

AZIONE DELL'INOCULO DI
MICETI ENTOMOPATOGENI NEI RIGUARDI
DI ADULTI DI CORYTHUCHA CILIATA SAY,
SVERNANTI SU PLATANI DI ALBERATE CITTADINE

O. I. OZINO

G. ZEPPA

Estratto dal

**Giornale di
Batteriologia
Virologia ed
Immunologia**

AZIONE DELL'INOCULO DI MICETI ENTOMOPATOGENI NEI RIGUARDI DI ADULTI DI CORYTHUCHA CILIATA SAY, SVERNANTI SU PLATANI DI ALBERATE CITTADINE

O.I. OZINO - G. ZEPPA

Istituto di Microbiologia e Industrie agrarie, Università di Torino

Summary — Within a three years research program, infection tests were carried on adults of *Corythucha ciliata* wintering on the planetrees of same city avenues, inoculating entomopathogenic deuteromycetes *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus*, microorganisms which are known to be naturally present in such an environment. Inoculated fungi were able to settle only where the trees were free from any kind of disturbance, while this failed to occur in the areas of intense car traffic. Number of treatments efficiently affected pathogens diffusion in the trees. The persistency of the parasites on the insects, even one year after the treatment, seems to indicate the possibility of their use for the limitation of *C. ciliata*.

INTRODUZIONE

Beauveria bassiana (Bals.) Vuill., *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas, *Paecilomyces farinosus* (Helm ex S.F. Gray) Brown & Smith sono noti entomopatogeni di *Corythucha ciliata* (Say) (Arzone e Ozino, 1984). In prove di infezione condotte in laboratorio su adulti svernanti, alla temperatura di 5 °C, i tre deuteromiceti hanno provocato 100% di mortalità (Arzone et al., 1986). Tale risultato ha suggerito di considerare possibile un intervento sulle popolazioni di *C. ciliata* durante l'inverno, periodo in cui l'insetto sembra essere più facilmente vulnerabile (Arzone, 1973). Scopo della presente ricerca è stata la verifica dell'azione dei tre patogeni su adulti di *C. ciliata* svernanti sotto la corteccia dei platani.

MATERIALI E METODI

Le indagini sono state condotte in tre annate successive, precisamente negli inverni 1985, 1986, 1987.

Nell'inverno 1985-1986 sono state eseguite prove di inoculo con *B. bas-*

Indirizzo postale: Prof. O.I. OZINO, Istituto di Microbiologia e Industrie agrarie, Università di Torino, Via Pietro Giuria 15, 10126 Torino Italy.

Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R. nell'ambito del P.F. I.P.R.A.; sottoprogetto 1. Pubblicazione N. 1963.

siana, *V. lecanii*, *P. farinosus* su platani situati in un parco molto tranquillo interdetto alla circolazione dei veicoli a motore della città di Torino. Le piante avevano tronco di diametro compreso tra 40 e 100 centimetri ed erano sufficientemente distanziate fra di loro per evitare inquinamenti reciproci durante le irrorazioni. Sono state trattate 16 piante: 8 (2 con ciascuno dei tre funghi, 2 con acqua sterile) una sola volta, a metà dicembre; 8 (2 per ciascuno dei tre funghi, 2 con acqua sterile) due volte, a metà dicembre e a fine gennaio.

Nell'inverno 1986-1987 gli inoculi sono stati effettuati solamente con *B. bassiana* su platani con tronco di diametro compreso fra 45 e 60 centimetri, situati in corsi a traffico veicolare molto intenso, direttamente esposti a polvere, gas di scarico e a varie turbolenze. Sono state trattate 42 piante: 14 (7 con inoculo, 7 con acqua sterile) due volte, a distanza di 15 giorni, in dicembre; 14 (7 con inoculo, 7 con acqua sterile) due volte a distanza di 15 giorni in febbraio; 14 (7 con inoculo, 7 con acqua sterile) quattro volte, in coincidenza con i trattamenti degli altri due gruppi di piante sopra citati. Nell'inverno 1987-1988 gli inoculi sono stati effettuati con *V. lecanii* e *P. farinosus*, su platani situati in un parco molto tranquillo e interdetto alla circolazione dei veicoli a motore. Le piante avevano tronco di diametro compreso fra 40 e 100 centimetri ed erano convenientemente distanziate fra di loro. Le 12 piante prescelte (3 per ciascun fungo, 6 per i testimoni) sono state trattate cinque volte: all'inizio e alla metà dei mesi di dicembre e di febbraio e all'inizio di marzo.

Per ottenere le blastopore dei tre miceti veniva utilizzato il substrato al malto arricchito di estratto di lievito posto in fermentatore da laboratorio con aerazione forzata, temperatura di 26°C, velocità di 150 giri/min. Il materiale permaneva nel fermentatore 5 giorni: dopo tale periodo presentava 0,6-1,4x10⁸ blastospore/ml. Prima di essere distribuita, la sospensione era diluita in modo da ottenere una carica di 1-1,75x10⁷ blastospore/ml; ogni pianta riceveva 4 litri di una siffrata sospensione, in totale 4-7x10¹⁰ blastospore.

Per la distribuzione dell'inoculo erano adoperati irroratori regolati a pressione di 2,5-3 atm allo scopo di ottenere un getto alto e bagnare anche la superficie interna della corteccia. L'irrorazione interessava la parte bassa del tronco, fino a circa m 2 di altezza da terra, zona preferita dai tingedi durante lo sverramento.

Il campionamento degli esemplari era fatto nella prima decade di aprile. Sulla fascia di tronco compresa fra 70 e 140 centimetri da terra, lungo quattro linee verticali tracciate in corrispondenza dei quattro punti cardinali, venivano delimitati 5 quadrati, di cm 6 di lato, distanti fra di loro cm 10. La rimozione di ciascuna delle 20 porzioni di corteccia in tal modo ricavate per ogni pianta era immediatamente seguita dalla raccolta di tutti gli esemplari di *C. ciliata* presenti.

In laboratorio, gli individui morti venivano separati da quelli vivi. Quelli morti infungati erano assoggettati ad esame stereomicroscopico per l'osservazione delle caratteristiche più evidenti del micelio che li avvolgeva. Successivamente, la presenza dei funghi entomopatogeni sulla cuticola e nel corpo dei tingedi veniva accertata con preparati al microscopio a contrasto di

fase. Ulteriore conferma dello sviluppo dei microrganismi in esame su ciascuna esemplare era ottenuta mediante isolamento in piastra, impiegando come substrato di coltura agar Sabouraud-destrosio e agar-malto arricchito di estratto di lievito.

Gli individui morti, ma non infungati, erano posti in camera umida a 26°C per 48-56 ore, onde favorire l'eventuale proliferazione miceliare dei tre deutromiceti.

Allo scopo di verificare la persistenza dell'inoculo dei funghi sui platani trattati nell'inverno 1985-86, il campionamento degli esemplari è stato ripetuto nell'aprile 1987 secondo il metodo già descritto.

RISULTATI

I risultati ottenuti nei saggi di infezione condotti nell'inverno 1985-1986 con *B. bassiana*, *V. lecanii* e *P. farinosus* sono illustrati nella figura 1. In essa sono riportate le percentuali medie di mortalità causate da uno e da due trattamenti con *B. bassiana*, *V. lecanii*, *P. farinosus*. Le percentuali sono state calcolate rispetto al numero totale di esemplari, vivi e morti, rinvenuti in ogni platano; tale numero variava da un minimo di 169 ad un massimo di 1179 a seconda delle piante. Gli insetti colpiti da *B. bassiana* nei platani con essa infettati sono risultati 17,50% per un trattamento e 25,50% per due trattamenti; quelli testimoni, rispettivamente, 6,00% e 9,00%. Gli insetti colpiti da *V. lecanii* nelle piante con esso irrorate sono stati 6,50% per un trattamento e 25,50% per due trattamenti; quelli testimoni, rispettivamente, 0,70% e 0,50%. Gli insetti colpiti da *P. farinosus* nelle piante con esso inoculate hanno raggiunto 3,00% per un trattamento e 8,00% per due trattamenti; quelli testimoni rispettivamente 0,50% e 0,00%.

I saggi di infezione condotti nell'inverno 1986-1987 hanno avuto esito negativo. Gli insetti rinvenuti morti sulle piante trattate e su quelle testimoni, peraltro in numero limitato ed estremamente disidratati, sono apparsi esenti da entomopatogeni: una parte era avvolta da *Mucor hiemalis*, *Rhizopus nigricans*, *Alterraria* sp., *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., l'altra non rivelava sviluppo di funghi sul corpo. Questi ultimi individui, posti in camera umida, non hanno mai mostrato alcuna proliferazione miceliare.

I risultati ottenuti nei saggi condotti nell'inverno 1987-1988 mediante cinque trattamenti sono indicati nella figura 2. Le percentuali medie di mortalità riportate sono state calcolate rispetto al numero totale di esemplari vivi e morti rinvenuti in ciascuna pianta; esso oscillava tra 70 e 266. Gli insetti infungati da *V. lecanii* nelle piante col medesimo inoculate sono stati 28,60%, quelli colpiti da *P. farinosus* nei platani col medesimo irrorati sono stati 36,27%. Sui testimoni, i due entomopatogeni erano assenti.

I risultati dell'esame effettuato nella primavera 1987 sulle piante trattate e già assoggettate a campionamento nell'anno 1986 sono riportati nella figura 3. Il numero totale di esemplari trovati in ogni pianta era compreso tra 139 e 960. La mortalità rilevata sui platani sottoposti ad un unico trattamento è stata: 39,00% per *B. bassiana*, 7,70% per *V. lecanii*, 3,00% per *P. farinosus*, 9,00%, 0,50%, 0,00% per i rispettivi testimoni; quella riscontrata sui platani sottoposti a due trattamenti è stata: 42,75% per *B. bassia*

na, 16,20% per V. lecanii, 7,00% per P. farinosus, 9,00%, 0,50%, 0,00% per i rispettivi testimoni.

Riguardo alla diffusione naturale dei tre entomopatogeni tra le popolazioni di *C. ciliata* nelle piante considerate durante la sperimentazione triennale, *B. bassiana* è sempre stata presente ad eccezione dell'inverno 1986-1987, *V. lecanii* e *P. farinosus* sono risultati appena rappresentati o assenti. L'azione patogena di *B. bassiana* si è mostrata estremamente variabile con valori di mortalità compresi tra 1,50% e 9,00% e in 3 piante fino al 25,50%; quella di *V. lecanii* da 0,00% a 1,81%; quella di *P. farinosus* da 0,00% a 1,00%.

DISCUSSIONE

L'azione dell'inoculo condotto a seconda degli inverni, con *B. bassiana*, *V. lecanii*, *P. farinosus* o con *B. bassiana* o con *V. lecanii* e *P. farinosus* nei confronti di adulti di *C. ciliata* svernanti su platani, è apparsa fortemente influenzata dall'ambiente relativo alla posizione delle piante scelte per la sperimentazione. Infatti sui platani situati in aree tranquille, interdette alla circolazione di autoveicoli, le blattospore impiegate per le infezioni sono state favorite nella loro azione; tant'è che nelle piante trattate il numero di esemplari colpiti dai patogeni inoculati è stato sempre superiore a quello dei platani testimoni. Tale comportamento si è mostrato particolarmente evidente per *V. lecanii* e *P. farinosus*, i quali nell'ambiente sono poco diffusi o addirittura assenti, come era già stato constatato in precedenti ricerche (Ozino e Menardo, 1984; Arzone et al., 1986). Sui platani posti in aree esposte a polvere, a gas di scarico, ad intensa ventilazione per il continuo traffico automobilistico, l'assenza di sviluppo dei funghi inoculati ha suggerito che le condizioni ambientali non erano adatte al loro insediamento; ne ha dato conferma il fatto che nelle piante testimoni non sono stati rinvenuti insetti colpiti da micosi.

La mortalità degli esemplari di *C. ciliata* infettati dai tre funghi è stata maggiore nelle piante che hanno subito più di un trattamento rispetto a quelle testimoni. Questo andamento è stato notato già nel primo inverno sulle piante che avevano ricevuto due irrorazioni di *B. bassiana* e in particolare su quelle infettate due volte con *V. lecanii*. Più contenuta è stata l'azione del patogeno sui platani trattati con *P. farinosus*. A questo riguardo è necessario tenere presente che il fungo, noto per essere capace di agire a temperature basse (Samson, 1974; Doherski, 1981) era stato impiegato nel periodo più freddo dell'anno con temperature eccezionalmente basse, variabili tra -10 e -15° C. Nell'inverno 1987-88 è stato possibile verificare l'efficace virulenza di questo deuteromicete, che nei platani con esso trattati 5 volte ha colpito il 36,27% degli esemplari. D'altra parte è ormai accertata la stretta correlazione tra la carica del patogeno e la mortalità degli insetti per micosi (Müller-Kögler e Stein, 1970; Ferron, 1978).

La persistenza dell'inoculo, fenomeno peraltro già riscontrato per diverse specie fungine entomopatogene (Ferron, 1981), ha rappresentato un risultato di rilievo soprattutto nella prospettiva dell'impiego dei tre deuteromiceti per il contenimento di *C. ciliata*. A distanza di un anno dall'inoc-

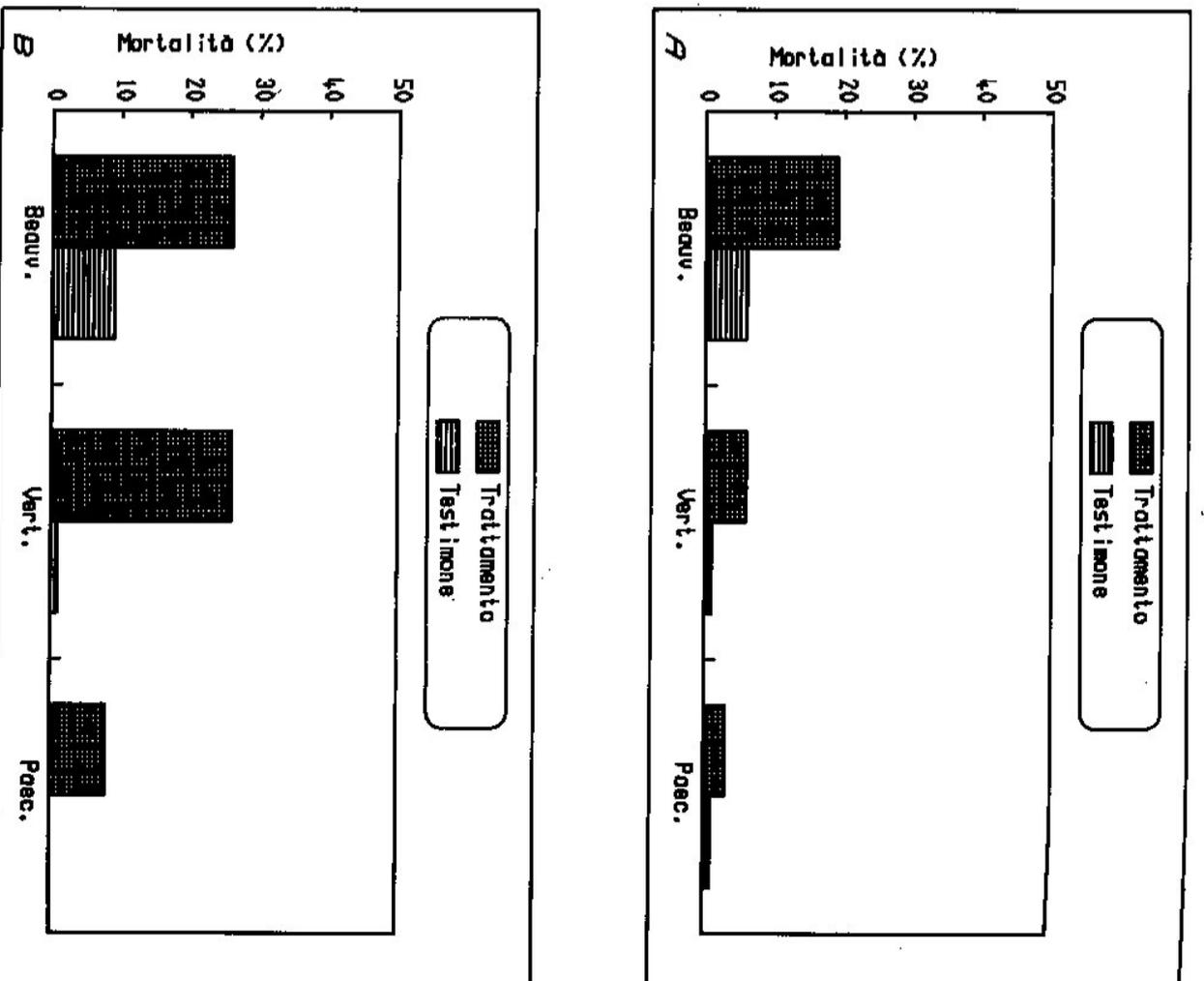


Fig. 1 - Adulti di *Corythucha ciliata* colpiti da *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus* sui Platani trattati 1 volta (A) e 2 volte (B).

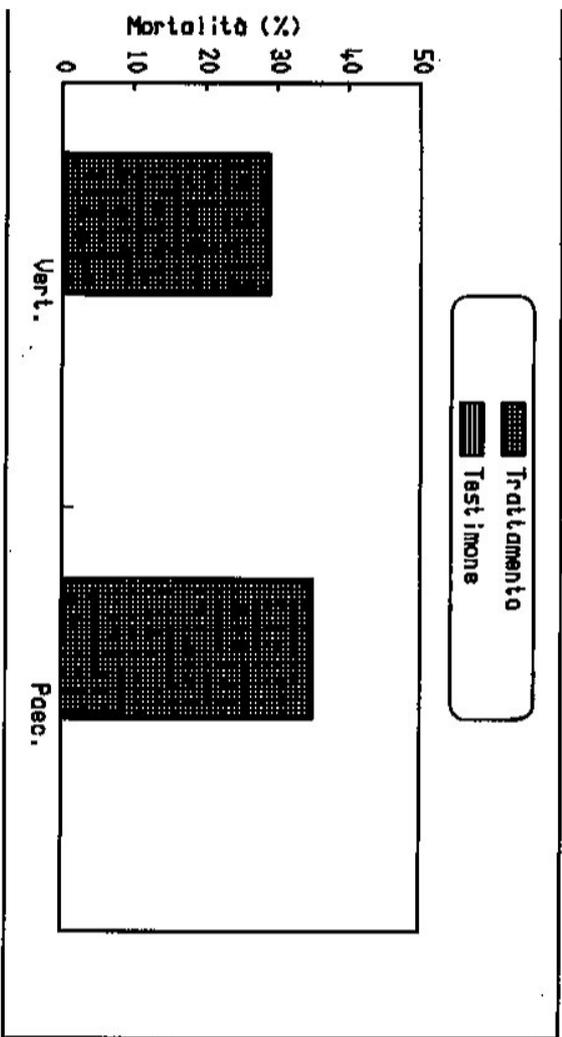


Fig. 2 - Adulti svernanti di *Corythucha ciliata* colpiti da *Verticillium lecanii* e *Paecilomyces farinosus* sui platani trattati 5 volte

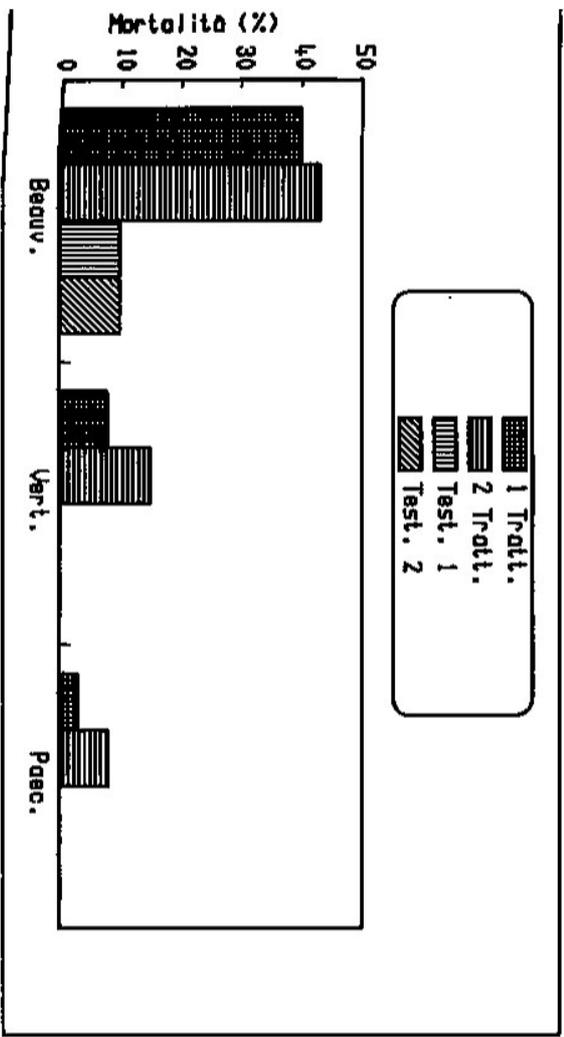


Fig. 3 - Adulti svernanti di *Corythucha ciliata* colpiti da *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus* sui platani trattati 1 e 2 volte a distanza di un anno dall'inoculo.

lo la mortalità provocata da *V. lecanii* e da *P. farinosus* in uno ed in due trattamenti ha pressochè mantenuto gli stessi valori, quella applicata da *B. bassiana* è apparsa raddoppiata in entrambi i casi. Tale comportamento suggerisce che i primi due miceti la cui presenza sui platani è estremamente contenuta, hanno potuto insediarsi nell'ecosistema; il terzo naturalmente adattato all'ambiente, è stato favorito nello sviluppo e nell'azione.

Riassunto — In una sperimentazione triennale sono stati condotti saggi d'infezione nei confronti di adulti di *Corythucha ciliata*, svernanti su platani di alberate cittadine, con l'inoculo dei deuteromiceti entomopatogeni *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Paecilomyces farinosus*, microrganismi naturalmente presenti nell'ambiente.

L'insediamento dei tre funghi inoculati si è verificato solo su piante situate in aree tranquille, non altrettanto è stato riscontrato in zone di intenso traffico automobilistico. Il numero dei trattamenti ha efficacemente influenzato la diffusione degli entomoparassiti sulle piante. La persistenza dell'inoculo da essi rivelata a distanza di un anno dal trattamento, induce a sperare nella possibilità del loro impiego per il contenimento di *C. ciliata*.

Ringraziamenti — Si ringrazia il Prof. Carlo Vidano, Direttore dell'Istituto di Entomologia agraria e Apicoltura dell'Università di Torino per la collaborazione nelle prove d'infezione e nel prelievo degli esemplari di *C. ciliata*.

BIBLIOGRAFIA

- Arzone A.: *Corythucha ciliata* (Say), nuovo nemico dei platani in Piemonte (*Hemiptera Tingidae*). Torino Municipalizzate, 6, 37, 1973.
- Arzone A. - Ozino Marietto O.I.: *Patogenicità di tre deuteromiceti nei confronti di Corythucha ciliata* Say (*Heteroptera Tingidae*). Redia, 67, 195, 1984.
- Arzone A. - Ozino Marietto O.I. - Tavella L.: *Action of pathogenic deuteromycetes against overwintering adults of Corythucha ciliata* (Say) (*Rhynchota Tingidae*). Bull. SROP OILB, 75, 1986.
- Doberski J.W.: *Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the Elm Bark Beetle *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae and Paecilomyces farinosus*. J. Invert. Path. 37, 195, 1981.
- Ferron P.: *Biological control of insect pests by entomogenous fungi*. Ann. Rev. Ent., 23, 409, 1978.
- Ferron P.: *Pest control by the fungi Beauveria and Metarhizium*. In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, Burgess H.D. ed. Academic Press. London, New York, 1981.

- Müller-Kögler E. - Stein W.: *Gewächshausversuche mit Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. zur Infektion von Sitona lineatus L. (Coleopt. Curculion.) in Boden. Z. angew. Ent., 65, 59, 1970.*
- Ozino Marletto O.I - Menardo R.: *Micromiceli isolati da Corythucha ciliata Say. Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri, 41, 183, 1984.*
- Samson R.A.: *Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. Stud. Mycol., 6, 1, 1974.*