

Adulti e larve di *Spodoptera littoralis* Boisduval

ambientali; cambia anche in relazione agli ibridi di mais messi a coltura, più o meno suscettibili all'attacco del fitofago. Perdite di prodotto del 10% e oltre non sono infrequenti nelle colture lombarde.

P. pyraustae, protozoo microsporidio descritto nel 1927 da PAILLOT per la Francia e appartenente alla famiglia Nosematidi, è parassita obbligato intracellulare della Piralide del mais. La distribuzione del protozoo e la sua relazione con l'ospite sono state oggetto di ricerche soprattutto nella stessa Francia e negli USA (STEINHAUS, 1949; ZIMMACK *et al.*, 1954; KUDO, 1957; KRAMER, 1959a e b; RAUN *et al.*, 1960; VAN DENBURGH e BURBUTIS, 1962). Il protozoo sembra essere ovunque presente con una frequenza che interessa percentuali diverse della popolazione del fitofago; l'infezione causa, per lo più, un generale effetto debilitante nell'individuo parassitizzato, rendendolo meno resistente ad altri agenti limitanti e diminuendo la sua capacità riproduttiva. Il meccanismo d'infezione e il ciclo biologico del patogeno sono simili a quelli di altri microsporidi che vivono a spese di insetti. Il protozoo si sviluppa alternando cellule vegetative e spore. Le prime invadono il corpo delle vittime e costituiscono la fase di moltiplicazione da cui prende avvio, in particolari condizioni, la fase di sporulazione. Questa si conclude con la produzione di spore, forme di resistenza che possono spargersi nell'ambiente e diffondere l'infezione.

Nel corpo delle larve il parassita perviene mediante l'ingestione di cibo o di altro materiale inquinato dalle spore e si localizza nel lume e nell'epitelio del tubo digerente, nelle ghiandole salivari, nei tubi malpighiani. Particolarmente in questi ultimi l'infezione causa un'ipertrofia accompagnata da colorazione giallo-pallida, ben diversa dal normale colore giallo intenso, e infine distruzione dell'epitelio. Il numero di spore riscontrabili in una larva varia entro limiti molto ampi, da 4.5 a 100 milioni e oltre. Gli individui colpiti muoiono soltanto se l'infezione è particolarmente alta, ma, assai spesso, riescono a portare a termine lo sviluppo; in tal caso il parassita permane nelle pupe e negli adulti in cui attacca, oltre agli organi già nominati, anche gli apparati riproduttori. Osservazioni istologiche di ovari infetti rivelano la presenza di spore tanto nei trofociti quanto negli ovociti (ZIMMACK e BRINDLEY, 1957). L'infezione può infatti propagarsi anche tramite la deposizione di uova già contaminate.

METODOLOGIA DELL'INDAGINE

Allo scopo di ottenere indicazioni sulla diffusione della Piralide e sull'eventuale presenza del suo parassita nelle campagne lombarde abbiamo effettuato campionamenti delle popolazioni del fitofago mediante l'esame di residui delle colture di mais, raccolti all'inizio dell'autunno. Il prelievo degli stocchi ha riguardato 14 località delle province di Milano, Pavia, Como scegliendo zone con ampie coltivazioni della graminacea, destinata sia alla produzione di granello che a foraggio come trinciato integrale.

Per ogni campione venivano asportati, con un taglio alla base del colletto, 100 stocchi scelti a caso su tutta la superficie della coltura prescelta. In laboratorio gli stocchi, sezionati per estrarre e contare le larve della Piralide, mostravano vaste e lunghe gallerie di alimentazione di entrambe le generazioni; le larve erano presenti tanto alla base del colletto che negli internodi superiori, prevalentemente nella zona corticale del fusto piuttosto che nel midollo centrale. Mentre alcuni steli contenevano parecchie larve (fino a 12 in uno, nella zona di Desio), altri

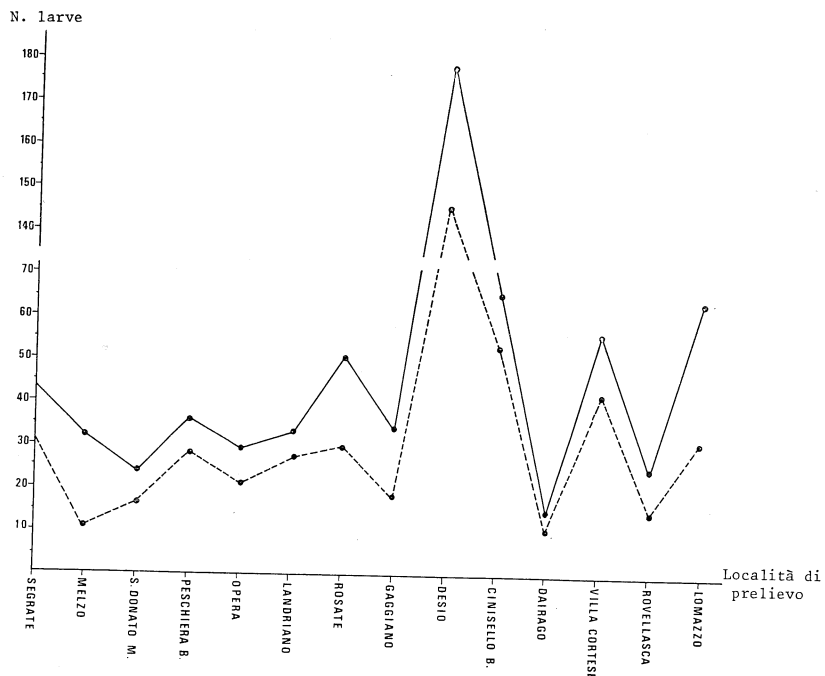


GRAFICO 1 - Presenza di *Ostrinia nubilalis* in varie località lombarde. La linea continua indica il numero di larve presenti in 100 stocchi all'inizio dell'autunno, la linea tratteggiata il numero di larve sopravvissute dopo l'inverno.

erano completamente indenni. I risultati dei conteggi (grafico 1) dimostrano la presenza di Piralide in tutte le zone verificate, da un massimo di 168 ad un minimo di 15 larve in 100 stocchi. Ciò conferma l'incidenza del fitofago in una zona monocolturale a specializzazione maidicola come quella lombarda.

Per accertare la presenza del protozoo parassita è stato esaminato il 10% delle larve estratte da ciascun campione. Il microsporidio è stato

rinvenuto, sia pure in quantità variabile, in tutte le popolazioni delle diverse località. La verifica del grado di infezione al momento della raccolta è stata fatta conteggiando il numero di spore per individuo secondo il metodo descritto da RAUN *et al.* (1960) con un comune emocitometro. I risultati di queste osservazioni, sintetizzati nella tab. 1, evidenziano che il numero di spore per larva varia da un minimo di 4.086.000 ad un massimo di 151.523.000, con tutta una serie di valori intermedi. Si rileva anche una correlazione inversa tra l'entità della popolazione del fitofago e il grado di parassitizzazione: ove l'infezione è meno elevata, numericamente maggiore è il fitofago e viceversa. Ciò fa ritenere che la diffusione del parassita contribuisca a diminuire la popolazione di Piralide.

TAB. 1 - Presenza di spore di *Perezia pyraustae* in popolazioni di *Ostrinia nubilalis* di varie località della Lombardia.

Località di prelievo	n. larve esaminate	peso larvale medio in mg	n. med. spore x mg p. larva x 1.000	n. med. spore p. larva x 1.000
1. Segrate (Mi)	4	76,83	425	32.652
2. Melzo (Mi)	3	70,02	2.164	151.523
3. S. Donato Milanese (Mi)	3	69,96	1.782	124.668
4. Peschiera Borromeo (Mi)	4	70,78	234	16.562
5. Opera (Mi)	3	80,31	899	72.198
6. Rosate (Mi)	5	73,12	564	41.239
7. Gaggiano (Mi)	3	64,83	1.086	70.405
8. Desio (Mi)	17	89,99	67	6.029
9. Cinisello Balsamo (Mi)	6	72,98	56	4.086
10. Dairago (Mi)	3	78,65	513	40.347
11. Villa Cortese (Mi)	6	86,45	68	5.878
12. Landriano (Pv)	3	85,03	693	58.925
13. Rovellasca (Co)	3	88,90	216	19.202
14. Lomazzo (Co)	6	67,24	156	10.489

Il controllo del materiale biologico raccolto è continuato durante e dopo il periodo invernale. Infatti i soggetti non utilizzati per il primo accertamento sono stati posti, divisi per zone d'origine, entro appositi contenitori, in ambiente atto al condizionamento della temperatura. Questa veniva mantenuta a 10°C per i 4 mesi successivi. In aprile veniva gradatamente portata a 15°C, dopo di che il materiale era trasferito in cella a 20-25°C e umidità relativa del 70-80%, fino allo sfarfallamento.

A questo punto si è provveduto all'esame e al conteggio delle larve: ne erano morte durante l'inverno per l'acutizzarsi dell'infezione - probabilmente a causa del succedersi di moltiplicazioni vegetative del patogeno - una percentuale variabile dal 16,37 al 66,67% (grafico 1). Oltre alle larve decedute per l'infezione, altre risultavano parassitate da Ditteri Tachinidi in percentuale dell'ordine del 2-3%

Le larve sopravvissute completavano normalmente il ciclo: si constatavano quindi lo sfarfallamento e la regolare ovideposizione.

PROVE D'INFEZIONE ARTIFICIALE

Si sono realizzate alcune prove allo scopo di verificare la possibilità di infettare artificialmente larve di Piralide con spore del parassita, rilevandone poi gli effetti sui diversi stadi e sulle capacità riproduttive del lepidottero.

A tal fine è stata conservata in fiale sigillate per 6 mesi una sospensione di spore del parassita, ottenuta omogeneizzando larve molto infette in acqua distillata. La sospensione era tale da contenere circa 80-100 milioni di spore per ml.

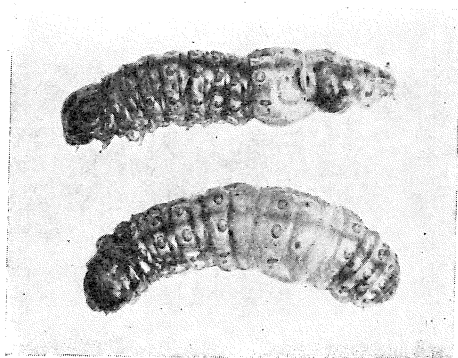


FIG. 1 - Larve di *Ostrinia nubilalis* infettate da *Perezia pyraustae*: si notano i segmenti addominali mediali rigonfi.

La prova si è articolata sull'osservazione di 3 tesi:

- A - larve testimoni allevate su substrato alimentare artificiale già sperimentato in precedenza, di cui si è riferito nel nostro lavoro citato;
- B - larve allevate sullo stesso substrato alimentare, addizionato con sospensione di spore;
- C - larve trattate per contatto con la sospensione di spore e successivamente allevate sul substrato artificiale.

Ogni tesi comprendeva 3 repliche, ciascuna di 20 larve di 2^a età prelevate da un preesistente allevamento massivo indenne. Le larve erano collocate entro scatole Petri (diametro cm 20), in ambiente con temperatura di 27-28°C, umidità relativa 70-75%, fotoperiodo 16 h. Per la tesi A i soggetti venivano posti direttamente ad alimentarsi sul preparato artificiale; per la tesi B questo era previamente miscelato con la sospensione di spore in ragione di 5 ml per ogni 100 g; infine, per la

tesi C le larve di ciascuna replicazione erano direttamente irrorate con 5 ml della sospensione e quindi alimentate con il consueto preparato.

Nei giorni successivi all'inizio delle prove si effettuavano ripetuti controlli al fine di rilevare eventuali sintomi d'infezione. Già a 7 giorni dal trattamento, nella tesi B si notava da parte delle larve riduzione dell'attività alimentare accompagnata da accrescimento evidentemente non omogeneo. Alcuni individui mostravano i segmenti addominali mediali ingrossati (fig. 1), apparivano lenti nei movimenti e sembravano aver cessato di alimentarsi; successivamente il tegumento imbruniva e quindi

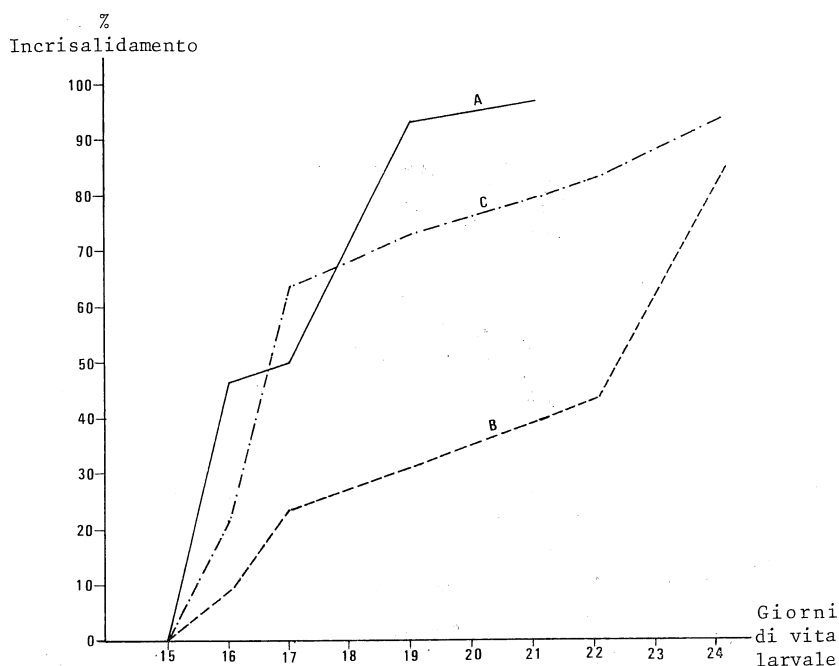


GRAFICO 2 - Decorso dell'incrisalidamento in prove d'infezione artificiale di *Ostrinia nubilalis* con *Perezia pyraustae*: A, testimone; B, somministrazione di spore del parassita per ingestione; C, somministrazione delle spore per contatto.

le larve morivano: subito prelevate per l'osservazione microscopica risultavano altamente infette. Allo stesso modo si comportavano alcune larve della tesi C, ma in numero minore.

Per tutte le tesi venivano annotate la durata dello stadio larvale e la percentuale d'impupamento. I dati rilevati (grafico 2) dimostrano complessivamente che:

- le larve della tesi A si sono regolarmente impupate nel tempo massimo di giorni 21 e nella misura del 96,6%;
- le larve della tesi B si sono impupate con maggior scalarità e in tempo superiore alla norma di qualche giorno per l'83,5%;
- alcune larve della tesi C si sono incrisaldate più rapidamente che non nel testimone; le restanti hanno prolungato la vita giovanile come quelle della tesi B, con impupamento complessivo del 93,3%.

Le crisalidi ottenute dalle tre tesi sono state conservate in ambiente a 25°C e umidità relativa 80-85%, per l'osservazione dello sfarfallamento e della successiva ovideposizione. I risultati, esposti nella tab. 2, mostrano che gli individui sfarfallati sono stati l'89,3% per il testimone, contro il 68% per la prova B e l'82,8% per la C. Tuttavia, se la percentuale di sfarfallamento è stata nettamente superiore nella tesi C rispetto alla B, si deve osservare che il numero complessivo di ovature deposte dalle femmine delle due tesi trattate e le percentuali di schiusura quasi si eguagliano. Ciò fa ritenere che le due modalità di inoculazione abbiano effetti complessivi simili anche se la somministrazione per aspersione del substrato provoca un più immediato manifestarsi dell'infezione, mentre la distribuzione diretta della sospensione di spore sulle larve comporta una contaminazione più rallentata.

TAB. 2 - Prove d'infezione artificiale di larve di *Ostrinia nubilalis* con spore del Protozoo *Perezia pyraustae*.

T e s i	sfarfallamenti %	ovature per femmina n.	schiusura uova %
A (testimone)	89,3	3,70	92,1
B (somministrazione per ingestione)	68	1,77	24,8
C (somministrazione per contatto)	82,2	1,70	21,3

Gli effetti complessivi dell'inoculazione di *P. pyraustae* su larve di *O. nubilalis*, realizzata sia topicamente che per aspersione del substrato alimentare, sono immediati e protratti: mortalità di larve e minor numero di adulti sfarfallati, scarsa ovideposizione e ridotta schiusura delle uova.

CONCLUSIONI

Dalle indagini effettuate in varie località delle campagne lombarde risulta che la Piralide del mais è presente in tutto l'ambiente colturale maidicolo, con densità variabile: nella maggior parte delle zone verificate la sua diffusione è sufficientemente contenuta, in altre invece è numericamente cospicua, tale da compromettere il buon esito della coltura con sensibile perdita economica.

D'altra parte l'infezione sostenuta dal protozoo *P. pyraustae* a carico di *O. nubilalis* è ovunque anch'essa presente. Mentre in laboratorio il parassita è temuto e indesiderato perchè, se prende il sopravvento, può seriamente compromettere la riuscita dell'allevamento del lepidottero, in campo rappresenta un interessante fattore biotico limitante la diffusione dell'insetto, concorrendo utilmente a regolare la densità delle popolazioni. Quando il parassita è favorito da fattori ambientali o da condizioni interne della vittima può moltiplicarsi consistentemente in breve tempo portando l'ospite ad un graduale rallentamento delle attività metaboliche e infine alla morte. Si è anche osservato che infezioni contenute entro valori limitati consentono alla Piralide di portare a compimento il ciclo, ma ne diminuiscono la fecondità rispetto a individui sani.

Da ultimo è da considerare favorevolmente l'esito di prove preliminari di laboratorio relative all'inoculazione artificiale del parassita tramite le sue spore conservate vitali per alcuni mesi.

ROMELE PEZZUTTI e GRAZIELLA SERINI BOLCHI

BIBLIOGRAFIA

- KRAMER J. P., 1959a - Observations of the seasonal incidence of microsporidiosis in european corn borer populations in Illinois. *Entomophaga*, 4: 37-42.
- KRAMER J. P., 1959b - Studies on the morphology and life history of *Perezia pyraustae* Paillot (*Microsporidia* Nosematidae). *Trans. Am. microsc. Soc.*, 78: 336-342.
- KUDO R. R., 1957 - Protozoology, 4th. ed. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois: 546-587.
- PEZZUTTI R. e SERINI BOLCHI G., 1976 - Precisazioni sull'allevamento in cattività di *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (*Lepidoptera* Pyralidae) e sullo sviluppo del parassita *Perezia pyraustae* Paillot (*Sporozoa* *Microsporidia*). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Ser. II, 13: 179-186.
- RAUN E. S., YORK G. T. e BROOKS D. L., 1960 - Determination of *Perezia pyraustae* infection rates in larvae of the european corn borer. *J. Insect Path.*, 2: 254-258.
- RAUN E. S., 1961 - Elimination of microsporidiosis in laboratory-reared european corn borers by the use of heat. *J. Insect Path.*, 3: 446-448.
- STEINHAUS E. A., 1949 - Principles of Insect Pathology, 1st ed. McGraw-Hill, New York: 611-613.
- VAN DENBURGH R. S. e BURBUTIS P. P., 1962 - The host-parasite relationship of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*, and the protozoan, *Perezia pyraustae*, in Delaware. *J. econ. Ent.*, 55: 65-67.
- ZIMMACK H. L., ARBUTHNOT K. D. e BRINDLEY T. A., 1954 - Distribution of the european corn borer parasite *Perezia pyraustae*, and its effect on the host. *J. econ. Ent.*, 47: 641-645.
- ZIMMACK H. L., BRINDLEY T. A., 1957 - The effect of the protozoan parasite *Perezia pyraustae* Paillot on the european corn borer. *J. econ. Ent.*, 50: 637-640.

Dr R. PEZZUTTI, Istituto Entomologia agraria dell'Università degli Studi, Via Celoria 2, Milano.

Dr G. SERINI BOLCHI, Istituto di Entomologia agraria dell'Università degli Studi, Via Celoria 2, Milano.