretti in funzione della mortalità registrata nel testimone secondo la formula di Abbott (1925). Allo scopo di stimare la persistenza d'azione del prodotto in campo la stessa operazione è stata ripetuta 5 volte in 12 giorni per il primo trattamento, e 5 volte in 11 giorni per il secondo.

Per tutto il tempo durante il quale è stata condotta la valutazione della persistenza si è rilevata la piovosità giornaliera per mezzo di un pluviometro.

## RISULTATI

### A) Prove di laboratorio.

#### Effetto della temperatura.

Il valore di  $LT_{50}$  è stato calcolato applicando l'analisi del Probit. Il test è risultato sempre statisticamente significativo. La temperatura ha pertanto un rilevante effetto sul decorso della mortalità (Fig. I). Diminuendo la temperatura da 25 a 20 °C il tempo necessario per raggiungere il 50% di mortalità passa da 3,2 a 6,9 giorni e si allunga ulteriormente fino a 13,3 giorni scendendo a 15 °C (Tab. 1). Tali differenze risultano altamente significative non essendovi sovrapposizioni dei limiti di confidenza.

Tab. 1. - Effetto della temperatura sulla mortalità delle larve di *A. orana*.

Temperatura (°C)	$LT_{50}$ (giorni)	L.F. 95% (giorni)
15	13,34	11,89-16,04
20	6,89	6,03-7,86
25	3,19	2,73-3,58

#### Valutazione della quantità di alimento ingerita.

Dall'analisi dei dati è apparso altamente significativo ( $p > 0.0001$ ) sia l'effetto attribuito allo stadio di sviluppo, sia quello dovuto alla temperatura (Tab. 2). Il consumo di superficie fogliare incrementa sia con il passaggio dal terzo al quarto stadio larvale, sia con l'aumentare della temperatura da 15 a 25 °C

Tab. 2. - Interazione temperatura-stadio larvale sulla mortalità.

	GL	Devianza	Varianza	F	Pr>F
Temperatura	2	28,82	14,41	162,97	0,0001
Stadio (III→IV)	1	13,49	13,48	152,53	0,0001
Temp. x Stadio	2	29,49	14,74	166,79	0,0001

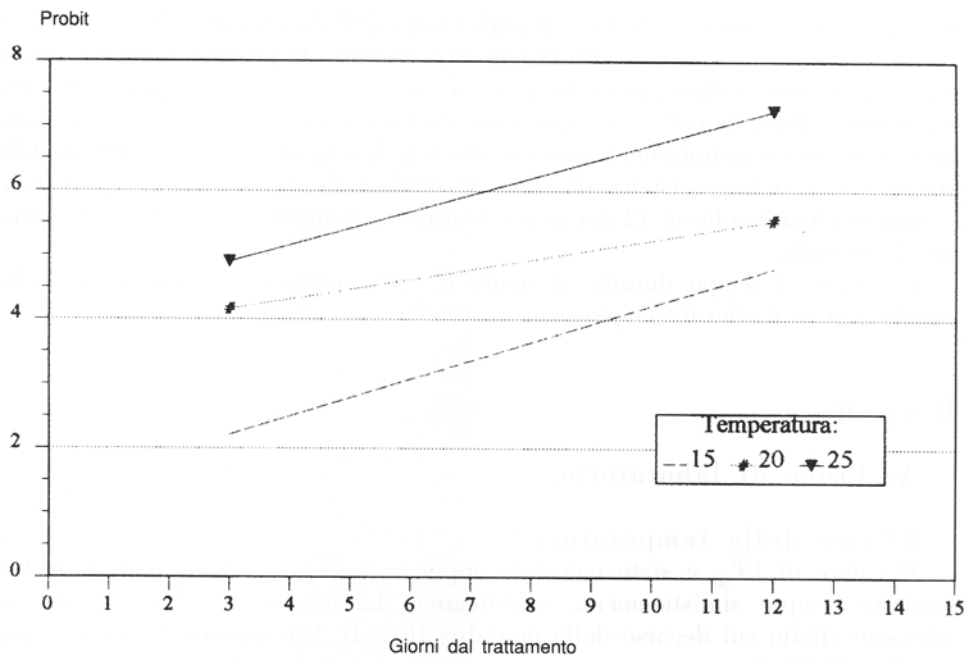


Fig. I.- Effetto della temperatura sull'andamento della mortalità delle larve di *A. orana*.

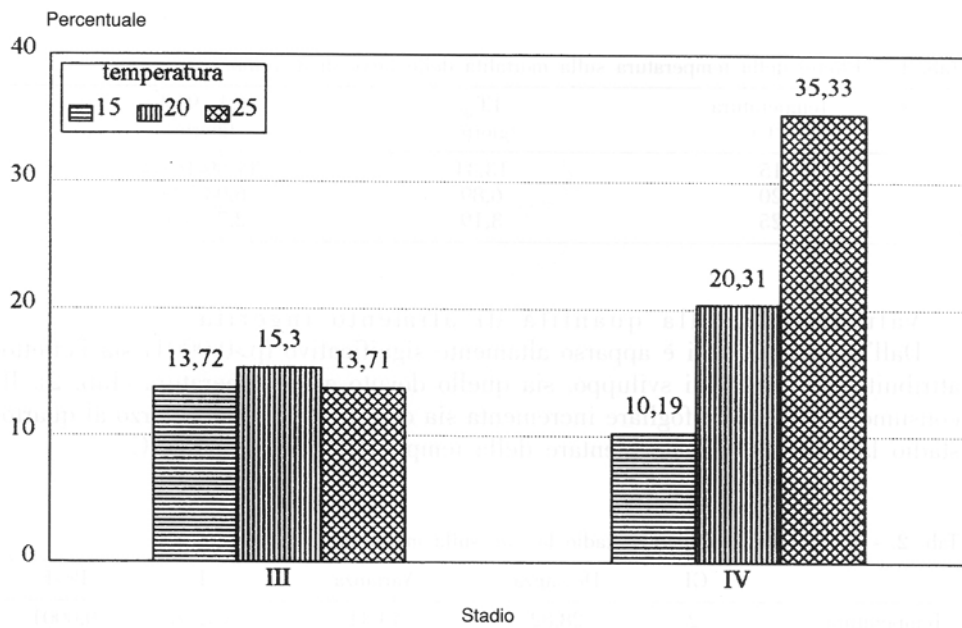


Fig. II - Quantità di alimento ingerito da differenti stadi larvale di *A. orana* a due temperature.



Altamente significativa ( $p > 0.0001$ ) è risultata anche l'interazione temperatura-età larvale. Ciò sarebbe dovuto all'incremento di superficie consumata nei due stadi larvali non proporzionale al crescere della temperatura. Inoltre, mentre a 20 e 25 °C le larve del terzo stadio consumano meno, a 15 °C esse consumano una maggior superficie fogliare rispetto al quarto stadio (Fig. II). Una spiegazione potrebbe consistere nell'esistenza di soglie di sviluppo larvale diverse ed in particolare una soglia minima di sviluppo per il IV stadio più elevata rispetto a quella del III. Ciò però contrasta con quanto rilevato da Fluckinger e Benz (1982), i quali riportano come soglie minime di sviluppo 8,2 e 7,8 °C, rispettivamente per il terzo e per il quarto stadio.

Valutazione della mortalità in rapporto allo stadio di sviluppo.

Relativamente all'efficacia di *B. t.* in funzione dei diversi stadi di sviluppo esistono indicazioni contrastanti. Gelernter *et al.* (1993) affermano che la sensibilità a *B. t.* var. *tenebrionis*/S. *Diego* decresce con l'età delle larve. Di diverso avviso sono Fast e Dimond (1984) i quali, lavorando su *Choristoneura fumiferana* (Clemens) (Lepidoptera, Tortricidae), non riscontrarono differenze di suscettibilità fra i diversi stadi di sviluppo larvale.

Le esperienze condotte su *A. orana* consentono di affermare che non c'è differenza significativa fra la mortalità del primo e del secondo stadio larvale (Fig. III). I valori di  $LT_{50}$  per i due stadi infatti sono rispettivamente 3,3 (L.F. 95 % = 2,3-4,1) e 3,5 (L.F. 95 % = 2,4-4,3) giorni. La mortalità registrata in questi stadi al dodicesimo giorno è stata del 100%. Rispetto ai primi due stadi le larve di terza età esposte allo stesso dosaggio muoiono in un periodo più lungo. La  $LT_{50}$  è infatti di 6,9 (L.F. 95 % = 6,0-7,8) giorni. Tali valori sono significativamente diversi da quelli osservati per primi due stadi. Al dodicesimo giorno la mortalità rilevata per questa età larvale è stata del 75%. Più complicata risulta l'interpretazione dei risultati relativi al IV stadio. La mortalità registrata nel primo controllo dopo tre giorni, infatti, non si discosta da quella dei primi due stadi. In seguito essa cresce molto lentamente e la percentuale di larve morte rinvenute al dodicesimo giorno è risultata inferiore a quella rilevata per il terzo stadio. Infine il V stadio: le larve morte sono state rinvenute solo nel secondo controllo eseguito al sesto giorno di esposizione. In questa occasione sono state rinvenute anche le prime crisalidi. Evidentemente quindi alcune larve erano sfuggite all'effetto di *B. t.*. In seguito la mortalità è aumentata lentamente, pur rimanendo, fino al controllo finale, sempre inferiore a quella del IV stadio. È da precisare che, nel corso dei dodici giorni nei quali è stata condotta la prova, 6 delle 30 larve si sono trasformate in crisalidi.

Lo stadio larvale influenza pertanto la mortalità finale, in quanto viene prolungato il tempo di esposizione necessario per l'assunzione della dose letale. Nel caso di larve del IV e V stadio questo allungamento della fase di esposizione può consentire loro di terminare lo sviluppo postembrionale sfuggendo così all'attività letale di *B. t.*.

Comportamento alimentare.

Nell'esperienza condotta a 15°C l'aggiunta di zucchero a *B. t.* risulta essere la causa della riduzione del tempo di esposizione necessario alle larve per

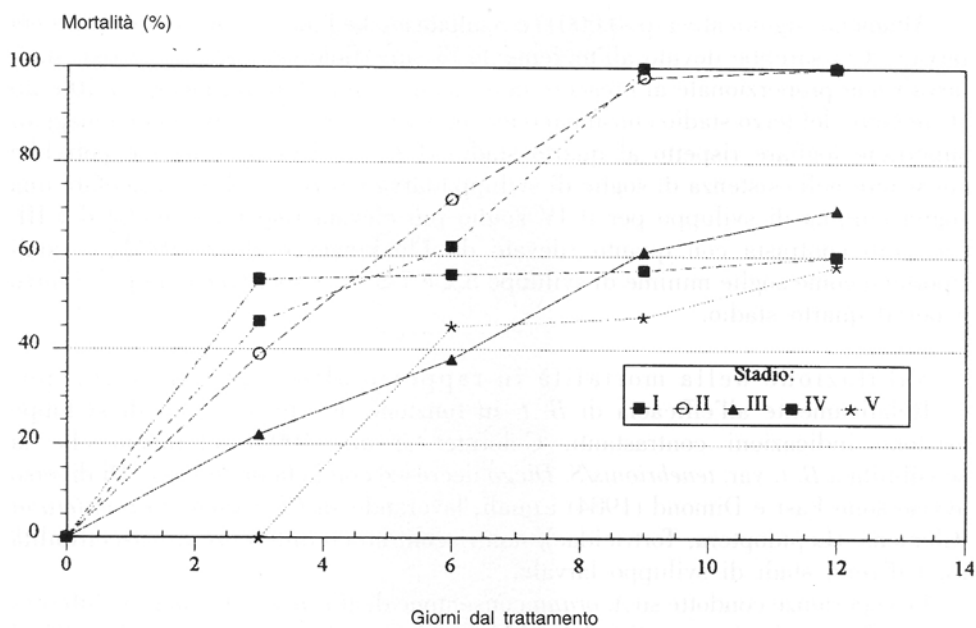


Fig. III. - Mortalità osservata nei diversi stadi larvali di *A. orana*.

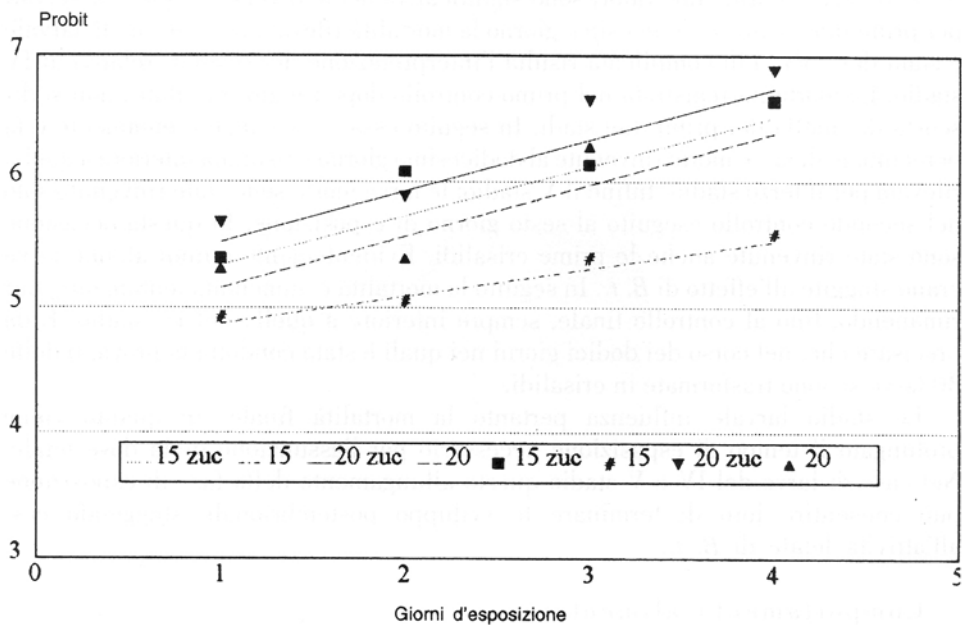


Fig. IV.- Mortalità osservata in larve di *A. orana* in funzione dell'edulcorazione e della temperatura.

raggiungere il 50% di mortalità ( $LTE_{50}$ ). Tale valore passa infatti da 1,31 a 0,67 giorni. È da sottolineare che i limiti di confidenza di questi due valori si sovrappongono (Tab. 3), motivo per il quale non sono significativamente diversi.

Tab. 3 - Effetto dell'edulcorazione sulla mortalità.

Tesi	$LTE_{50}$	L.F. 95%	$LTE_{90}$	L.F. 95%
15° con zucchero	0,67	0,16-1,04	3,05	2,23-6,48
15° senza zucchero	1,3	10,12-2,01	20,15	7,07-3*10 <sup>5</sup>
20° con zucchero	0,55	0,09-0,91	2,37	1,74-4,37
20° senza zucchero	0,93	n.c.	3,57	n.c.

L'aggiunta di zucchero ha in pratica consentito un aumento di efficacia di *B. t.*, infatti la retta di attività è quasi sovrapposta con quella ricavata a 20 °C (Fig. IV). A questa temperatura è stata osservata una  $LTE_{50}$  di 0,93 giorni, non diversa da quella rilevata a 15 °C con aggiunta di zucchero.

Lo stesso tipo di risposta è stato osservato con 20 °C: l'aggiunta dello zucchero ha ridotto la  $LTE_{50}$  da 0,93 giorni a 0,55. Il miglioramento delle prestazioni di *B. t.* con l'edulcorazione è pertanto rilevante, infatti porta ad un dimezzamento del valore di  $LTE_{50}$  a 15 °C e ad una riduzione dello stesso parametro di circa il 30% aumentando la temperatura a 20 °C.

I dati riportati in Tab. 4 e relativi alla percentuale di larve che hanno consumato superficie fogliare dopo un solo giorno di esposizione, evidenziano chiaramente l'inibizione dell'attività trofica conseguente all'ingestione di *B. t.*. A 15 °C solo il 7% delle larve esposte a *B. t.* si sono alimentate rispetto al 95% registrato nel testimone, mentre a 20 °C la percentuale è salita al 17% contro il 100% del testimone.

Tab. 4 - Percentuale delle larve che si sono alimentate o no dopo il primo giorno di esposizione alle diverse condizioni sperimentali.

		Senza zucchero			
		SI	NO	SI	NO
testimone	15°C	38 (95%)	2 (5%)	40 (100%)	0 (0%)
trattato Bt		10 (7%)	150 (93%)	27 (17%)	133 (83%)
		Con zucchero			
		SI	NO	SI	NO
testimone	15°C	48 (80%)	12 (20%)	56 (93,3%)	4 (6,6%)
trattato Bt		10 (8,5%)	108 (91,5%)	15 (12,5%)	105 (87,5%)

In Tab. 5 si presentano i dati relativi alla mortalità finale delle larve esposte a *B. t.* progressivamente da 1 a 4 giorni secondo sei diverse modalità di allevamento. Questi dati confermano l'influenza dello zucchero sul tasso di mortalità, dato che il preparato edulcorato risulta efficace anche trattando un substrato inerte. Da rilevare, inoltre, che la mortalità delle larve è più elevata

qualora, dopo il periodo di esposizione, vengano trasferite su dieta artificiale rispetto a trasferimento su foglia.

Tab. 5 - Mortalità corretta registrata al 12° giorno dopo 1, 2, 3 e 4 giorni di esposizione a *B. t.* per le diverse modalità di allevamento a confronto.

Esposizione - allevamento	zucchero	giorni			
		1	2	3	4
foglia - dieta	X	60	80	100	100
"		20	60	80	90
foglia - foglia	X	62	89,6	89,6	89,6
"		57,1	60,6	74,8	78,58
capsula - foglia	X	0	33,3	50	66,6
"		3,3	3,3	10	10

Suscettibilità specifica (Fig. V; Tab. 6).

La retta di attività di *B. t.* elaborata per *A. orana* è stata costruita analizzando le risposte di sviluppo di 554 larve alimentate con foglie trattate con 5 diversi dosaggi. Il testimone era costituito da 226 larve trattate con acqua. La mortalità di quest'ultimo lotto è stata del 15,9%. La  $CL_{50}$  rilevata per *A. orana* è stata di 8,05 g/hl, mentre la  $CL_{90}$  è risultata di 40,72 g/hl.

Tab. 6 - Suscettibilità delle diverse specie.

Specie	$CL_{50}$	L.F. (95%)	$CL_{90}$	L.F. (95%)
<i>A. orana</i>	8,05	5,47-10,59	40,72	31,15-59,22
<i>P. heparana</i>	4,32	3,03-5,81	40,48	29,31-60,57
<i>P. cerasana</i>	0,09	0,002-0,34	2,12	0,68-7,85

La suscettibilità di *P. heparana* è stata valutata impiegando 751 larve suddivise in 5 lotti. 407 larve sono state alimentate con foglie trattate con acqua quali testimone. La mortalità di queste ultime è stata del 19,4%. La mortalità (Probit) così elaborata ha messo in evidenza una  $CL_{50}$  ed una  $CL_{90}$  rispettivamente di 4,32 e di 40,48 g/hl.

Per quanto concerne *P. cerasana*, la prova è stata condotta su 331 larve di cui 90 impiegate come testimone. La mortalità del testimone è stata del 44,4%. Questo livello di mortalità naturale si spiega per il fatto che tale specie non aveva avuto modo di acclimatarsi alle condizioni del laboratorio. La retta di attività di *B. t.* dimostra una  $CL_{50}$  di 0,009 g/hl e una  $CL_{90}$  di 2,12 g/hl.

Efficacia di 5 diversi formulati.

Nel testimone composto da 195 larve di *A. orana* la mortalità rilevata è stata del 23,5%. Questo valore è stato utilizzato per l'elaborazione dei dati di mortalità relativi alle cinque formulazioni a confronto. I valori relativi alla pendenza e all'intercetta delle 5 rette di attività così determinate sono riportate in Tab. 7. La relativa similarità dei valori relativi alle pendenze delle prime quattro formulazioni è giustificata dal fatto che esse sono costituite dalla stessa varietà di *B.t.* var. *kurstaki*. XenTari™, formulato a base de *B.t.* var. *aizawai*, ha messo in evidenza invece una pendenza della retta nettamente diversa dalle quattro precedenti (Fig. VI).

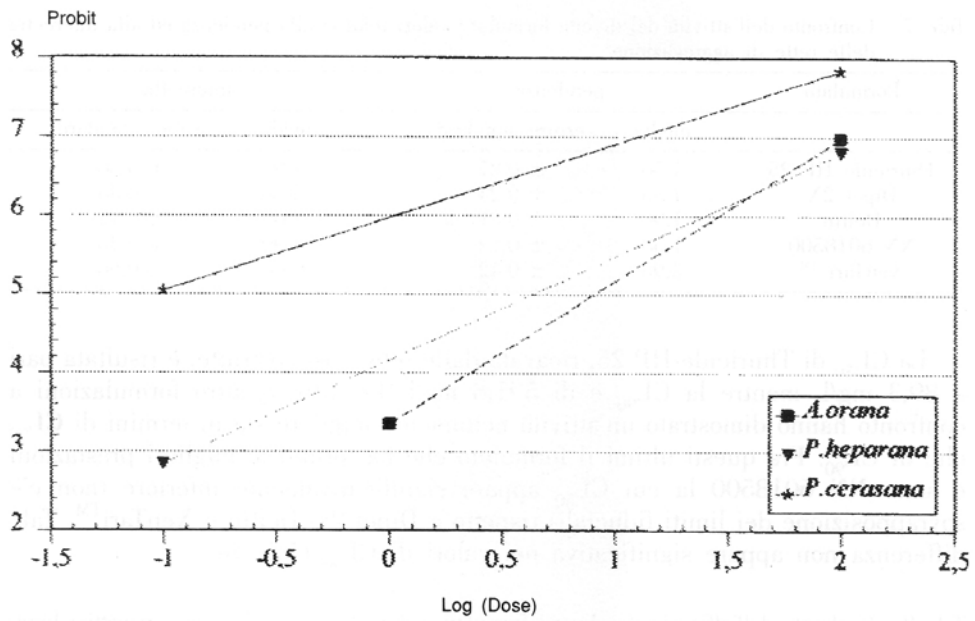


Fig. V - Suscettibilità delle diverse specie di ricamatori a Thuricide HP 25.

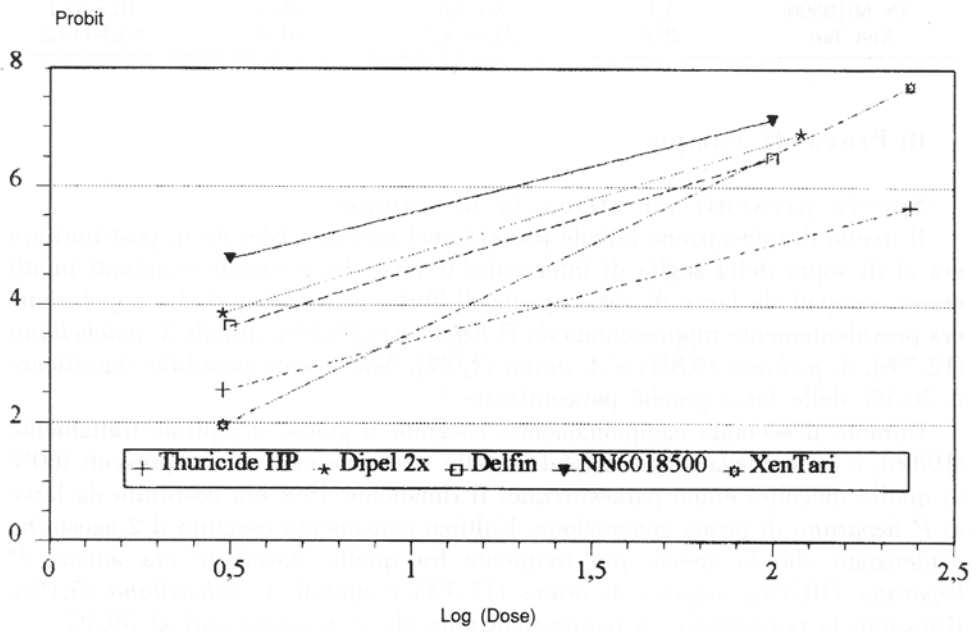


Fig. VI.- Efficacia di cinque diversi formulati su larve di *A. orana*.

Tab. 7 - Confronto dell'attività dei diversi formulati: valori relativi alla pendenza ed alla intercetta delle rette di aggregazione.

Formulato	pendenza		intercetta	
	media	errore standard	media	errore standard
Thuricide HP 25	1,56	± 0,27	1,96	± 0,56
Dipel 2X	1,85	± 0,24	3,06	± 0,36
Delfin	1,90	± 0,31	2,69	± 0,44
NN 6018500	1,58	± 0,22	3,99	± 0,20
XenTari <sup>TM</sup>	2,95	± 0,42	0,66	± 0,66

La CL<sub>50</sub> di Thuricide HP 25, ricavata dalle rette così costruite, è risultata pari a 89,3 mg/l, mentre la CL<sub>90</sub> è di 591,8 mg/l. Le altre quattro formulazioni a confronto hanno dimostrato un'attività nettamente migliore sia in termini di CL<sub>50</sub> che di CL<sub>90</sub>. Fra questi ultimi il formulato che ha fornito le migliori prestazioni è stato NN 6018500 la cui CL<sub>50</sub> appare significativamente inferiore (non c'è sovrapposizione dei limiti fiduciali) rispetto a Dipel 2x, Delfin e XenTari<sup>TM</sup>. Tale differenza non appare significativa nei valori di CL<sub>90</sub> (Tab. 8).

Tab. 8 - Confronto dell'efficacia dei diversi formulati: valori di CL<sub>50</sub> e CL<sub>90</sub> con i rispettivi limiti fiduciali al 95%.

Formulazione	CL <sub>50</sub>	L.F. (95%)	CL <sub>90</sub>	L.F. (95%)
Thuricide HP	89,3	65,5-115,3	591,8	365,4-1490,0
Dipel 2X	11,1	7,4-14,8	55,0	41,8-80,1
Delfin	16,3	11,4-21,3	76,6	53,2-143,0
NN 6018500	4,4	3,1-5,8	28,5	18,5-57,1
Xen Tari	29,8	24,6-34,7	81,0	65,3-114,2

## B) Prova di campo.

### Specie presenti ed efficacia di campo.

Il livello di infestazione larvale presente nel meleto e rilevato in post-fioritura era al di sopra della soglia di intervento: il 16% dei germogli esaminati infatti erano occupati da larve di varie specie di Tortricidi ricamatori. La popolazione era prevalentemente rappresentata da *P. heparana* (39,2%), quindi *A. pulchellana* (12,7%), *A. podanus* (9,8%) e *A. orana* (1,9%). Non è stato possibile classificare il 36,4% delle larve poichè parassitizzate.

Durante il secondo campionamento, eseguito il giorno del primo trattamento (19/06), è stato rilevato che la totalità delle larve svernati ancora presenti (60% di quelle raccolte) erano parassitizzate. Il rimanente 40% era costituito da larve di *P. heparana* di prima generazione. L'ultimo censimento eseguito il 2 agosto ha evidenziato che la specie più frequente fra quelle sfarfallate era ancora *P. heparana* (18,3%), seguiva *A. orana* (17,3%) e quindi *A. pulchellana* (5,1%). Rilevante la percentuale di parassitizzazione che è risultata pari al 59,3%.

In questa situazione i trattamenti eseguiti con *B. t.* hanno fatto registrare circa il 40-50% di efficacia. L'esame dei frutti alla raccolta ha messo in evidenza un

danno da ricamatori riferibile alle larve di prima generazione del 3,8% nella parte trattata e del 6,7% nel testimone; l'efficacia calcolata su questi valori è risultata del 56,7%.

#### Persistenza di *B.t.* in campo.

L'attività e la persistenza d'azione di *B. t.* sulle larve di *A. orana* è riportata in figura VII. Il massimo di attività è stato osservato per le larve esposte il giorno stesso del trattamento. La mortalità supera di poco il 60%, si mantiene sopra il 50% per cinque giorni, infine decresce gradualmente e si annulla entro due settimane dal trattamento.

Il secondo trattamento, eseguito dopo sette giorni, ha permesso solo parzialmente di ripristinare l'attività del prodotto. La mortalità valutata il giorno dell'intervento supera di poco il 40%, decresce lentamente nei sei giorni successivi, per poi scendere bruscamente ed annullarsi dopo 9 giorni. Da rilevare che il 3 luglio, sette giorni dopo il secondo trattamento, si è verificata una precipitazione di 40 mm che ha senz'altro contribuito ad annullare l'attività di *B. t.*

### DISCUSSIONE

La somministrazione continuata di *B. t.* alle larve di *A. orana* causa un livello di mortalità che è funzione della dose utilizzata. In questa situazione la temperatura

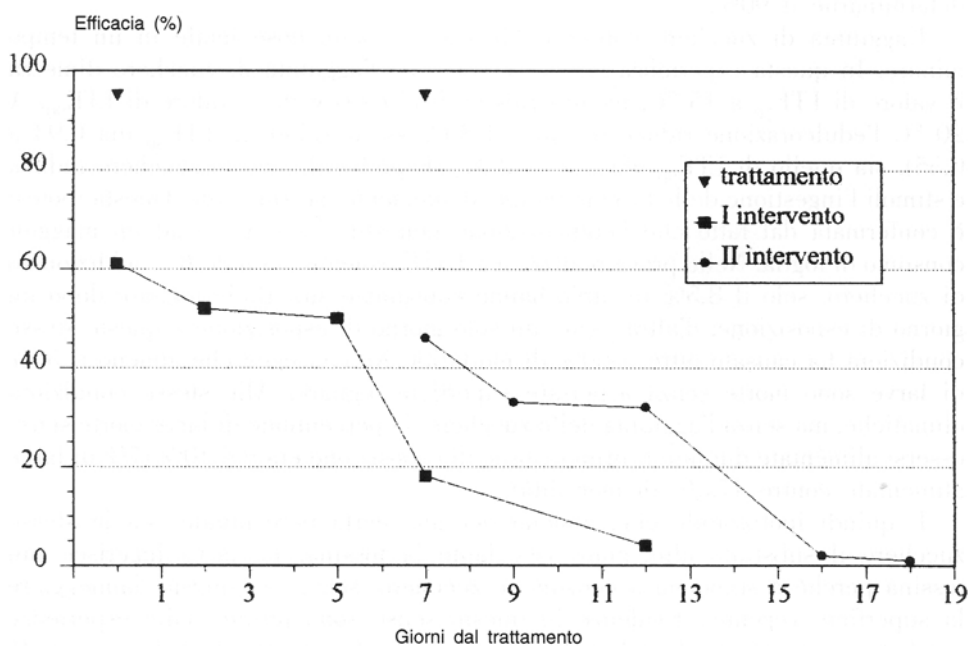


Fig. VII - Valori dell'attività e della persistenza di Thuricide HP 25 su larve di *A. orana*.

non influenza la mortalità finale, ma ha un pronunciato effetto sull'espressione della tossicità nel tempo; più elevata è la temperatura più velocemente le larve sono portate a morte (van Frankenhuyzen e Nystrom, 1987). In questa esperienza condotta su *A. orana* l'aumento della temperatura da 15 a 25 °C ha determinato una contrazione della  $LT_{50}$  da 13,3 a 3,2 giorni. Nella realtà di campo le larve sono esposte a dosi decrescenti di *B. t.* a causa della sua limitata persistenza nel tempo, dovuta sia al clima che all'attività delle proteasi fogliari (Spalding, 1978). In definitiva, quindi, le larve vengono esposte a livelli decrescenti di *B. t.*, che possono essere insufficienti a causarne la morte. L'esposizione a dosi sub-letali determina solo un temporaneo arresto dell'alimentazione, durante il quale la larva può riparare i danni causati dalla tossina a livello dell'epitelio intestinale. Riparato il danno la larva riprende l'attività trofica e, se non viene nuovamente esposta a *B. t.*, raggiunge regolarmente il completo sviluppo. In questo caso l'effetto finale è soltanto un prolungamento della durata dello stadio.

Nella pratica è quindi indispensabile assicurarsi che la larva ingerisca, in una o più riprese, la dose letale. Le basse temperature successive al trattamento riducono presumibilmente la probabilità che la larva ingerisca il livello critico di tossina a causa della riduzione del consumo di foglie. Viceversa, essendo l'attività trofica proporzionale alla temperatura, quanto più essa è elevata tanto più breve è il periodo necessario alla larva per assumere la dose letale.

Nel caso di larve di *A. orana* esposte alla dose di campo, il passaggio da 15 a 20 °C consente una riduzione da 1,31 a 0,93 giorni del tempo di esposizione necessario per determinare il 50% di mortalità, e da 20,15 a 3,57 giorni per determinarne il 90%.

L'aggiunta di zucchero consente l'ingestione della dose letale in un tempo minore. In questa esperienza si è osservato che l'aggiunta di zucchero dimezza il valore di  $LTE_{50}$  a 15 °C, mentre riduce di circa 6 volte il valore di  $LTE_{90}$ . A 20 °C l'edulcorazione riduce di circa il 30% sia il valore di  $LTE_{50}$  (da 0,93 a 0,55), sia quello di  $LTE_{90}$  (da 3,57 a 2,37). È probabile che lo zucchero induca e stimoli l'ingestione delle tossine indipendentemente dal substrato. Questa ipotesi è confermata dal fatto che l'edulcorazione non stimola le larve ad un maggior consumo di foglia. Nella prova realizzata a 15 °C, somministrando *B. t.* addizionato di zucchero, solo il 8,5% di larve hanno consumato superficie fogliare dopo un giorno di esposizione; d'altra parte, un solo giorno di esposizione a queste stesse condizioni ha causato oltre il 60% di mortalità. Ne consegue che almeno il 50% di larve sono morte senza asportare superficie fogliare. Alle stesse condizioni climatiche, ma senza l'aggiunta dello zucchero, la percentuale di larve morte senza essersi alimentate durante il primo giorno di esposizione era del 40% (7% di larve alimentate contro 47,5% di mortalità).

È quindi ipotizzabile che, almeno per una certa percentuale, sia lo stesso zucchero il substrato alimentare veicolante la tossina. La larva ingerisce più tossina perché è stimolata a consumare zucchero, senza per questo danneggiare la superficie vegetale. Evidenze in questo senso sono fornite dalle esperienze condotte in viticoltura dove l'edulcorazione non solo incrementa l'efficacia di *B. t.*, ma riduce anche la percentuale di acini danneggiati (Barbieri *et al.*, 1988; Charmillot *et al.*, 1991).



La maggiore mortalità osservata nelle larve trasferite dopo l'esposizione su dieta artificiale rispetto a quelle trasferite su foglie, potrebbe essere attribuibile ad una modificazione dell'ambiente intestinale nel quale si trova ad agire la tossina.

La probabilità che la larva ingerisca la dose letale è anche in relazione alla concentrazione del patogeno sulla superficie fogliare (van Frankenhuyzen e Nystrom, 1987). L'uso di formulazioni con titolo elevato consentirebbe quindi di migliorare le prestazioni di *B. t.*. Ciò sarebbe confermato dal confronto fra l'efficacia delle quattro varietà *kurstaki*. Dipel 2x e Delfin (32.000 U.I./mg) hanno determinato un aumento di efficacia rispetto a Thuricide HP 25 (16.000 U.I./mg) più che proporzionale all'incremento di tossina nella formulazione. Ad un raddoppio della concentrazione di tossina distribuita ha corrisposto, infatti, un aumento di cinque volte della  $CL_{50}$ . Questa tendenza è ancora più evidente nel caso della formulazione NN6018500, con la quale si sono ottenuti i migliori risultati sia in termini di  $CL_{50}$  che  $CL_{90}$ . Tra le formulazioni di *B. t.* var. *kurstaki* è risultata evidente la maggiore attività in termini di  $LD_{50}$  e  $LD_{90}$  dimostrata da NN6018500 nei confronti di tutti gli altri formulati. Assai simili invece appaiono le pendenze delle quattro rette di attività, a conferma del fatto che i prodotti contengono la stessa tossina, e quindi hanno lo stesso meccanismo d'azione.

La  $CL_{50}$  di Thuricide HP 25 così calcolata è di poco inferiore alla dose di campo (100 g/hl). Il prodotto impiegato a queste dosi in prove sperimentali, sia su popolazioni di *P. heparana* che di *A. orana*, ha consentito di osservare un'attività attorno al 50-60% di mortalità, il che confermerebbe i risultati di laboratorio.

XenTari™ (16.000 U.I./mg) ha messo in evidenza una  $CL_{50}$  intermedia fra le quattro precedenti formulazioni, nonostante la potenza dichiarata sia la stessa di Thuricide. Il diverso tipo di tossina, e quindi il diverso meccanismo d'azione sono la ragione della differente pendenza della retta. Questa caratteristica giustifica l'interesse verso questa nuova formulazione, da un lato per la sua efficacia ( $CL_{50}$  cinque volte inferiore a Thuricide HP 25 a parità di titolo dichiarato), e dall'altro per il suo meccanismo d'azione, che consentirebbe di gestire in maniera razionale il problema della resistenza.

Infine è stata messa in chiara evidenza la sensibilità fra le specie considerate. Se si confrontano i valori della  $CL_{50}$  appare evidente la notevole differenza fra la suscettibilità di *P. cerasana* rispetto alle altre due specie. Quest'ultima specie è risultata 90 volte più suscettibile di *A. orana* e 48 volte di più di *P. heparana*. Non significativa invece è risultata la differenza fra le  $CL_{50}$  di queste due ultime specie. Ciò trova una ulteriore conferma nella eguaglianza dei valori di  $CL_{90}$  delle due specie in questione.

## CONCLUSIONI

Le esperienze di lotta ai Tortricidi ricamatori del Melo mediante l'impiego di *B. t.* hanno dato risultati variabili negli anni, oltreché nelle diverse aree in cui si è intervenuti. Risultati soddisfacenti sono stati ottenuti in Emilia-Romagna sulle

principali specie presenti (*P. cerasana*, *A. podanus* e *A. pulchellana*) tanto che *B. t.* è ampiamente consigliato nei programmi di lotta integrata. Deludenti i risultati dell'uso di *B. t.* su *A. pulchellana* nei frutteti padovani, dove sono state condotte esperienze nelle quali *B. t.* non ha dato alcun risultato degno di nota. Qualche risultato più interessante è stato ottenuto impiegandolo su *A. orana* e *P. heparana* in Trentino ed in Olanda, ma anche in questo caso si è lontani dalla possibilità di consigliare questo mezzo di lotta in frutteti commerciali.

Sulla base dei dati emersi da questo studio un primo tipo di spiegazione alla grande variabilità di risultati è attribuibile alla suscettibilità delle specie presenti. *P. cerasana* ha infatti evidenziato una maggiore suscettibilità a *B. t.* rispetto a *P. heparana* e *A. orana*.

Relativamente a queste due ultime specie la scarsa efficacia si potrebbe spiegare con il fatto che, pur venendo inibita l'attività trofica, le dosi impiegate nella pratica consentirebbero a parte delle larve di ristabilirsi e riprendere l'alimentazione su un substrato via via meno inquinato. Nel giudicare l'esito dei trattamenti in campo si deve considerare che le larve manifesterebbero una preferenza per fonti alimentari non trattate rispetto a substrati trattati con *B. t.* (Gould *et al.*, 1991). Ciò si potrebbe verificare in seguito a trattamenti non eseguiti correttamente, oppure, nel caso di distribuzioni regolari, nel momento in cui le larve che hanno superato l'inibizione dell'attività trofica causata dall'ingestione di dosi sub-letali, trovano disponibilità di nuova vegetazione non trattata.

Un altro fattore che contribuisce alla riduzione dell'efficacia di *B. t.* è il ritardo nell'esecuzione del trattamento con scopo di attendere la schiusura della maggior parte delle ovature. Ciò significa che nel momento in cui si interviene con *B. t.* sono già presenti larve di età avanzate che sono meno suscettibili e più riparate nella vegetazione. Un miglioramento delle prestazioni di *B. t.* è quindi conseguibile indirizzando e iniziando i trattamenti prevalentemente contro le larve neonate. A questo scopo la scelta del momento di intervento può essere agevolata dall'ausilio di modelli previsionali di sviluppo, soprattutto nelle situazioni in cui sono presenti più specie nello stesso frutteto.

L'esecuzione dei trattamenti in presenza di temperature elevate incrementa l'efficacia di *B. t.*. Costituirebbero una conferma in tal senso i migliori risultati degli interventi estivi rispetto a quelli autunnali (van der Geest, 1971). È probabile che ai migliori risultati ottenuti in Emilia-Romagna abbia contribuito anche il clima, tendenzialmente più caldo rispetto a quello Trentino od Olandese.

L'edulcorazione aumenta l'efficacia di *B. t.* anche su specie con minore suscettibilità. L'aggiunta di zucchero è in particolar modo consigliata quando si deve intervenire in condizioni termiche sfavorevoli. È inoltre particolarmente interessante quando si desidera evitare qualsiasi danno su superfici vegetali di pregio quale l'epicarpo dei frutti, dove anche la più piccola rosura può essere causa di deprezzamento.

L'attuale disponibilità di formulati ad elevato titolo (32.000 U.I./mg), aumentando la concentrazione della tossina sulla superficie fogliare, aumenta le probabilità che le larve ingeriscano la dose letale prima che *B. t.* venga degradato.

Un ulteriore incremento di efficacia potrebbe essere garantito dalla disponibilità di formulazioni più persistenti. Queste consentirebbero non solo di limitare

gli inconvenienti dovuti alla scalarità dello sgusciamiento delle larve, ma garantirebbero la presenza di dosi letali per un tempo sufficientemente lungo da assicurarne l'ingestione. Recenti esperienze realizzate con una formulazione di *B. t.* ingegnerizzata, in grado di assicurare una elevata persistenza d'azione, (90% di mortalità su *A. orana* per oltre 9 giorni), ha risvegliato l'interesse verso questo mezzo di lotta anche in Svizzera (Charmillot *et al.*, 1994).

La somministrazione di *B. t.* a dosi sub-letali prolunga la durata dello stato larvale. Anche se questo fatto non si traduce direttamente in un incremento della mortalità, aumenta il tempo di esposizione delle larve all'attività dei parassitoidi. In un frutteto nel quale non sono stati fatti trattamenti a ampio spettro d'azione da alcuni anni, sebbene *B. t.* non abbia dato risultati soddisfacenti, si è avuto modo di osservare un'elevata percentuale di larve parassitizzate. Questo fatto non deve essere trascurato nello stilare il giudizio finale su questi mezzi di lotta.

KEY WORDS: Lepidoptera, leafrollers, *Bacillus thuringiensis*, apple.

#### RIASSUNTO

L'attività di *B. t.* var. *kurstaki* (Thuricide HP 25) sulle larve di *A. orana* aumenta all'aumentare della temperatura determinando una riduzione del valore di  $LT_{50}$ . La suscettibilità delle larve diminuisce con l'avanzare dello stadio. Il tempo di esposizione necessario per causare la morte del 50% delle larve ( $LTE_{50}$ ) è stato determinato a 15 e a 20 °C. La somministrazione del formulato edulcorato riduce in entrambi i casi i valori di  $LTE_{50}$ . Lo zucchero stimola l'ingestione della tossina anche quando la somministrazione è avvenuta su substrato non commestibile (plastica).

Una diversa suscettibilità a *B. t.* è apparsa evidente fra le tre specie di tortrici ricamatori confrontate: *A. orana*, *P. heparana*, *P. cerasana*. Considerando i valori della  $CL_{50}$ , *P. cerasana* ha evidenziato una maggiore suscettibilità rispetto a *P. heparana* e *A. orana* rispettivamente di 48 e 90 volte.

L'attività di Thuricide HP 25 è stata confrontata, su larve di *A. orana*, con quella di altre quattro formulazioni. Tre di queste erano a base di *B. t.* var. *kurstaki* con titolo pari a 32.000 U.I./mg (Dipel 2x, Delfin, NN 6018500), mentre la quarta era costituita da *B. t.* var. *aizawai* a 16.000 U.I./mg (XenTari). Tutti i quattro formulati determinano un aumento dell'attività che, rispetto a quella di Thuricide HP 25, risulta più che proporzionale all'aumento del titolo.

Confrontando i valori di  $CL_{50}$  delle quattro nuove formulazioni saggiate, NN 6018500 risulta avere una attività significativamente più elevata.

Il diverso meccanismo d'azione di XenTari™, evidenziato dalla diversa pendenza della retta di attività, unito alla buona attività sulle larve di capua, lo rendono un prodotto interessante per la gestione dei fenomeni di resistenza.

#### Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* Berliner on three species of apple leafrollers.

#### SUMMARY

The effectiveness of *B. t.* var. *kurstaki* (Thuricide HP 25) on *A. orana* larvae increases as temperature increases, causing a reduction in  $LT_{50}$  level. Susceptibility of larvae decreases as stage advances. The exposure time required to kill 50% of larvae ( $LTE_{50}$ ) was determined at 15° and 20°C. Administration of the sweetened formula reduces  $LTE_{50}$  levels in both cases. Sugar stimulates ingestion of the toxin even when administration was effected on inedible substrate (plastic).

Different levels of susceptibility to *B. t.* were noted among the three compared species of apple leafrollers: *A. orana*, *P. heparana*, *P. cerasana*. With respect to  $LC_{50}$  levels, the susceptibility of *P. cerasana* was 48 and 90 times that of *P. heparana* and *A. orana*, respectively.

The effectiveness of Thuricide HP 25 was compared to that of four other formulations on *A. orana* larvae. Three of these were based on *B. t.* var. *kurstaki*, with titre of 32,000 IU/mg (Dipel 2x, Delfin, NN 6018500), while the fourth was composed of *B. t.* var. *aizawai* at 16,000 IU/mg (XenTari™). All four formulations caused an increase in effectiveness which, compared to that of Thuricide HP 25, was more than proportional to the increase in titre.

When comparing the LC<sub>50</sub> levels of the four new formulations tested, NN 6018500 was seen to be significantly more effective.

The different mechanism of XenTari™, shown by the different slope of the effectiveness line, together with good effectiveness on *A. orana* larvae, make it an interesting product for the management of resistance phenomena.

#### BIBLIOGRAFIA CITATA

- ABBOT W.S., 1925. - A method of computing the effectiveness of an insecticides. - *J. Econ. Entomol.*, 18: 265-267.
- ANGELI G., MATTEDI L., MAINES R., 1993. - Tortricidi Ricamatori nella frutticoltura del Trentino. - *Inf. Fitopat.* 5: 15-19.
- ARZONE A., PATETTA A., 1990. - Simposio sulla tossicità di antiparassitari verso le api in Cecoslovacchia. - *Apicolt. Mod.* 81: 103-109.
- BARBARA C., FACCIOLI G., ANTROPOLI A., 1994. - *Pandemis cerasana* and *Archips podanus*: relationship between pheromone-trapped males, larval infestation and fruit damage in italian pear orchards. - *IOBC/WPRS Bulletin*, 17 (2):6-12.
- BARBIERI R., MALAVOLTA C., CAVALLINI G., GUARDIGNI P., PARI P., 1988. - Efficacia di due formulati a base di *Bacillus thuringiensis* Berliner con e senza aggiunta di edulcoranti nella lotta contro *Loesia botrana* Den e Schiff. - *Informatore Fitopatologico*. 7-8: 59-62.
- CAPPELLOZZA L., CAPPELLOZZA S., BENDETTI R., ASSAL O.M., 1993. - Mortalità e parametri produttivi in *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae), in risposta a trattamento a basso dosaggio con l'insetticida Insegar (fenoxycarb). - *Redia*, 76 (2): 335- 342.
- CAPPELLOZZA L., MIOTTO F., MORETTO E., 1990. - Effetti del fenoxycarb a basse concentrazioni sulle larve di *Bombyx mori* (Lepidoptera Bombycidae). - *Redia*, 73 (2): 218-239.
- CASTELLARI P.L., BOSCHERI S., 1985. - La *Pandemis heparana* Denis e Schiff. (Lep. Tortricidae) nei meleti dell'Alto Adige e i mezzi per combatterla.- *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi", Univ., Bologna*. 40: 85-97.
- CASTELLARI P.L., 1989. - Ricerche sull'etologia e sulla ecologia di *Pandemis heparana* Denis e Schiff. (Lep. Tortricidae) in provincia di Bolzano. - *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi", Univ., Bologna*. 44: 75-88.
- CELLI G., CORAZZA L., 1983. - Antiparassitari e difesa del Melo. - *Inf. fitopat.*, 7/8: 9-14.
- CHARMILLOT P.J., BLASER C., 1985. - Le fenoxycarb, un régulateur de croissance d'insectes homologué contre la tordeuse de la pelure *Adoxophyes orana* F.v.R. - *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, 17 (2): 85-92.
- CHARMILLOT P.J., PASQUIER D., ANTONIN PH., 1991. - Efficacité et rémanence de quelques préparations à base de *Bacillus thuringiensis* (*B. t.*) dans le lutte contre les vers de la grappe eudémis et cochylis. - *Revue suisse Vitic. Arboric. Hortic.*, 23 (3): 187-194.
- CHARMILLOT P.J., PASQUIER D., VIANINZ N., ALIPAZ N.J., SCALCO A., 1994. Comparaison de produits biologiques et biotechniques dans la lutte au printemps contre la génération hivernante de la tordeuse de la pelure *Adoxophyes orana* à Changins. - *Rapporto interno 93434*.
- DE REEDE R.H., GROENDIJK R.F., WIT A.K.H., 1984. - Field tests with insect growth regulators epofenone and fenoxycarb in apple orchards against leafrollers and side-effects on some leafroller parasites. - *Entomol. exp. appl.* 35: 275-281.
- DE REEDE R.H., GRUYS P., VAAL F., 1985. - Leafrollers in apple IPM regimes, based on *Bacillus thuringiensis* on diflubenzuron or on epofenone in the Netherlands. - *Entomol. exp. appl.*, 37: 263-274.
- FAST P.G., DIMOND J.B., 1984. - Susceptibility of larval instars of spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae), to *Bacillus thuringiensis*. - *Can. Ent.*, 116: 131-137.
- FINNEY D.J., 1971.- Probit analysis. - *Cambridge University Press*.
- FLUCKINGER C.R., BENZ G., 1982. - A temperature-driven model to simulate the population development of the summerfruit tortrix, *Adoxophyes orana*. - *Entomol. exp. appl.*, 32: 161-172.
- GELERNTER W.D., 1990. - Targeting insecticide-resistant markets: new developemts in microbial

- based-products. In: *Managing Resistance to Agrochemicals: From Fundamental Research to Practical Strategies*. - Eds. M.B. Green, W.K. Moberg, H. LeBaron) ACS, Series 421: 105-117.
- GENDRIER J.P., AUDEMARD H., 1987. - Lutte raisonnée contre les tordeuses de la pelure. - In: *ANPP, Conférence internationale sur les ravageurs en Agriculture. Paris*, 1-3 Déc. Vol. III: 11-15.
- GIROLAMI V., STRAPAZZON A., 1986. - Possibilità di produzione di mele senza impiego di prodotti di sintesi chimica. - *Atti Giornate Fitopatologiche* 1: 35-40 .
- GOULD F., ANDERSON A., LANDIS D., VAN MELLAERT H., 1991. - Feeding behavior and growth of *Heliothis virescens* larvae on diets containing *Bacillus thuringiensis* formulations or endotoxins. - *Entomol. exp. appl.* 58: 199-210
- IORIATTI C., FORTI D., DELAITI M., 1991. - I regolatori di crescita degli insetti (R.C.I.): valutazione del momento d'intervento su *Adoxophyes orana* (F.v.R.), *Archips podana* (Scop.) e *Pandemis heparana* (Den. & Schiff.). - *Informatore Fitopatologico*, 12: 32-36.
- LOZZIA G.C., TREMATERRA P., 1986. - Difesa guidata nei meleti della Valtellina: tortricidi ricamatori e loro epoche di volo.- *La difesa delle piante* 9 (3): 245-260. *Microbiological Reviews*, June: 242-255.
- NITSCH C., 1992. - Die Wirkungsweise von Insegar auf die Entwicklungsstadien der Honigbiene *Apis mellifera* L., mit besonderer Berücksichtigung der für Insegar typischen Vergiftungssymptome. - *Diplomarbeit Universität Hoheheim*, 60p .
- NICOLI G., CORAZZA L., CORNALE R., 1990. - Lotta biologica contro i Lepidotteri Tortricidi ricamatori del pero con *Bacillus thuringiensis*. - *Inf. Fitopat.*, 6: 55-62.
- PASQUALINI E., BORTOLOTTI A., MAINI S., BRIOLINI G., CASTELLARI P. L., 1982. - Distribuzione spaziale e fenologia degli sfarfallamenti di tre specie di Lepidotteri Tortricidi ricamatori in Emilia-Romagna. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 23,(2): 203-206.
- PASQUALINI E., ANTROPOLI A., FACCIOLI G., 1991. - Control effectiveness of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* against leafroller in apple and in pear orchards of Italy's Emilia-Romagna. - *Proc. "First International Conference on Bacillus thuringiensis"* July, 28-31, 1991, St. Catherine's College, Oxford.
- SPALDING B.P., 1978. - The effect of biocidal treatments on respiration and enzymatic activities of Douglas-fir needle litter. - *Soil Biol. Biochem.* 10: 537-544.
- STRAPAZZON A., DALLA MONTA L., 1986. - *Bacillus thuringiensis* Berliner e prodotti tradizionali nel meleto. Controllo estivo dei carpofagi ed effetti collaterali su acari. - *Atti Giornate Fitopatologiche*, 1: 41-52.
- VAN DER GEEST L.P.S., 1971. - Use of *Bacillus thuringiensis* for the control of orchard pest. - *Z. ang. Ent.*,69: 263-266.
- VAN FRANKENHUYZEN K., NYSTROM C.W., 1987. - Effect of temperature on mortality and recovery of spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) exposed to *Bacillus thuringiensis* Berliner. - *Can. Ent.*, 119: 941-954.
- VIDANO C., 1989. - Bachicoltura disastrosa, apicolura in allarme: deriva di un antiparassitario?.- *L'apicoltore Moderno*, 80: 107-110.
- ZANGHERI S., BRIOLINI G., CRAVEDI P., DUSO C., MOLINARI F., PASQUALINI E., 1992. - Lepidoteri dei fruttiferi e della vite. - *Ed. L'informatore Agrario*, 191 pp.