

ALMA MATER STUDIORUM - UNIVERSITÀ DI BOLOGNA

FACOLTÀ DI AGRARIA

DOTTORATO DI RICERCA IN ENTOMOLOGIA AGRARIA

XXII CICLO

Settore scientifico disciplinare di afferenza:
AGR-11, Entomologia generale applicata
Sede Amministrativa Bologna

RISPOSTE DI INSETTI FITOFAGI E ENTOMOFAGI A STIMOLI OLFATTIVI

Tesi di Dottorato

Presentata dal Dott. Stefano Draghetti

TUTORE

Chiar.mo Prof. Stefano Maini

Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Agroambientali

COORDINATORE

Chiar.mo Prof. Piero Baronio

Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Agroambientali

Esame Finale anno 2010

INDICE

INTRODUZIONE.....	2
SCOPO DELLA RICERCA	10
MATERIALI E METODI.....	11
Attività di campo.....	11
Prove preliminari.....	11
Prove di campo con i componenti selezionati dalle indagini preliminari	14
Verifica degli indici di diversità.....	16
Prove di laboratorio.....	18
Olfattometro a due vie: primo modello	18
Olfattometro a due vie: progettazione e costruzione del secondo modello	22
Software per l'osservazione del comportamento degli insetti	25
RISULTATI.....	27
Attività di campo.....	27
Elaborazione dati delle prove preliminari	27
Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: lepidotteri.....	28
Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: altri insetti	43
Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: biomassa	48
Prove di laboratorio.....	49
CONCLUSIONI.....	51
Attività di campo.....	51
Prove di laboratorio.....	54
BIBLIOGRAFIA.....	56
RINGRAZIAMENTI.....	62

INTRODUZIONE

I rapporti tra piante, insetti fitofagi e parassitoidi mediati da composti volatili sono oggetto di studio da vari anni (Nordlund *et al.*, 1981; Cardè e Bell, 1984 e 1995; Vinson, 1985; Metcalf e Metcalf, 1992; Bernays e Chapman, 1994; Hansson, 1999; Cardè e Millar, 2004).

L'attività dei composti secondari che agiscono come semiochimici hanno dimostrato avere un ruolo fondamentale per i processi di impollinazione e di scelta delle piante ospiti degli insetti fitofagi.

All'interno del complesso di tracce chimiche provenienti dalle piante e che pervadono l'atmosfera, si determinano comunque distinzioni derivanti dalla peculiare composizione degli odori provenienti dalle singole specie vegetali. Questo permette lo sviluppo di specifici rapporti di co-evoluzione che coinvolgono piante e insetti.

Questo principio vale non solo in generale, ma anche all'interno degli agro ecosistemi, dove il rapporto tra colture, insetti fitofagi e i loro antagonisti, predatori e parassitoidi, seguono delle linee ben precise dipendenti dalle modalità di gestione delle aree coltivate.

Nonostante ogni pianta sia caratterizzata dall'emissione di una specifica emissione di composti volatili, è noto che piante diverse hanno in comune molte componenti della miscela totale di odori (Dudareva e Pichersky, 2000)

Alcune esperienze hanno evidenziato come la composizione di piante presenti in habitat anche molto differenti, come zone tropicali e zone a clima temperato, presenti caratteri comuni in grado di esercitare attrazione di una determinata specie di insetto, come dimostrato da Andersson e Dobson (2003) su *Heliconius melpomene* (L.) (Lepidoptera Nymphalidae). Casi come questo possono far pensare a caratteri di evoluzione convergente che si esprime nella capacità di stimolare la sensibilità olfattiva generica dei lepidotteri.

I composti attrattivi appartengono comunque a poche classi chimiche, il che è segno ulteriore di convergenza evolutiva che consente un adattamento degli impollinatori, o

di gruppi più ristretti di essi, che possono così svolgere il loro ruolo in modo più generalista.

In particolare, la composizione delle tracce olfattive generate dalle piante mostra la presenza di composti chimici presenti che appartengono principalmente alle classi dei terpenoidi, composti aromatici, alcoli, esteri e aldeidi (Metcalf, 1987).

L'affinamento delle ricerche è avvenuto soprattutto in relazione all'isolamento delle singole sostanze chimiche emesse dalle piante e repute responsabili delle interazioni tra queste e gli insetti. Da queste indagini sono emersi soprattutto risultati ottenuti in laboratorio nei quali la risposta degli insetti viene saggiata con l'ausilio di olfattometri di vario tipo e gallerie del vento.

Non altrettanto numerosi sono invece gli studi effettuati per valutare il comportamento di piante e insetti nel loro ambiente naturale. In questo caso le variabili crescono notevolmente rispetto a quanto accade in un ambiente isolato e con esse le probabilità che il comportamento, soprattutto degli insetti, sia condizionato da qualche fattore non riproducibile artificialmente (Harrington e Stork, 1995).

Un aspetto particolarmente interessante riguarda l'apprendimento da parte degli insetti, condizionati dalle esperienze precedenti al momento della ricerca del cibo (Gould, 1993), fino a dimostrare un vantaggio nell'approvvigionarsi di nettare in nottuidi come *Helicoverpa armigera* (Hubner) (Cunningham *et al.*, 1998) e che è il primo fiore visitato che determina l'apprendimento associativo in *Autographa gamma* (L.) (Plepys *et al.*, 2002).

Anche se questo tipo di apprendimento non sembra valere per tutte le specie di lepidotteri, come riportato da Parmesan (1995), rimane un interessante aspetto da indagare.

Anche in impollinatori importanti come le api l'apprendimento primario viene determinato dall'odore (Plepys *et al.*, 2002, Paldi *et al.*, 2003).

La capacità di apprendimento può anche riguardare singoli composti e non in maniera univoca. Per esempio, prove su lepidotteri hanno dimostrato una maggior capacità adattativa verso β -caryophyllene rispetto a linalool, dimostrando di essere in grado di

semplificare il segnale derivante da una miscela distinguendo singoli componenti di essa (Cunningham *et al.*, 2006).

Nell'ambito della stessa ricerca, Cunningham sostiene che, agendo con composti sintetici, l'incremento di concentrazione determina un'accentuazione dell'apprendimento e della discriminazione degli odori. In generale, sembra che i lepidotteri, come probabilmente anche insetti impollinatori, abbiano preferenze verso la ricerca del cibo che seguono andamenti dinamici, in ragione della somma di esperienze effettuate, ma con maggior significatività della prima pianta visitata.

Molte prove sono state condotte in passato sui singoli componenti chimici, saggiando soprattutto quelli comuni a diversi taxa di piante.

Per esempio, è risultato che generalmente gli insetti impollinatori sono attratti soprattutto da fenilacetaldeide, benzaldeide e, soprattutto, p-anisaldeide (Theis, 2006). Queste tre sostanze sono sintetizzate dalla pianta durante la “shikimate pathway (Dey e Harborne, 1997 citati da Theis, 2006), serie di processi che avvengono nei plastidi e mettono in relazione il metabolismo di carboidrati con la biosintesi dei composti aromatici. Altri composti volatili come linalool e i suoi ossidi vengono invece sintetizzati in quella che viene definita da Lichtentaler *et al.* (1997) e da Raguso e Pichersky (1999) la “DOXP/MEP pathway”, localizzata sempre nei plastidi e coinvolta nella biosintesi di isoprenoidi.

La diversa provenienza dei due gruppi di sostanze chimiche potrebbe spiegare il diverso effetto che essi hanno sul comportamento degli insetti, come infatti vedremo.

Forse, il più studiato singolarmente è la fenilacetaldeide, composto alifatico che in molte piante costituisce quantitativamente il composto più abbondante e ha dimostrato essere attrattivo verso numerose specie di insetti, come *Ostrinia nubilalis* (Hubner) (Cantelo e Jacobson, 1979; Metcalf, 1987; Maini e Burgio, 1990), *Helicoverpa zea* (Boddie) e più in generale verso nottuidi e imenotteri (Meagher, 2002).

D'altro canto, la stessa fenilacetaldeide è risultata avere effetti di tipo differente dalla capacità attrattiva, come inibire l'ovideposizione in *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Flint *et al.*, 1977, citato da Maini e Burgio, 1990).

In alcuni casi, la fenilacetaldeide accoppiata a feromone sessuale, come in *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) e *Trichoplusia ni* (Hubner) causa una diminuzione nelle catture rispetto a trappole innescate con il solo feromone (Meagher, 2001); lo stesso effetto viene mostrato su *H. armigera* (Kvedaras *et al.*, 2007). Al contrario altri autori (Creighton *et al.*, 1973; Meagher e Mitchell, 1998 citati da Meagher, 2001) rilevano un effetto sinergizzante quando le trappole vengono innescate da fenilacetaldeide accoppiata a feromone. Di fatto, il tipo di effetto non sembra poter essere generalizzato, dipende fortemente dalla specie monitorata e, forse, dalle condizioni ambientali in cui viene eseguito il monitoraggio.

Secondo El Sayed *et al.* (2005) quando la fenilacetaldeide agisce come attrattivo, l'aumento della concentrazione del composto produce un aumento anche sul numero di specie catturate oltre che sulla quantità di individui delle singole specie, probabilmente perché aumenta il raggio di azione della stazione di monitoraggio.

Anche linalool (appartenente alla classe dei terpeni) ha mostrato attività diversa a seconda della specie target: attrattivo per *Apis mellifera* L. e altri apoidei e non attrattivo o addirittura repellente per molti insetti fitofagi (James, 2004; Theis, 2006).

Altri composti come metilsalicilato (estere dell'acido salicilico) e benzaldeide (aldeide aromatica) hanno mostrato un'attività attrattiva come singoli composti verso molte specie di insetti fitofagi, impollinatori, predatori e parassitoidi, come agromizidi, sirfidi, coccinelle, crisopidi, tachinidi, braconidi e altri imenotteri parassitoidi.

È stata comunque posta attenzione anche sulle miscele complessive dei volatili emessi da singole piante, estraendo i composti oppure sintetizzandoli.

La capacità attrattiva generica verso gli insetti di *Cirsium arvense* (L.) Scop., un'asteracea spesso indicata come pianta invasiva e dannosa nelle colture, ha portato

a numerosi studi a proposito delle sostanze volatili che produce e rilascia nell'ambiente.

C. arvensis, di origine europea, nel XVII secolo compare anche negli USA e attualmente il suo areale di diffusione abbraccia tutti i continenti.

Story *et al.* (1985) individuano solo nello stato del Sud Montana 57 specie di fitofagi attratti da questa pianta, in rappresentanza di 6 ordini, 21 famiglie e 50 generi.

Le ricerche sulla potenzialità di attrazione hanno avuto seguito analizzando la miscela di volatili al completo oltre ai singoli componenti principali.

Il fatto che la maggior parte dei composti volatili venga emessa dal fiore, ma che alcuni componenti anche dalle parti vegetative (Andersson e Dobson, 2003) può assumere carattere evolutivo importante all'interno dello studio dei rapporti piante-insetti.

Secondo Theis (2006) le singole sostanze che risultano attrattive non sono necessariamente le più abbondanti nella miscela totale. In particolare, nella stessa ricerca è risultato evidente che ci sono sostanze che attraggono quasi esclusivamente insetti impollinatori (p-anisaldeide), altre che attraggono significativamente più fitofagi (benzil alcool) e altre ancora che risultano attrattive sia per entrambe le categorie di insetti.

Alcuni fitofagi hanno mostrato una preferenza per linalool inferiore al testimone. In generale, la capacità della miscela totale è risultata maggiore che quella della somma dei singoli componenti, a dimostrare un effetto sinergico di questi ultimi. Anche prove di laboratorio con elettroantennogramma che hanno evidenziato una risposta piuttosto generica verso i componenti floreali da parte di lepidotteri, hanno mostrato comunque che le miscele risultano più attrattive dei singoli componenti (Andersson, 2003).

Prove di laboratorio hanno poi indicato con elettroantennogramma un responso positivo verso *C. arvensis* e talvolta uno stimolo all'ovideposizione (Stringer *et al.*, 2008).

Probabilmente, l'attrazione esercitata sulle femmine non dipende solo da stimoli per ricerca alimentare, ma anche dalla ricerca di un luogo idoneo allo sviluppo larvale e quindi alla deposizione delle uova.

Una questione interessante per quanto riguarda il monitoraggio utilizzando le tracce chimiche emesse dalle piante è proprio che questi composti, al contrario dei feromoni sessuali, possono dare indicazioni sulla popolazione reale degli insetti target, attirando sia maschi che femmine.

Per questa ragione molte ricerche prevedevano la valutazione della capacità delle miscele o dei singoli componenti di attrarre femmine. Un'indagine soprattutto quantitativa, con ricerca della sex-ratio e talvolta specificamente volta a capire se venivano maggiormente attratte femmine vergini o gravide.

Prove condotte da Meagher (2002) e Maini e Burgio (1990) indicano che l'uso di fenilacetaldeide permette di catturare lepidotteri maschi e femmine (nottuidi nel primo caso, *O. nubilalis* nel secondo) in proporzione vicina al 50%. A seconda delle specie di nottuidi catturati, la proporzione può variare.

Prove su *A. gamma* in laboratorio saggiando la risposta dell'insetto verso miscele derivate da diverse piante indicano una sex-ratio vicina al rapporto 1:1 (Plepys, 2002).

In alcune ricerche le stazioni di monitoraggio sono innescate con composti derivanti dalla fermentazione di zuccheri, che in gran parte coincidono con la composizione delle miscele emesse da *C. arvense* (El-Sayed *et al.*, 2005). I risultati hanno anche in questo caso evidenziato una capacità attrattiva importante nel confronto di lepidotteri (soprattutto nottuidi) con una percentuale di femmine catturate vicina al 50%.

Purtroppo tutte le prove di campo riportate in bibliografia non assumevano come termine di paragone un monitoraggio che potesse dare indicazioni più precise sulla reale composizione della popolazione degli insetti target. Né dal punto di vista quantitativo, né per quanto riguarda il reale rapporto di sex-ratio.

L'utilità che questo tipo di monitoraggio può avere all'interno di agroecosistemi sta nel fatto che l'ampia gamma di specie catturate può prevenire l'insediamento di

insetti nocivi di nuova introduzione rilevandoli prima che si possano insediare stabilmente sul territorio.

Inoltre, non sempre si conosce la composizione faunistica del territorio dove si vuole avviare un nuovo tipo di coltura, non sapendo se siano presenti insetti che possono compromettere la produzione. L'uso di queste miscele, o di una selezione di composti derivante da esse, può aiutare a questo scopo e essere fondamentale laddove non siano ancora sintetizzati feromoni sessuali specifici.

L'aspetto più interessante rimane comunque quello riguardante la capacità di monitorare la popolazione femminile presente e ha come obiettivo la capacità di determinare indicazioni realistiche sul rapporto tra la quantità di femmine e il danno arrecato alle colture. In questo modo sarebbe finalmente possibile avere delle stime sulla reale responsabile del danno e non, come accade con l'uso di feromoni sessuali, sulla quantità di maschi senza sapere quante femmine siano realmente presenti in loco.

La combinazione delle tecniche di monitoraggio con feromoni e attrattivi alimentari potrebbe segnare una svolta nel controllo delle specie dannose alle colture, in particolare per i fitofagi dannosi polifagi, come potrebbe essere per *O. nubilalis* che può recare danni su mais e peperone (Maini *et al.*, 1991, Maini e Burgio, 1993). In questi casi un numero elevato di maschi catturati vicino a una delle due colture non escluderebbe a priori che le femmine possano ovideporre sull'altra.

Da quanto emerso in passato, non è un procedimento facile, in quanto se a volte la combinazione ha prodotto un effetto sinergizzante (Ochieng *et al.*, 2002), abbiamo visto come per esempio l'accoppiamento di fenilacetaldeide a feromone sessuale possa produrre effetti negativi sul numero di catture. Si tratta insomma di costituire dei modelli applicabili sul campo che tengano conto sia dei composti sia delle specie target.

Un quesito che è stato indagato in passato (Galizia e Menzel, 2000) e resta tuttora da stabilire è quanti composti chimici e in quale quantità relativa possano essere necessari a un insetto per riconoscere una determinata specie vegetale.

La quantità di specie diverse attratte da miscele tratte da vegetali ha indotto a cercare una relazione tra le catture e la possibilità di utilizzarle per stilare indici di diversità dell'ambiente in questione.

El Sayed (2008) ha analizzato i dati di cattura con miscele di composti sintetizzati a partire dal contenuto di *C. arvensis* calcolando l'indice di Shannon e individuando una relazione con il contenuto quantitativo di fenilacetaldide più che con la diversa composizione delle miscele utilizzate.

L'indice in questione dà un'indicazione relativa alla biodiversità valutando l'abbondanza relativa delle specie. In teoria (Burgio, 1999) il calcolo corretto presupporrebbe che gli individui siano campionati casualmente da una popolazione infinitamente ampia e che tutte le specie siano presenti nel campione.

Valutare se questo indice possa essere utilizzato anche con un monitoraggio parziale delle specie presenti sul territorio attraverso l'uso dei composti volatili delle piante potrebbe essere un'ulteriore applicazione legata al monitoraggio delle specie in agroecosistemi.

In precedenti studi effettuati presso il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali di Bologna è stato preso in considerazione il rapporto tritrofico tra fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L.), *Liriomyza trifolii* (Burgess) e *Diglyphus isaea* (Walker) (Bazzocchi, 1999; Bazzocchi e Maini, 2000; v. anche Videla *et al.*, 2006).

Questa prova è stata eseguita con l'ausilio di un olfattometro a due vie (Bazzocchi, 1999).

Lo sviluppo di un olfattometro che possa essere utilizzato per la valutazione dell'effetto attrattivo di singoli composti o delle miscele emesse da una specifica pianta o del comportamento di singole associazioni fitofago – parassitoide (o predatore) consentirebbe di effettuare indagini preliminari da validare poi in campo nei progetti di contenimento di specie nocive.

SCOPO DELLA RICERCA

Lo scopo della ricerca oggetto di questa tesi di dottorato è stato di fatto quello di affinare le prove per stabilire quanto influiscano i segnali derivati da stimoli olfattivi nei rapporti tra piante, insetti fitofagi ed entomofagi.

Principalmente, è stato valutato l'effetto di diverse miscele sintetizzate a partire dai componenti chimici presenti in *C. arvensis* (L.) Scop. e quanto questi possano essere utili a rilevare la presenza di nottuidi e altri lepidotteri potenzialmente dannosi alle colture, effettuando così un'indagine conoscitiva sulla componente faunistica presente in un determinato territorio.

Questo perché un'indagine compiuta con feromoni sessuali, sicuramente più efficace dal punto di vista quantitativo, rimane possibile se esiste una conoscenza diretta su quali specie siano da controllare e comunque solo nei casi in cui il feromone specifico sia conosciuto e sintetizzato. Inoltre, la capacità attrattiva delle esche di questo tipo permette di catturare anche un elevato numero di femmine, dettaglio fondamentale per monitorare ad esempio l'introduzione di nuove specie prima che inizi la loro espansione (Story *et al.*, 1985; Meagher, 2002; Theis, 2006).

Gli scopi della ricerca sono:

- a) identificare tramite prove preliminari quali miscele tra quelle prese inizialmente in considerazione possano risultare attrattive sia dal punto di vista quantitativo che qualitativo;
- b) verificare quale concentrazione delle miscele scelte con le indagini preliminari possa risultare più adeguata valutando anche la componente costi-benefici;
- c) determinare la capacità attrattiva delle miscele utilizzate verso gli altri insetti componenti la fauna presente nei campi sperimentali scelti e valutarne l'impatto eventuale sulla popolazione.

MATERIALI E METODI

Attività di campo

Prove preliminari

Nel primo anno di ricerca, sono state condotte prove di campo preliminari per poter inquadrare una linea di ricerca soddisfacente.

In particolare si è cercato di valutare la presenza di ooparassitoidi per il contenimento di *O. nubilalis* in diverse colture (Maini et. al, 1991).

Inoltre, è stata condotta una prova per determinare l'effettivo potere attrattivo di estratti di *C. arvense* nei confronti di fitofagi e pronubi seguendo linee di ricerca recenti (Story et al., 1985; Theis, 2006).

a) Il primo test è stato condotto all'interno dell'Azienda agricola di Cadriano, appartenente alla Facoltà di Agraria di Bologna e situata nella pianura bolognese circa 5 km a nord della città.

L'area scelta aveva presentava contigue coltivazioni di mais e canapa, il che poteva consentire la valutazione di un'eventuale scelta della stessa popolazione di *O. nubilalis* rispetto alle due diverse specie vegetali e differente comportamento del parassitoide oofago.

Dall'allevamento di *O. nubilalis* presente presso il DiSTA sono state prelevate ovature del lepidottero, da utilizzare come ovature-sentinella secondo un protocollo già utilizzato in passato (Maini et al., 1991).

Le ovature, fissate alle piante di canapa e mais (in numero di dieci per ogni coltura) sono state posizionate ogni sette giorni per un periodo di nove settimane, terminato al momento della raccolta del mais. Ogni volta, le ovature venivano lasciate in campo 48 ore e poi raccolte, in modo che ci fosse il tempo necessario all'attacco del parassitoide ma evitando la chiusura delle uova stesse.

Dopo la raccolta, le ovature venivano analizzate per stabilire la presenza di segni tangibili di predazione o altri attacchi e poi chiuse per aspettare l'eventuale farfallamento di ooparassitoidi.

Di fatto, è stata riscontrata un'attività di predazione delle uova (parziale o anche totale), ma non la presenza di ooparassitoidi.

b) Il test di valutazione della capacità attrattiva sviluppata da estratti di *Cirsium arvense*, è stato condotto in collaborazione con il dott. Ashraf El-Sayed dell'Horticulture and Food Research Institute of New Zealand, che ci ha fornito le essenze da utilizzare.

I composti sono stati sintetizzati dalla Sigma-Aldrich Chemical Company (St. Louis, MO) e si presentavano all'interno di una busta di polietilene permeabile (spessore 150 μm) su substrato in feltro (15x45 mm). Per la prova si è scelto di utilizzare green-bucket traps (Unitraps) (fig. 1) poste a distanza di 20 metri una dall'altra, con altezza di 1 metro da terra e in blocchi lineari distanti minimo 30 metri (fig. 2).

Fig. 1: trappola per il monitoraggio.



All'interno delle trappole è stato posizionato un segmento di collare antipulci per cani contenente diazinone al 15% e lungo circa due cm., tale da consentire una morte veloce degli insetti catturati.

Fig. 2: disposizione a blocchi lineari.



Ai fini della classificazione delle catture, l'uso dell'insetticida si è rivelato utile in particolare per impedire che predatori come le vespe riducessero i lepidotteri in condizioni tali da renderne difficile il riconoscimento e il messaggio. La scelta del tipo di trappola concorda con quanto rilevato in bibliografia per prove su nottuidi, come in Meagher (2002), dove viene anche utilizzato lo stesso insetticida all'interno. È stato seguito il protocollo utilizzato per le prove in Nuova Zelanda (Stringer *et al.*, 2008) e in un'analoga prova a Latina nel 2006, in una sperimentazione per il controllo di *Spodoptera littoralis* (Boisduval) in coltivazioni di spinacio (*Spinacia oleracea* L.). La prova è stata condotta per un periodo di quattro settimane a partire dalla metà di agosto, con il posizionamento di cinque blocchi formati ognuno da cinque tesi e un testimone a disposizione randomizzata per evitare eventuali effetti-bordo. Il contenuto delle miscele presenti nelle trappole è riportato in tabella 1.

Tab. 1: composizione delle miscele sintetizzate dalla composizione di volatili di *C. arvensis* (mg): prova di Latina 2006 e Bologna 2007.

	Estratto 1	Estratto 2	Estratto 3	Estratto 4	Estratto 5	Testimone
Benzaldehyde		3	3	3	20	
Benzyl Alcohol				3	20	
Phenylacetaldehyde	100	100	100	100	100	
Methyl Benzoate		1	1	1		
Linalool		3	3	3		
2-Phenyl ethyl Alcohol		5		5	30	
Methyl Salicylate		35		25	30	
P- anisaldehyde				5		
Dimethyl Salicylate				20	45	
EE-à-farnesene				1		
Benzyl benzoate			5	5		
Quantità totale	100	137	112	171	245	0

Tre blocchi di trappole sono stati posizionati a Cadriano, sempre all'interno dell'Azienda agricola dell'Università.

Due blocchi si trovavano vicino a diversi tipi di coltivazione, come mais, canapa, pomodoro e barbabietola. Il terzo nei pressi di un macero, ma sempre adiacente ai campi coltivati (a distanza minore di 50 metri).

Gli altri due blocchi sono invece stati situati presso un'Azienda agricola di Granarolo dell'Emilia, nei pressi di campi coltivati a orticole e circa 4 km a est rispetto le altre stazioni di monitoraggio. Il contenuto delle trappole è stato raccolto a cadenza settimanale e conservato in freezer a -20°C.

A partire dalla fine di settembre è stata condotta a Latina una prova analoga, ma con trappole innescate prima con sola fenilacetaldeide a diverse concentrazioni (T1: 10, 100, 200, 400 µl e testimone), poi con una miscela di composti (T2) sintetizzati a partire dai componenti floreali di *C. arvensis* (tab. 2)

Tab. 2: composizione delle miscele sintetizzate dalla composizione di volatili di *C. arvensis* (mg): prova T2 svolta a Latina nell'anno 2007.

	Estratto 1	Estratto 2	Estratto 3	Estratto 4	Testimone
Benzaldehyde			20	20	
Benzyl Alcohol			20	20	
Phenylacetaldehyde	100	100	100	100	
2-Phenyl ethyl Alcohol		30	30	30	
Methyl Salicylate		30	30		
P-anisaldehyde					
Dimethyl Salicylate		45	45		
Quantità totale	100	205	245	170	0

Come si può notare, le miscele contengono meno componenti di quelle utilizzate nella prova condotta a Bologna, con l'eccezione dell'estratto "3" che ha composizione analoga all'estratto "5" utilizzato a Bologna.

Lo svolgimento di questi test è stato identico a quello condotto a Bologna, con l'unica eccezione del numero di tesi (quattro invece di cinque).

Il contenuto delle trappole è stato raccolto a cadenza settimanale e conservato in freezer a -20°C, poi analizzato con classificazione dei lepidotteri per specie e sesso.

Prove di campo con i componenti selezionati dalle indagini preliminari

Nel 2009 le prove sono proseguite, scegliendo le miscele che si sono dimostrate maggiormente attrattive e testandole a diverse concentrazioni.

Questo anche perché, essendo le miscele composte in alta percentuale da fenilacetaldeide, si riteneva necessario verificare se un incremento di questo

componente non comportasse un effetto negativo sulle catture, come verificato in prove dove a feromoni veniva appunto accoppiata fenilacetaldeide (Meagher, 2001). Per approfondire l'effetto degli estratti sono stati richiesti dosaggi da usare in olfattometro con lepidotteri presenti in allevamento presso il DiSTA.

Inoltre, era necessario verificare a livello quantitativo la presenza nelle trappole di insetti non-target, come imenotteri aculeati, crisope e coccinellidi, rilevati ma non contati e classificati.

Queste prove si sarebbero dovute eseguire nel 2008, ma sono slittati di un anno perché i composti da testare sono a noi giunti solo a luglio 2009.

È stato invece possibile durante l'estate 2009 approntare prove di campo utilizzando dosaggi crescenti delle tesi 4 e 5 (tab. 3) utilizzate nel 2007. Il testimone era sempre, come nel 2007, costituito dal sacchetto di polietilene contenente un feltro asciutto.

Tab. 3: composizione delle miscele sintetizzate dalla composizione di volatili di *C. arvensis* (mg): prove svolte nell'anno 2009.

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	Testimone
Benzaldehyde	0,30	3,00	6,00	12,00	2,00	20,00	40,00	80,00	
Benzyl Alcohol	0,30	3,00	6,00	12,00	2,00	20,00	40,00	80,00	
Phenylacetaldehyde	10,00	100,00	200,00	400,00	10,00	100,00	200,00	400,00	
Methyl Benzoate	0,10	1,00	2,00	4,00					
Linalool	0,30	3,00	6,00	12,00					
Phenyl ethyl Alcohol	0,50	5,00	10,00	20,00	3,00	30,00	60,00	120,00	
Methyl Salicylate	2,50	25,00	50,00	100,00	3,00	30,00	60,00	120,00	
P-anisaldehyde	0,50	5,00	10,00	20,00					
Dimethyl Salicylate	2,00	20,00	40,00	80,00	4,50	45,00	90,00	180,00	
EE- α -farnesene	0,10	1,00	2,00	4,00					
Benzyl benzoate	0,50	5,00	10,00	20,00					
TOTALE	17,10	171,00	342,00	684,00	24,50	245,00	490,00	980,00	0,00

Per la prova sono stati approntati 5 blocchi a disposizione randomizzata, ognuno costituito da 9 tesi (8 con miscela attrattiva più il testimone), utilizzando le medesime trappole e modalità del 2007.

Inoltre, il test è stato eseguito in diversi periodi a Bologna e Latina.

Vicino a Bologna, si è mantenuta la stazione di monitoraggio di Cadriano, dove sono stati posizionati due blocchi.

Non potendo usufruire della stazione usata nel 2007 a Granarolo, si è scelto di posizionare gli altri tre blocchi nei pressi di Castenaso, sempre nei dintorni di Bologna.

Le trappole sono state posizionate il 4 agosto e i campioni raccolti per 5 settimane.

A Latina, la prova si è svolta in un appezzamento coltivato a spinacio, dall'1 al 29 ottobre, per un totale di 4 campionamenti.

Per quanto riguarda la prova svolta a Bologna, è stata eseguita la determinazione delle specie e il sessaggio dei lepidotteri, la determinazione delle famiglie, e in alcuni casi delle specie, degli altri insetti e, infine è stato rilevata la biomassa di ogni stazione di monitoraggio, con distinzione tra lepidotteri e altri insetti.

A Latina invece, sono stati determinati i campioni di lepidotteri, con definizione della sex-ratio. Le condizioni di umidità eccessiva all'interno delle trappole non hanno permesso di raccogliere gli altri insetti, e di pesare gli individui catturati. Infatti, molti insetti si trovavano già in pessime condizioni al momento della raccolta e la determinazione sarebbe stata assai difficoltosa.

Verifica degli indici di diversità

Considerando sia il numero di specie monitorate sia la quantità degli individui si è provato a calcolare indici di diversità. Sono stati analizzati i dati di lepidotteri a Latina e quelli di lepidotteri e altri insetti a Bologna. Sono stati calcolati gli indici quantitativi di Shannon (indice di diversità), Berger-Parker e Simpson (indice di dominanza) e quelli qualitativi di Sørensen e Jaccard.

Indici di diversità utilizzati:

a) INDICI QUANTITATIVI

- Shannon – Weaver (indice di diversità): $H' = - \sum n_i/N \cdot \ln n_i/N$

dove n_i è il numero di individui di una data specie e N il totale degli individui campionati.

L'indice richiederebbe un campionamento casuale di una popolazione infinitamente ampia e che tutte le specie siano comprese nel campione (Burgio, 1999). Perciò è stata applicata una correzione per adeguare l'indice al tipo di campionamento effettuato, senza dubbio parziale, per ottenere

H' corretto = $-\sum ni/N \cdot \ln ni/N - [(S - 1)/2N]$, dove S rappresenta il numero di specie campionate.

- Pielou (indice di equitabilità): $J = H' / \log_2 S$.

- Evenness (indice di uniformità): $E = H' / H_{max}$, dove $H_{max} = \ln(S)$.

- Berger Parker (indice di dominanza): $BP = p_{i_max}$, dove p_i è la proporzione dell'abbondanza relativa della specie i -esima nel campione (n_i / N). Per calcolare la diversità si usa il valore il valore inverso dell'indice, $1/BP$.

- Simpson (indice di dominanza) $D = \sum ni(ni-1) / N(N-1)$. Anche in questo caso la biodiversità viene calcolata come $1/S$ oppure $1 - S$.

b) INDICI QUALITATIVI

- Sørensen (indice di somiglianza): $QS = 2j / A + B$, dove A è il numero di specie nel sito A, B il numero di specie nel sito B e j il numero di specie in comune tra i due siti.

- Jaccard (indice di somiglianza): $C_j = j / (A+B-j)$, è una variante dell'indice di Sørensen e utilizza per il calcolo i medesimi parametri.

Gli indici di Sørensen e Jaccard non tengono conto dell'abbondanza numerica degli individui appartenenti alle varie specie. Per questo possono essere anche trasformati dandogli un'impronta quantitativa. Questa operazione non è stata fatta in quanto per calcolare la componente quantitativa capace di indicare biodiversità sono stati scelti gli altri indici sopra menzionati.

Tra gli indici quantitativi sono più frequentemente usati quelli di Shannon e di Simpson, che hanno rivelato una buona capacità discriminante e una relativa semplicità di calcolo. L'indice qualitativo più utilizzato è invece quello di Sørensen (Burgio, 1999).

Il calcolo è stato fatto per eseguire comparazioni tra i vari indici e per cercare così di capire se i diversi blend o le varie miscele dei blend stessi potessero offrire indicazioni sulla capacità di valutare il grado di diversità biologica dell'ambiente considerato valutando i dati sia dal punto di vista quantitativo sia da quello qualitativo.

L'utilizzo di numerosi indici di diversità è dovuto al fatto che non esiste una regola generale che ne possa individuare uno come migliore assoluto, ma la valutazione va fatta a seconda del tipo di ambiente e del tipo di campionamento (Heip e Engels, 1974; Burgio, 1999; Norden *et al.*, 2007). In questo caso, essendo stato fatto un campionamento non specifico per questo scopo, si è provato a capire se e eventualmente quale indice potesse essere il più adatto allo scopo.

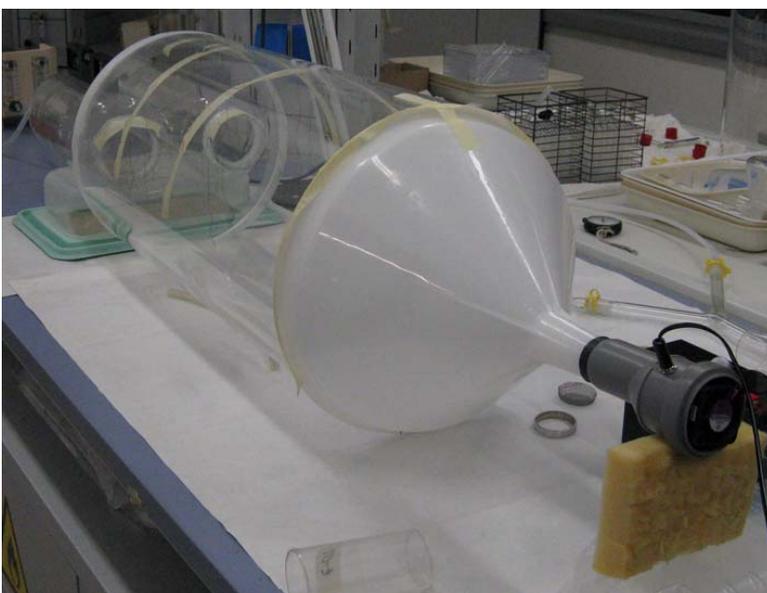
Prove di laboratorio

Olfattometro a due vie: primo modello

Per completare i dati rilevati in campo, è stato costruito un olfattometro a due vie, seguendo le indicazioni trovate in bibliografia (Mukwaya L.G, 1976; Howse P. *et al.*, 1998; Takken *et al.*, 2001).

Inizialmente (fig. 3), è stato costruito un modello composto da una camera di volo in plexiglass con diametro uguale a 30 cm, lunghezza pari a 60 cm e spessore pari a 5

Fig. 3: olfattometro a due vie. Primo modello



mm. Una delle due estremità era costituita da un disco a incastro che presentava due fori (diametro 8 cm) adatte a ospitare le camere degli odori. Queste ultime, in vetro e lunghe 30 cm., dall'estremità di diametro 8 cm si allargavano e mantenevano un

diametro di 12 cm fino al fondo, dove si restringevano rapidamente a formare un foro di uscita di diametro pari a 1,5 cm.

A questa estremità arrivava un tubo in teflon. Il flusso d'aria proveniente dal tubo in teflon era generato da una pompa elettrica, filtrato con carbone attivo e regolato da flussometri (uno per ogni camera degli odori).

L'aria in uscita dal filtro a carboni attivi era fatta passare attraverso una beuta contenente acqua demineralizzata per ripristinarne il tasso di umidità ridotto dal passaggio attraverso il carbone attivo.

Un foro del diametro di 10 cm. per l'immissione degli insetti da saggiare era posto sul lato della camera di volo.

Al termine di quest'ultima, l'estrazione dell'aria era aiutata da un piccolo aspiratore, collegato a una batteria da 12V e attrezzato con potenziometro per regolarne la potenza aspirante. L'aspiratore aveva la funzione di aiutare la laminarizzazione del flusso di aria all'interno dell'olfattometro ed evitare turbolenze.

Lo strumento è stato studiato per avere una struttura modulare in modo da poter agevolmente lavarne ogni singola parte. Inoltre, tutti i pezzi erano uniti ad incastro senza uso di alcuna colla, il cui odore avrebbe potuto influire sulle prove, con uso di Parafilm nelle congiunzioni per evitare piccole dispersioni di aria.

La presenza di flusso è stata inizialmente verificata con fili di cotone all'uscita delle camere degli odori e lungo la camera di volo.

Nelle figure seguenti (figure da 4 a 11) sono evidenziati il sistema di immissione aria, flussimetri per la modulazione della quantità di aria immessa aspirazione di aria in uscita dalla camera di volo, beuta con acqua demineralizzata, camera di volo, camere degli odori, foro laterale per l'immissione degli insetti sui quali eseguire le prove e fili di cotone per provare la consistenza del flusso di aria all'interno dello strumento.

Fig. 4: pompa per immissione aria.



Fig. 5: flussimetri.

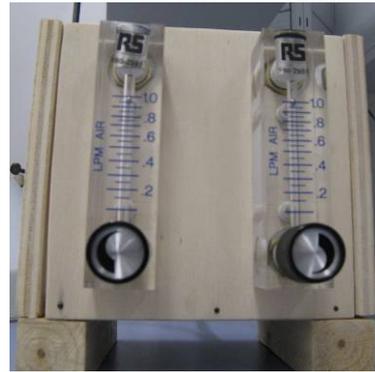


Fig. 6: sistema di aspirazione aria in uscita.



Fig. 7: umidificatore aria.

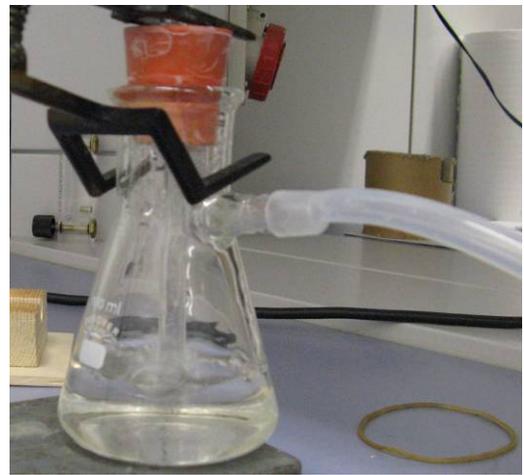


Fig. 8: camera di volo.

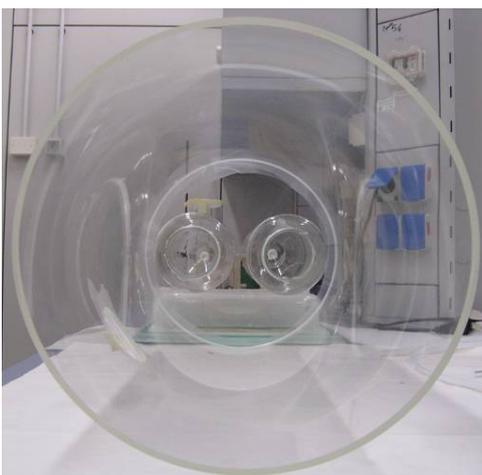


Fig. 9: camere degli odori.



Fig. 10: foro immissione insetti.

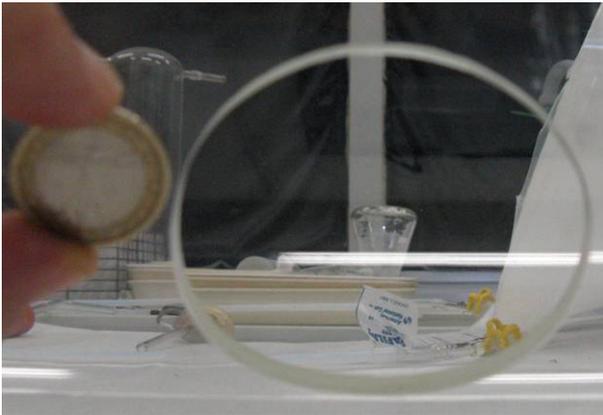
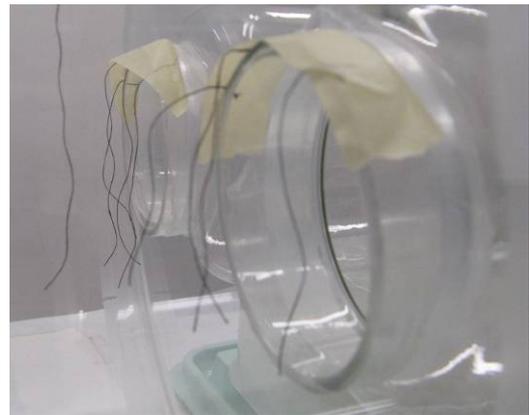


Fig. 11: fili di cotone per il controllo del flusso.



Le prove per verificare inizialmente la possibilità di seguire una traccia olfattiva da parte di insetti è stata fatta in due parti. Sono stati pre-condizionati individui di *O. nubilalis* provenienti dall'allevamento presente al DiSTA separando maschi e femmine allo stadio di pupa, posti in diversi ambienti affinché una volta sfarfallate le femmine, non ci potessero essere emissioni di feromone che potessero influenzare le prove. Gli adulti sfarfallati sono stati lasciati alla luce per 24 ore. Poi sono state abbassando le luci per creare una condizione di luminosità simile al crepuscolo, periodo nel quale in natura *O. nubilalis* inizia l'attività di ricerca del partner e di cibo cercando di provare la capacità di scelta utilizzando feromone ceppo *E:Z (3:97)-11-ta* e fenilacetaldeide.

Successivamente, con CO₂ allo stato gassoso si è cercato di verificare la capacità di scelta di *Aedes albopictus* (Skuse), culicida a prevalente attività diurna, catturate con aspiratore a bocca nel giardino della facoltà con aspiratore elettrico.

Purtroppo non si è rilevata una risposta sufficientemente regolare. Di fatto, i flussimetri sono in grado di regolare la quantità di aria in passaggio, ma non danno indicazioni sulla velocità del flusso generato dalla pompa.

Con l'ausilio di anemometro professionale in grado di misurare la velocità di flusso in maniera puntiforme, con fondo scala pari 0,09 m/sec e sensibilità pari a 0,01 m/sec. si è allora provveduto a misurare il flusso d'aria all'entrata e all'uscita delle camere degli odori oltre che all'interno della camera di volo (figure da 12 a 15).

Fig. 12: anemometro.

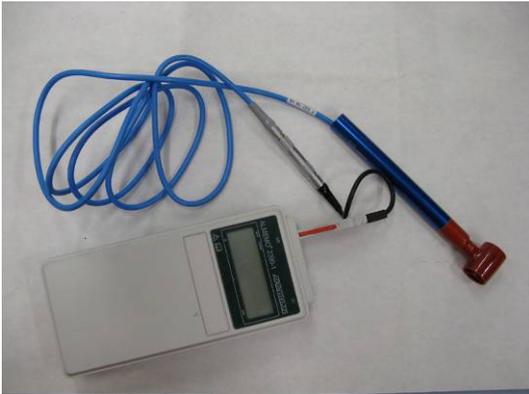


Fig. 13: prova di flusso in uscita dai flussimetri.

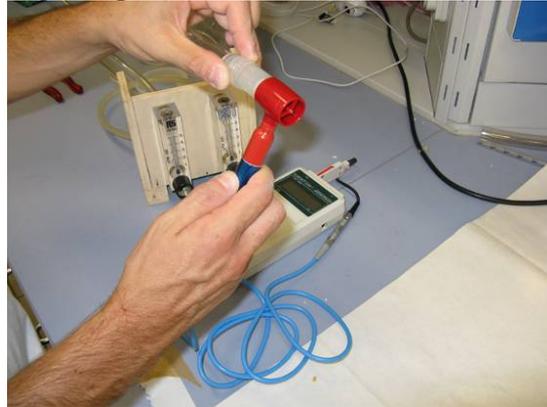
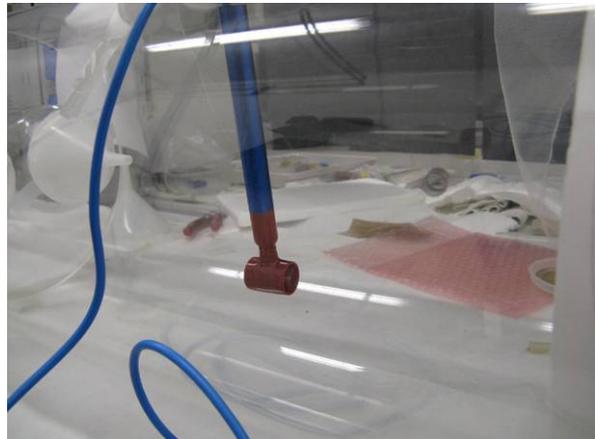


Fig. 14: prova di flusso all'uscita delle camere degli odori.



Fig. 15: prova di flusso nella camera di volo.



Il risultato è stato che il flusso era troppo debole nella maggior parte dei punti monitorati ($< 0,09$ m/sec.) e perciò insufficiente per consentire una ricerca di stimoli chimici controvento.

Olfattometro a due vie: progettazione e costruzione del secondo modello

A quel punto il sistema è stato progettato nuovamente. Prima di effettuare cambiamenti sono stati verificati vari parametri calcolandoli sulla base delle leggi di fluidodinamica, sia per il mantenimento della velocità di flusso sia per contrastare la turbolenza dell'aria.

Con la collaborazione di tecnici specializzati in canalizzazione d'aria e con l'ausilio dell'anemometro già utilizzato, è stato elaborato il nuovo progetto.

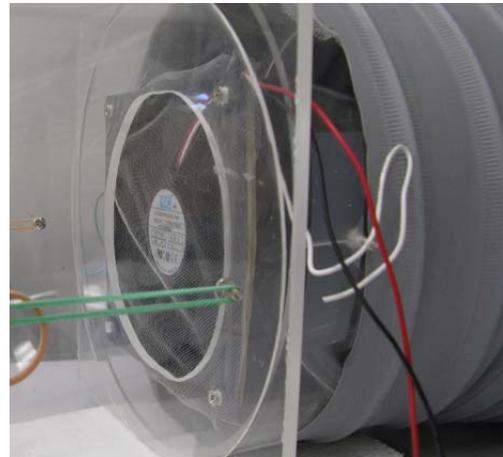
La camera di volo è rimasta inalterata.

Le due camere degli odori sono state sostituite con cilindri in plexiglass del diametro di 20 cm, lunghezza 50 cm e spessore 5 mm. (fig. 16).

Fig. 16: olfattometro a Y: secondo modello.



Fig. 17: ventola di immissione aria.



La generazione del flusso d'aria è stata affidata a ventole (fig. 17) un alimentatore da PC, che trasforma la corrente a 12V.

Le ventole dal diametro di 12 cm (0,25 A) o 9 cm (0,16 A), sono state scelte di due tipi differenti per poter generare velocità diverse.

All'uscita della camera di volo è stato collegato un tubo flessibile lungo 2 m. per l'uscita dell'aria carica di odori. In questo modo l'aria non permane all'interno del laboratorio (fig. 18)

La derivazione per collegare camera di volo e camera degli odori è stata realizzata in lamiera, in modo da costituire una Y (fig. 19).

Fig. 18: tubo per uscita aria esausta.



Fig. 19: parte centrale in lamiera.



La scelta del materiale è stata fatta in quanto costruire quella parte in plexiglas sarebbe costato molto e prima di affrontare la spesa si voleva verificare il

funzionamento dello strumento. L'assenza di visibilità nel raccordo viene comunque compensata dall'ampio lume delle camere di volo e degli odori.

La parte iniziale di ogni camera degli odori, vicino alla ventola, è costituita da uno spazio isolato da una rete metallica (fig. 20) nel quale possono prendere posto le fonti dell'odore da saggiare. L'estensione delle camere degli odori e della parte dedicata al collocamento delle esche consente di mostrare tracce visive vive e/o artificiali e di ospitare generatori artificiali di tracce chimiche e/o individui vivi.

Fig. 20: camera per ospitare le esche.

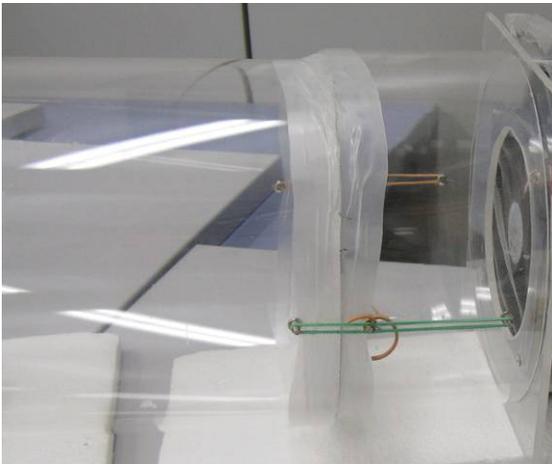


Fig. 21: setto divisore della parte centrale.



Un setto posto centralmente nella struttura in lamiera (fig. 21) aiuta a evitare turbolenze nel punto di incontro dei flussi d'aria provenienti dalle camere degli odori e a far sì che anche nella camera di volo sia presente un flusso regolare e laminare (fig. 22).

Fig. 22: flusso laminare e turbolento.

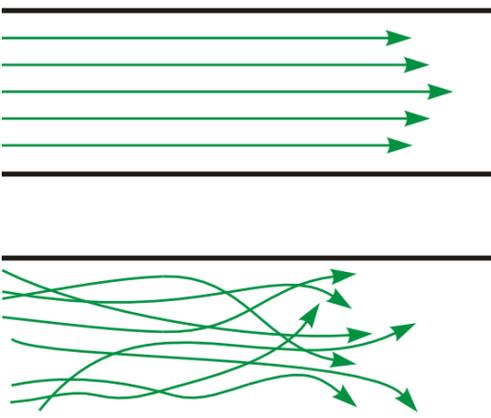


Fig. 23: webcam nella camera di volo.



Per riprendere l'attività degli insetti all'interno dell'olfattometro, vengono utilizzate due webcam (fig. 23): una classica e una con sensore a infrarossi per monitorare il volo all'interno dell'olfattometro anche in assenza di luce.

La struttura modulare consente, come per il modello precedente, lo smontaggio e la pulizia delle diverse parti e l'assoluta assenza di colle per unire gli elementi.

Software per l'osservazione del comportamento degli insetti

In collaborazione con il dott. Bevilacqua, ricercatore del DEIS - Dipartimento di Elettronica, Informatica, Sistemistica dell'Università degli Studi di Bologna si è provato a modificare un software utilizzato per videosorveglianza in modo da poterlo utilizzare per il monitoraggio del comportamento degli insetti all'interno dell'olfattometro.

Il software, (S-Cube® PTrack), prodotto e distribuito da Alma Vision s.r.l. (spin-off dell'Università di Bologna) è costituito appositamente per elaborare immagini provenienti da webcam. Permette di suddividere l'area monitorata in zone nelle quali poi il comportamento degli individui presenti può essere monitorato e fatto oggetto di statistiche di vario tipo, anche con suddivisione in fasce orarie.

Può fornire informazioni grafiche o alfanumeriche sul numero di individui presenti, il tracciato riguardante i loro movimenti (fig. 24), il tempo di permanenza e le soste in una determinata area (fig. 25).

Fig. 24: analisi dei movimenti.

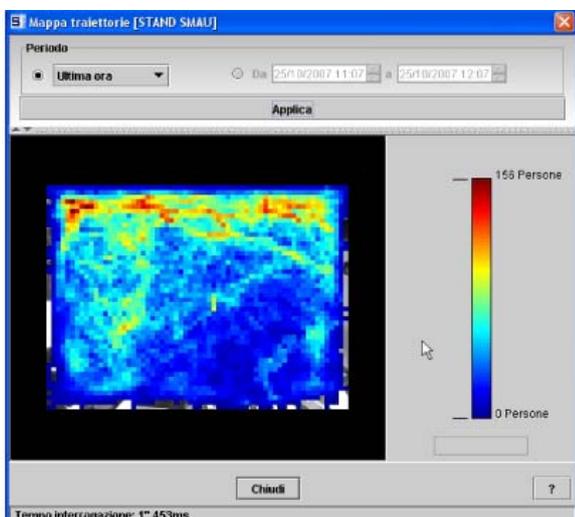
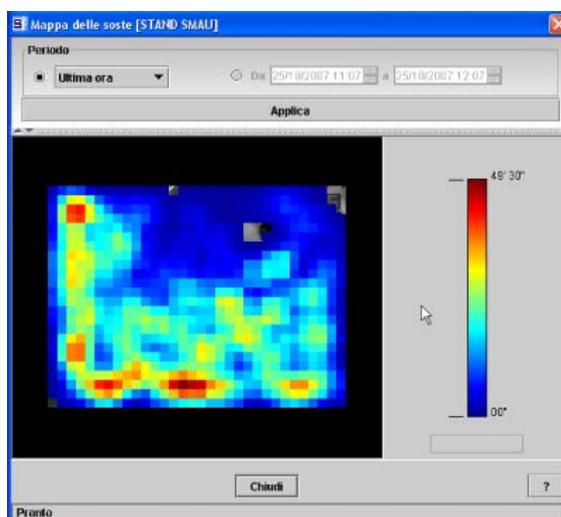


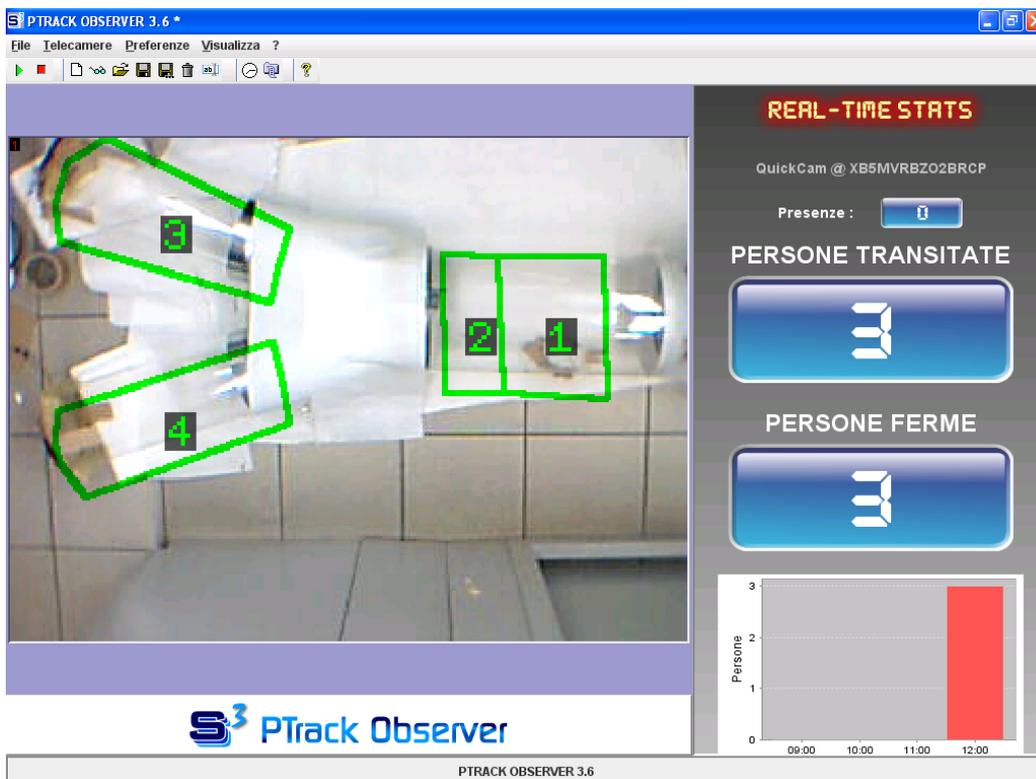
Fig. 25: analisi dei soste.



L'applicazione riguardante individui piccoli come possono essere alcuni insetti richiede un addestramento del software per l'individuazione del numero minimo e massimo di pixel che possano significare una presenza interessante da monitorare.

Le prove effettuate per capire se S-Cube® PTrack fosse utilizzabile per lo scopo prefissato hanno riguardato la suddivisione delle aree della camera di volo e delle camere degli odori (fig. 26) con verifica della reazione del software rispetto al movimento di oggetti di varie dimensioni.

Fig. 26: software per il controllo del comportamento degli insetti durante le prove-



L'utilizzo di S-Cube® PTrack permetterebbe inoltre di effettuare le prove senza la presenza di persone all'interno del laboratorio, in modo da non creare disturbi visivi di alcun tipo.

RISULTATI

Attività di campo

Elaborazione dati delle prove preliminari

I dati ottenuti prove svolte nel 2007 hanno mostrato la capacità di attrazione delle essenze testate verso un elevato numero di specie di nottuidi e anche crambidi - in particolare *O. nubilalis* e *S. verticalis* (Denis & Schiffermuller) nei campi sperimentali vicini a Bologna, *Loxostege sticticalis* (L.) a Latina - e geometridi, principalmente *Rhodometra sacraria* (L.).

Tra i nottuidi, le specie maggiormente presenti sono risultate *H. armigera*, *Hadula trifolii* (Hufnagel), *Chrysodeixis chalcites* (Esper), *A. gamma* e *S. littoralis*.

In totale, durante le prove sono state catturate 38 diverse specie di lepidotteri (tra le quali 33 nottuidi). In generale le tesi 4 e 5 del test di Cadriano e Granarolo (fig. 27) hanno mostrato un numero totale di individui catturati maggiore rispetto alle altre tesi, con parziale conferma nel test T2 di Latina (fig. 28), nel quale la tesi 3 corrispondeva alla tesi 5 utilizzata a Bologna.

Fig. 27: andamento delle catture a Cadriano e Granarolo in totale nel 2007.

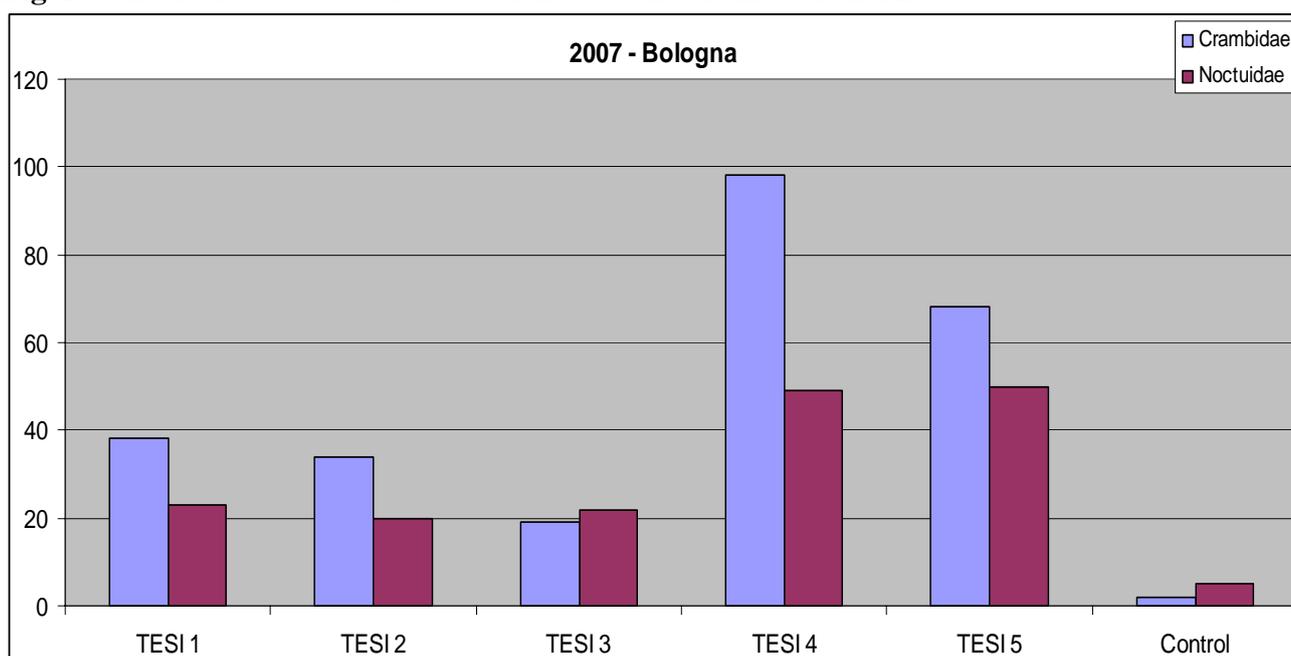
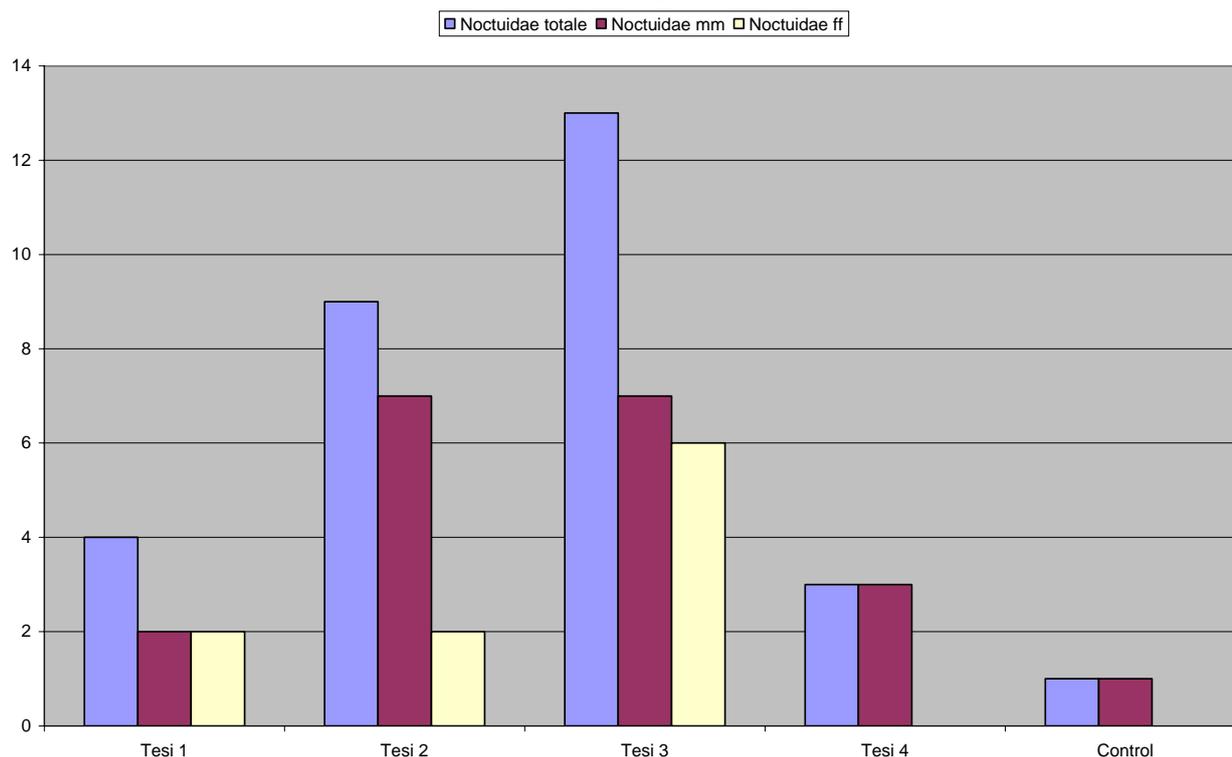


Fig. 28: andamento delle catture a Latina nel 2007, prova T2.



Dai dati raccolti nei tre test si è evidenziata inoltre una ridotta percentuale di femmine catturate (tab. 4) in controtendenza con quanto rilevato in altre ricerche basate sulla capacità attrattiva di fenilacetaldeide e essenze floreali nei confronti di lepidotteri (Meagher, 2002; Stringer, 2008).

Tab. 4: 2007 –numero di individui catturati e percentuale delle femmine sul totale.

	Maschi	Femmine	% femmine
Latina 2007, T1	274	59	17,72
Latina 2007, T2	32	23	41,82
Bologna 2007	408	106	20,62

Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: lepidotteri

Nel 2009 l'analisi del contenuto delle stazioni di monitoraggio ha permesso di confermare la notevole capacità attrattiva delle sostanze testate nei confronti dei lepidotteri.

A Bologna (tab. 5), sono state determinate 28 specie di Lepidotteri, a Latina (tab. 6) 17, con un totale di 11 specie presenti in entrambi i campi sperimentali: *H. armigera*,

Acontia (Emmelia) trabealis (Scopoli), *Agrotis bigramma* (Esper), *Agrotis segetum* (Denis & Schiffermuller), *A. gamma*, *C. chalcites*, *H. trifolii*, *Noctua pronuba* L., *Plusia festucae* (L.), *R. sacraria*, *Sitochroa palealis* (Denis & Schiffermuller).

Tab. 5: specie di lepidotteri determinate a Bologna nel 2009.

Specie			Famiglia	Sottofamiglia	n	%
<i>Abrostola</i> spp.			Noctuidae	Plusinae	4	0,45
<i>Acontia (Emmelia) trabealis</i>	Scopoli	1763	Noctuidae	Acontiinae	36	4,01
<i>Aedia leucomelas</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Acontinae	1	0,11
<i>Agrotis bigramma</i>	Esper	1790	Noctuidae	Noctuinae	3	0,33
<i>Agrotis exclamationis</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Noctuinae	2	0,22
<i>Agrotis ipsilon</i>	Hufnagel	1766	Noctuidae	Noctuinae	1	0,11
<i>Agrotis segetum</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Noctuidae	Noctuinae	3	0,33
<i>Autographa gamma</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Plusinae	49	5,46
<i>Catocala elocata</i>	Esper	1787	Noctuidae	Catocalinae	1	0,11
<i>Chiasmia clathrata</i>	Linnaeus	1758	Geometridae	Ennominae	1	0,11
<i>Chrysodeixis chalcites</i>	Esper	1789	Noctuidae	Plusinae	11	1,22
<i>Ematurga atomaria</i>	Linnaeus	1758	Geometridae	Ennominae	1	0,11
<i>Euclidia (Ectypa) glyphica</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Catocalinae	1	0,11
<i>Hadena lepida</i>	Esper	1790	Noctuidae	Hadeninae	1	0,11
<i>Hadula trifolii</i>	Hufnagel	1766	Noctuidae	Hadeninae	14	1,56
<i>Helicoverpa armigera</i>	Hubner	1808	Noctuidae	Heliothinae	63	7,02
<i>Macdunnoughia confusa</i>	Stephens	1850	Noctuidae	Plusinae	3	0,33
<i>Mamestra brassicae</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Hadeninae	2	0,22
<i>Mythimna</i> sp.			Noctuidae	Hadeninae	1	0,11
<i>Mythimna (Mythimna) vitellina</i>	Hubner	1808	Noctuidae	Hadeninae	5	0,56
<i>Noctua pronuba</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Noctuinae	1	0,11
<i>Ostrinia nubilalis</i>	Hubner	1796	Crambidae	Pyraustinae	381	42,4
<i>Plusia festucae</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Plusinae	1	0,11
<i>Pterophorus pentadactyla</i>	Linnaeus	1758	Pterophoridae	Pterophorinae	1	0,11
<i>Rhodometra sacraria</i>	Linnaeus	1767	Geometridae	Sterrhinae	97	10,8
<i>Sitochroa palealis</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Crambidae	Pyraustinae	5	0,56
<i>Sitochroa verticalis</i>	Linnaeus	1758	Crambidae	Pyraustinae	202	22,5
<i>Tethea ocularis</i>	Linnaeus	1767	Drepanidae	Thyatirinae	1	0,11
<i>Tyta luctuosa</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Noctuidae	Metoponiinae	10	1,11

Tab. 6: specie di lepidotteri determinate a Latina nel 2009.

Specie			Famiglia	Sottofamiglia	n	%
<i>Abrostola</i> spp.			Noctuidae	Plusinae	9	1,87
<i>Acontia (Emmelia) trabealis</i>	Scopoli	1763	Noctuidae	Acontiinae	2	0,41
<i>Agrotis bigramma</i>	Esper	1790	Noctuidae	Noctuinae	1	0,21
<i>Agrotis segetum</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Noctuidae	Noctuinae	1	0,21
<i>Autographa gamma</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Plusinae	96	19,92
<i>Chrysodeixis chalcites</i>	Esper	1789	Noctuidae	Plusinae	4	0,83
<i>Ctenoplusia accentifera</i>	Lefebvre	1827	Noctuidae	Plusinae	2	0,41
<i>Hadula trifolii</i>	Hufnagel	1766	Noctuidae	Hadeninae	1	0,21
<i>Helicoverpa armigera</i>	Hubner	1808	Noctuidae	Heliothinae	236	48,96
<i>Loxostege sticticalis</i>	Linnaeus	1761	Crambidae	Pyraustinae	42	8,71
<i>Noctua pronuba</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Noctuinae	4	0,83
<i>Plusia festucae</i>	Linnaeus	1758	Noctuidae	Plusinae	1	0,21
<i>Rhodometra sacraria</i>	Linnaeus	1767	Geometridae	Sterrhinae	35	7,26
<i>Sitochroa palealis</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Crambidae	Pyraustinae	20	4,15
<i>Spodoptera exigua</i>	Hubner	1808	Noctuidae	Xyleninae	11	2,28
<i>Spodoptera littoralis</i>	Boisduval	1833	Noctuidae	Xyleninae	12	2,49
<i>Thysanoplusia orichalcea</i>	Fabricius	1775	Noctuidae	Plusinae	4	0,83
<i>Xestia (Xestia) xanthographa</i>	Denis & Schiffermuller	1775	Noctuidae	Noctuinae	1	0,21

Le specie più rappresentative rilevate a Bologna e Latina sono evidenziate dalle figure 29 e 30

Fig. 29: specie di lepidotteri percentualmente più rilevanti catturate a Bologna nel 2009.

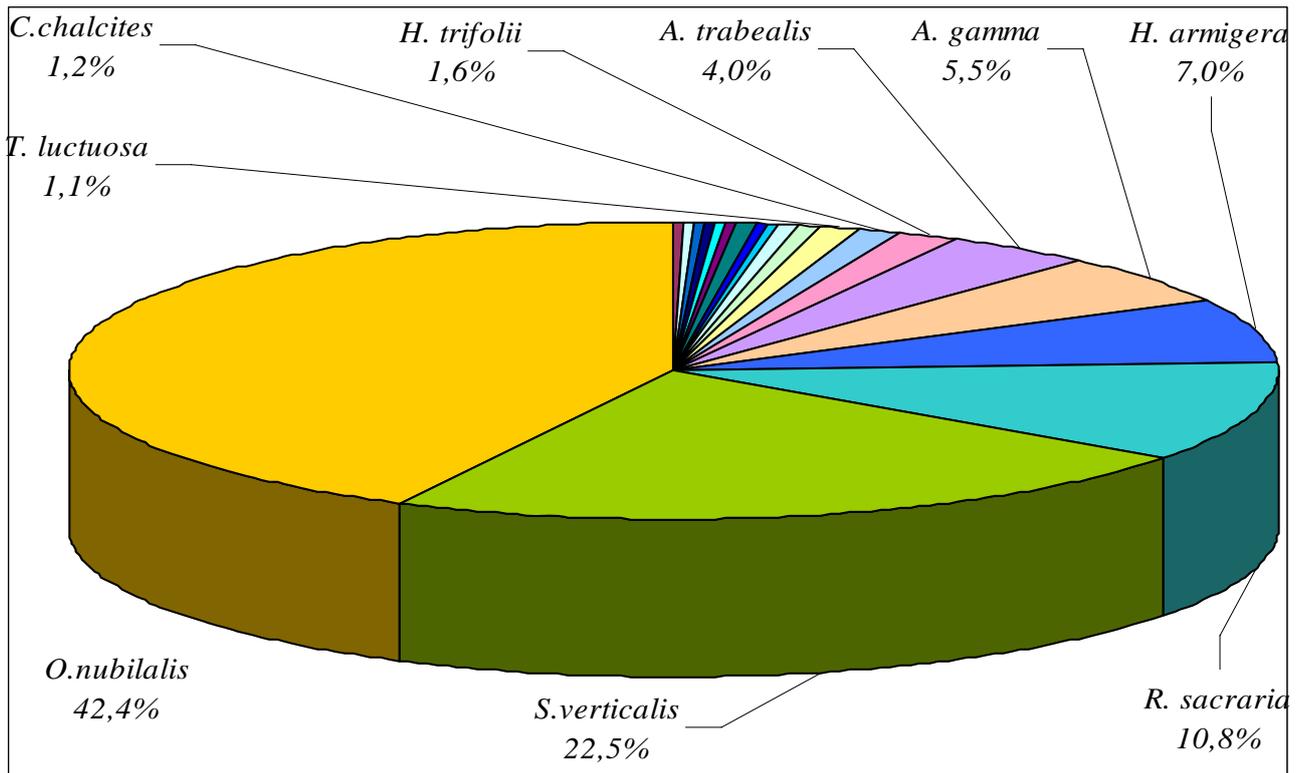
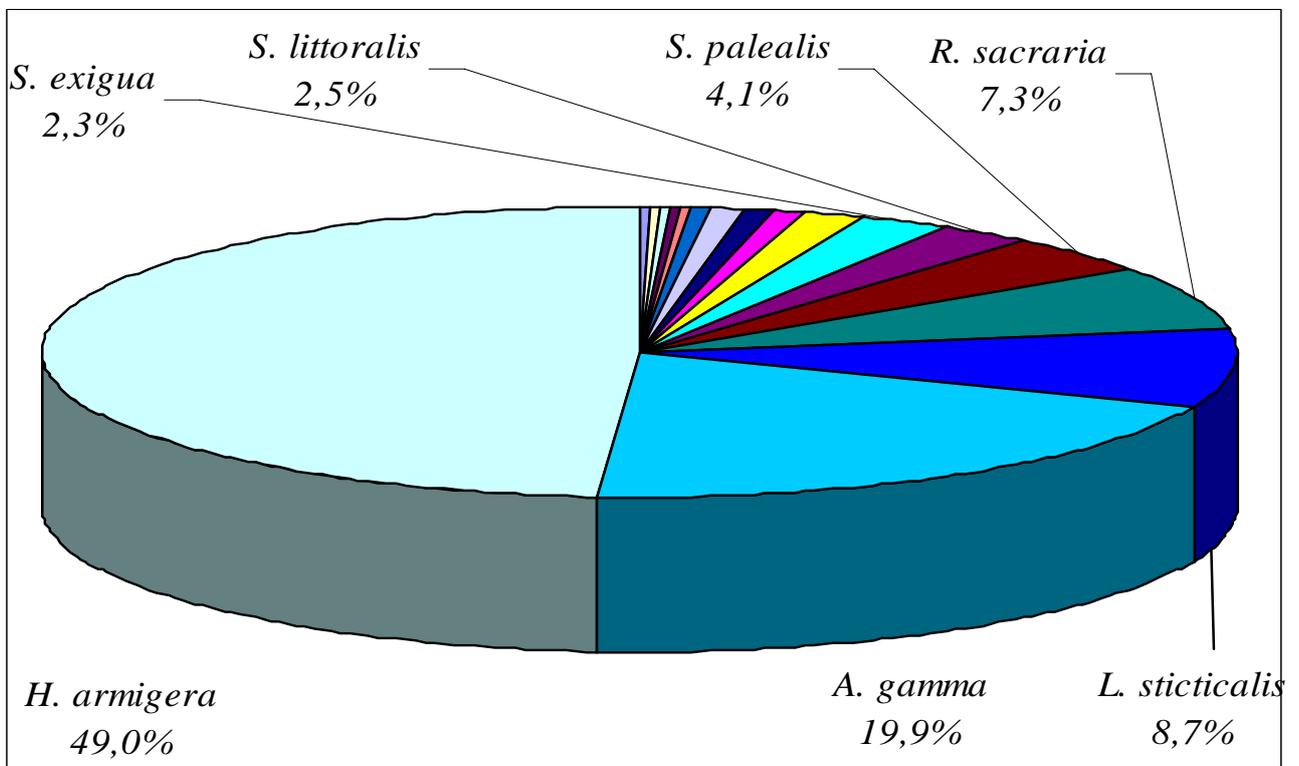


Fig. 30: specie di lepidotteri percentualmente più rilevanti catturate a Latina nel 2009.



Le specie individuate risultano appartenere a 4 famiglie, rappresentate numericamente soprattutto da nottuidi e crambidi (tab. 7).

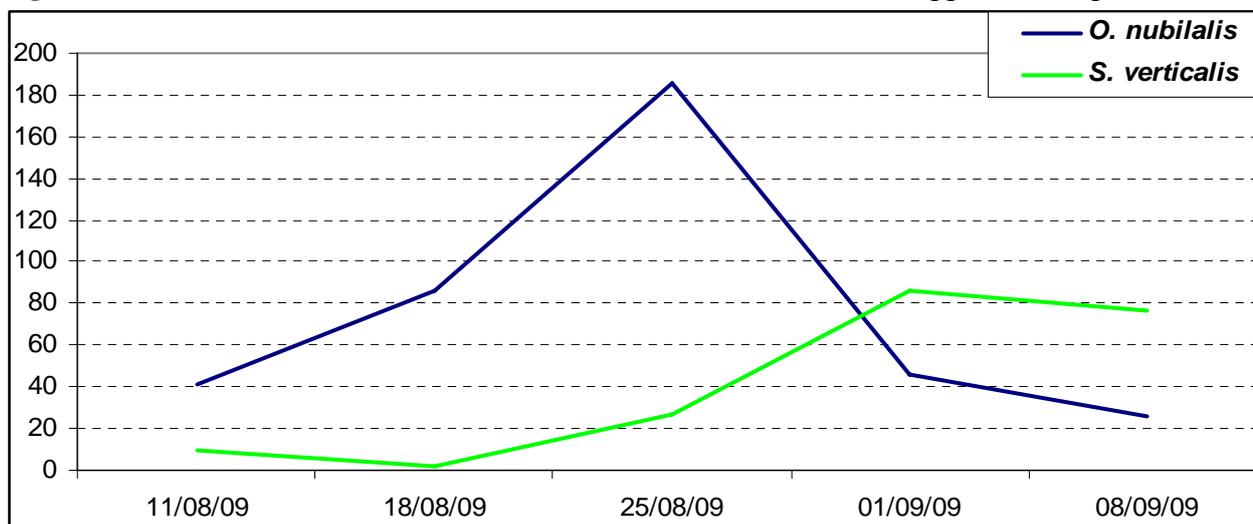
Tab. 7: famiglie di lepidotteri rilevate a Bologna e Latina nel 2009.

BOLOGNA	n. specie	% specie		n. catture	% catture
Noctuidae	21	72,4		209	23,3
Crambidae	3	10,3		588	65,5
Geometridae	3	10,3		99	11,0
Drepanidae	1	3,4		1	0,1
Pterophoridae	1	3,4		1	0,1
TOTALE	29			898	
LATINA	n. specie	% specie		n. catture	% catture
Noctuidae	14	82,4		385	79,9
Crambidae	2	11,8		62	12,9
Geometridae	1	5,9		35	7,3
TOTALE	17			482	

L'elevata percentuale di Crambidi nelle stazioni di Bologna è dovuta soprattutto alla forte presenza in agosto di *O. nubilalis*, risultata la specie più rappresentata con 381 individui, per la presenza di coltivazioni di mais nelle vicinanze delle trappole e *S. verticalis* (202 individui).

La cospicua presenza di quest'ultima specie potrebbe derivare dal fatto che in natura, pur essendo polifaga, ha tra le principali preferenze composite del genere *Cirsium* (Shodotova, 2008).

Come si può notare (fig. 31) la presenza delle due specie è contemporanea, anche se il periodo di massima presenza pare essere leggermente sfasato.

Fig. 31: curva di volo di *O. nubilalis* e *S. verticalis*, stazioni di monitoraggio di Bologna.

A Latina la relazione tra numero di specie e individui catturati è risultata decisamente più omogenea.

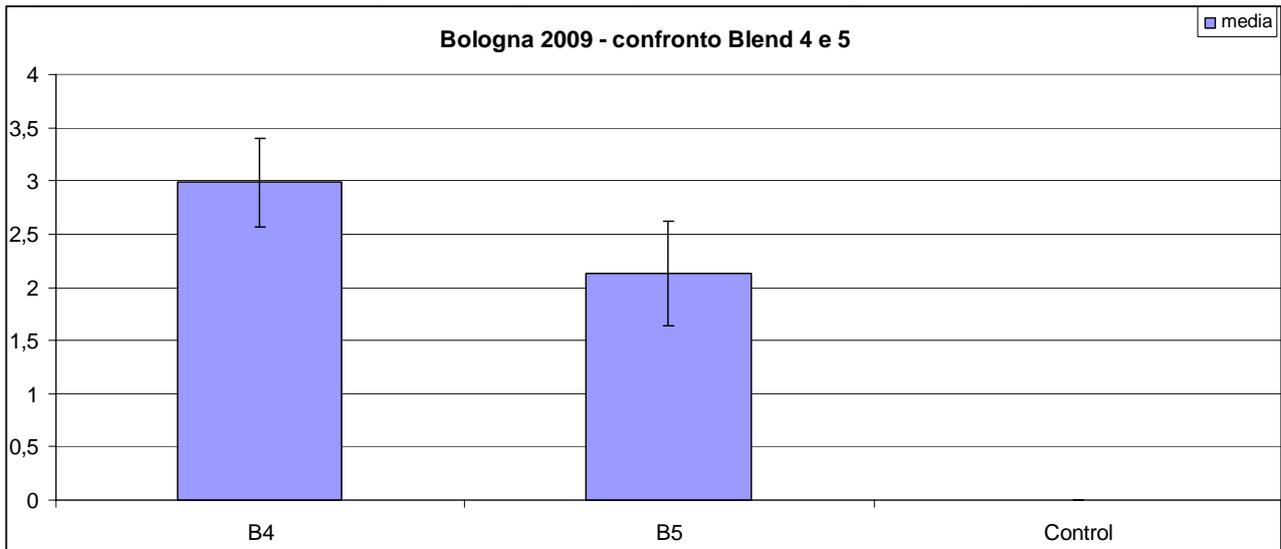
La sex-ratio, valutata per dissezione dell'addome laddove non ci fosse dimorfismo sessuale evidente (es. *O. nubilalis*, *R. saccharia*), ha mostrato una maggior presenza di maschi.

La percentuale è risultata molto variabile per le diverse famiglie (20 % di femmine in Crambidi, 42% in Nottuidi, 34% in Geometridi) e più costante tra le specie delle singole famiglie.

Per quanto riguarda il complesso dei due blend considerati, a prescindere dalle concentrazioni, è emersa una differenza significativa delle catture rispetto al testimone, ma non tra i due blend, sia per numero di individui sia per numero di specie. L'analisi dei dati ha riguardato le catture nei diversi campi sperimentali come numero totale, con successiva separazione e analisi distinta nei riguardi delle diverse famiglie e anche delle specie più rappresentative. Il Blend 4 ha costantemente mostrato di attrarre un numero maggiore di individui e considerando le specie numericamente più rappresentative solo in due casi, *L. sticticalis* e *R. saccharia*, il blend 5 è risultato più attrattivo. Seppur con lievi differenze tra le diverse analisi, si è comunque sempre confermata l'assenza di differenza significativa tra i due blend (in fig. 32, un esempio tratto dalle catture nella prova di Bologna, considerando il totale degli individui).

Per tutti i grafici a seguire è stato calcolato l'errore standard.

Fig. 32: media catture delle specie di Lepidotteri per blend a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.



Il confronto tra le diverse miscele dei due blend ha invece evidenziato una differenza tra quelle a minore concentrazione e le altre tre (figure da 33 a 36).

Per prima cosa sono stati presi in considerazione i dati riguardanti il totale delle catture, le catture nelle stazioni di Bologna e Latina separatamente e infine quelle riguardanti le specie di lepidotteri presenti in ambedue le località.

Fig. 33: media del totale delle catture di lepidotteri nel 2009. $p < 0,01$.

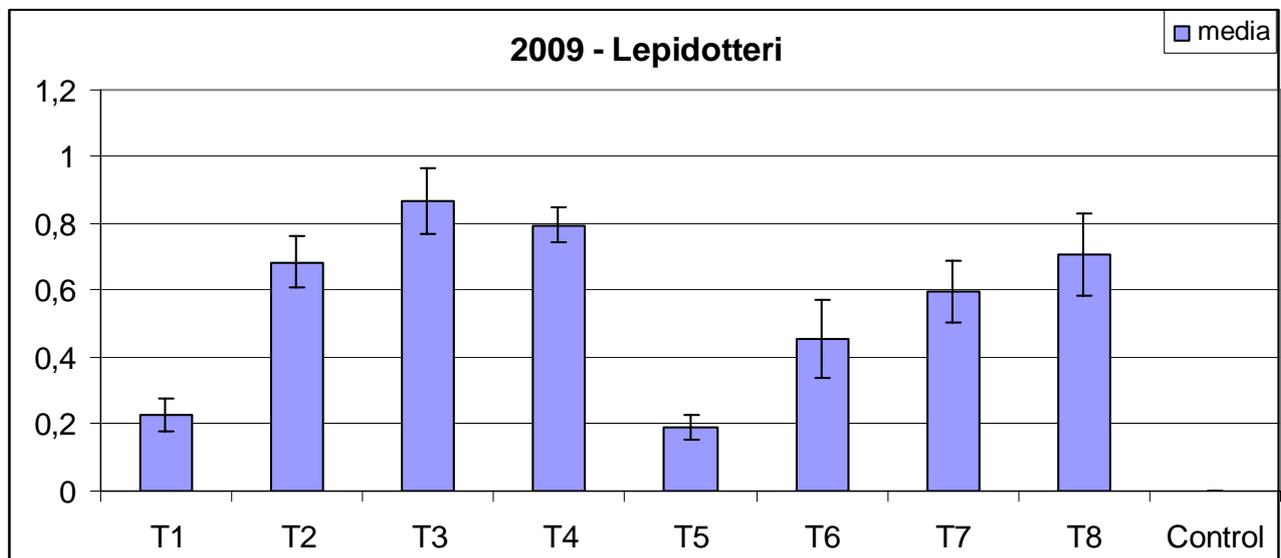


Fig. 34: media del totale delle catture di lepidotteri a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.

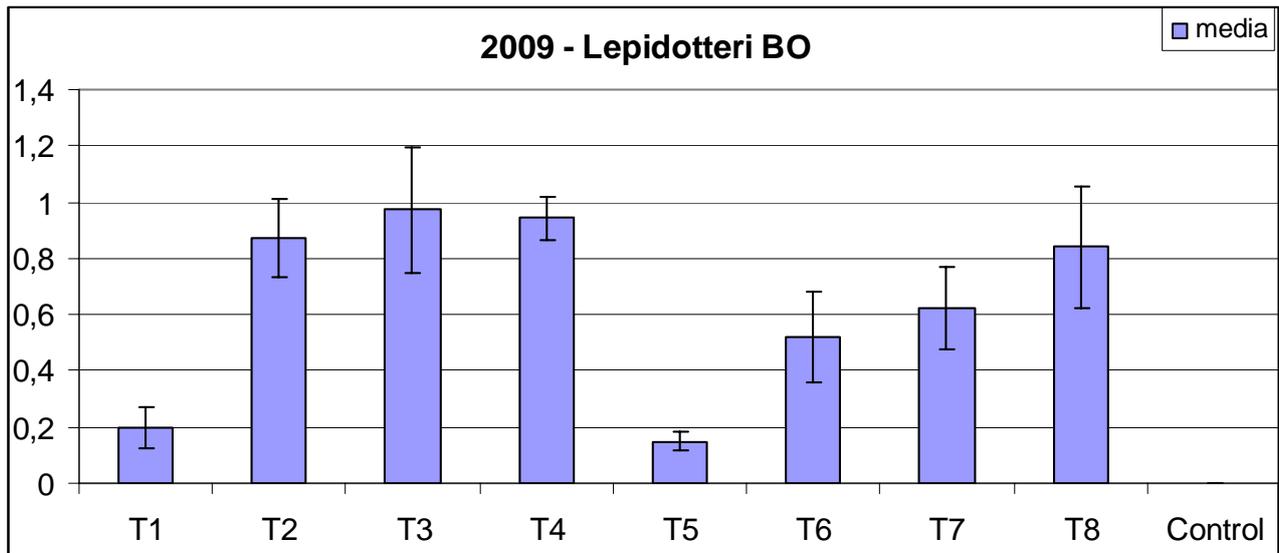


Fig. 35: media del totale delle catture di lepidotteri a Latina nel 2009. $p < 0,01$.

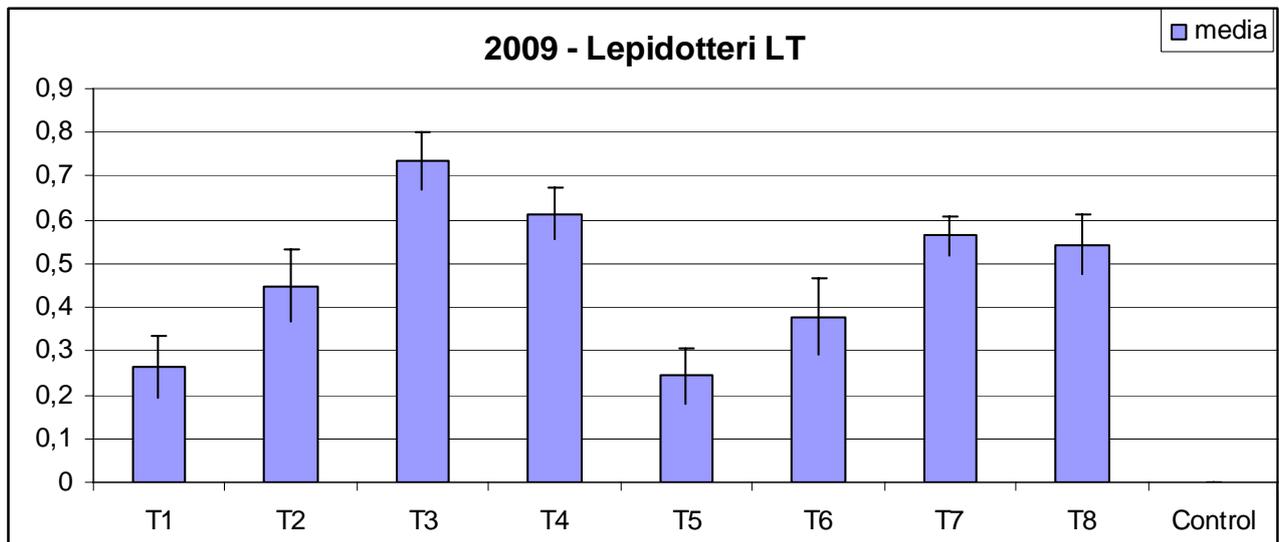
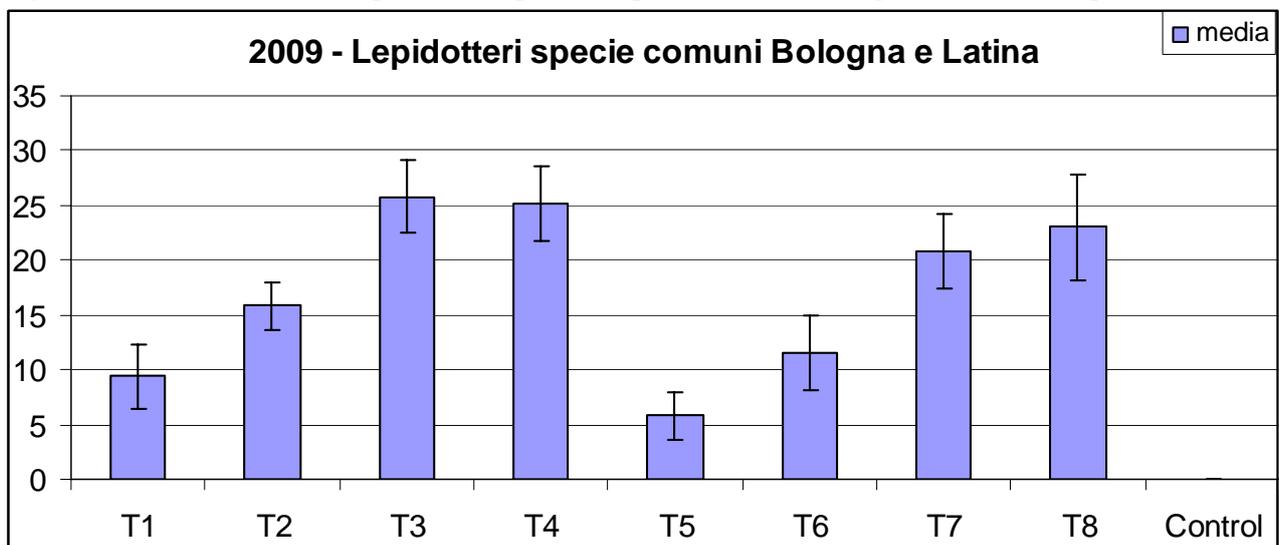


Fig. 36: media catture delle specie di Lepidotteri presenti sia a Bologna sia a Latina. $p < 0,01$.



Poi, l'analisi dei dati di cattura è stata rivolta verso le diverse famiglie e le singole specie più rappresentate nelle diverse stazioni, come dato totale e con divisione maschi / femmine. Alcuni esempi sono riportati nei grafici seguenti (figure da 37 a 41). L'andamento ha mostrato il più delle volte di essere in linea con quello generale. In tutti i casi l'analisi della varianza ha confermato l'esistenza di differenze significative, nella quasi totalità dei casi con $p < 0,01$ e negli altri $p < 0,05$.

Fig. 37: media delle catture di *O. nubilalis*, maschi e femmine a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.

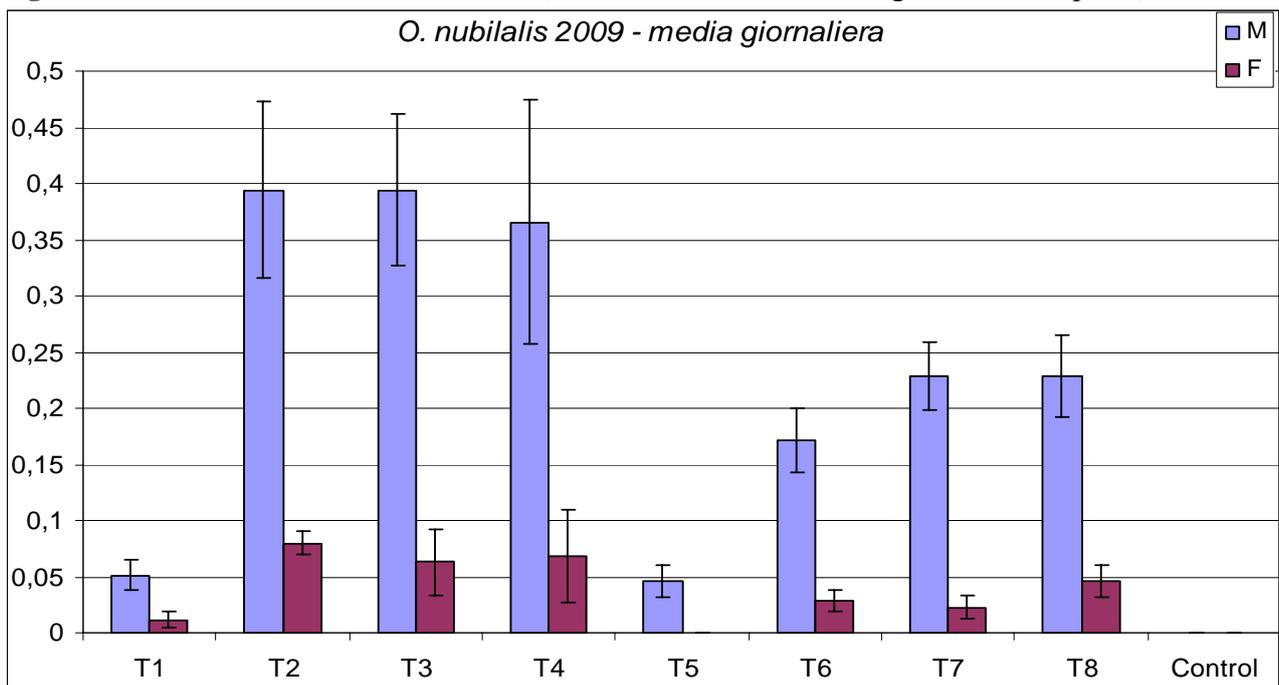


Fig. 38: media delle catture di *R. sacralia* nel 2009. $p < 0,01$.

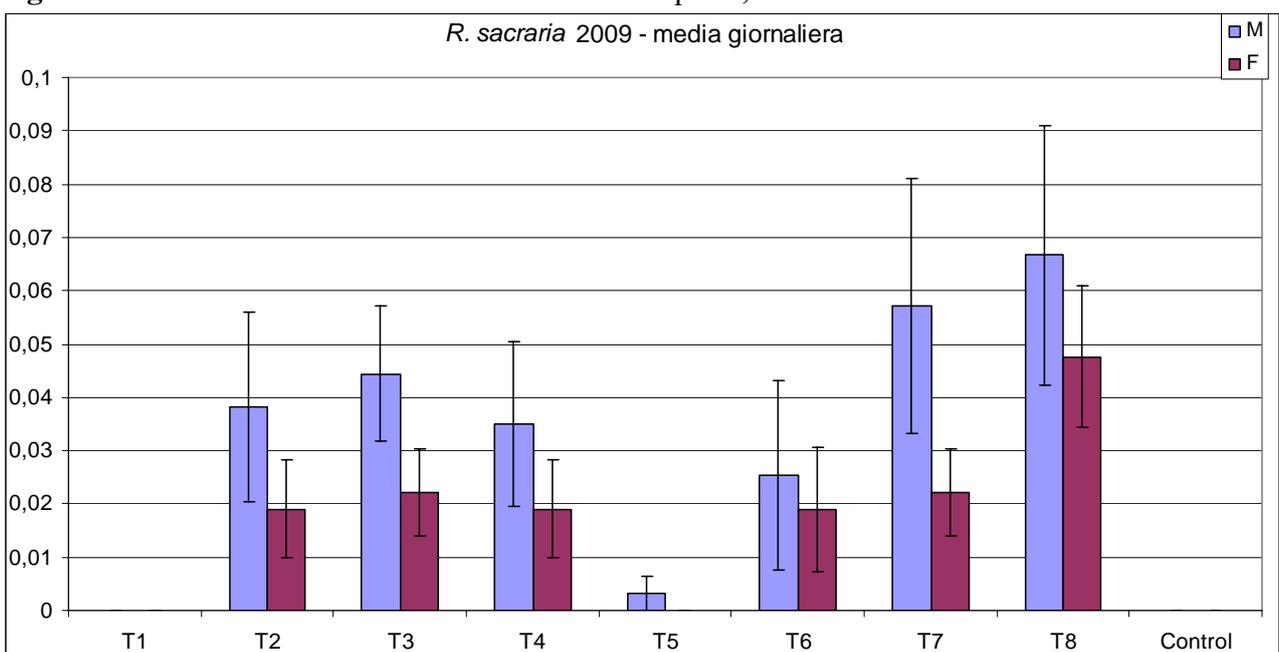


Fig. 39: media delle catture di *A. gamma*. nel 2009. $p < 0,01$.

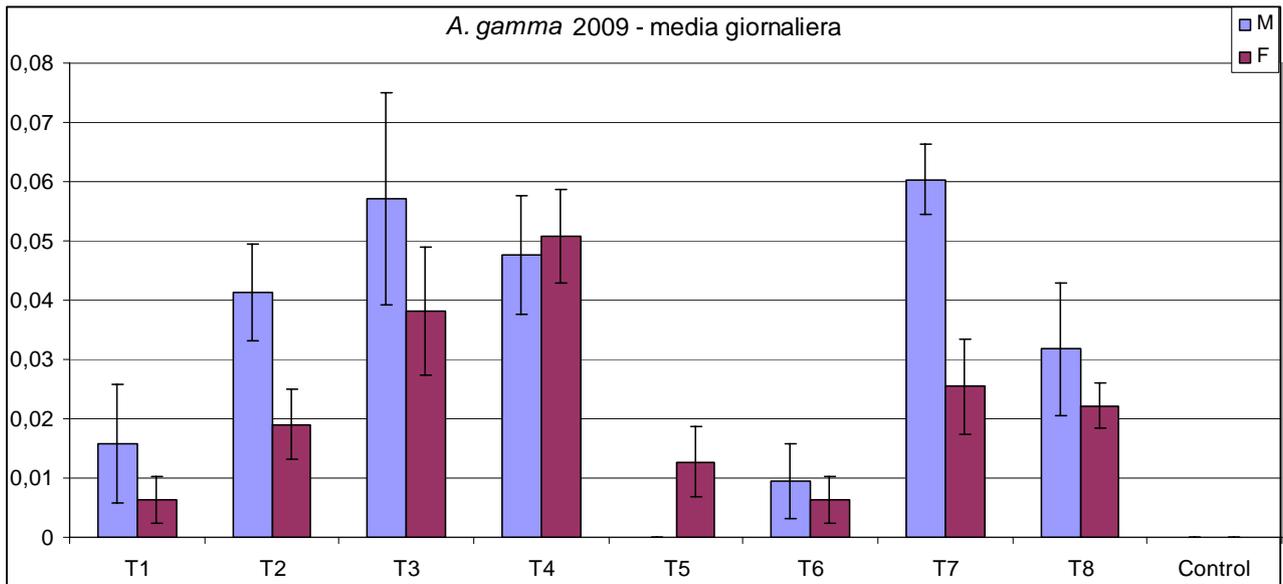


Fig. 40: media delle catture di *H. armigera* nel 2009. $p < 0,01$.

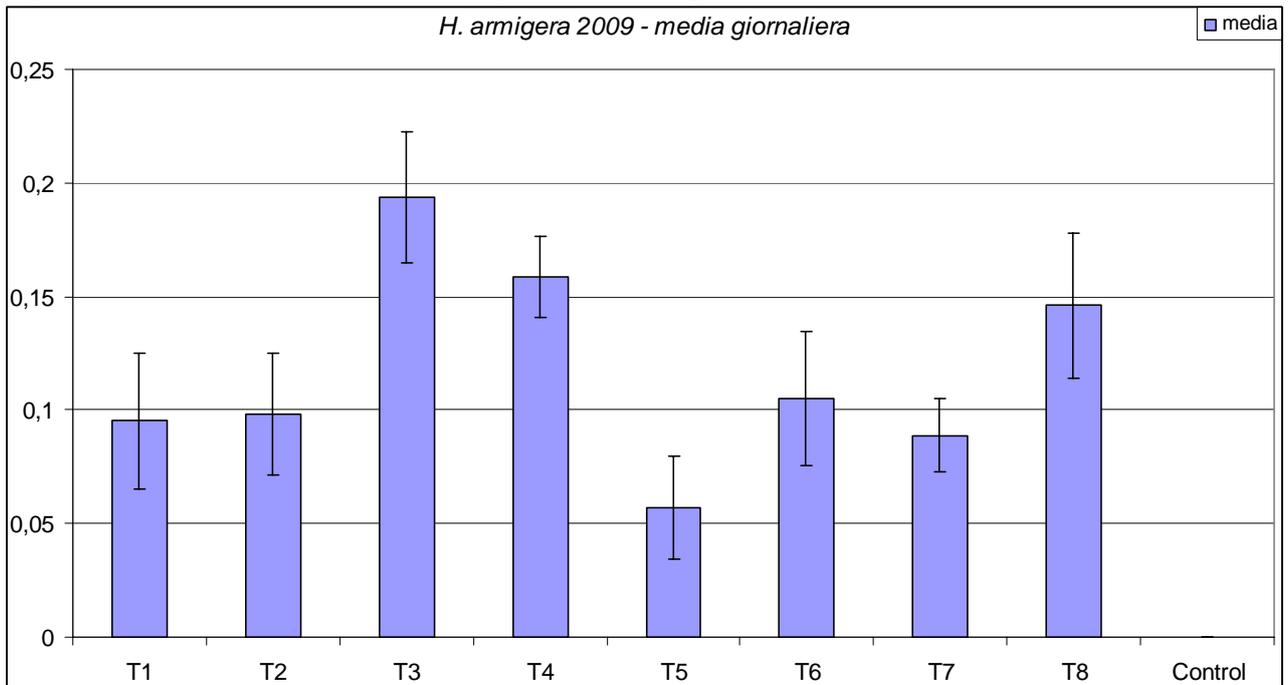
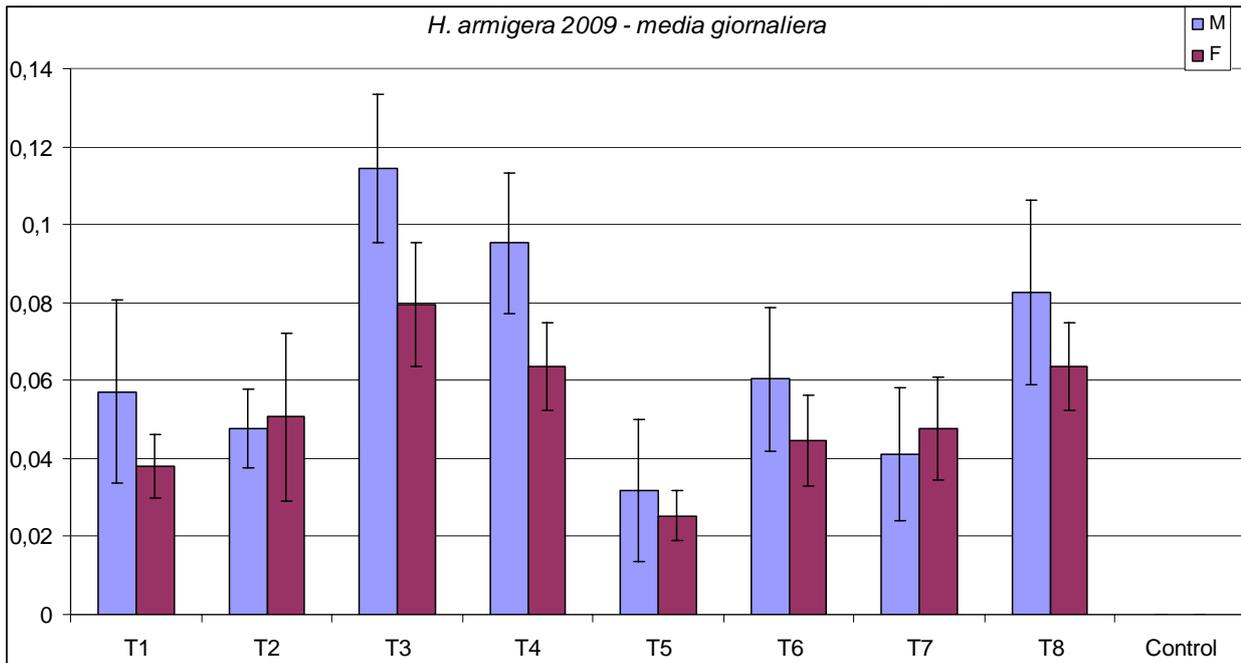


Fig. 41: media delle catture di *H. armigera* maschi e femmine nel 2009. $p < 0,01$.



Per i nottuidi più significativi, *H. armigera* e *A. gamma*, è stata verificata l'omogeneità delle varianze (test di Levene) rispettivamente nelle stazioni di Latina e Bologna e ciò ha consentito di procedere con il test HSD di Tukey e rilevare le differenze significative dell'effetto attrattivo delle diverse miscele (fig. 42 e 43).

Fig. 42: media delle catture di *H. armigera* a Latina. $p < 0,01$.

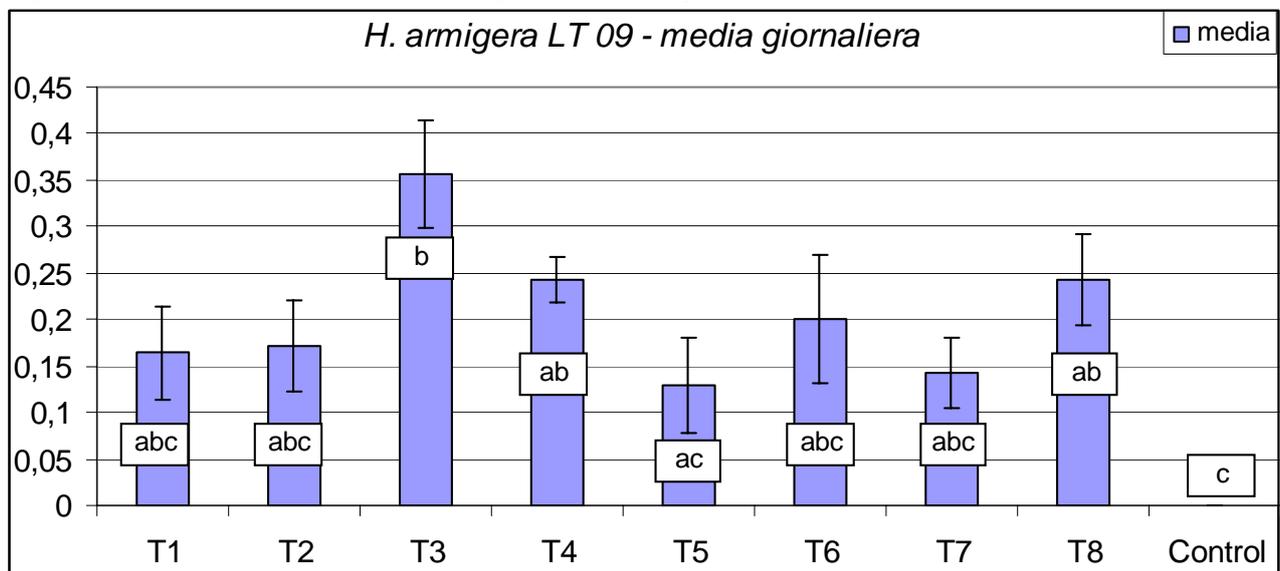
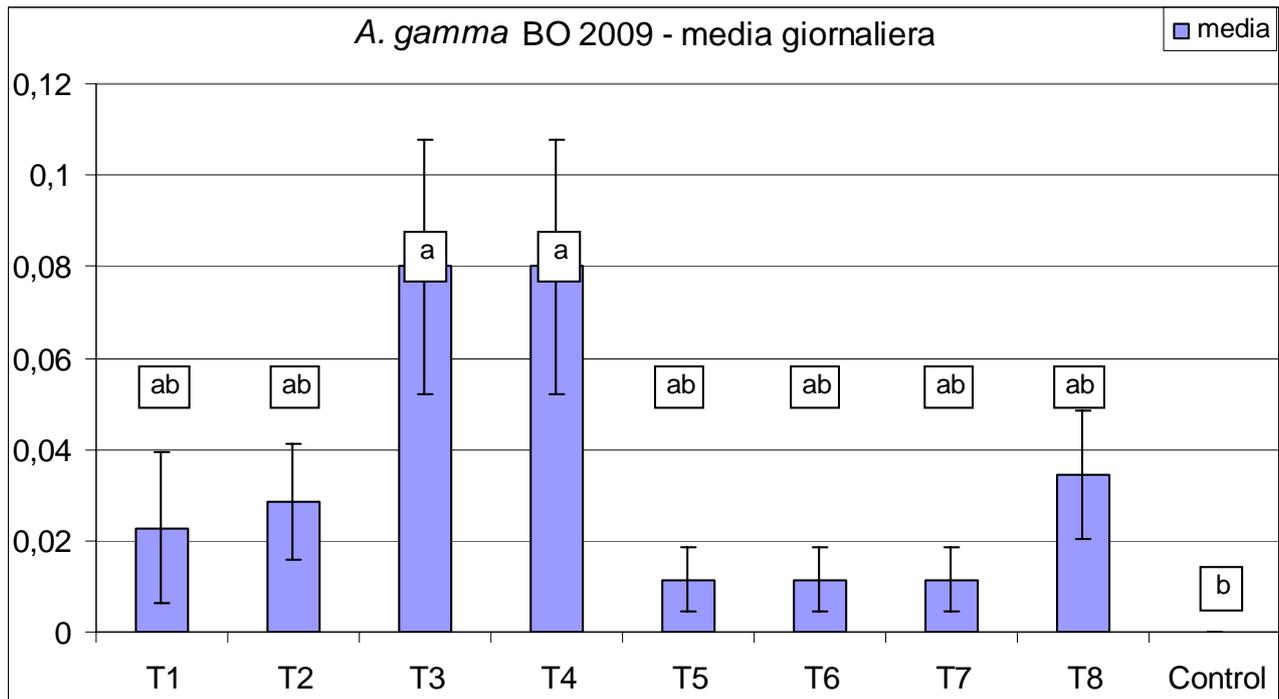


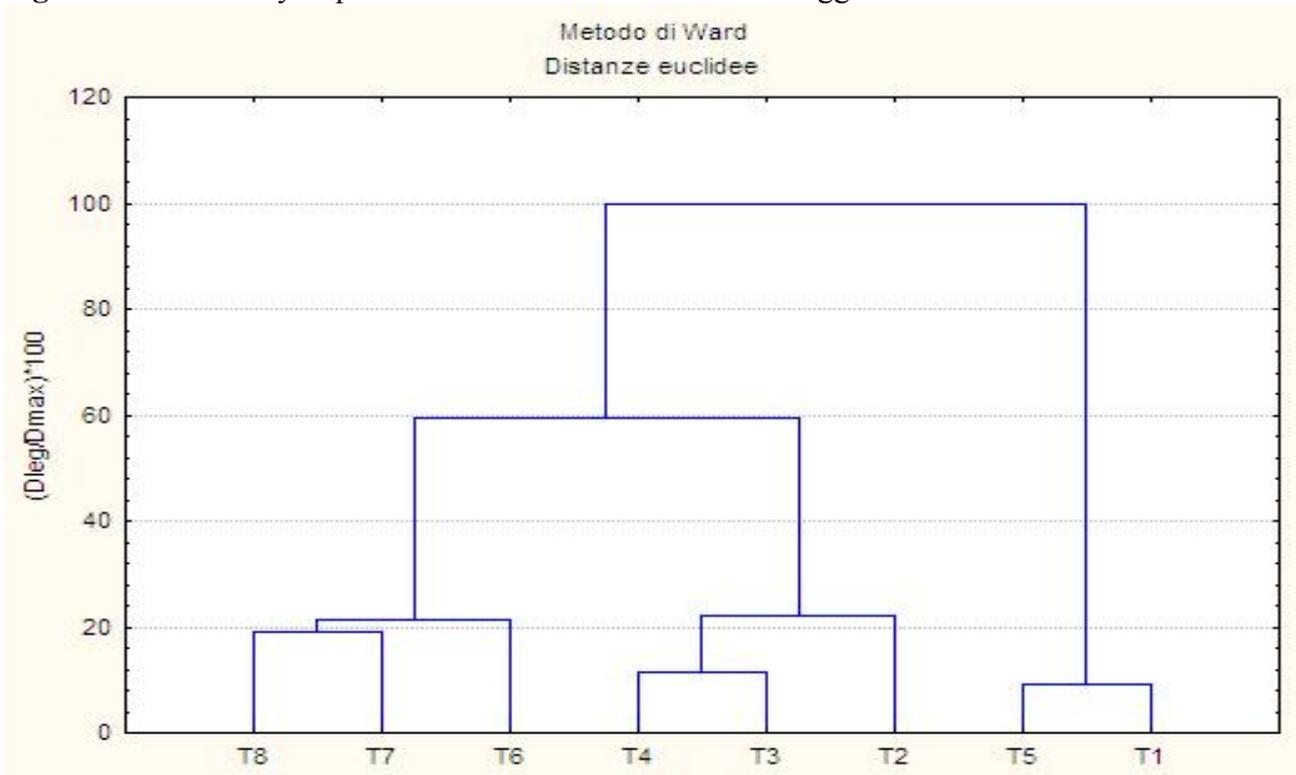
Fig. 43: media delle catture di *A. gamma* a Bologna. $p < 0,01$.



Non avendo in generale mostrato i dati delle caratteristiche di omogeneità tali da poter giungere a conclusioni in merito al possibile utilizzo delle miscele e delle diverse concentrazioni di esse, si sono provati altri metodi di analisi che potessero essere in grado di stabilire delle relazioni tra gli elementi a disposizione.

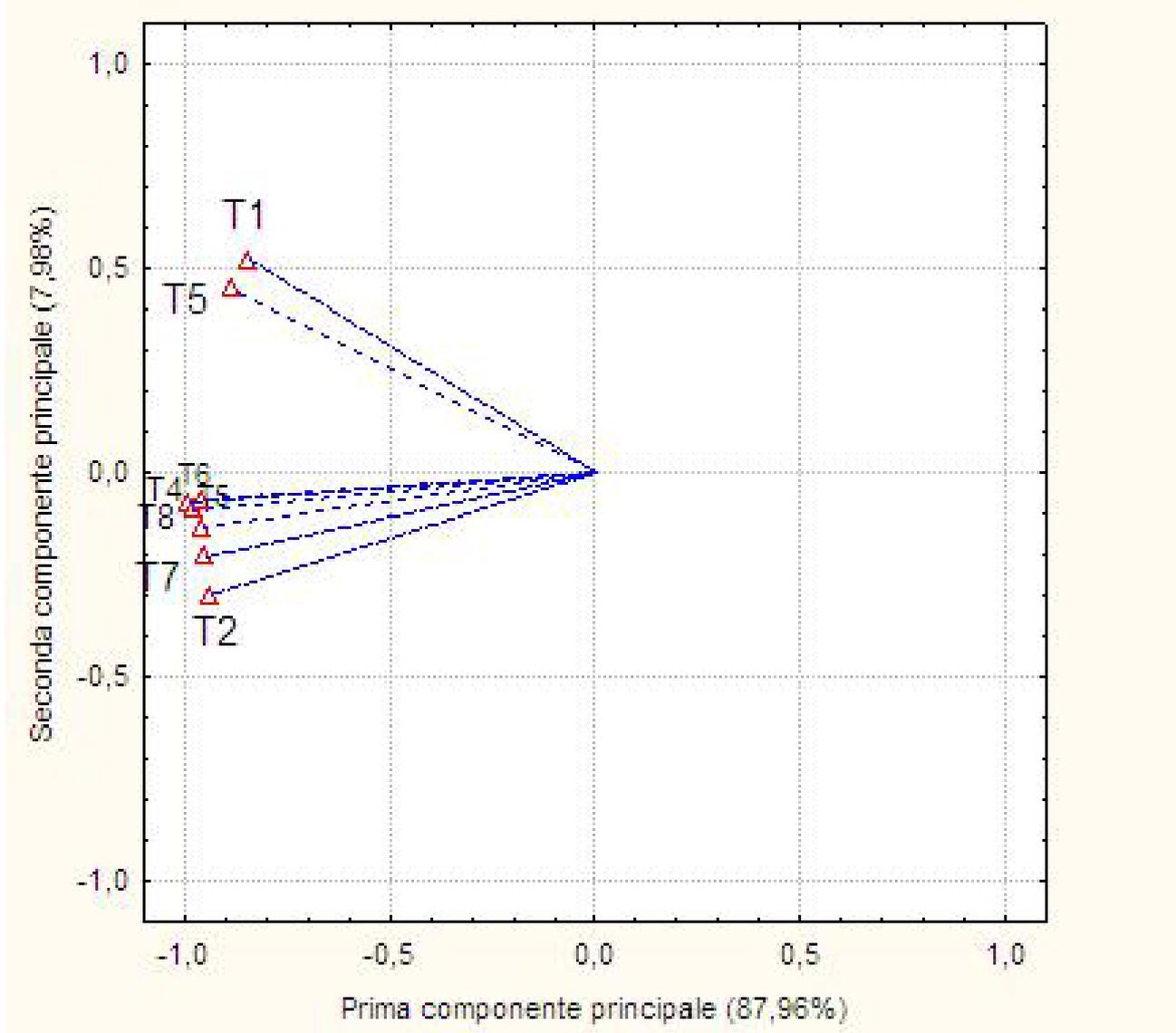
Procedendo con Cluster Analysis (fig. 44) è risultata evidente la scomposizione per blocchi: uno per T1 e T5 (cioè Blend 4 e Blend 5 a concentrazione 10 mg), un secondo comprendente le rimanenti ulteriormente suddivise in “T2, T3, T4” (Blend 4 a concentrazione 100 mg, 200 mg, 400 mg) e “T6, T7, T8” (Blend 5 a concentrazione 100 mg, 200 mg, 400 mg).

Fig. 44: Cluster Analysis per il totale delle stazioni di monitoraggio del 2009.



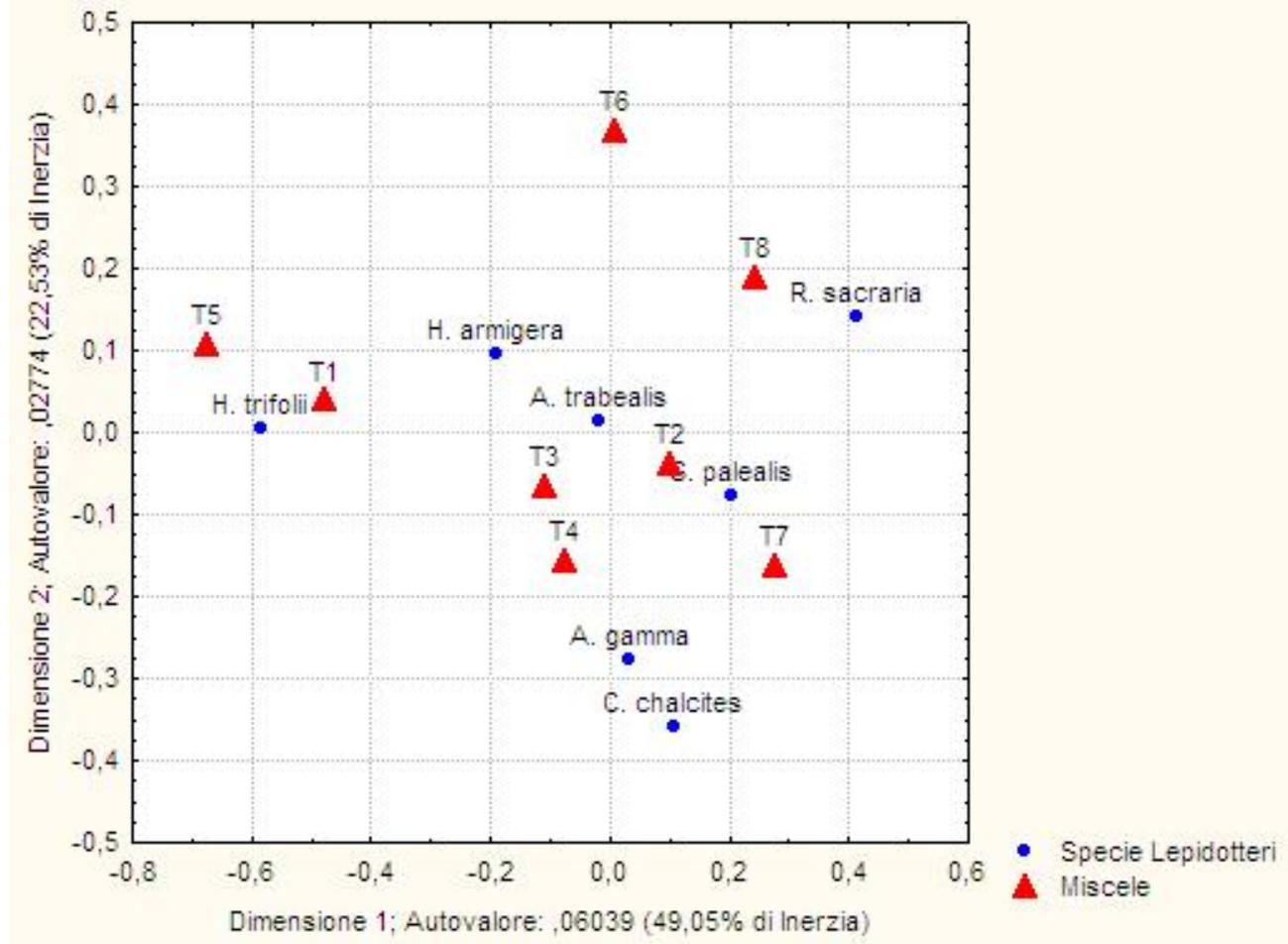
La tendenza è stata confermata elaborando i dati con analisi fattoriale dei componenti principali (fig. 45). A livello generale, la miscela a minor concentrazione di ogni blend sembra avere una capacità attrattiva di altro tipo rispetto alle altre.

Fig. 45: Analisi delle componenti principali per il totale delle stazioni di monitoraggio nel 2009.



Ancora, con metodi legati alla statistica multivariata, è stata effettuata un'analisi fattoriale delle corrispondenze mettendo in relazione le specie rilevate sia a Bologna sia a Latina e le otto miscele (fig. 46).

Fig. 46: Analisi delle corrispondenze. Specie comuni a Bologna e Latina nel 2009.



L'indicazione è interessante e mostra particolari che andrebbero approfonditi. Da questa analisi sembra che il comportamento tra le diverse specie di lepidotteri nei confronti delle miscele sia piuttosto eterogeneo. È particolare che *H. trifolii* sembri preferire le miscele a minor concentrazione dei due blend.

Pare inoltre interessante che le uniche due specie di nottuidi del gruppo che appartengono a un'unica sottofamiglia - *A. gamma* e *C. chalcites*, della famiglia Plusinae – mostrino un comportamento analogo e allo stesso tempo distante dagli altri lepidotteri.

I dati derivati da queste ultime analisi andranno confermati eventualmente con ulteriori prove, ma si denota in questo modo la capacità della statistica multivariata di fornire indicazioni interessanti che talvolta non riescono a emergere analizzando i dati in maniera più classica. Forse, con più ripetizioni o più blocchi di trappole si sarebbero avuti dati più completi e forse distribuiti in modo più omogeneo, ma di

fatto le analisi per cluster e dei componenti principali hanno fornito indicazioni che ci possono indicare una via da seguire per ulteriori sperimentazioni.

La sex-ratio si è dimostrata molto variabile a seconda delle famiglie, all'interno delle quali ha mantenuto un andamento più lineare (tab. 8).

Tab. 8: sex ratio dei lepidotteri analizzati per famiglie, anno 2009.

Famiglia	Località	% femmine
Noctuidae	Bologna	35,1
	Latina	43,3
	Bologna + Latina	41,1
Crambidae	Bologna	12,3
	Latina	20,9
	Bologna + Latina	13,1
Geometridae	Bologna	34,0
	Latina	40,0
	Bologna + Latina	35,6

In ogni caso si è sempre verificata una predominanza dei maschi, a parte qualche caso in specie in cui il numero di catture è stato talmente esiguo da non poter considerare il dato rilevante.

Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: altri insetti

Come riportato in precedenza, a Bologna oltre ai lepidotteri sono stati determinati gli altri insetti presenti nelle trappole. In totale, i 1208 individui sono stati suddivisi in 33 famiglie, e 126 solo a livello di ordine (7 gli ordini rappresentati). In gran parte si tratta di apidi (40,4 % del totale) e miridi (15,7% del totale). La tab. 9 e le fig. 47 e 48 mostrano la distribuzione di famiglie e ordini rilevati.

Tab. 9: ordini e famiglie di insetti diversi da lepidotteri determinati a Bologna nel 2009.

Ordini	Famiglie	n	%	Ordini	Famiglie	n	%
Dictyoptera	Blattellidae	35	2,90	Hymenoptera	Vespidae	78	6,46
Diptera	Syrphidae	21	1,74	Hymenoptera	Apidae	539	44,62
Diptera	Culicidae	3	0,25	Hymenoptera	Braconidae	4	0,33
Diptera	Tachinidae	11	0,91	Hymenoptera	Ichneumonidae	20	1,66
Hemiptera	Miridae	209	17,30	Hymenoptera	Pompilidae	1	0,08
Hemiptera	Flatidae	138	11,42	Hymenoptera	Chrysididae	2	0,17
Hemiptera	Pentatomidae	11	0,91	Hymenoptera	Sphecidae	1	0,08
Hemiptera	Cicadellidae	2	0,17	Hymenoptera	Formicidae	24	1,99
Hemiptera	Anthocoridae	13	1,08	Neuroptera	Chrysopidae	53	4,39
Hemiptera	Lygaeidae	3	0,25	Coleoptera	Coccinellidae	38	3,15
Orthoptera	Tettigoniidae	1	0,08	Coleoptera	Curculionidae	1	0,08

Fig. 47: famiglie di insetti diversi da lepidotteri determinati a Bologna nel 2009.

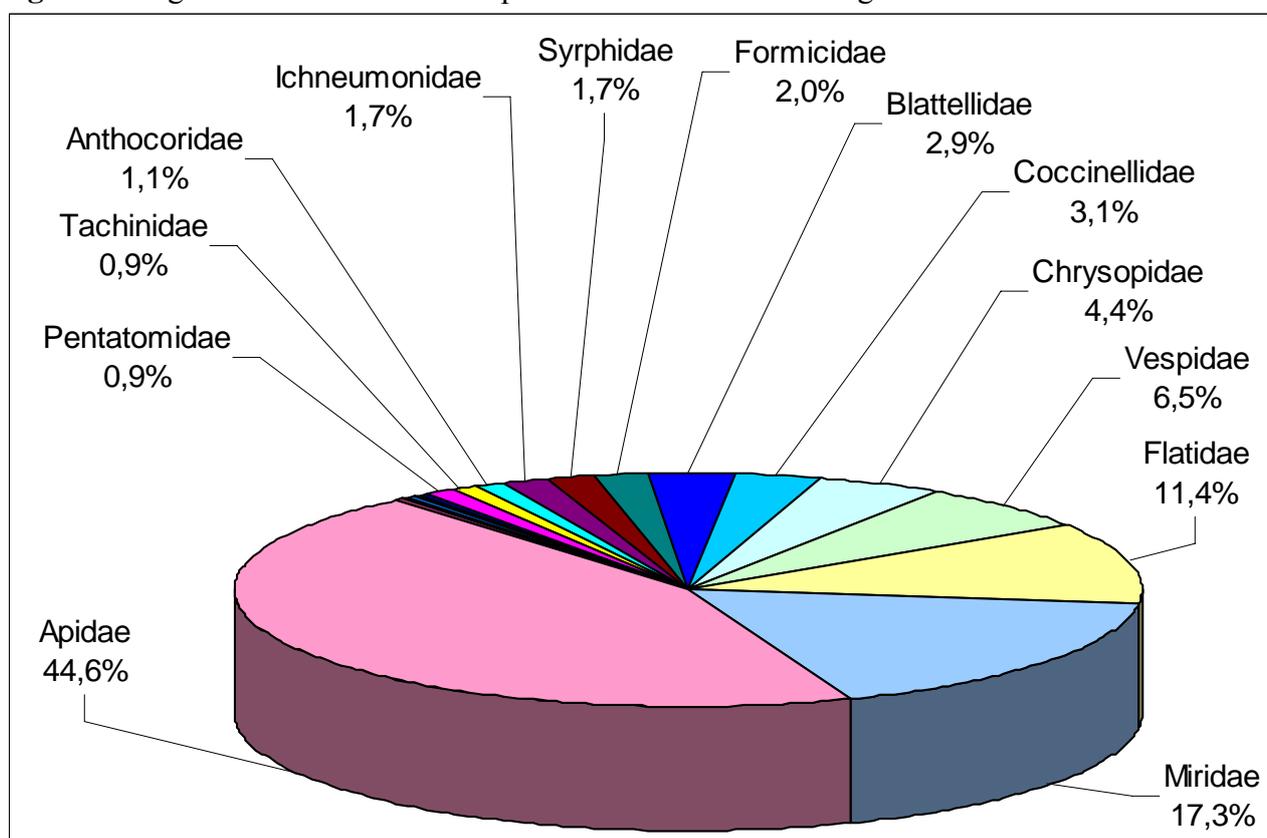
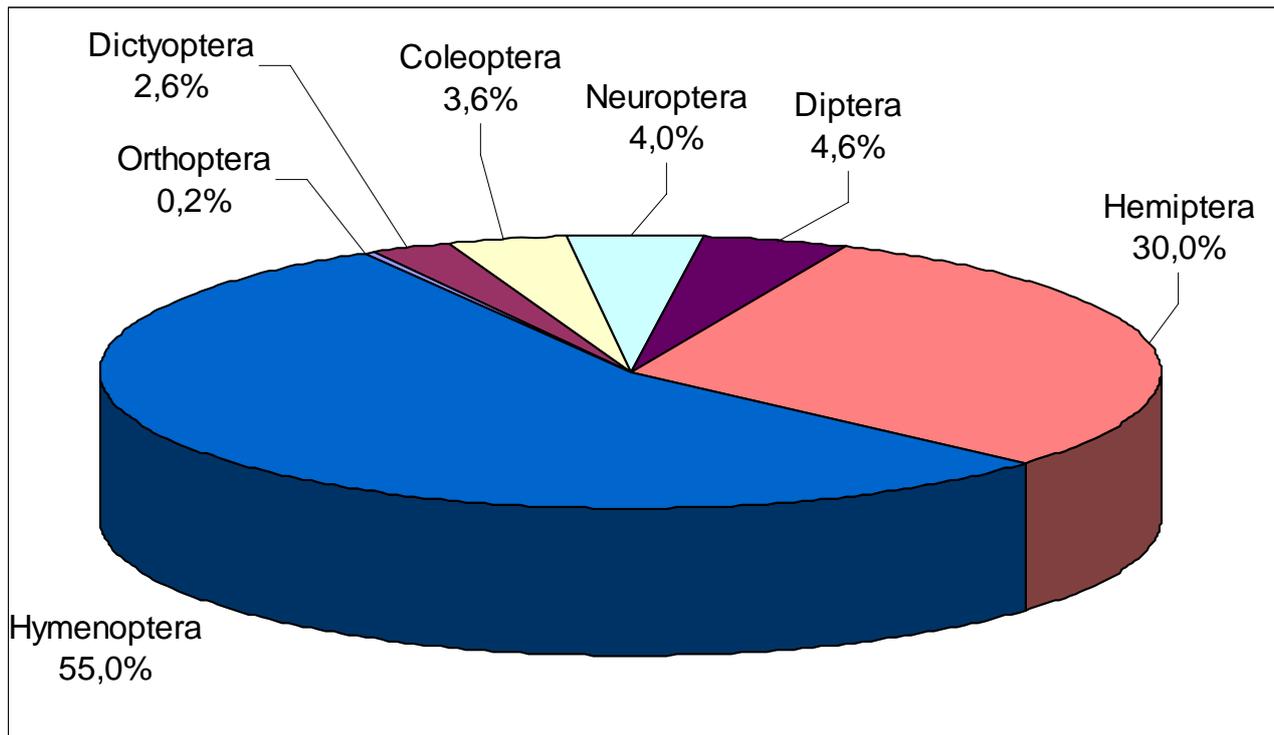
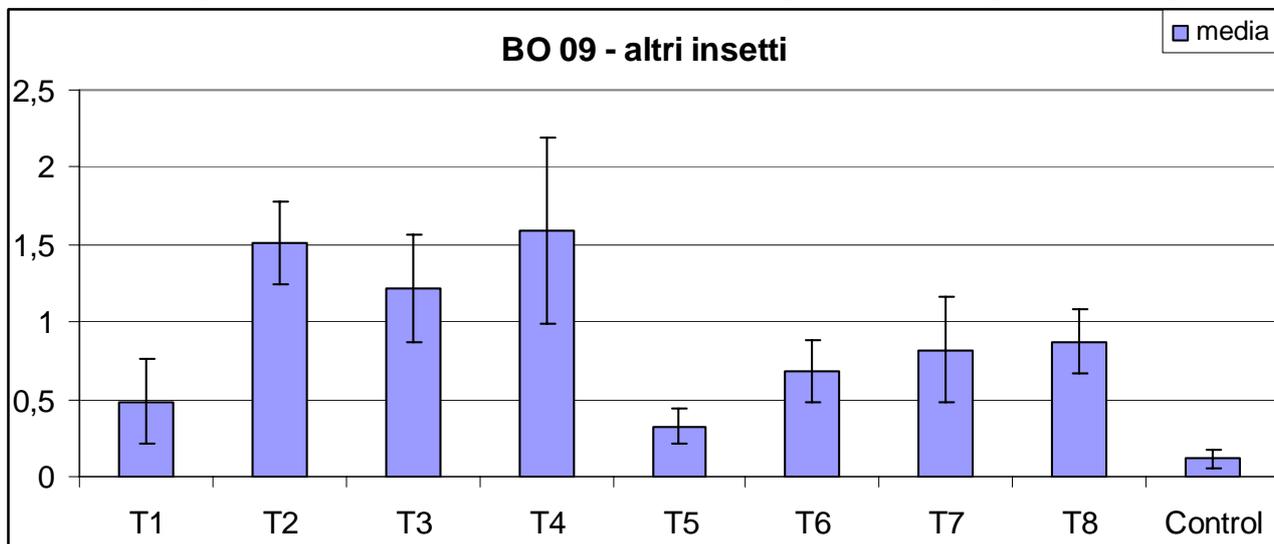


Fig. 48: ordini di insetti diversi da lepidotteri determinati a Bologna nel 2009.



La distribuzione rispetto alle miscele attrattive ha seguito un andamento simile a quanto osservato per i lepidotteri (fig. 49).

Fig. 49: media giornaliera delle catture di insetti diversi da lepidotteri a Bologna nel 2009. $p < 0,05$.



Analisi più dettagliate sono state effettuate per le famiglie maggiormente rappresentative (fig. 50 e 51).

Fig. 50: media giornaliera delle catture di apidi a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.

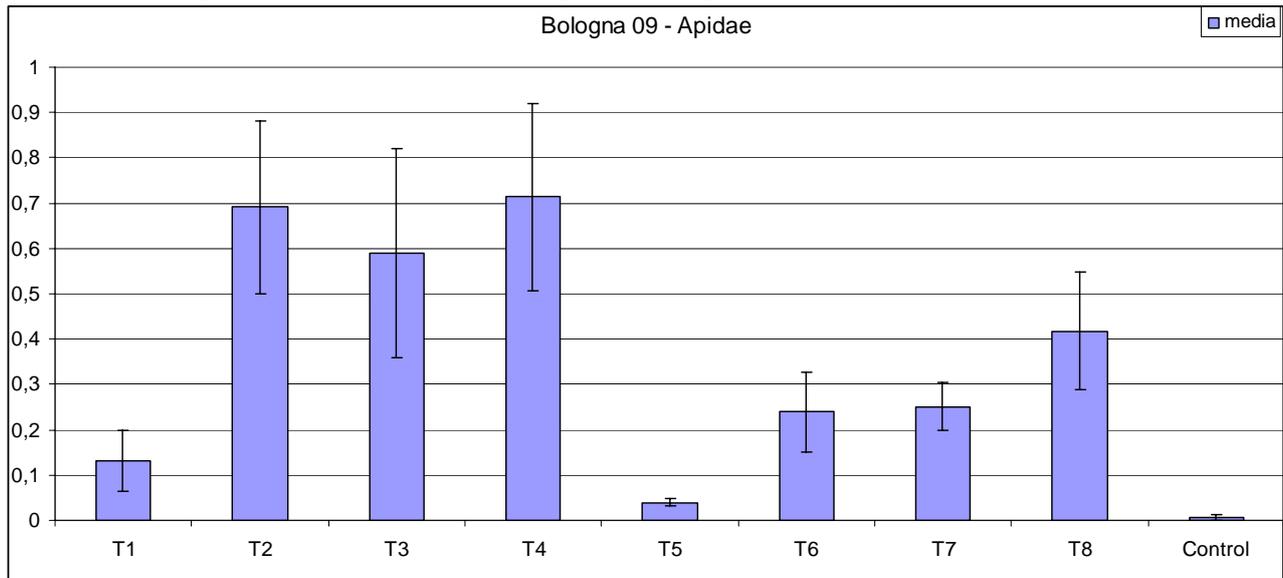
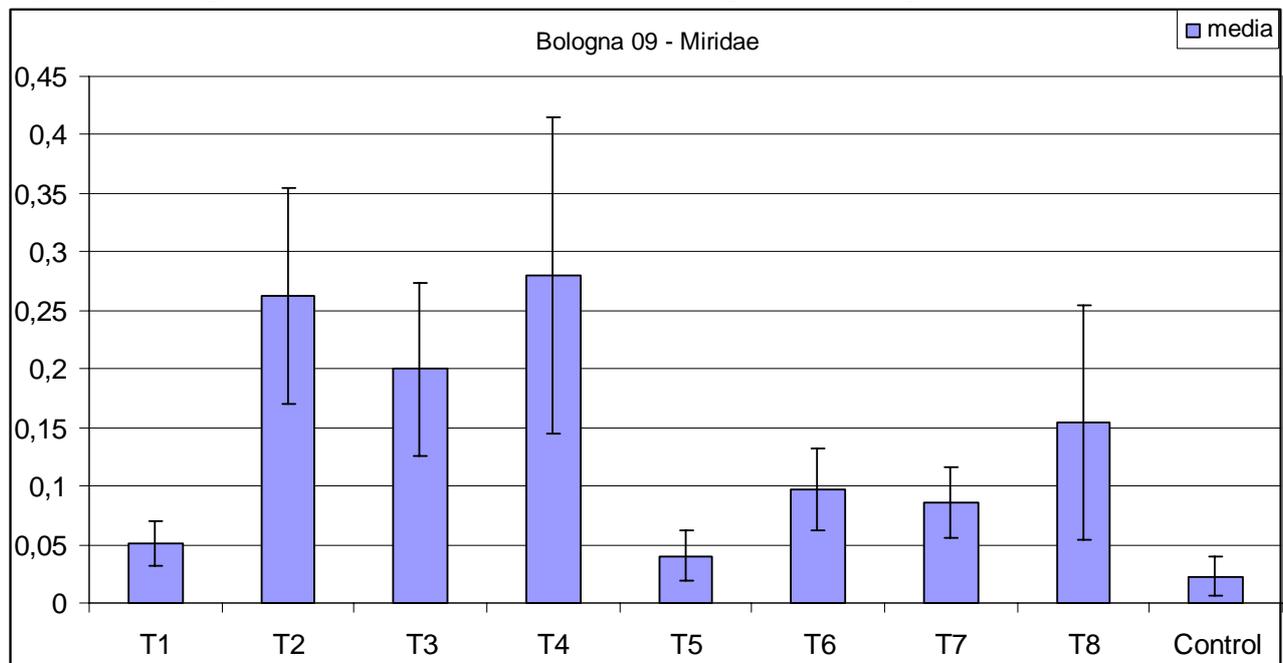
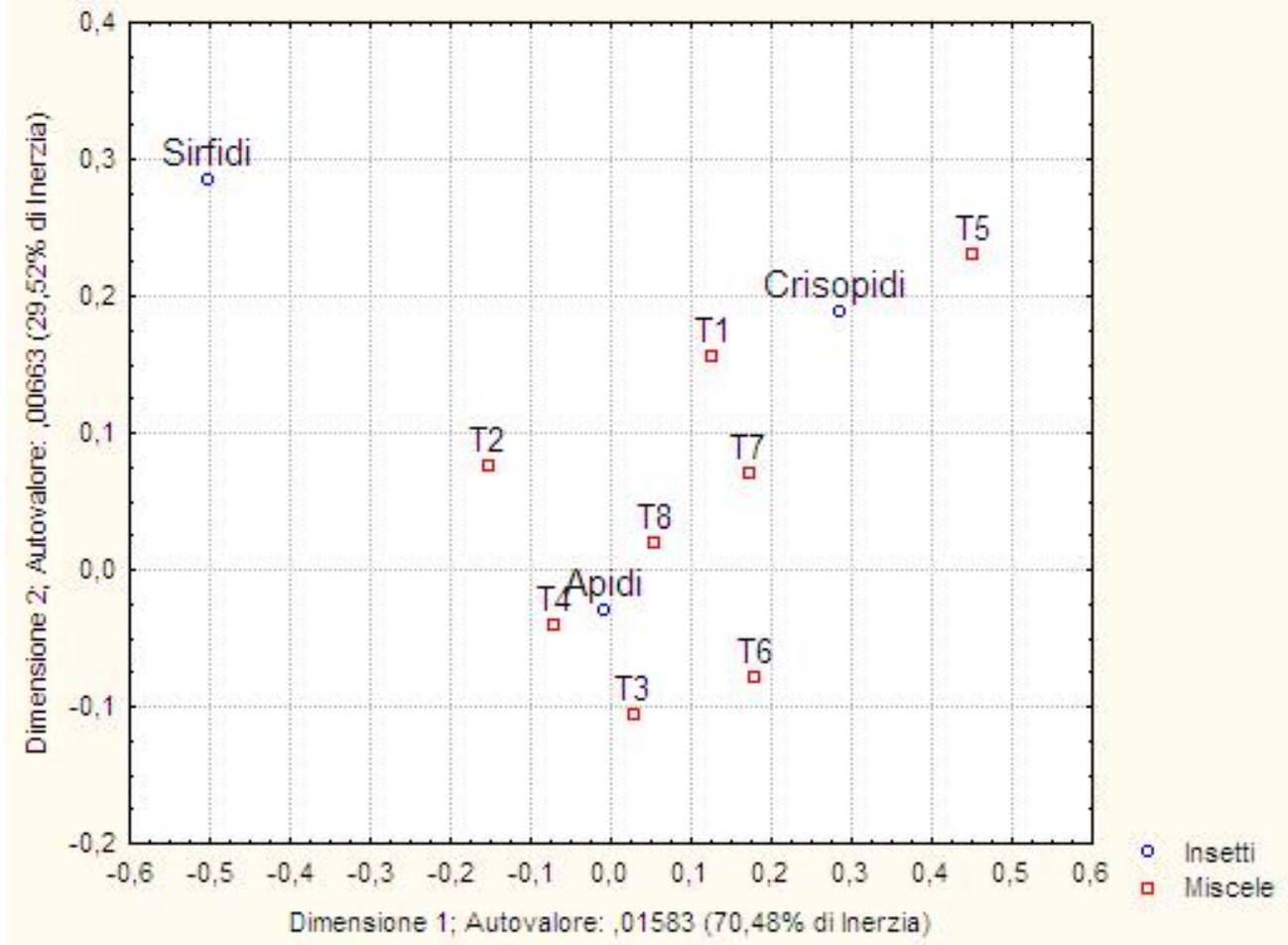


Fig. 51: media giornaliera delle catture di miridi a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.



Anche in questo caso, procedendo con un'analisi fattoriale delle corrispondenze sulle famiglie, scelte tra impollinatori e entomofagi, rappresentate da un maggior numero di catture. Come per le specie di lepidotteri, anche in questo caso emerge un diverso comportamento rispetto alle miscele attrattive (fig. 52). Analogamente a quanto osservato per *H. trifolii* tra i lepidotteri, i crisopidi sembrano mostrare preferenza per le concentrazioni più basse.

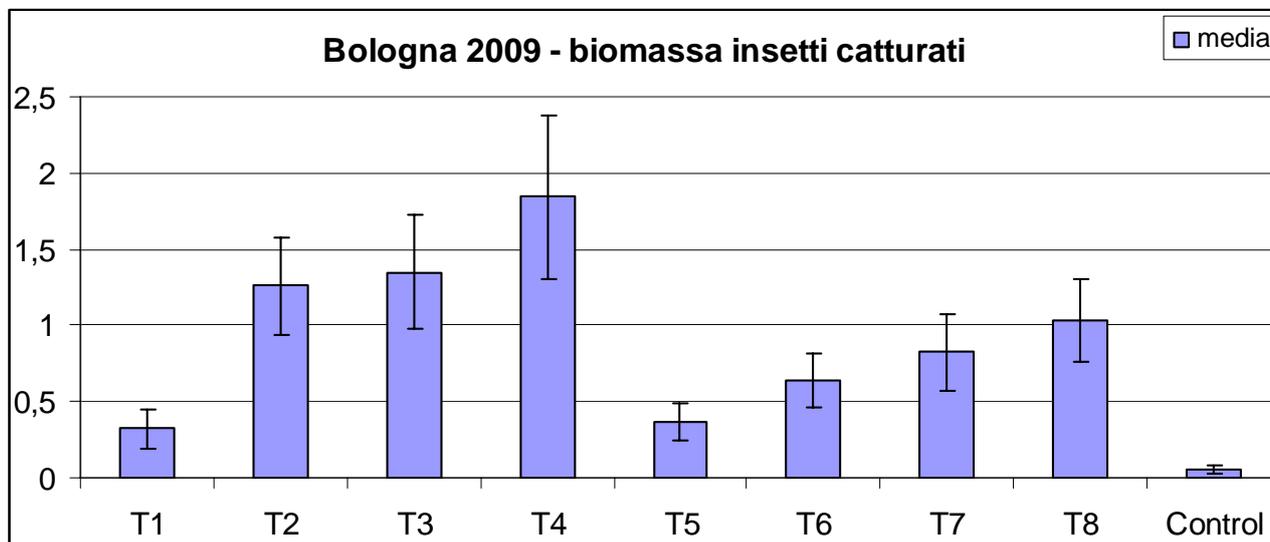
Fig. 52: Analisi delle corrispondenze. Apidi, sirfidi e crisopidi catturati a Bologna nel 2009.



Anche la rappresentazione grafica riguardante la biomassa degli insetti catturati a Bologna ha dato risultati simili a quella dei lepidotteri e a quella degli altri insetti rilevati (fig. 53).

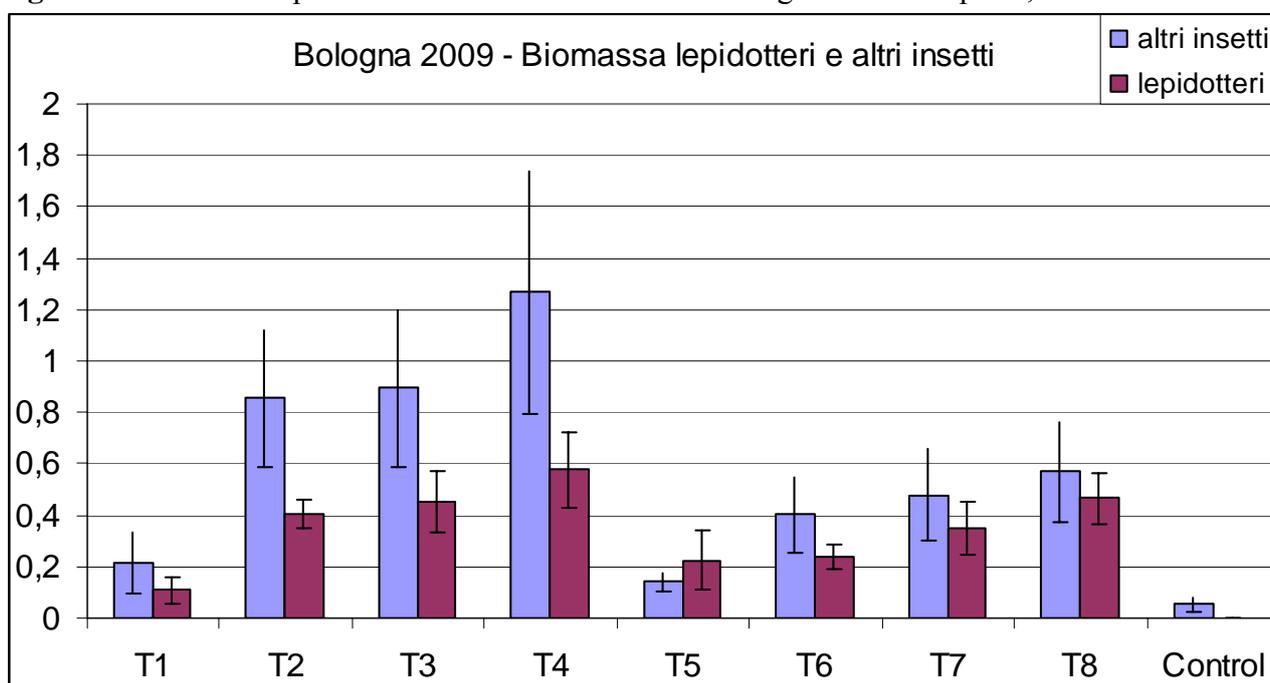
Elaborazione dati delle prove svolte nel 2009: biomassa

Fig. 53: biomassa degli insetti catturati a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.



Il confronto tra lepidotteri e altri insetti mostra un andamento molto simile (fig. 54).

Fig. 54: biomassa di lepidotteri e altri insetti catturati a Bologna nel 2009. $p < 0,01$.



Quello della biomassa è stato un calcolo puramente indicativo. Prima di tutto perché non è stata misurata la massa secca degli insetti, ma questi sono stati pesati al momento della raccolta delle trappole, al rientro in laboratorio. Più che una negligenza, si è proceduto in tal modo perché per valutare la sex-ratio dei lepidotteri

si è proceduto alla dissezione addominale e questa operazione non risultava compatibile con l'essiccamento degli esemplari. Per meglio dire, l'essiccamento e la successiva umidificazione dei lepidotteri avrebbe allungato oltre il limite possibile del tempo disponibile. In ogni modo, è stato un tentativo per capire se potrebbe avere un senso in futuro cercare di valutare l'andamento di un monitoraggio di questo tipo, magari molto più esteso o senza il tempo necessario all'analisi dei singoli campioni, valutando la biomassa di una parte specifica o del totale degli insetti catturati.

Per quanto riguarda l'analisi degli indici di diversità, i risultati non sono stati incoraggianti. Anche applicando formule di correzione quando il calcolo di un indice (per esempio quello di Shannon) avrebbe richiesto un campionamento ben più analitico di quello effettuato in questa ricerca, non si è arrivati a conclusioni accettabili.

Il confronto tra i vari indici considerati, comprendevano valutazioni sia dal punto di vista quantitativo sia da quello qualitativo e sono stati applicati sia ai lepidotteri che agli altri insetti. I tentativi di confronto per capire se i blend, o le loro diverse concentrazioni, potessero restituire valori confrontabili o proporzionali non ha svelato alcun rapporto con i valori di diversità ambientale derivati dagli indici.

In nessun caso è risultata alcuna coincidenza tra i valori calcolati nelle diverse stazioni.

Prove di laboratorio

Con l'anemometro si è misurato il flusso d'aria nei diversi punti della camera di volo e nelle camere degli odori del secondo modello di olfattometro costruito. Al centro, sui bordi e nelle parti mediane.

Con le ventole da 12 cm viene prodotto un flusso pari a 0,7 m/sec., mentre con ventole da 9 cm il flusso mostra un valore compreso tra 0,4 e 0,45 m/sec.

Il risultato è da considerarsi positivo soprattutto in quanto il flusso rimane costante da un estremo all'altro dello strumento, al centro delle camere come sui bordi.

Inoltre, provando a inserire CO₂ allo stato solido nelle camere degli odori si è osservato grazie alla visibilità della scia che il gas sublimato riesce a creare, che il flusso mantiene andamento lineare fino all'uscita della camera di volo.

Le prove preliminari con *O. nubilalis* (allevamento DiSTA) non hanno invece dato risultati soddisfacenti. Gli insetti, anche se pre-condizionati come indicato precedentemente, solo raramente sono stati in grado di adattarsi all'ambiente della camera di volo e di cercare controvento la traccia olfattiva generata da un blister di fenilacetaleide. Né i maschi del lepidottero hanno cercato di raggiungere la femmina vergine posta nella sezione apposita della camera degli odori.

Da verificare se la vicinanza della femmina alla ventola e l'ambiente troppo confinato abbia potuto provocare stress e inibire l'emissione di feromone sessuale.

Risultati più confortanti sono stati ottenuti con adulti di *Ae. albopictus*, catturati con aspiratore a bocca nel giardino della Facoltà di Agraria. Le prove hanno interessato campioni di femmine (n=20) e misto maschi-femmina (n=40), gli individui sono stati esposti alla traccia determinata da CO₂ allo stato gassoso e poi da uomo (una mano, nascosta per non stimolare la ricerca per via visiva).

Le femmine dell'insetto hanno dimostrato di essere a proprio agio all'interno dello strumento, di volare ed essere in grado di seguire la traccia olfattiva.

Il tempo dedicato alla costruzione del primo e poi del secondo olfattometro non ha permesso di andare oltre la verifica tecnica dei flussi e qualche prova preliminare.

Non essendo i culicidi oggetto della presente ricerca non si è ritenuto di dover procedere a prove più consistenti.

Il loro utilizzo è servito unicamente a valutare se lo strumento funzionasse a dovere.

C'è comunque intenzione di esplorare in futuro questa possibilità, oltre a provare se altri insetti possano essere adatti a prove con questo tipo di strumento.

CONCLUSIONI

Attività di campo

Le prove di campo svolte nei tre anni di ricerca hanno evidenziato la capacità degli estratti provati di attrarre numerose specie di lepidotteri, a livello sia quantitativo sia qualitativo.

L'importanza di questo dato risiede nel fatto che l'uso di questi attrattivi può essere utile nell'identificare precocemente insetti di nuova introduzione (non solo lepidotteri), in modo da prevenirne l'insediamento stabile e per un'indagine faunistica in territori dove si intende iniziare una campagna di controllo di insetti dannosi alle colture.

Sicuramente, non sembra sufficiente come tecnica di lotta biologica efficace laddove manchi il feromone specifico per la specie da contrastare.

La conformazione delle trappole scelte per la ricerca, adatte soprattutto per il monitoraggio di lepidotteri notturni, non ha consentito di valutare a pieno i risultati riferiti a tutte le specie presenti sul territorio, come ad esempio crambidi e geometridi. Inoltre, uno degli scopi della ricerca era quello di valutare le capacità attrattive generiche di queste esche alimentari e per questa ragione non è scelto un periodo specifico concomitante con picchi di attività di qualche specie in particolare.

La presenza cospicua di alcune specie (per esempio *O. nubilalis* nei campi sperimentali di Bologna) conferma che la vicinanza di determinate colture sicuramente ha un effetto importante sul numero di individui catturati. Per questa ragione, i risultati ottenuti non sono completamente valutabili dal punto di vista quantitativo.

Inoltre, non essendo state le prove affiancate da un monitoraggio specifico verso una o più specie, non si ritiene corretto valutare a pieno l'effetto sulla quantità di individui catturati.

Solo nelle prove svolte a Latina, a breve distanza dal campo sperimentale si svolgevano (non in relazione alla presente ricerca) prove di lotta biologica per il

controllo di nottuidi chiave per la coltivazione dello spinacio. Le trappole innescate con feromoni specifici per *A. gamma*, *H. armigera*, *S. exigua* e *S. littoralis* hanno mostrato una forte componente quantitativa di questi nottuidi sul territorio preso in esame.

Le esche alimentari hanno funzionato positivamente fornendo un dato di cattura cospicuo nel caso di *A. gamma* e *H. armigera*, che sono stati i lepidotteri maggiormente presenti. Al contrario, a fronte di importanti catture con feromone di *S. littoralis* e *S. exigua*, il numero di esemplari catturati nelle nostre trappole è risultato modesto.

Rimane perciò da valutare la causa della diversa capacità delle miscele utilizzate nei confronti delle specie di lepidotteri più importanti dal punto di vista agronomico.

Sarebbe necessario sapere se, in questo caso, tra i componenti scelti non ci sia qualche sostanza che induce una minor capacità attrattiva verso queste specie, o forse verso nottuidi appartenenti al genere *Spodoptera*.

Un dato importante è dato dalla differente capacità attrattiva delle miscele a minore concentrazione che sembra essere suggerita dagli studi con analisi multivariata, anche se non confermata dagli altri test statistici. Prove ad-hoc potrebbero essere svolte in modo da ottenere una maggior quantità di dati riguardanti questo parametro.

La differenza non significativa tra le tre rimanenti miscele sembra comunque indicare che non sembra fondamentale l'aumento della concentrazione oltre i 100 mg di PAA per ottenere risultati proporzionalmente migliori.

In ogni caso, ai dosaggi utilizzati non si è verificato un eventuale calo significativo per eccesso di fenilacetaldeide, come rilevato in precedenti ricerche (Meagher, 2001). Non è emersa una differenza significativa nel confronto tra i due blend e anche in questo caso sarà necessario svolgere ulteriori prove per verificare in quali casi sia indicato l'utilizzo di uno o dell'altro.

Un altro aspetto fondamentale è dato dalla capacità di attrarre le femmine di lepidotteri, perché potrebbe fornire dati rilevanti per verificare il funzionamento di altre metodologie di lotta più mirate a determinate specie.

La sex-ratio rilevata, al contrario di quanto rilevato in precedenti ricerche (Meagher, 2002; El Sayed *et al.*, 2005; Stringer *et al.*, 2008) è risultata differente, con presenza di femmine inferiore al 50% (in tutti tre gli anni di ricerca). Anche se il risultato rimane al di sotto delle aspettative suscitate dalle precedenti ricerche su lepidotteri nottuidi, la media del 40% di femmine catturate è da ritenere accettabile.

Con questo risultato è possibile ipotizzare l'utilizzo di queste esche direttamente sul campo coltivato perché potrebbe fornire dati rilevanti per verificare il funzionamento di altre metodologie di lotta più mirate a determinate specie come ad esempio la confusione sessuale.

La capacità di attrattivo generico esercitata da *C. arvense* aveva fatto ipotizzare una presenza di specie entomofaghe maggiore di quanto non si sia poi verificato.

In ogni caso, nella prospettiva di gestione complessiva dell'agroecosistema è interessante la presenza nelle trappole di numerosi insetti di importanza economica quali soprattutto api, ma anche crisope, sirfidi, coccinelle e tachinidi. Ripensando alla efficacia del sistema utilizzato questa volta, c'è sicuramente possibilità di utilizzare questo tipo di attrattivi con stazioni di monitoraggio costituite da trappole a disegno specifico per monitorare la presenza di insetti utili.

Una considerazione a parte merita l'assoluta assenza di lepidotteri ropaloceri all'interno delle trappole, malgrado la presenza di diverse specie viste nei pressi dei blocchi in campo al momento delle operazioni di raccolta dei campioni. Sono state rilevate numerose altre specie di insetti ad attività diurna, ma probabilmente la mancanza di una componente visiva che identificasse la fonte di cibo (e forse ancor una volta il tipo di trappole utilizzate) rimane un fattore discriminante per questi lepidotteri.

Per indagare su questo aspetto si potrebbe ricorrere a uno strumento di laboratorio quale l'olfattometro costruito, che consente di accoppiare la ricerca di segnali visivi e olfattivi.

Infine, il dato riguardante la possibilità delle miscele utilizzate per un monitoraggio della biodiversità. Malgrado l'ampio numero di specie rilevate, non sembra

confermato il dato riportato da El Sayed (2008) in una prova simile di confronto tra diversi blend sintetizzati a partire dai componenti volatili di *C. arvensis*. Dai dati ottenuti con la presente ricerca non pare possibile alcuna connessione tra tipo di miscela, o diverse concentrazioni della stessa, e indici di diversità, di tipo quantitativo o qualitativo.

Nel campo della risposta di insetti ai componenti volatili, un'altra pianta interessante e che potrebbe essere tema di ricerca per la sua attività repellente nei confronti di varie specie è *Nepeta cataria* L., una delle piante comprese nel termine comune di "erba gatta".

Sono stati approntati diversi studi di campo e di laboratorio che sottolineano il suo effetto repellente su blatte (Peterson *et al.*, 2002), su culicidi (Zhu *et al.*, 2006; Polsomboon *et al.*, 2008), coccinellidi (Riddick, 2008) e termiti (Peterson e Wilson, 2003; Chauhan e Raina, 2006). Sarebbe interessante introdurre una sperimentazione per determinare la risposta di insetti impollinatori e insetti nocivi per l'agricoltura verso i composti chimici che la pianta rilascia.

Prove di laboratorio

Le prove sono state condotte per verificare l'adattamento allo strumento e la presenza di un flusso che possa portare tracce chimiche in grado di essere percepite e non hanno alcun valore scientifico per l'assenza di protocollo sperimentale adeguato. Hanno dimostrato però che lo strumento è tecnicamente adatto a prove sperimentali. La verifica è servita a capire che i problemi incontrati con *O. nubilalis* sono probabilmente da risolvere agendo diversamente sull'insetto per consentire una reazione positiva ai flussi generati dalle camere degli odori.

In uno strumento di questo tipo è più facile ottenere un flusso di tipo laminare aumentando la velocità dell'aria. Allo stesso tempo, per effettuare saggi con lepidotteri non è consigliabile utilizzare un flusso d'aria che superi i 0,5 m/sec., (Visser e Griepink, 1996) mentre altri insetti, come i culicidi, si mostrano capaci di

cercare una traccia volando controvento con un flusso di velocità molto variabile, da 0,4 m/sec (Geier e Boeckh, 1999) fino a 1,8 m/sec (Mount *et al.*, 1976).

Si prevede perciò di studiare nuovi modi per condizionare questo insetto prima delle prove e cercare di eseguire saggi con lepidotteri e insetti di altre specie per arrivare al risultato di avere uno strumento che possa essere utilizzato per una gamma di sperimentazioni più ampia possibile.

Per la sua conformazione, l'olfattometro è in grado di ospitare generatori artificiali di tracce chimiche come individui vivi. Inoltre, l'estensione delle camere degli odori può servire per mostrare tracce visive anch'esse vive o artificiali.

La difficoltà tecnica maggiore da risolvere è legata al controllo della temperatura all'interno del laboratorio, in quanto l'assenza di possibilità di controllo dell'umidità e, soprattutto, della temperatura espone la possibilità di svolgere prove alle condizioni climatiche in particolar modo nel corso dei mesi primaverili ed estivi.

BIBLIOGRAFIA

- Andersson e Dobson, 2003 - Antennal responses to floral scents in the butterfly *Heliconius melpomene* - Journal of Chemical Ecology 29 (10): 2319- 2330.
- Andersson S., 2003 - Antennal responses to floral scents in the butterflies *Inachis io*, *Aglais urticae* (Nymphalidae), and *Gonepteryx rhamni* (Pieridae) - Chemoecology 13:13–20.
- Bazzocchi G.G., 1999 – Interazioni tritrofiche tra due specie del genere *Liriomyza*, la pianta ospite e il parassitoide *Diglyphus isaea* - tesi dottorato, 113 pp.
- Bazzocchi G.G., Maini S., 2000 – Ruolo dei semiochimici volatili nella ricerca dell'ospite da parte del parassitoidi *Diglyphus isaea* (Hymenoptera Eulophidae). Prove olfattometriche - Boll. Ist. Ent. “G. Grandi” Univ. Bologna 54: 143-154.
- Bernays E.A., Chapman R.F., 1994 – Host-plant selection by phytophagous insects: 312 pp.
- Burgio G., 1999 – La misurazione della biodiversità, con particolare riferimento all'entomologia agraria – Boll. Ist. Ent. “G. Grandi” Univ. Bologna 53: 1 – 27.
- Cantelo W.W., Jacobson J., 1979 – Corn silk volatiles attract many pest species of moths. Environ. Sci. Health A14 (8): 695 - 707.
- Cardè R.T., Millar J.G., 2004 – Advances in insect chemical ecology: 341 pp.
- Cardé, R.T, Bell, W.J., 1984 - Chemical Ecology of Insects: 540 pp.
- Cardé, R.T, Bell, W.J., 1995 - Chemical Ecology of Insects. 2nd ed: 433 pp.
- Chauhan K.R., Raina A.K., 2006 - Effect of catnip oil and its major components on the formosan subterranean termite *Coptotermes formosanus* - Biopestic. Int. 2(2): 137 – 143.

- Creighton C.S., Mcfadden T.L. and Cuthbert. E. R., 1973 - Supplementary data on phenylacetaldehyde: an attractant for Lepidoptera - J. Econ. Entomol. 66: 114-115.
- Cunningham J.P., Moore C.J., Zalucki M.P. and Cribb B.W., 2006 - Insect odour perception: recognition of odour components by flower foraging moths - *Proc. R. Soc. B* 273, 2035-2040.
- Cunningham J.P., West S.A., Wright D.J., 1998 - Learning in the nectar foraging behaviour of *Helicoverpa armigera* - *Ecological Entomology* 23 (4): 363-369.
- Dudareva N., Pichersky E., 2000 - Biochemical and Molecular Genetic Aspects of Floral Scents - *Plant Physiology* 122: 627–633.
- El Sayed A. M., Byers J. A., Manning L. M., Jürgens A., Mitchell V. J. and Suckling D. M., 2005 – Floral scent of Canada Thistle and its potential as a generic insect attractant – *J Econ. Entomol.* 101 (3): 720 – 727.
- El-Sayed A.M., Byers J.A., Manning L.M., Jürgens A., Mitchell V.J. and Suckling D.M., 2008 -Floral scent of canadian thistle, *Cirsium arvense* (L.) Scop and its potential as a generic insect attractant - *Journal of Economic Entomology* 101:720 - 727.
- El-Sayed A.M., Heppelthwaite V.J., Manning L.M., Gibb A.R. and Suckling D.M., 2005 - Volatile constituents of fermented sugar baits and their attraction to lepidopteran species - *J. Agric. Food Chem.* 53: 953 - 958.
- Galizia, C. G., Menzel, R., 2000 - Probing the olfactory code - *Nat. Neurosci.* 3: 853 – 854.
- Geier M., Boeckh J., 1999 - A new Y-tube olfactometer for mosquitoes to measure the attractiveness of host odours - *Entomologia Experimentalis et Applicata* 92: 9–19.
- Gould, J. L., 1993 - Ethological and comparative perspectives on honey bee learning. In *Insect learning - Ecological and evolutionary perspectives*: 18–50.

- Hansson B.S., 1999 – Insect olfaction: 457 pp.
- Harrington R., Stork N.E., 1995 – Insect in a changing environment - 17th Symposium of the Royal Entomological Society of London, 7-10 September 1993: 576 pp.
- Heip C., Engels P., 1974 – Comparing species diversity and evenness indices – J. Mar. Biol. Ass. U.K. 54: 559 - 563
- Howse P., Stevens J., Jones O., 1998 – Insect pheromones and their use in pest management: 369 pp.
- James D.G., 2004 - Further field evaluation of synthetic herbivore-induced plant volatiles as attractants for beneficial insects - Journal of Chemical Ecology 31 (3): 481-495.
- Kvedaras O.L., Del Socorro A.P. and Gregg P.C., 2007 - Effects of phenylacetaldehyde and (Z)-3-hexenyl acetate on male response to synthetic sex pheromone in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) - *Australian Journal of Entomology* 46: 224–230.
- Lichtenthaler H.K., Rohmer M. and Schwender J., 1997 - Two independent biochemical pathways for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants - *Physiol. Plant.* 101: 643–652.
- Maini S., Burgio G., 1990 – influence of trap design and phenylacetaldehyde upon field capture of male and female *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera, Pyralidae) and other moths – *Boll. Ist. “G. Grandi” Univ. Bologna* 45: 157-165.
- Maini S., Burgio G., 1993 – Relazione fra catture di adulti di *Ostrinia nubilalis* (Hb) in trappole a feromone sessuale e fenilacetaldide, su peperone sotto tunnel – *Boll. Ist. “G. Grandi” Univ. Bologna* 48: 101 - 107.
- Maini S., Burgio G., Carrieri M., 1991 - *Trichogramma maidis* host-searching in Corn vs. Pepper – REDIA, Vol LXXIV, n.3 “Appendice”: 121,127

- Meagher R. L., 2001 - Trapping fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) adults in traps baited with pheromone and a synthetic floral volatile compound – Florida Entomologist 84(2): 288-292.
- Meagher R.L., 2002 - Trapping noctuid moths with synthetic floral volatile lures – Entomologia Experimentalis et Applicata: 103: 219 – 226.
- Metcalf L., Metcalf E.L., 1992 - Plant Kairomones in insect ecology and control: 168 pp.
- Metcalf, R. L., 1987 - Plant volatiles as insect attractants - Crit. Rev. Plant Sci. 5 (3): 251-301.
- Mount G.A, Pierce N.W. and Baldwin K. F., 1976 - A new wind tunnel system for testing insecticidal aerosols against mosquitoes and flies - Mosq. News 36: 127–135.
- Mukwaya L.G, 1976 - The role of olfaction in host preference by *Aedes (Stegomyia) simpsoni* and *Ae.aegypti* - Physiological Entomology 1: 271-276.
- Nordén B., Paltto H., Göttmark F., Wallin K., 2007 - Indicators of biodiversity, what do they indicate? – Lessons for conservation of cryptogams in oak-rich forest – Biological conservation: 369 - 379
- Nordlund D. A., Jones R. L., Lewis W. J., 1981 – Semiochemicals. Their role in pest control: 306 pp.
- Ochieng S.A., Park K.C., Baker T.C., 2002 - Host plant volatiles synergize responses of sex pheromone-specific olfactory receptor neurons in male *Helicoverpa zea* - J Comp Physiol 188: 325–333.
- Paldi N., Zilber S., Shafir S., 2003 - Associative olfactory learning of honeybees to differential rewards in multiple contexts—effect of odor component and mixture similarity - Journal of Chemical Ecology 29 (11): 2515 – 2538.
- Parmesan C., Singer M.C., Harris I., 1995 - Absence of adaptive learning from the oviposition foraging behavior of a checkerspot butterfly - Animal Behaviour 50:161-175.

- Peterson C.J. and Wilson J. E. 2003 - Catnip essential oil as a barrier to subterranean termites (Isoptera: Rhinotermitidae) in the laboratory - Journal of Economic Entomology 96(4):1275 – 1282.
- Peterson C.J., Nemetz L.T., Jones L.M., and Coats J.R., 2002 - Behavioral activity of catnip (Lamiaceae) essential oil components to the german cockroach (Blattodea: Blattellidae) - J. Econ. Entomol. 95(2): 377 – 380.
- Plepys, D., Ibarra, F., Francke, W. and Löfstedt C., 2002 - Odour-mediated nectar foraging in the silver Y moth, *Autographa gamma* (Lepidoptera: Noctuidae): behavioural and electrophysiological responses to floral volatiles – Oikos 99: 75–82.
- Polsomboon S., Grieco J.P., Achee N.L., Chauhan K.R., Tanasinchayakul S., Pothikasikorn J. and Chareonviriyaphap T., 2008 - Behavioral responses of catnip (*Nepeta cataria*) by two species of mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Anopheles harrisoni*, in Thailand - Journal of the American Mosquito Control Association, 24(4):513-519.
- Raguso R.A., and Pichersky E., 1999 - A day in the life of a linalool molecule: chemical communication in a plant–pollinator system. Part 1: Linalool biosynthesis in flowering plants - Plant Species Biol. 14: 95–120.
- Riddick E.W., Brown A.E., Chauhan K.R., 2008 - *Harmonia axyridis* adults avoid catnip and grapefruit-derived terpenoids in laboratory bioassays - Bulletin of Insectology 61 (1): 81-90
- Shodotova A. A., 2008 - Pyralid moths (Lepidoptera, Pyraloidea) of Buryatia: family Pyraustidae - Entomological Review 88(5): 543–557.
- Story J.M., DeSmet-Moens H., Morrill W.L., 1985 – Phytophagous insects associated with Canada thistle, *Cirsium arvense* (L.) Scop., in southern Montana – Journal of the Kansas Entomological Society 58(3): 472-478.
- Stringer L. D., El Sayed A. M., Cole L. M., Manning L. M. and Suckling D. M. – 2008 – Floral attractants for the female soybean looper, *Thysanoplusia orichalcea* (Lepidoptera: Noctuidae) – Pest Manag. Sci. 64: 1218 – 1221.

- Takken W, van Loon J.J.A., Adam W. – 2001 - Inhibition in host-seeking response and olfactory responsiveness in *Anopheles gambiae* following blood feeding – Journal of Insect Physiology 47: 303-310.
- Theis N., 2006 – Fragrance of Canada thistle (*Cirsium arvense*) attracts both floral herbivores and pollinators – Journal of Chemical Ecology 32: 917-927.
- Videla M., Valladares G., Salvo A., 2006 - A tritrophic analysis of host preference and performance in a polyphagous leafminer - Entomologia Experimentalis et Applicata 121: 105-114.
- Vinson S.B., 1985. The behavior of parasitoids - Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology 9: 417-469.
- Vissen J.H. and Griepink F.C., 1996 - Wind tunnel bioassays of the *Symmetrischema tangolias* sex pheromone - In Griepink F.C., Analysis of the sex pheromones of *Symmetrischema tangolias* and *Scrobipalpuloides absoluta*, PhD Thesis Wageningen Agricultural University, Chapter 6: 93 – 101.
- Zhu J., Zeng X.O., Yanma, Liu T., Quian K., Han Y., Xue S., Tucker B., Schultz G., Coats J., Rowley W. and Zhang A., 2006 - Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes - Journal of the American Mosquito Control Association 22(3):515-522.

RINGRAZIAMENTI

Oltre a un generico ringraziamento verso tutto il personale del DiSTA – Entomologia, vorrei soffermarmi su qualche persona a cui sono particolarmente grato, ai quali tolgo i titoli perché il loro valore non l'ho mai misurato da quelli e sono convinto non se ne avranno a male.

Stefano Maini, che ho scoperto essere fonte inesauribile di idee e che ha saputo insegnarmi qualcosa di nuovo ogni volta che ci siamo incontrati. Barba bianca da saggio e mente giovane, sa insegnare modestia e passione. Ce ne vorrebbero di più, di quegli stampi.

Mario Marini perché senza di lui non mi sarei mai avvicinato con passione all'entomologia e per il prezioso contributo nella determinazione dei lepidotteri nottuidi.

Giovanni Burgio che ha trovato il modo di chiarirmi le idee sulle analisi statistiche durante l'elaborazione dei dati, togliendomi dalla grande confusione mentale che genera in me questa disciplina. Per la pallacanestro è un'altra questione.

Alberto Lanzoni per l'aiuto durante la raccolta delle trappole a Latina e per avermi donato la conoscenza di piatti e luoghi meravigliosi durante le trasferte.

Davide Montanari perché senza di lui citazioni e bibliografia di questa tesi sarebbero stati un problema. Sia per me sia per chi avesse dovuto interpretarli.

Giovanni Giorgio GioGio Bazzocchi mi ha aiutato a tornare a occuparmi di insetti ed ecologia. Si offrì di guidarmi alla scoperta di nuovi modi di intendere l'entomologia dedicandomi tempo infinito. Speriamo non se ne sia pentito perché ne ho ancora bisogno.

Gianumberto Accinelli che dall'alto del suo chilometrico nome mi ha coinvolto nel progetto Eugea senza ancora conoscermi più di tanto. O forse proprio perché non mi conosceva più di tanto.

Ernst-Jan Scholte durante interminabili brain-storming davanti a tavoli che si riempivano di boccali di birra vuoti, ha mantenuto in me accesa la passione per gli insetti. E per le moto.

Fabrizio Balestrino che con il suo successo mi ha riportato sulle strade di Vienna. Grande mente scientifica, pessimo approccio con i motori e il basket. Ma nessuno è perfetto.

Marco Carrieri, aiuto fondamentale per imparare a trovare ordine nel casino più totale. Avrei tante volte bisogno di averlo ancora vicino.

Eva Veronesi, la strega alla quale sono più affezionato. Riusciamo a capirci al volo anche a migliaia di chilometri e sa perdonarmi di non essere ancora andato a trovarla. Forse.

Willy the King, perché il ballerino nell'albero è una presenza fondamentale.

Ultimi e staccati dagli altri così forse si notano di più, Alessandra, Matilde e Davide perché senza di loro semplicemente non sarei.