



Università di Foggia

Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente

Dottorato di Ricerca in:

Territorio rurale e gestione sostenibile degli agrosistemi - XXVI Ciclo

**STUDIO SUL FEROMONE SESSUALE DI UNA POPOLAZIONE
ITALIANA DI *HELCOVERPA ARMIGERA* (HÜBNER) MEDIANTE
INDAGINE ELETTROFISIOLOGICA E DI CAMPO**

Tutor

Dott. Giacinto S. Germinara

Dottorando

Dott. Michele Di Cataldo

Indice

1 INTRODUZIONE.....	4
1.1 DATI ECONOMICI, DESCRITTIVI E DI MERCATO SULLA PRODUZIONE DI POMODORO DA INDUSTRIA	4
1.1.1 PROBLEMATICHE FITOSANITARIE DI CARATTERE ENTOMOLOGICO.....	6
1.2 PRESENTAZIONE DELLA SPECIE	9
1.2.1 MORFOLOGIA	9
1.2.2 PIANTE OSPITI	10
1.2.3 ADATTAMENTO ALL' AMBIENTE	11
1.2.4 BIOLOGIA	12
1.2.5 DANNI.....	16
1.2.6 METODI DI CAMPIONAMENTO.....	17
1.2.7 MEZZI DI LOTTA	20
2 SEMIOCHIMICI	21
2.1 SEMIOCHIMICI INTERSPECIFICI	22
2.1.1 INTERAZIONI SEMIOCHIMICHE TRA PIANTE E INSETTI	23
2.2 SEMIOCHIMICI INTRASPECIFICI	30
2.2.1 APPLICAZIONI PRATICHE DEI FEROMONI SESSUALI	35
2.3 STATO DELL' ARTE SUI SEMIOCHIMICI DI H. ARMIGERA	36
2.3.1 SEMIOCHIMICI INTERSPECIFICI	36
2.3.2 SEMIOCHIMICI INTRASPECIFICI	38
3 LA TECNICA ELETTROANTENNOGRAFICA (EAG).....	40
4 SCOPO DEL LAVORO.....	42
5 MATERIALI E METODI	44
5.1 STUDI ELETTROANTENNOGRAFICI	44
5.1.1 INSETTI.....	44
5.1.2 COMPOSTI	44
5.1.3 EAG.....	44
5.2 ATTRATTIVITÀ DI MISCELE FEROMONICHE	46
5.2.1 DESCRIZIONE DEI SITI.....	46
5.2.2 ATTRATTIVI SESSUALI.....	48
5.2.3 TRAPPOLE	50
5.2.4 CONFRONTO TRA MODELLI DI TRAPPOLA.....	51
5.3 ATTRATTIVITÀ DI VOLATILI VEGETALI	52
5.3.1 SCELTA DEI COMPOSTI.....	52
5.3.2 PREPARAZIONE DEGLI EROGATORI DI VOLATILI VEGETALI	53
5.3.3 RILASCIO DEI VOLATILI VEGETALI DAGLI EROGATORI	53
5.3.4 SAGGI DI ATTRATTIVITÀ.....	54
5.4 INTERAZIONE TRA FEROMONE SESSUALE E VOLATILI VEGETALI	54

5.5 ANALISI STATISTICA.....	55
6 RISULTATI.....	56
6.1 ELETTRANTENNOGRAFIA	56
6.2 PROVE DI ATTRATTIVITÀ IN CAMPO CON ATTRATTIVI SESSUALI	56
6.2.1 CONFRONTO TRA MODELLI DI TRAPPOLA.....	59
6.3 ATTRATTIVITA' DI VOLATILI VEGETALI.....	59
6.3.1 RILASCIO DEI VOLATILI VEGETALI DAGLI EROGATORI.....	59
6.3.2 ATTRATTIVITÀ IN CAMPO	60
6.4 INTERAZIONE TRA FEROMONE SESSUALE E VOLATILI VEGETALI.....	62
6.5 CURVE DI VOLO.....	63
7 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI	64
8 FIGURE	75
9 TABELLE.....	93
10 BIBLIOGRAFIA	100

1 INTRODUZIONE

1.1 Dati economici, descrittivi e di mercato sulla produzione di pomodoro da industria

Il pomodoro (*Lycopersicon esculentum* L.) è la seconda coltura vegetale nel mondo dopo la patata, con una produzione stimata di oltre 140 milioni di tonnellate ed con un tasso medio di crescita, registrato negli ultimi 10 anni, del 3,5%. A livello mondiale, il 75% del pomodoro prodotto è destinato al consumo come alimento fresco mentre il 25% è destinato alla trasformazione industriale con quattro tipologie di prodotto finito: pomodoro concentrato, passata, polpa, pelato. Una quota esigua è destinata ai “sughi pronti”.

Le regioni principali del mondo che consumano pomodoro sono la Cina, la Russia e i paesi della ex Unione Sovietica, i paesi dell’Africa mediterranea, l’America del Nord (Stati Uniti e Canada), l’Europa e l’India. Esistono tuttavia profonde differenze, tra queste aree, nel rapporto tra consumo di pomodoro fresco e pomodoro trasformato. In Cina ed India più del 95% del pomodoro consumato è fresco, mentre nei paesi dell’Unione Europea e in America del Nord, il prodotto trasformato è parte integrante delle abitudini alimentari, rappresentando più del 50% dei consumi totali di pomodoro.

I paesi leader, per la trasformazione industriale del pomodoro e la fornitura dei mercati del fresco sono, in ordine di importanza, Stati Uniti (in particolare lo stato della California), Cina, Italia e Spagna.

A livello europeo, l’Italia primeggia nel comparto del pomodoro trasformato superando di poco i 5.000.000 di tonnellate, su una superficie di 75.000 ha, e staccando nettamente la Spagna che si attesta intorno ad una produzione di 2.000.000 di tonnellate.

Gli Stati Uniti si pongono al vertice delle produzioni mondiali, con una produzione di circa 11.000.000 di tonnellate, seguiti dalla Cina con 7.000.000

di tonnellate. Buone performance produttive si registrano in Turchia, Iran, il Brasile e il Portogallo (Tab. 1).

Dalla localizzazione delle produzioni si denota come la coltivazione del pomodoro sia spalmata in diverse aree del mondo laddove trova le migliori condizioni pedo-climatiche per la sua coltivazione.

Il pomodoro è stato introdotto in Italia nel 1540, portato nel continente europeo dai “conquistadores” spagnoli, proveniente dalle Americhe (Cile, Perù ed Ecuador). Solo dopo il 1700 è divenuta una coltura preminente, trovando nelle regioni dell’Italia meridionale le condizioni climatiche e pedologiche adatte.

Quando il pomodoro è giunto in Italia aveva già subito processi di addomesticamento mentre nei luoghi di origine si trovano ancora specie allo stato selvatico, con bacca di colore giallo-oro.

In Italia tra il 1865 e il 1895 ebbe inizio la coltivazione del “pomodoro da industria” che attivò un polo di trasformazione industriale dapprima nel parmense e successivamente a Napoli. Nel 1875 l’astigiano Francesco Cirio creò la prima industria conserviera del meridione la cui eccellenza era rappresentata dalla trasformazione della tipologia “San Marzano” in pomodoro pelato.

Per circa un secolo l’agro Nocerino-Sarnese ha rappresentato per l’Italia il principale bacino di produzione e trasformazione del pomodoro, divenendo nel mondo il veicolo di vera e propria “cultura alimentare italiana”. In seguito, per problematiche sanitarie (insediamento di virosi nella coltura) e per la stanchezza dei suoli dovuta alla monosuccessione, la produzione agraria, fra la fine degli anni settanta e gli inizi degli anni ottanta si è spostata nella limitrofa regione Puglia, e in particolar modo nella provincia di Foggia, mantenendo comunque in Campania la trasformazione industriale.

Attualmente, in Italia, la produzione del pomodoro da industria è localizzata in un distretto del centro-nord rappresentato principalmente da Emilia

Romagna e Lombardia e nel meridione in Campania, Molise, Lucania, Calabria, Sicilia e Puglia.

Il panorama produttivo del pomodoro da industria a livello regionale (Tab. 2) mette in evidenza come le regioni più vocate siano quelle con territorio pianeggiante. L'Emilia Romagna (Pianura Padana) e la Puglia (Tavoliere delle Puglie) sono le regioni con le maggiori produzioni, anche in virtù del fatto che la forte spinta alla meccanizzazione ha trovato in queste regioni le condizioni più opportune. Le altre regioni italiane hanno livelli produttivi decisamente inferiori (Tab. 2).

A livello provinciale (Tab. 3), Foggia con i suoi 19.000 ettari investiti a pomodoro da industria è la provincia che maggiormente contribuisce alla produzione italiana.

L'Italia produce il 14,5% della produzione mondiale di pomodoro da industria e il solo comprensorio di Foggia fornisce il 4,38% dell'intera produzione mondiale. Tale dato evidenzia l'importanza a livello mondiale del territorio della Capitanata relativamente alla produzione di questa orticola.

Va inoltre sottolineato che in provincia di Foggia, oltre l'80% della sua produzione totale, viene coltivato pomodoro a bacca lunga per la produzione di pelato e che questo garantisce alle aziende di trasformazione di esportare pelati in scatola verso mercati molto esigenti quale quello britannico, tedesco e nipponico.

1.1.1 Problematiche fitosanitarie di carattere entomologico

La conduzione agraria del pomodoro da industria richiede l'impiego di notevoli risorse umane, di capitali e di mezzi tecnici tra i quali un peso di primaria importanza è assunto dall'impiego degli agrofarmaci. La natura intensiva, l'uniformità genetica del materiale vegetale e la semplificazione della coltura (Tremblay, 1982), infatti, mettono in evidenza il suo carattere di

“ecosistema semplificato”, caratterizzata da un’eco-resistenza insufficiente a contenere i diversi possibili agenti di malattie e danni.

La produzione del pomodoro da industria è insidiata da un cospicuo numero di insetti ed acari dannosi. In particolare, tra i lepidotteri, *Helicoverpa armigera* (Hübner), per le sue abitudini endofitiche in età larvali successive alla prima, l’elevata polifagia (oltre al pomodoro attacca altre solanacee come peperone e melanzana, ma anche mais e cotone) e l’elevata prolificità rappresenta la principale problematica entomologica del pomodoro. Le larve formano ampie cavità nelle bacche di pomodoro, accumulando escrementi più o meno liquescenti, che facilmente innescano processi di marcescenza. Frutti attaccati dal fitofago, possono sfuggire alle fasi di controllo e cernita in post-raccolta e finire nei prodotti confezionati (pelati, prodotti di IV gamma, ecc.). Altro Lepidottero che attacca il pomodoro è *Tuta absoluta* (Meyrick) gelechiide di origine sudamericana. Segnalato per la prima volta in Europa nel 2006 in Spagna, in pochi anni si è rapidamente diffuso in tutta Europa e nei Paesi del bacino del Mediterraneo compresa l’Italia (2009) ed è in forte espansione verso i paesi dell’Europa dell’Est e dell’Oriente. *T. absoluta* attacca principalmente le solanacee e soprattutto il pomodoro, suo ospite d’elezione, le larve scavano mine, inizialmente serpentiformi e successivamente di aspetto vescicoloso e irregolare, in genere sulle foglie, ma anche su piccioli, steli e frutti. In questi ultimi, inoltre, le larve scavano gallerie di penetrazione sviluppandosi endofiticamente.

Dannose alla coltura sono anche le larve terricole della nottua *Agrotis ipsilon* (Den. et Schiff.) e di coleotteri elateridi del genere *Agriotes*. Importanti sono i danni dovuti agli afidi *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas), *Aphis fabae* Scopoli e *Myzus persicae* (Sulser), per la loro attività trofica in tutti gli stadi postembrionali; inoltre, *M. persicae* è vettore dei virus CMV (Virus del mosaico del cetriolo) e PVY (Virus Y della patata). I livelli d’infestazione

sono correlati alle condizioni climatiche, la loro presenza può divenire massiccia con l'innalzamento delle temperature (22-28 °C).

Fra gli artropodi importante risulta essere la presenza anche dei tripidi *Frankliniella occidentalis* (Pergande) e *Thrips tabaci* (Lindeman); raramente i danni diretti da essi causati destano preoccupazione, in qualità di vettori del TSWV (Tomato Spotted Wild Virus), invece, diventano fitofagi primari.

Degli Aleurodidi, *Bemisia tabaci* (Gennadius) e *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), noti anche come mosche bianche, si deve segnalare la loro elevata attività trofica e la produzione di melata che imbratta le parti vegetative della pianta e in seguito favorisce la formazione di fumaggine.

Meritano menzione anche i minatori fogliari *Liriomyza trifolii* (Burgess), *L. bryoniae* (Kaltenbach), ditteri di piccole dimensioni che attaccano maggiormente il sedano, mentre il pomodoro è ospite secondario, in serra possono provocare gravi danni sulle giovani piantine di pomodoro. Da ricordare sono anche *Leptinotarsa decemlineata* (Say) e *Nezara viridula* (L).

Per quanto riguarda gli acari, la specie *Tetranychus urticae* Koch e *T. evansi* Baker & Pritchard devono essere tenute in forte considerazione visto che in annate particolarmente favorevoli (estati molto calde) possono dare luogo a consistenti pullulazioni che nei casi più gravi possono portare alla pressoché totale distruzione dei raccolti. L'attività trofica, presente in tutti gli stadi di sviluppo, debilita fortemente le piante di pomodoro.

Un significativo contributo alla riduzione dei costi di produzione del pomodoro da industria potrebbe derivare da una corretta gestione delle risorse fitoiatriche secondo i moderni principi della difesa integrata che è stata resa obbligatoria dal 1° gennaio 2014 (Direttiva UE 128/2009 relativa a “Uso Sostenibile degli Agrofarmaci”, recepita nell'ordinamento legislativo nazionale con Decreto Legislativo 14 agosto 2012, n. 150).

Il relativo piano di azione nazionale è stato approvato con decreto 22 gennaio 2014, pubblicato sulla gazzetta ufficiale n. 35 del 12.02.2014, definisce le

azioni da intraprendere per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n. 150 per "l'attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi".

In Capitanata, la principale avversità del pomodoro da industria è rappresentata dalla Nottua gialla, *H. armigera*; tuttavia, la scarsità di conoscenze sulla bioetologia di tale specie e la scarsa efficacia delle trappole a feromone utilizzate per il monitoraggio costringe ancora oggi all'adozione di rigidi schemi di "lotta a calendario".

1.2 Presentazione della specie

La nottua gialla, *Helicoverpa armigera* (Hübner), è un lepidottero nottuidе presente in tutti i continenti, in una area vasta comprendente l'Europa, l'Africa del Nord, equatoriale e del Sud, l'Asia, l'Oceania, l'Australia e la Nuova Zelanda (Sannino e Espinosa, 2009). Nel 2013, la sua presenza è stata segnalata in Brasile, in coltivazioni di soia e cotone (Czepak *et al.*, 2013).

1.2.1 Morfologia

Uovo - Ha una colorazione giallo pallido alla deposizione e brunastra a fine incubazione. Di forma subsferica - troncoconica con scultura corionale poco rilevata costituita da 20-30 coste verticali, di cui 12-13 raggiungono la regione micropilare, intersecata da 15-18 sottili nervature trasversali (Fig. 1).

Larva - Presenta sei età di sviluppo. La larva appena nata ha colorazione biancastra per poi virare verso il pallido. Il capo, il torace e le zampe presentano una colorazione brunastra e sulla superficie dorsale appare una macchia rosso tenue. La lunghezza della larva varia in funzione dell'età: 1,75

mm nelle larve di I età; tra i 3,5-4 mm e i 9-10 mm nella seconda e terza età. I successivi passaggi verso la larva di VI età comportano mutamenti nella colorazione del corpo dovuti alle condizioni climatiche e alla fonte di alimentazione. La larva matura misura in lunghezza tra i 34 e 42 mm. Lo sviluppo larvale si compie in tempi diversi in relazione alle condizioni climatiche. Al termine la larva migra verso il terreno dove, posizionandosi ad una profondità di 2,5-17 cm in funzione della tessitura del suolo, inizia la sua trasformazione in crisalide (Fig. 2).

Crisalide - Ha una colorazione marrone scuro e misura tra i 14 e i 18 cm in lunghezza. Sia anteriormente che posteriormente le teste sono rotonde e presenta, nella parte posteriore, due uncini. L'adulto emerge, nei mesi estivi, dopo circa 5-8 giorni.

Adulto - Adulto dimorfico con la femmina che presenta ali anteriori di colorazione giallo-arancione e il maschio grigio-verdastro o olivastro. L'osservazione dalla parte ventrale evidenzia le macchia reniforme e quella orbicolare in nero. La lunghezza dell'apertura alare è di 32-40 mm (Fig. 3).

1.2.2 Piante ospiti

Helicoverpa armigera è una specie estremamente polifaga ed è annoverata tra i fitofagi di maggiore rilevanza economica in diverse regioni del mondo. Uova e larve di *H. armigera* sono state rinvenute su oltre 60 specie appartenenti a 47 famiglie botaniche diverse (Zalucki *et al.*, 1986; Zalucki *et al.*, 1994). L'insetto attacca, nelle regioni tropicali e subtropicali, principalmente il mais e il cotone. Nelle altre zone del mondo e in Italia, le infestazioni del notturne riguardano maggiormente le colture ortive, principalmente il pomodoro, e secondariamente peperone, melanzane, patata,

fava, pisello, fagiolo, carciofo e lattuga (Pollini, 1998; Sannino e Espinosa, 2009).

Studi sulla preferenza dell'insetto verso diversi ospiti hanno individuato il pisello come la pianta ospite più adeguata, seguita da una dieta artificiale, mais, sorgo, fagiolo e tagete (Bantewad e Sarode, 2000; Hou e Sheng, 2000). In altri studi di laboratorio, tabacco, mais e girasole sono stati caratterizzati come gli ospiti maggiormente preferiti; soia, cotone ed erba medica come mediamente preferiti; cavolo, chenopodio bianco e semi di lino come ospiti meno preferiti (Firempong e Zalucki, 1990). In altri studi di preferenza alimentare il mais è stato indicato come ospite altamente preferito mentre il fagiolo è stato classificato come meno preferito (Jallow e Zalucki, 1998). Prove di alimentazione dell'insetto su *Azadirachta indica* A. Juss hanno classificato la pianta come ospite inadeguato per *H. armigera* (Ma *et al.*, 2000). La vite (*Vitis vinifera* L.) è considerata ospite non adeguato del fitofago, sebbene siano stati segnalati casi isolati di alimentazione delle larve su questa pianta (Kirkpatrick, 1961; Voros, 1996).

1.2.3 Adattamento all'ambiente

La polifagia riveste un ruolo fondamentale nella dinamica e nell'incremento della popolazione di *H. armigera* poiché consente lo sviluppo dell'insetto (1) su specie vegetali diverse nello stesso areale, (2) su una successione di colture differenti nel corso dei mesi, (3) in ambienti ostili finché la femmina non localizzi un ospite capace di alimentare e sostenere adeguatamente la progenie (Fitt, 1989).

Per fronteggiare la stagionalità degli ambienti, *H. armigera* adotta la strategia della redistribuzione spaziale mediante la migrazione e la diapausa nei periodi caratterizzati da alte o basse temperature (Farrow e Daly, 1987). L'elevata mobilità a lunga distanza rappresenta un fattore chiave nei processi di

colonizzazione degli habitat naturali. Importanza rivestono anche i movimenti a breve distanza tra le piante e dentro le piante per assecondare i cambiamenti igrotermici delle diverse stagioni, soprattutto in sistemi colturali ove le piante ospiti sono in continua variazione. La diapausa allo stadio di crisalide rappresenta un ulteriore fattore di successo nei processi adattativi di *H. armigera*, poiché consente la sopravvivenza della specie in periodi caratterizzati da assenza di piante ospiti o condizioni ambientali sfavorevoli che non permettono l'ovideposizione e la successiva alimentazione delle giovani larve. Le crisalidi sono più tolleranti rispetto agli altri stadi a condizioni estreme come periodi freddi o troppo caldi (Egar *et al.*, 1982; Rome 1979). Un regime fotoperiodico di 11,5:12,5 ore (luce:buio) accompagnato da basse temperature rappresentano fattori chiave per l'induzione della diapausa (Heckett e Gatehouse, 1982; Hardwich, 1965; Pearson, 1958).

L'elevata fertilità delle femmine è un ulteriore fattore di successo nei processi evolutivi della specie che consente, anche in poche generazioni, di incrementare in modo significativa la popolazione. La fertilità femminile è fortemente influenzata dalla temperatura, dall'umidità e dalla nutrizione degli adulti e delle larve (Nadganda e Pitre, 1983).

1.2.4 Biologia

H. armigera può esibire sovrapposizione di generazioni per cui in alcune regioni del mondo risulta difficile stabilire l'esatto numero di generazioni completate dal fitofago durante l'anno. Temperatura e disponibilità di piante ospiti sono i principali fattori che influenzano il numero di generazioni e la densità di popolazione di *H. armigera* (King, 1994). In genere, il numero di generazioni è di 2-5 nelle regioni subtropicali e temperate e superiore a 11 nelle condizioni ottimali che si verificano nelle aree tropicali (Tripathi e

Singh, 1991; King, 1994; Fowler e Lakin, 2001). Nelle regioni più calde dell'Australia l'insetto può completare oltre 7 generazioni all'anno (Kirkpatrick, 1962). In tali ambienti, se le larve non vanno in diapausa, 4 - 5 generazioni possono essere completate tra settembre e aprile e 1-2 generazioni durante l'inverno (Kirkpatrick, 1962; Maelzer e Zalucki, 1999). In Cina, *H. armigera* complete 3-4 generazioni annue (Xiao *et al.*, 2002). Nelle regioni costali dell'Est della Nuova Zelanda, dove il clima è più temperato e caratterizzato da temperature medie estive di 23,5 °C, l'insetto completa 2-3 generazioni annue (Cameron *et al.*, 2001). In Italia *H. armigera* compie 2 generazioni annue nel settentrione e 4 nelle regioni meridionali (Tremblay, 1993). In autunno, le larve mature si incrisalidano nel terreno dove svernano in diapausa, ciò permette all'insetto di superare il periodo termicamente avverso.

Gli adulti, nelle regioni del sud, compaiono a fine aprile, al massimo agli inizi di maggio, questo in stretta dipendenza delle temperature. La presenza delle femmine è leggermente anticipata (2-3 giorni) rispetto ai maschi. Per accoppiarsi e ovideporre gli adulti si nutrono tipicamente di nettare; amminoacidi e zuccheri sono i componenti chiave della loro dieta (King 1994; CAB, 2003). Dopo 2-5 giorni dallo sfarfallamento, la femmina rilascia il feromone sessuale, per richiamare il maschio, durante le ultime ore della scotofase con un picco nella sesta ora di buio (ultime ore di buio che precedono il mattino in estate). L'accoppiamento può avvenire 1-4 giorni dopo lo sfarfallamento ed è fortemente influenzato da umidità e temperatura; in genere esso cessa in condizioni di bassa umidità ed elevate temperature (King, 1994; Saito, 1999; Fowler e Lakin, 2001) mentre in condizioni ottimali già dopo la seconda scotofase la maggior parte delle femmine (80%) può risultare accoppiata. Le femmine si possono accoppiare più di una volta e in cattività sono stati osservati accoppiamenti multipli (King, 1994).

Una femmina produce in media 730-1702 uova con un massimo osservato di 4394 (fino a 450 in 24 ore) (King, 1994; Fowler e Lakin, 2001; CAB, 2003). Le uova possono essere deposte durante un periodo di 10-23 giorni (King, 1994). L'ovideposizione inizia tra il secondo ed il sesto giorno dopo lo sfarfallamento e generalmente avviene durante la notte (Kyi e Zalucki, 1991; Akashe *et al.*, 1997; Fowler e Lakin, 2001).

Le femmine hanno la tendenza a deporre uova singole, talvolta in piccoli gruppi, sulle o vicino alla strutture fiorali. Il picco dell'attività di ovideposizione, infatti, si verifica durante la fioritura (King, 1994). In funzione della qualità della pianta ospite, *H. armigera* può anche deporre le uova sulla superficie delle foglie preferendo foglie pubescenti piuttosto che foglie glabre (King, 1994). Per quanto riguarda il pomodoro, l'uovo viene deposto generalmente su porzioni di pianta in attivo sviluppo, su foglie, steli, boccioli fiorali e frutticini.

Una revisione di vari lavori sulla longevità degli adulti effettuata da King (1994), riporta una durata molto variabile compresa tra 5 e 36 giorni. La longevità degli adulti dipende da diversi fattori tra cui il peso delle crisalidi, la presenza di alimento (nettare) e la sua qualità (contenuto in zuccheri), temperatura, disponibilità di acqua, la pressione di entomopatogeni e di predatori. Le forme adulte, occasionalmente, volano anche durante il giorno alla ricerca di nettare e succo di frutti (Parenzan, 1994). In assenza di adeguate disponibilità di alimento gli adulti muoiono in pochi giorni (King, 1994).

Avvenuta l'ovideposizione, dopo 3 giorni di incubazione, nei periodi termicamente favorevoli (28-32 °C), o 10-14 giorni, nei periodi meno favorevoli, emergono le giovani larve. Dalla deposizione alla schiusura il colore dell'uovo evolve dal bianco giallastro e scintillante nella prima fase a marrone scuro ed infine alla fase di "testa nera" poco prima che dall'uovo emerga la larva. Non tutte le uova deposte sono fertili. I fattori fisici, quali

temperatura, umidità e pioggia possono influenzare notevolmente la sopravvivenza delle uova fecondate. In particolare, le alte temperature possono disidratare e devitalizzare le uova, così come la pioggia battente e il vento di notevole intensità possono staccare le uova dal substrato (foglie e steli) compromettendone la schiusura.

La larva della prima generazione si alimenta per 24-36 giorni, mentre quella della seconda si alimenta per 16-30 giorni, infine quella della terza per 19-26 giorni. A maturità la larva si incrisalida nel terreno. Lo sviluppo è rapido con temperature elevate, ma al disopra di 38°C la crescita rallenta. Sia la crescita larvale così come l'alimentazione rallentano fino ad arrestarsi al disotto di 12°C.

La crisalide impiega 13-19 giorni per evolvere in adulto nella prima generazione, 8-15 giorni nella seconda e terza generazione. Fino a 44 giorni in condizioni climatiche più sfavorevoli. Le crisalidi svernanti restano in diapausa per 176-221 giorni.

Gli adulti possono migrare anche per lunghe distanze (King, 1994; Zhou *et al.*, 2000; CAB, 2003). Le distanze coperte dagli adulti possono variare da 10 Km per i voli non migratori a oltre 250 Km in caso di voli migratori, questi ultimi probabilmente effettuati in presenza di scarsa qualità e disponibilità di piante ospiti (Saito, 1999; Zhou *et al.*, 2000; Fowler e Lakin, 2001).

Popolazioni europee di *H. armigera*, possono migrare per centinaia di chilometri e raggiungere luoghi più miti (Africa), aiutate in questo da venti di alta quota. Tuttavia, questo fenomeno pare sia alquanto limitato perché, pur avendo i suoi luoghi di origine nelle zone sub-tropicali, il nottuido ha sviluppato razze che si sono perfettamente adattate a vivere costantemente nelle zone che delimitano il Mediterraneo.

1.2.5 Danni

Il danno diretto di questo fitofago è provocato esclusivamente dallo stadio larvale. Il 90% dell'alimento utilizzato dalle larve è ingerito tra la terza e la sesta età. In particolare, le larve dell'ultima età consumano più del 50% della loro dieta.

H. armigera è il principale fitofago del cotone in Australia e Cina (King, 1994) in quanto tutti gli organi della pianta sono suscettibili all'attacco dell'insetto. La produzione di cotone in Cina è stata ridotta del 50-60% dagli attacchi di *H. armigera* che si sono verificati tra il 1980 ed il 1990 (Xiao *et al.*, 2002). Nel 1998 in Australia, nonostante sia stato sostenuto un costo per i trattamenti in media di 800 dollari/ha, l'insetto ha determinato una perdita del 7% nella produzione di cotone (Sequeira, 2001). In alcune regioni dell'India, *H. armigera* ha ridotto la resa di produzione di semi di cotone da 436 kg/ha nel 1986-87 a 168 kg/ha nel 1987-88 (Sekhar *et al.*, 1996; Loganathan *et al.*, 1999). Fagiolo e cece sono gravemente danneggiati in India, dove sono state registrate perdite tra il 90 ed il 100% della produzione nelle annate 1992/93 e 1997/98. Nel mondo, le perdite medie di produzione di cece dovute al fitofago è di circa il 10% equivalente a 300 milioni di dollari (Shanower *et al.*, 1997; Mulimani e Sudheendra, 2002; Sidde Gowda *et al.*, 2002).

Danni significativi su pomodoro sono stati segnalati anche in Burkina Faso, India e Nuova Zelanda, soprattutto su varietà tardive (Bouchard *et al.*, 1992; Cameron *et al.*, 2001). Su pomodoro, la larva appena emersa dall'uovo si alimenta con modalità ectofitica, compiendo erosioni su varie porzioni della pianta quali teneri germogli, steli e fiori, tenere foglioline. Nell'età larvale successiva l'insetto penetra nelle bacche del pomodoro, divenendo endofitica, principalmente attraverso la zona del residuo stilare e nei pressi del peduncolo. Se la larva penetra nel frutto nei primi stadi di sviluppo, questo va incontro a cascola, se invece la bacca ha raggiunto uno sviluppo maggiore, si può verificare che venga attaccata da microrganismi, andando incontro a

marcescenza, o che rimanga integra e vada a maturazione anticipatamente, esponendosi anche in questo caso a marcescenza per sovra maturazione (Fig. 4). Le larve, se non hanno ancora completato il loro sviluppo, possono uscire dal frutto e attaccarne altri, inoltre, possono cannibalizzare altre larve se contemporaneamente presenti nella stessa bacca. Quando il campo è ormai prossimo alla maturazione, le larve non penetrano più all'interno della bacca, ma la erodono esternamente, e questo aggrava ancora di più i processi di marcescenza. Non sempre si riesce ad eliminare, sia manualmente che con lettori ottici, le bacche infestate, con grave nocumento, sia del prodotto trasformato, che del danno economico per il produttore di pomodoro.

1.2.6 Metodi di campionamento

Nell'ambito della lotta agli organismi dannosi delle piante il quadro di riferimento è il “disciplinare di lotta integrata”, che ogni Regione ha provveduto a redigere. I disciplinari sono dei documenti tecnici che hanno la finalità di comunicare alle parti interessate le strategie più idonee per approntare la difesa di una determinata coltura dai parassiti in ambito di produzione integrata. Prima di intervenire con le misure più appropriate, è necessario attivare sistemi di monitoraggio diretto (esame visivo) e indiretto (trappole a feromone sessuale). L'esame visivo diretto di materiale vegetale per rilevare la presenza di uova e larve è frequentemente utilizzato per il monitoraggio e la stima della densità di popolazione di *H. armigera* in tutto il mondo. In Australia, su cotone si esaminano almeno 60 piante ogni 100 ha di superficie coltivata, il campionamento riguarda l'intera pianta durante la fase vegetativa e la sua parte terminale (approssimativamente gli ultimi 20 cm) durante la fase riproduttiva (Brown, 1984; Dillon e Fitt, 1995).

Il metodo di campionamento diretto su fagiolo prevede l'ispezione del terzo superiore della pianta (4 gruppi di 5 piante scelte su una superficie di 30 x 30 m) (Sigsgaard e Ersbøll, 1999).

In Italia, il metodo di campionamento diretto consigliato per il pomodoro consiste nell'analizzare 30 piante scelte a caso per appezzamento. Tale analisi visiva non deve interessare l'intera chioma di ogni pianta ma foglie della metà superiore della chioma vicine ai fiori aperti.

E' noto, infatti, che gli adulti hanno bisogno di alimentarsi di nettare prima della ovideposizione e che i fiori hanno un notevole potere attrattivo. E' stato dimostrato che le femmine ovideponenti poste in condizioni di scelta tra una pianta ospite senza fiori ed una pianta non ospite con fiori sono attratte ed evidpongono su quest'ultima (Firempong e Zalucki, 1990). Inoltre, nel caso del pomodoro, le foglie, piuttosto che i fiori e i frutti, rappresentano i siti preferiti di ovideposizione da parte del fitofago (Cameron *et al.*, 2001) e che le foglie presenti nella metà superiore della pianta sono preferenzialmente selezionate a tale scopo (Saour e Causse, 1993). Le larve di prima età che vivono compiendo erosioni sulla superficie di vari organi della pianta sono facilmente individuabili. Per le larve già penetrate nei frutti potrebbero essere visibili dall'esterno i fori di penetrazione ed eventuali escrementi; tuttavia, tali elementi diagnostici sono difficili da rilevare, per cui, in questo caso, la presenza dell'insetto può essere confermato solo attraverso la dissezione del frutto (CAB, 2003). In Italia, la soglia di intervento si considera raggiunta al superamento di una densità di 2 piante su 30 con uova o larve giovani del fitofago.

In considerazione della difficoltà ad individuare, con il campionamento visivo diretto, l'attacco di *H. armigera* una volta che le larve siano penetrate nei tessuti della pianta, diventa di fondamentale importanza l'adozione di un metodo di monitoraggio indiretto, quale quello basato sull'uso di trappole a feromone sessuale, che deve informare tempestivamente sull'inizio della

presenza di adulti in campo e, quindi, sulla necessità di avviare il monitoraggio diretto. Un sistema di “allerta” basato sull’impiego di trappole a feromone deve essere molto sensibile per cui richiede l’ottimizzazione di tutte le componenti (miscela feromonica, erogatore, modello di trappola ecc.).

Trappole a feromone attivate con una miscela 97:3 di (Z)-11-esadecenale e (Z)-9-esadecenale sono state utilizzate per il monitoraggio delle popolazioni di *H. armigera* (Pawar *et al.*, 1988; Loganathan e Uthamasamy, 1998; Loganathan *et al.*, 1999, Visalakshmi *et al.*, 2000) in varie aree del mondo. Studi sul dosaggio di feromone da utilizzare in campo hanno indicato che tra le dosi di 0,75, 1,0 e 1,25 mg/setto di gomma), quella di 1 mg è risultata la più efficace (Loganathan e Uthamasamy, 1998). Erogatori di gomma impregnati con 1 mg della suddetta miscela feromonica hanno ridotto la propria attrattività dopo 15 giorni di applicazione in campo rispetto ad erogatori appena attivati, per cui, per un efficace monitoraggio dei maschi del fitofago, è stato raccomandato di sostituire gli erogatori nelle trappole ogni 13 giorni (Loganathan *et al.*, 1999; Pawar *et al.*, 1988).

Il modello di trappola ha un impatto significativo sul numero di maschi di *H. armigera* catturati con il feromone. Trappole a imbuto e trappole a cono di rete sono più efficaci di quelle che impiegano superfici collanti (Kant *et al.*, 1999). In particolare, le trappole a cono di rete sono state utilizzate per monitorare efficacemente i voli degli adulti (Walker e Cameron, 1990). Efficaci sono risultate anche le trappole ad acqua anche se meno efficaci delle trappole a cono di rete (Sheng *et al.*, 2002). Per il monitoraggio dell’insetto dovrebbero essere utilizzate 5 trappole/ha (Sidde Gowda *et al.*, 2002) distanziati di 50 metri (Kant *et al.*, 1999).

1.2.7 Mezzi di lotta

Le recenti modifiche determinate dalla legislazione comunitaria sugli agrofarmaci hanno modificato l'insieme delle sostanze attive che possono essere utilizzate nel controllo di *H. armigera*.

In ossequio al P.A.N. la scelta della sostanza attiva da utilizzare è determinata dal disciplinare di produzione integrata approvato dalla regione in cui l'azienda agricola insiste.

Importante è il diverso timing di applicazione in relazione all'inizio del volo degli adulti. Metoxifenozone (gruppo Irac 18) e Clorantraniliprole (gruppo Irac 18), rappresentano le uniche sostanze attive ovo – larvicide che possono essere impiegate nei primissimi giorni dall'inizio del volo.

Qualora l'applicazione deve essere effettuata entro gli otto giorni dall'inizio del volo degli adulti, le sostanze attive da utilizzare sono l'Indoxacarb, appartenente alla famiglia chimica delle ossadiazine (gruppo Irac 22A), l'Emamectina benzoato (gruppo Irac 6) della famiglia delle avermectine ed il Clorpirifos metile (gruppo Irac 1B).

Per il controllo biologico, il disciplinare annovera formulati che contengono *Bacillus thuringiensis* varietà *kurstaki* (gruppo Irac 11A), l'Azadiractina A, derivato dalla pianta di Neem e lo *Spinosad*, ricavato dal microrganismo *Saccharopolyspora spinosa* (gruppo Irac 5), che contiene spinosine A e D.

La comunità scientifica ha scoperto negli ultimi anni preparati alternativi alle sostanze chimiche al fine di ridurre l'impatto ambientale come specie microbiche entomopatogene quali batteri, virus, protozoi, funghi, microsporidi, nematodi (Vega e Kaya, 2012). In tale gruppo appartiene un nucleopoliedrovirus per il controllo delle larve.

Al presente stato dell'arte, i bioinsetticidi non hanno ancora raggiunto il loro potenziale a causa della mancanza di tecnologie ad essi associate che ne incrementino l'efficacia (Glade *et al.*, 2012).

L'avvento delle nuove biotecnologie “omiche” come la genomica e la proteomica, consente di chiarire il ruolo di diverse molecole implicate nell'azione insetticida. Questo apre nuove frontiere per l'impiego con successo di “nuovi” e “vecchi” agenti entomopatogeni in programmi di controllo integrato.

2 Semiochimici

Gli insetti comunicano, al pari di tutti gli altri organismi viventi, per le necessità riguardanti il cibo, la protezione dagli agenti esterni, i messaggi sociali, la dispersione della specie, utilizzando sostanze chimiche oltre a stimoli visivi, tattili e comportamentali (Law e Regneir, 1971). Negli insetti adulti la localizzazione della pianta ospite e del sesso opposto è, quindi, mediata dall'attività di vari sistemi sensoriali. Gli stimoli olfattivi, visivi e sonori giocano un ruolo preminente nell'orientamento su lunghe distanze mentre i segnali adeguati per sensilli del gusto e tattili agiscono solo dopo che è stato stabilito il contatto.

Sebbene questi processi comprendano una complessa interazione tra i vari tipi di stimoli, i fattori chimici sembrano avere un ruolo di primaria importanza. Per la localizzazione del partner vengono utilizzati segnali visivi (Coleotteri Lampiridi ed Elateridi), sonori (es.: battimento nel caso degli insetti lignicoli, frizione di una parte del corpo contro un'altra negli Ortotteri, emissione di suoni di una data frequenza percepibili dalle femmine mature, come nella zanzara *Aedes aegypti* (L.) (Jones, 1968).

Tuttavia, il sistema più utilizzato è quello basato sulla comunicazione tramite sostanze definite semiochimici, ossia sostanze chimiche segnali. Il segnale chimico trasmesso dall'organismo emittente, che sotto l'influenza di stimoli esterni od interni produce una o più sostanze, necessita di un opportuno

mezzo disperdente (aria o acqua) per raggiungere i recettori dell'organismo ricevente.

Le sostanze chimiche agenti da messaggeri sono divise nelle due grandi categorie dei semiochimici interspecifici ed intraspecifici; i primi sono gli *allelochimici* mentre i secondi sono chiamati *feromoni*. I feromoni sono sostanze volatili emesse nell'ambiente da un individuo e ricevute da un altro della stessa specie nel quale provocano una reazione che può avere un effetto immediato sul comportamento (effetto *releaser*) oppure ritardato sui processi fisiologici connessi allo sviluppo o alla riproduzione (effetto *primer*). Una sostanza feromonica può avere anche più di un tipo di effetto ed agire nello stesso tempo da messaggero chimico intraspecifico ed interspecifico. Così un attrattivo sessuale di una specie può essere utilizzato da specie predatrici o parassite della stessa, al fine di individuarla e colpirla.

2.1 Semiochimici interspecifici

Per quanto riguarda gli allelochimici si possono avere fondamentalmente cinque tipi di sostanze: allomoni, cairomoni, sinomoni, apneumoni ed antiferomoni. In questo gruppo vengono incluse anche le sostanze emesse dalle piante e aventi effetti sul comportamento degli insetti.

Gli **allomoni** sono messaggeri chimici che determinano un vantaggio all'organismo che li emette e uno svantaggio per chi li riceve. Appartengono a questo gruppo le sostanze repellenti emesse da un insetto nei confronti di altre specie che potrebbero entrare in competizione per un medesimo substrato alimentare (effetto antifeeding). Anche le sostanze secrete da alcuni predatori per attirare le vittime appartengono a tale categoria.

Nel caso dei **cairomoni** il vantaggio è per l'individuo ricevente, mentre chi li emette subisce un danno. Predatori e parassitoidi sfruttano, nella ricerca delle loro vittime, gli odori da esse emessi.

I **sinomoni** sono sostanze che arrecano un vantaggio sia all'individuo che le emette sia a quello che le riceve. Vengono considerati sinomoni le sostanze emesse dai fiori delle piante ad impollinazione entomofila per attirare i pronubi e quelle prodotte dalla pianta, in seguito all'azione delle specie fitofaghe, per attirare i loro antagonisti naturali, parassitoidi e predatori.

Gli **apneumoni** sono sostanze provenienti da materia non vivente ed usati come messaggeri da specie sociali predatrici o parassitoidi (Nordlund e Lewis, 1976).

Gli **antiferomoni** sono sostanze utilizzate per l'isolamento riproduttivo, essendo in grado di inibire i maschi eterospecifici. Anche in questo caso una sostanza, in base all'organismo ricevente, può assumere diverse funzioni. Tali composti potrebbero essere utilizzati, ad esempio, per evidenziare la presenza di un parassitoide o di un predatore, allo scopo di razionalizzare la lotta chimica, e per trattenere o richiamare tali organismi utili in un determinato ambiente, per il controllo biologico del loro ospite.

2.1.1 Interazioni semiochimiche tra piante e insetti

Le piante rilasciano una moltitudine di caratteristici composti volatili che possono essere di ausilio ai fitofagi nella localizzazione della stessa. Il riconoscimento della pianta da parte di un insetto è mediato dalla presenza di determinati composti, molto spesso generici, dalla loro concentrazione e dai precisi rapporti tra le diverse sostanze. La sensibilità olfattiva degli insetti fitofagi si è comunque evoluta al fine di percepire alcune delle sostanze volatili della pianta. Il ruolo di questi odori consiste nell'orientare il fitofago verso la pianta adatta per l'alimentazione e l'ovideposizione.

L'insetto valuta continuamente le informazioni provenienti dall'ambiente circostante ed in funzione modula i suoi comportamenti. La scelta della pianta ospite avviene, attraverso la ricezione di informazioni esterne, in diversi stadi:

orientamento, atterraggio, esplorazione, alimentazione ed ovideposizione (Schoonhoven, 1968; Visser, 1983). In ogni fase relativa alla selezione della pianta ospite, la composizione della miscela odorosa percepita dall'insetto subisce delle variazioni, solo in prossimità della pianta il blend si stabilizza assumendo un carattere definito.

Gli odori emessi dalle piante si dividono in generali e specifici. I primi si originano per biosintesi con produzione di alcoli, aldeidi e derivati di acidi grassi insaturi (odori generali della foglia) (Visser, 1979); per fermentazione si può ottenere etanolo ed etilacetato e per polimerizzazione isopentilpirofosfato e terpeni (Luckner, 1972). I derivati della fermentazione attraggono varie specie di *Drosophila* (Hoffman e Parsons, 1984) ed alcune specie di Scolitidi, Cerambicidi e Cleridi (Montgomery e Wargo, 1983). I terpeni ed i derivati presenti nelle resine delle conifere attraggono un gran numero di insetti dannosi alle foreste ma anche viventi a carico delle Angiosperme; ciò indica che tali composti sono diffusi in quasi tutte le piante. Alcoli, aldeidi e derivati della foglia hanno attività su vari insetti. Tali composti, detti "odori della foglia verde" (GLVs), hanno manifestato la loro azione su un gran numero di insetti tra i quali *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Psila rosae* Fabricius, *Rhagoletis pomonella* Walsh, *Mamestra brassicae* L., *Anthonomus grandis* Boheman, *Ceratitidis capitata* Wiedemann, *Cydia pomonella* L., *Plutella xilostella* L. (Reddy e Guerriero, 2000).

Gli odori specifici derivano dalla scissione di prodotti secondari della pianta. Dai glucosinoli (contenuti nelle Crucifere ed altre famiglie minori) si forma isotiocianato (p.a. di alcuni formulati chimici preposti alla disinfestazione del terreno) (Finch, 1980; Luckner, 1972), dalla Spropenilcisteina (cipolla) i solfuri (Luckner, 1972) e dalla prunasina (*Prunus padus* L.) la benzaldeide (Luckner, 1972; Petterson, 1970). In particolare i glucosinoli in presenza di acqua e dell'enzima endogeno tirosinasi si idrolizzano originando composti

biologicamente attivi quali isotiocianati, nitrili, epitonitrili e tiocianati (Fahey *et al.*, 2001).

Gli odori possono avere affetto anche sulla larva. L'adulto e la larva di *Drosophila melanogaster* Meigen sono attratte dalla medesima sostanza (Rodrigues, 1980). Le larve di *Delia antiqua* Meigen sono attratte da un ampio gruppo di sostanze solforate, gli adulti da un numero più limitato delle stesse sostanze (Matsumoto e Thorsteinson, 1968; Soni e Finch, 1979).

Le sostanze chimiche vegetali attive sugli insetti, in base alle risposte indotte, permettono la differenziazione delle piante in attrattive e repellenti. In genere, le sostanze prodotte dalle piante agiscono da kairomoni, sinomoni ed allomoni. Tra le piante arboree attrattive per gli insetti vanno ricordate le specie appartenenti al genere *Quercus* L. Le foglie emettono (*E*)-2-esenale, che stimola le femmine di *Antherea polyphemus* Cramer ad emettere il loro attrattivo sessuale (Riddiford, 1967).

Diverse cultivar di melo e pero contengono nell'epicarpo α -farnesene, che attira le giovani larve di *C. pomonella* (Sutherland e Hutchins, 1973) e stimola l'ovideposizione nelle femmine adulte. Tra le sostanze volatili emesse dai frutti maturi di melo e pero è stato, inoltre, identificato l'etil-(2*E*,4*Z*)-decadienoato quale sostanza ad elevata attività kairomonale (Light *et al.*, 2001). Tale sostanza, comunemente definita "odore di pera", oltre che determinare una risposta altamente specifica, si è dimostrata attrattiva sia per gli adulti che per le larve di carpocapsa (*C. pomonella*) (Knight e Light, 2001). Il cotone emette cariofillene che, attirando gli adulti del predatore *Chrysopa carnea* Stephens, si comporta da sinomone (Flint *et al.*, 1979).

L'olio estratto dalle radici di *Acorus calamus* L. contiene alcuni principi attivi in grado di attrarre diversi insetti (Jacobson *et al.*, 1976); in particolare il β -asarone attira il maschio della mosca orientale della frutta, l'acoragermacrone la femmina della mosca del melone (*Dacus cucurbitae* Coquillett) e l'asarilaldeide il maschio e la femmina della mosca mediterranea della frutta

(*Ceratitis capitata* Wiedemann). Molte piante emettono fenilacetaldeide che attrae parecchi insetti fra cui *Spodoptera frugiperda* Smith e *Ostrinia nubilalis* Hübner (Cantelo e Jacobson, 1979).

Le piante repellenti, producendo sostanze ad azione sgradevole, realizzano un effetto del tipo insettifugo o antiovideponente. Foglie e fiori di *Tagetes minuta* L. contengono (*E*)-5-ocimenone, repellente sulle larve di *Aedes aegypti* L. (Maradufu *et al.*, 1978). La presenza di linalolo ad alte concentrazioni evita la deposizione di uova da parte del dittero tropicale *Anastrepha suspensa* L. in pompelmi acerbi ed arance. Il pomodoro e la cipolla hanno rispettivamente effetto repellente su *Pieris brassicae* L. e *P. rosae* (Tremblay, 1982).

Metaboliti secondari delle piante e loro ruolo nella comunicazione

chimica Le piante danneggiate meccanicamente o da un insetto producono composti chimici volatili diversi per quantità e qualità da quelli prodotti da piante integre. I composti emessi sembrano essere legati al fitofago (specie, stadio di sviluppo) ed alla pianta (specie, genotipo, età), sebbene anche gli stress ambientali possano determinare variazioni nella composizione delle sostanze. Tali composti determinano spesso meccanismi di difesa indiretta; ciò in quanto in grado di attirare predatori e parassitoidi e di indurre risposte di difesa nelle piante sane in prossimità di quelle infestate influenzando così il comportamento dei fitofagi, nel favorire o sfavorire le loro interazioni con le piante. Le piante di grano non infestate da afidi, per esempio, attirano tali emitteri, mentre quelle già attaccate rilasciano una miscela di composti ad azione repellente verso altri afidi (Quiroz *et al.*, 1997). Oltre a rendere un substrato vegetale appetibile o ripugnante per un fitofago, le sostanze emesse dalla pianta, in seguito ad un danno provocato da un insetto, possono intercedere nelle interazioni tra piante e terzo livello trofico, consentendo ai parassitoidi ed ai predatori di distinguere le piante infestate da quelle indenni.

È stato al riguardo dimostrato che piante di mais e cotone infestate da larve di Lepidotteri rilasciano composti che attirano i parassitoidi (Tumlinson *et al.*, 1993). Le piante anche appartenenti a famiglie differenti emettono miscele chimiche simili, ciò lascia ipotizzare che, nel corso delle infestazioni, vengano attivate vie biosintetiche comuni e che i prodotti possano essere percepiti da un ampio spettro di entomofagi. La capacità di questi ultimi di distinguere i segnali emessi dalle piante da quelli comunemente presenti nell'ambiente, indica che le piante danneggiate dai fitofagi emettono composti chimici che sono chiaramente distinguibili da quelli diffusi in risposta ad altri tipi di danno o da quelli rilasciati da piante non lese. La capacità del vegetale di differenziare le proprie emissioni in seguito al tipo di danno subito, potrebbe essere legata alla presenza di induttori associati all'attività di nutrizione dell'insetto, che sono assenti quando la foglia subisce un danno generico (Paré e Tumlinson, 1999).

Composti volatili emessi dalle piante in risposta ad un danno Le piante sono caratterizzate dalla presenza di metaboliti volatili emessi dalla superficie fogliare e/o da siti specifici localizzati all'interno della foglia, in cui tali sostanze vengono accumulate. Queste riserve chimiche costitutive, rappresentate spesso da monoterpeni, sesquiterpeni e composti aromatici, vengono accumulate in quantità considerevoli all'interno di strutture specializzate quali ghiandole o tricomi (Paré e Tumlinson, 1997a). Oltre a queste riserve, sono presenti un altro insieme di composti noti come “green-leaf volatiles”, che include alcoli saturi ed insaturi a sei atomi di carbonio, aldeidi ed esteri, prodotti attraverso la rottura dei lipidi di membrana e rilasciati dalla foglia in seguito ad un danno meccanico. Il danno causato dai fitofagi attraverso l'attività di nutrizione provoca, a livello delle parti di piante danneggiate, il rilascio di numerosi composti chimici volatili, che rendono i profili gas cromatografici di queste piante differenti da quelli di piante

indenni o che hanno subito un danno meccanico. Nel cotone, ad esempio, la rottura di particolari strutture presenti nelle foglie genera il rilascio dei terpeni immagazzinati ed aumenta l'emissione dei composti prodotti attraverso la via della lipossigenasi (GLVs). Mentre il rilascio di questi metaboliti risulta strettamente correlato al danno arrecato dall'insetto alla foglia (Loughrin *et al.*, 1994), l'emissione di un sottoinsieme di terpeni (linalolo, β -ocimene, α -farnesene, β -farnesene, nonatriene, tridecatetraene), dell'indolo (un composto contenente azoto) e dell'acetato di 3-esenile è regolata prevalentemente dal fotoperiodo, con bassi livelli durante la notte e livelli elevati durante il periodo di massima fotosintesi, sebbene il danno compiuto dall'insetto possa incrementarne l'emissione. Alcuni ricercatori Paré e Tumlinson (1997b) sostengono che i composti rilasciati in quantità più abbondante durante il giorno, soprattutto conseguentemente al danno compiuto dall'insetto, non vengano immagazzinati nella pianta ma sintetizzati *ex-novo*, seguendo vie biosintetiche che risultano connesse strettamente al processo fotosintetico. Il periodo di tempo che intercorre tra l'inizio del danno ed il momento in cui i composti indotti cominciano ad essere emessi, conferma l'ipotesi che per sintetizzarli sia necessaria una serie di reazioni biochimiche, che include anche l'espressione di geni, l'assemblamento di proteine e/o l'attivazione di enzimi.

Interazioni tra feromoni sessuali e semiochimici delle piante Composti volatili della pianta possono indurre varie tipologie di risposte comportamentali negli insetti (Reddy e Guerrero, 2004). Alcune specie di insetti sequestrano o acquisiscono sostanze della pianta ospite per utilizzarli come feromoni sessuali o loro precursori (Conner *et al.*, 1990; Nishida, 2002). Altre specie producono o rilasciano il feromone sessuale in risposta a specifici segnali chimici della pianta ospite (Hendrikse e Vos-Bunnemyer, 1987; McNeil e Delisle, 1989).

In alcuni casi, composti volatili della pianta possono avere un effetto inibente o repellente tale da interrompere la risposta dei maschi al feromone sessuale e al contempo essere attrattivi per predatori e parassitoidi della specie fitofaga che ne abbia determinato un danno meccanico (Landolt e Phillips, 1997; Reddy e Guerrero, 2004).

In altri casi, composti volatili della pianta ospite possono avere un effetto sinergico sulla risposta del maschio al feromone sessuale. La maggiore risposta del maschio al feromone sessuale in presenza di determinati composti volatili della pianta ospite è stata dimostrata in diversi ordini di insetti (Landolt e Phillips, 1997; Reddy e Guerrero, 2004).

Il primo caso di aumentata risposta al feromone in presenza di composti volatili della foglia verde (GLVs) è stato riportato da Dickens (1989) per il coleottero *A. grandis*. Un notevole incremento delle catture fu osservato allorché le trappole furono attivate con trans-2-esenolo, cis-3-esenolo o 1-esanolo ed il feromone di aggregazione dell'insetto. Inoltre, trans-2-esenolo dimostrò di migliorare la durata dell'attrattività delle trappole (Dickens, 1989). Diversi casi di sinergismo sono stati riportati tra i lepidotteri sia in studi di laboratorio che di campo. In particolare, nel genere *Helicoverpa*, il composto cis-3-esenil acetato è risultato sinergico del feromone sessuale di *H. zea* (Boddie) (Light *et al.*, 1993) ed *H. virescens* (Fabricius) (Dickens *et al.*, 1993). Il meccanismo comportamentale che sottende a questo fenomeno di sinergismo non è del tutto chiarito. E' molto probabile che l'interazione tra composti volatili della pianta ospite e feromone sessuale possa favorire l'incontro tra i sessi e l'isolamento riproduttivo della specie. Negli insetti fitofagi, infatti, l'incontro tra i sessi, il comportamento sessuale e l'accoppiamento avvengono principalmente o esclusivamente sulla pianta ospite che è in genere un'appropriata sorgente attrattiva. La combinazione di feromone sessuale e volatili della pianta probabilmente costituisce una più completa informazione per gli insetti in ricerca del partner suggerendo non

solo la presenza del sesso opposto ma anche di un ospite appropriato. Il miglioramento dell'attrazione dei maschi al feromone attraverso stimoli chimici volatili della pianta ospite assume un notevole interesse pratico nello sviluppo di efficaci sistemi di monitoraggio.

2.2 Semiochimici intraspecifici

I feromoni sono sostanze che agiscono tra individui della stessa specie. Il termine, derivato dal greco *phero* (trasporto) e *ormao* (stimolo), fu introdotto da Karlson e Butenandt (1958) per evitare confusione con gli ormoni.

I feromoni sono stati suddivisi da Shorey (1977) in base alla loro modalità di azione. I più comuni sono quelli di aggregazione, di dispersione, di aggressione, di riconoscimento e sessuali.

Feromoni di aggregazione - Sono messaggeri chimici che inducono avvicinamento alla sorgente odorosa, con conseguente aumento della densità di popolazione nelle vicinanze della fonte di emissione. Rientrano in questa categoria:

- (a) feromoni traccia o di pista delle termiti e delle formiche, depositati sul terreno (Gabba e Pavan, 1970);
- (b) feromoni marcanti delle api, depositati sui fiori;
- (c) feromoni di richiamo sessuale, emessi dall'individuo di un sesso per l'attrazione dell'altro sesso (spesso manifestano solo azione di richiamo ed arresto a cui segue l'emissione di altri feromoni sessuali o afrodisiaci per determinare l'eccitamento sessuale);
- (d) feromoni di coesione della colonia (es. il feromone emesso dalle ghiandole mandibolari della regina delle api con effetto coesivo immediato, detto anche inibitore per il suo effetto sulle gonadi delle operaie);
- (e) feromoni di colonizzazione, usati per indurre aumenti di una popolazione in habitat favorevole (larve e pupe di zanzare producono un

feromone che richiama le femmine ovideponenti; la femmina colonizzatrice, nei Coleotteri Scolitidi, emette feromoni che, insieme a composti prodotti dalla pianta attaccata, fungono da aggreganti per individui di entrambi i sessi);

(f) feromone gregarizzante presente nella cavalletta *Locusta migratoria* L.;

(g) feromoni di allarme a fini di difesa degli insetti sociali (inducono contemporaneamente comportamenti aggreganti ed aggressivi).

Feromoni di dispersione - Sono messaggeri chimici che inducono, con effetto immediato, movimenti centrifughi rispetto alla sorgente; stimolano quindi un comportamento contrario a quello provocato dai feromoni di aggregazione. Essi comprendono:

(a) feromoni di allarme di specie non sociali o sociali, ma non organizzate per la difesa, in cui l'emissione determina l'allontanamento rapido degli individui riceventi da quelli emittenti; stimolano la fuga o un comportamento di difesa. Tipico effetto disperdente mostra il composto trans-beta-farnesene, che è emesso dai sifoni o cornicoli degli afidi attaccati da predatori; esso causa negli altri afidi (anche di specie diversa) agitazione, allontanamento e caduta dalla pianta. Queste sostanze sono state sperimentate nella lotta contro di essi, irrorandole sulle foglie infestate per indurre gli insetti ad allontanarsi o per disgregare le colonie rendendole più vulnerabili ai trattamenti insetticidi. Anche negli insetti sociali il feromone di allarme può causare reazioni centrifughe, come nel caso della messa in salvo della prole (larve, uova, bozzoli) da parte delle formiche eccitate dalla sua ricezione. Le api operaie inoltre rilasciano un feromone di allarme: quando un individuo si sente in pericolo emette una sostanza (isopentil acetato o IPA), prodotta da una ghiandola annessa al pungiglione, che fa accorrere le altre api.

(b) feromoni deterrenti, emessi dalle femmine dei Ditteri Tefritidi e di Imenotteri parassiti, allo scopo di “marcare” il frutto nel quale hanno

deposto l'uovo e di limitare così il numero delle uova deposte, in considerazione della talora scarsa quantità di alimento a disposizione della discendenza. Questi feromoni (host marking pheromones) sono stati utilizzati sperimentalmente per il loro effetto deterrente sull'ovodeposizione, per difendere la frutta dall'attacco di tali Ditteri mediante trattamenti alle piante con prodotto di sintesi, in prossimità della maturazione.

(c) feromoni antiafrodisiaci, con cui i maschi di alcuni coleotteri (*Tenebrio molitor* L.) marcano le proprie femmine, tendenzialmente poligame, per impedire che altri maschi si accoppino con esse;

(d) feromoni antiaggreganti, emessi dai maschi di Coleotteri Scolitidi dopo la colonizzazione di un tronco di albero, per impedire il sovraffollamento;

(e) feromoni territoriali, che favoriscono il mantenimento dell'isolamento reciproco tra colonie di insetti sociali (es. *Bombus* spp., formiche).

Feromoni di aggressione - Sono definiti tali i feromoni di allarme delle specie organizzate per la difesa e alcuni feromoni di riconoscimento. I primi, di solito a rapida volatilizzazione, hanno effetto centripeto e provocano comportamento aggressivo (spesso sono prodotti da ghiandole annesse agli organi di difesa quali aculeo e mandibole). I feromoni di riconoscimento sono spesso odori individuali che talora inducono aggressione tra i membri della stessa colonia. Nelle api è noto il caso del comportamento aggressivo di una regina allorché percepisce l'odore di una regina estranea. Allo stesso modo agiscono gli odori individuali dei maschi durante la competizione per la femmina.

Feromoni di riconoscimento - Sono sostanze che favoriscono il riconoscimento individuale, dello stato fisiologico o dell'ambiente colonizzato. Svolgono un ruolo simile a quelli di aggregazione ma con meccanismi diversi; diversa è anche la loro natura chimica. Molto noti sono gli "odori della colonia" degli insetti sociali.

Feromoni sessuali - In senso lato sono complesse miscele di messaggeri chimici, uno dei quali, dotato di elevata attività biologica, funge almeno inizialmente da aggregante. Sono prodotti dalle femmine vergini in quantità dell'ordine di nanogrammi, in speciali ghiandole. L'emissione avviene in modo discontinuo durante determinati momenti della giornata (più frequentemente al tramonto e nelle prime ore di buio). I feromoni sessuali sono spesso costituiti da miscele (o bouquet) di sostanze (2, 3 o 4) in diversi rapporti, a seconda della specie, ciascuna delle quali trasmette un particolare messaggio. I componenti principali, quelli più volatili, esercitano il richiamo a lunga distanza; tale richiamo è intermittente e limitato a periodi del giorno ben precisi per ciascuna specie.

L'identificazione anche dei componenti "minori", grazie al perfezionamento delle metodiche analitiche, ha permesso di chiarire meglio il loro ruolo. Le molecole odorose, disperse nell'aria, vengono captate dai maschi, anche a notevole distanza, attraverso sensilli olfattivi situati nelle antenne. Lo stimolo olfattivo iniziale di natura nervosa, viene "tradotto" in stimolo motorio che induce il maschio a volare verso la fonte d'emissione, ai fini dell'accoppiamento.

A concentrazione maggiore, quale quella che percepisce un maschio in prossimità della femmina, esso può fungere da arrestante e spesso da stimolante sessuale vero e proprio. Nel giusto rapporto i componenti della miscela feromonica, di cui spesso due sono isomeri e presenti in un preciso rapporto, sono tra loro "sinergici intraspecifici", permettendo insieme il realizzarsi dell'intera catena comportamentale. In coincidenza della loro emissione i maschi di molti Lepidotteri espongono vistosissimi ciuffi odorosi (*coremata* o hair tufts o hair pencil).

L'emissione e la ricezione sono influenzate da condizioni intrinseche o fisiologiche (età, bioritmo giornaliero o stagionale etc.) ed estrinseche o ambientali (temperatura, velocità del mezzo disperdente, intensità luminosa,

vegetazione). Lo spazio circostante l'emissione presenta un gradiente di concentrazione ed è definito "spazio attivo" o "zona segnale". Esso è presunto di forma sferica in aria ferma, ed ellittica in corrente d'aria.

Tale supposto teorico potrebbe far pensare che i maschi si orientano in aria diffusamente permeata da molecole in concentrazione decrescente con la distanza dalla sorgente. Osservazioni di campo hanno, invece, dimostrato che i maschi di Lepidotteri Tortricidi si orientano più facilmente in presenza di sottili filetti odorosi (plumes), emessi da una sorgente di forma triangolare posta in atmosfera leggermente ventilata. In tali condizioni l'insetto si orienta più facilmente verso la sorgente odorosa con movimenti anemotattici a zig-zag (Lewis e Mackaulay, 1976) che permettono una valutazione continua e rapida dei confini della traccia odorosa. Esperienze di laboratorio dimostrano, inoltre, che i maschi si orientano bene anche in presenza di filetti odorosi in aria immobile. In natura l'andamento dei filetti odorosi è ovviamente influenzato dalla turbolenza dell'aria e sue canalizzazioni in rapporto a spazi occupati da oggetti di varie dimensioni.

Dal punto di vista chimico i feromoni appartengono alla classe degli idrocarburi ossigenati a medio-lunga catena (la gran parte da 10 a 20 atomi di carbonio); per quanto riguarda il gruppo funzionale sono più frequenti alcoli, aldeidi ed acetati. Particolare importanza ai fini dell'attività biologica hanno i diversi tipi di isomeria, che può riguardare la posizione dei doppi legami nella catena, la configurazione cis (Z) o trans (E) di questi ultimi (isomeria geometrica), la presenza di ramificazioni con la possibilità di isomeria ottica (forme R o S). Uno degli isomeri spesso agisce da inibitore del richiamo (antiferomone) per le altre specie, anche gemelle, ovviando alla non specificità del feromone di richiamo. L'esistenza di questo fenomeno può portare, nella sintesi in laboratorio, a differenza di quanto avviene in natura, alla formazione di isomeri che oltre a essere inattivi svolgono spesso un'azione di inibizione della capacità attrattiva della miscela.

Per la sintesi del feromone è necessario quindi ricorrere a metodi sofisticati e a successive purificazioni molto laboriose per riprodurre esattamente l'isomeria delle molecole naturali. Dalle prime esperienze degli inizi anni settanta ad oggi sono stati compiuti notevoli progressi per quanto riguarda le metodologie di estrazione e soprattutto analisi dei feromoni e ora questi ultimi sono di normale impiego per il monitoraggio di numerosi insetti dannosi.

Con il passare degli anni sono stati ottimizzati diversi processi di sintesi dei componenti delle miscele attrattive e di conseguenza l'elenco dei feromoni di sintesi attualmente disponibili è ormai molto lungo; quelli finora identificati superano di parecchio il migliaio e la maggior parte di essi è relativa a specie di Lepidotteri, i cui maschi sono molto sensibili al richiamo riuscendo a percepire, anche a notevoli distanze dal punto d'emissione, pochi miliardesimi di grammo.

2.2.1 Applicazioni pratiche dei feromoni sessuali

Normalmente i feromoni sessuali sono utilizzati per:

- catture spia, ovvero per catturare individui della specie da controllare allo scopo di stabilire le curve di volo della popolazione, di razionalizzare la scelta delle epoche di intervento e di ricorrere a mezzi di lotta idonei;
- cattura massale, ovvero per ridurre l'infestazione in atto mediante l'eliminazione del maggior numero possibile di maschi, in competizione con le femmine naturali, e prima che un certo numero di esse venga fecondato.
- disorientamento e confusione, ovvero per interferire con la normale comunicazione chimica di una popolazione determinando minori possibilità di accoppiamento.

La confusione del sesso ricevente viene realizzata:

(a) mantenendo un livello alto e costante di attrattivo nell'ambiente infestato, cercando di ottenere una saturazione dei chemiorecettori specifici posti sull'antenna dell'insetto e/o l'assuefazione del sistema nervoso centrale;

(b) immettendo nell'ambiente una quantità elevata di uno solo dei diversi componenti del feromone sessuale (inibitore o attrattivo), provocando uno sbilanciamento del rapporto ideale e la conseguente confusione;

Il disorientamento del sesso ricevente viene realizzato creando delle “false tracce di volo” con la distribuzione di un numero elevato di erogatori che emettono il/i composto/i attivo/i ad una concentrazione tale da simulare la naturale emissione della femmina vergine;

- la lotta attratticida, si realizza usando un feromone contemporaneamente ad un insetticida di contatto. Tale tecnica è consigliabile quando, essendo la composizione del feromone non completamente nota, l'insetto, pur se orientato, non atterra sulla sorgente odorosa; in tal modo i trattamenti chimici sono localizzati riducendo la dispersione di fitofarmaci nell'ambiente.

2.3 Stato dell'arte sui semiochimici di *H. armigera*

2.3.1 Semiochimici interspecifici

Diversi studi sono stati condotti allo scopo di identificare composti volatili di origine vegetali attrattivi verso gli adulti di *H. armigera*, soprattutto di sesso femminile.

Volatili della leguminosa *Cajanus cajan* si sono mostrati attrattivi per *H. armigera* (Rembold e Tober, 1987; Hartlieb e Rembold, 1996). Rembold *et al.* (1991) hanno dimostrato l'attività caïromonale dei volatili di cece (*Cicer arietinum*) verso gli adulti di *H. armigera* in esperimenti di laboratorio e

prove di campo. Composti floreali individuati in *Tagetes erecta*, e loro analoghi sintetici sono risultati attrattivi per la femmina di *H. armigera* (Bruce e Cork, 2001).

Jallow *et al.* (1999) hanno dimostrato che gli estratti di metanolo, etanolo, acetone e pentano di foglie e fiori di diversi genotipi di cotone influenzano il comportamento di ovideposizione di *H. armigera* in laboratorio. Le foglie appassite di *Pterocarya stenoptera* non supportano la crescita delle larve, ma le foglie appassite sono attrattive per adulti di *H. armigera* in Cina (Xiao *et al.*, 2002), come è anche il caso di foglie appassite di *Pupulus nigra* (Wang *et al.*, 2003).

Gregg (1993) ha dimostrato la presenza di polline di piante non ospiti larvali, del genere *Eucalyptus* e di generi delle famiglia delle *Brassicaceae*, sulla spiritromba di *H. armigera* indicando che il nottuide si nutre del nettare di queste piante.

Un certo numero di nottuidi risponde positivamente al composto fenilacetaleide (PAA) floreale. Gli odori floreali cis-jasmone, linalolo, acetato di benzile, limonene, beta-mircene, salicilato di metile, e metil-2-metossibenzoato, tutti aumentano le catture di nottuidi quando aggiunti a trappole con PAA, ma le risposte variano con la specie considerata (Meagher, 2001; Meagher 2002; Meagher e Landolt, 2008).

Del Socorro *et al.* (2010a) e Gregg *et al.* (2010) studiando la risposta comportamentale di femmine di *H. armigera* a diverse miscele di composti volatili di origine vegetale hanno proposto un approccio allo sviluppo di attrattivi sintetici chiamato “super-blending” in cui tutti i composti delle classi chimiche che sono comuni nelle piante potrebbero essere combinate in una miscela senza imitare una particolare pianta attrattiva. La miscela attrattiva definita sulla base di tali studi è stata successivamente studiata in laboratorio e in campo in combinazione con diversi insetticidi al fine di sviluppare un formulato da utilizzare per il controllo integrato di *H. armigera* e di *H.*

punctigera (Wallengren) secondo la tecnica “attract and kill” (Del Socorro *et al.*, 2010b).

2.3.2 *Semiochimici intraspecifici*

La prima segnalazione sulla presenza di un feromone sessuale in *H. armigera* si deve a Piccardi *et al.* (1977) i quali, nel corso di prove di attrattività in campo, condotte in Sudan, per valutare l'attrattività di miscele feromoniche sintetiche verso insetti dannosi al cotone, evidenziarono un certo effetto attrattivo di (Z)-11-esadecenale (Z11-16:Ald) nei confronti dei maschi del fitofago.

L'analisi chimica delle sostanze presenti in estratti da apici addominali di femmine vergini di *H. armigera* del Malawi ha evidenziato la presenza di almeno 5 composti a presunta attività feromonica ed in particolare di Z11-16:Ald, (Z)-11-esadecenolo (Z11-16:OH), esadecanale (16:Ald), esadecanolo (16:OH) rispettivamente nei rapporti 22:0,8:3:1,6 mentre la presenza di (Z)-9-esadecenale (Z9-16:Ald) (quinto componente) è stato riscontrato solo in alcuni individui (Nesbitt *et al.*, 1979). Studi successivi hanno però evidenziato un ruolo fondamentale di Z9-16:Ald per l'attrazione dei maschi della specie (Kehat *et al.*, 1980). Ulteriori studi su popolazioni israeliane del fitofago hanno identificato in estratti ottenute da apici addominali delle femmine vergini la presenza di Z9-16:Ald, Z11-16:Ald, 16:Ald e 16:OH nel rapporto rispettivamente di 3:87:4:6 ed hanno confermato che le prime due aldeidi sono essenziali per l'attrazione (Dunkelblum *et al.*, 1980).

Recenti studi su popolazioni cinesi del lepidottero (Zhang *et al.*, 2012) hanno confermato che Z11-16:Ald è il componente principale del blend feromonico, giocando un ruolo attivo nella comunicazione a distanza, così come Z9-16:Ald riveste un'importante funzione nelle interazioni di breve distanza come l'approccio e il corteggiamento. Inoltre, gli stessi studi hanno

dimostrato che l'aggiunta di Z9-14:Ald migliora l'attrazione dei maschi confermando studi condotti in Australia (Rothschild, 1978) e confutando ricerche svolte in Israele (Kehat e Dunkelblum, 1990). Gli studiosi hanno argomentato la contraddizione degli studi precedenti come conseguenza della possibile influenza esercitata dai diversi rapporti tra i componenti utilizzati nella preparazione dei blend sperimentali.

Numerose altre ricerche, principalmente su popolazioni asiatiche, indagando sul blend feromonico di *H. armigera*, hanno evidenziato l'esistenza di variazioni geografiche nella sua composizione e al contempo un certo polimorfismo nella risposta dei maschi (Kehat e Dunkelblum, 1990; Tamhankar *et al.*, 2003; Anju *et al.*, 2004). Ciò potrebbe spiegare la scarsa efficacia dimostrata nei nostri ambienti dagli attrattivi sessuali attualmente in commercio per il monitoraggio del fitofago.

In breve, dati di letteratura indicano che per l'attrazione dei maschi sono necessari il componente principale Z11-16:Ald ed il componente secondario Z9-16:Ald. Tali composti, saggiati in diversi rapporti e in diverse aree sono risultati attrattivi in un ampio intervallo di combinazioni per cui si ritiene che un attrattivo sessuale standard per *H. armigera* debba essere costituito da una miscela contenente almeno il 90% di Z11-16:Ald ed almeno l'1% di Z9-16:Ald. Tuttavia, l'identificazione di altri componenti secondari negli apici addominali delle femmine vergini e la dimostrazione che alcuni di essi (16:Ald, Z9-14:Ald), per certe popolazioni, possono migliorare l'attrattività della miscela binaria lascia intravedere la possibilità di migliorare gli attrattivi sessuali da utilizzare in campo verso una determinata popolazione del fitofago sia attraverso l'ottimizzazione del rapporto della miscela binaria ma anche attraverso l'aggiunta di opportune quantità di ulteriori componenti secondari.

3 LA TECNICA ELETTROANTENNOGRAFICA (EAG)

L'elettroantennografia (EAG) è una tecnica elettrofisiologica molto utilizzata in entomologia con l'obiettivo di studiare le risposte olfattive degli insetti in seguito alla stimolazione con diversi composti volatili che potrebbero avere un ruolo biologico nelle interazioni trofiche, nel comportamento riproduttivo e in altri comportamenti.

Prima che l'EAG diventasse una tecnica molto utilizzata per saggiare in vivo diverse molecole, tra il 1953 e il 1956 diversi gruppi di ricercatori francesi e tedeschi condussero esperimenti con antenne di diverse specie di insetti, differenti composti, elettrodi, amplificatori, oscilloscopi, provando a misurare la risposta elettrica in seguito alla stimolazione dell'antenna. A tale tecnica venne dato il nome di elettroantennografia (EAG) (Schneider, 1957; Schneider *et al.*, 1967). Successivamente, il potenziamento delle apparecchiature e l'avanzamento delle tecnologie, permisero di poter registrare i potenziali di depolarizzazione di singole cellule nervose in seguito alla somministrazione di uno stimolo (Single Cell Recording).

La tecnica EAG si basa sulla misurazione della variazione di voltaggio (risposta elettrica), data dalla somma dei potenziali di depolarizzazione delle singole cellule nervose dell'antenna (Boeckh *et al.*, 1965), a seguito di stimolazione con una sostanza volatile e indicante la sensibilità del sistema olfattivo dell'insetto allo stimolo. Quanto maggiore risulta la depolarizzazione registrata rispetto ad uno stimolo di controllo (ad esempio aria), tanto maggiore sarà la sensibilità dell'antenna nei confronti della sostanza in esame. La risposta elettroantennografica è in funzione della concentrazione dello stimolo, infatti, essa aumenta con l'aumentare della concentrazione del composto testato fino a raggiungere livelli di saturazione. Altri fattori che influenzano l'entità della risposta sono rappresentati dalla natura dello

stimolo, dalla specie di insetto, dal sesso, dalle condizioni dell'antenna, dal numero degli stimoli, dalla temperatura, umidità e stato fisiologico dell'insetto (es. vergine o accoppiato). Pertanto, le informazioni ottenute dagli elettroantennogrammi sono molto utili quando vengono interpretati in rapporto con studi comportamentali.

L'elettroantennografia (EAG) è utilizzata in entomologia per studiare la percezione olfattiva di sostanze volatili da parte degli insetti ed è principalmente rivolta alla registrazione di risposte a feromoni sessuali (Roelofs, 1984) e a componenti volatili delle piante (Visser, 1986; Light e Jang, 1987; Levinson *et al.*, 1990; Light *et al.*, 1992).

4 SCOPO DEL LAVORO

Osservazioni ripetute di campo, condotte anche dal gruppo di Entomologia generale e applicata dell'Università di Foggia, sull'efficacia degli attrattivi sessuali di *H. armigera* attualmente in commercio hanno mostrato uno scarso potere di cattura ai fini del monitoraggio del fitofago negli ambienti di coltivazione del pomodoro in Italia. Il basso potere di cattura delle trappole, evidenziato dai rilievi intempestivi del fitofago e con catture di pochi individui solo durante il picco di volo, determina una scarsa efficacia dei trattamenti chimici di controllo. L'individuazione di composti volatili di origine vegetale ad attività caïromonale risulta di notevole interesse pratico in quanto, a differenza del feromone sessuale che permette di catturare solo i maschi, offrono la possibilità di catturare anche le femmine che sono le più dirette responsabili del danno. Studi recenti di laboratorio hanno dimostrato che composti volatili di origine vegetale possono avere un'attività biologica verso gli adulti di *H. armigera*; tuttavia, sono relativamente pochi gli studi sull'applicazione in campo di tali molecole ai fini del monitoraggio del notturno e mancano del tutto studi su pomodoro. Non studiata è, inoltre, la possibile interazione tra composti volatili di origine vegetale e feromone sessuale ai fini del monitoraggio dei maschi.

L'attività di ricerca condotta durante il dottorato ha avuto, pertanto, i seguenti obiettivi:

- definizione l'attività biologica dei componenti noti del feromone sessuale di *H. armigera* sulla popolazione presente nei nostri ambienti, mediante indagini elettrofisiologiche e saggi di attrattività in campo;
- valutazione dell'attività biologica di composti volatili vegetali verso gli adulti di *H. armigera*, scelti tra quelli appartenenti alle categorie chimiche dei composti volatili della foglia verde (GLVs, green leaf

volatiles), dei composti aromatici (emessi principalmente da fiori) e a quella dei terpenoidi (emessi da vari organi della pianta), mediante saggi di attrattività in campo con miscele singole e in combinazioni binarie e ternarie;

- valutazione dell'effetto delle suddette categorie di composti volatili di origine vegetale sulla risposta dei maschi di *H. armigera* al feromone sessuale, mediante esperimenti di attrattività in campo confrontando il potere di cattura di un blend feromonico attrattivo da solo e in combinazione con ciascuna miscela di volatili vegetali.

Ciò allo scopo di contribuire allo sviluppo di strumenti decisionali efficaci per una corretta adozione dei principi della lotta integrata nel controllo di *H. armigera* negli ambienti di coltivazione del pomodoro nei nostri ambienti. La corretta identificazione della miscela attrattiva utilizzata dalla popolazione presente nei nostri comprensori, inoltre, potrebbe portare ad applicazioni di lotta diretta a basso impatto ambientale, secondo i metodi di confusione sessuale, lotta attratticida e cattura massale.

5 MATERIALI E METODI

5.1 Studi elettroantennografici

5.1.1 Insetti

Larve sviluppate di *H. armigera* sono state raccolte, in luglio, in agro di Foggia da bacche infestate di pomodoro. Gli insetti, portati in laboratorio, sono stati disinfettati mediante immersione (15 sec) in soluzione (0,1%) di ipoclorito di sodio e successivo passaggio in acqua distillata. Le larve sono state successivamente trasferite singolarmente, per evitare fenomeni di cannibalismo, in contenitori cilindrici di plastica contenenti una dieta artificiale (Germinara *et al.*, 2000) come alimento e posti in cella climatica a $26\pm 1^\circ\text{C}$, $65\pm 5\%$ di umidità relativa e regime fotoperiodico di 16:8 ore (luce:buio). Gli adulti maschi sfarfallati sono stati utilizzati per le prove EAG.

5.1.2 Composti

(Z)-11-esadecenale (Z11-16:Ald), (Z)-9-esadecenale (Z9-16:Ald), esadecanale (16:Ald), Z-9-tetradecenale (Z9-14:Ald) sono stati forniti da Novapher (Settimo Milanese, Italia). Per ciascun composto sono state preparate 6 diluizioni decimali da 100 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ a 1 $\text{ng}/\mu\text{l}$ in esano (Sigma-Aldrich, Milano, Italia) e conservate a -20°C fino al loro utilizzo.

5.1.3 EAG

La sensibilità antennale dei maschi di *H. armigera* verso i diversi componenti del feromone sessuale è stata valutata utilizzando la tecnica EAG descritta in studi precedenti (Rotundo *et al.*, 1993; De Cristofaro *et al.*, 2000; Germinara *et al.*, 2009). L'antenna di un maschio (2-3 gg di età), tagliata alla base e amputata all'estremità, è stata posta tra le estremità di due capillari di vetro

contenenti soluzione salina di Kaissling addizionata di 5 g/l di polivinilpirrolidone (K40). Per realizzare la conducibilità elettrica attraverso la soluzione, in ciascun capillare è stato inserito un elettrodo di argento.

Ciascuno stimolo era costituito da 10 μ l di una soluzione di composto da saggiare distribuiti su un pezzo di carta da filtro (1 cm²) (Whatman n. 1) inserita in una pipetta Pasteur (lunghezza 15 cm). Per ciascun composto sono state saggiate 6 dosi (10 μ l di soluzione da 1 ng/ μ l a 100 μ g/ μ l).

Un flusso d'aria (500 ml/min) purificata ed umidificata è stato fatto fluire continuamente sull'antenna mediante un tubo (\varnothing 8 mm) di acciaio inox la cui estremità era posizionata ad 1 cm di distanza dall'antenna. L'estremità della pipetta contenente lo stimolo è stata inserita in un foro (\varnothing 4 mm) a 9 cm dall'uscita del tubo. La stimolazione dell'antenna è stata effettuata insufflando, in 0,5 sec, 2,5 cm³ del vapore presente nella pipetta. L'intervallo tra gli stimoli è stato di 1 min.

Il segnale generato dall'antenna è stato inviato ad un amplificatore (INR-02, Syntech, Hilversum, Olanda) e visualizzato su un monitor utilizzando il programma EAG 2.6d (Syntech, Hilversum, Olanda).

Ciascuno stimolo è stato saggiato su 5 differenti antenne di insetti diversi. All'inizio ed alla fine di ogni esperimento ed ogni 3 stimoli saggiati, sono stati applicati lo stimolo di controllo (10 μ l di esano) e quello di riferimento (10 μ l di una soluzione 1 μ g/ μ l di Z11-16:Ald). Le risposte EAG in mV, corrette rispetto al primo stimolo, sono state utilizzate per calcolare le curve dose-risposta (Den Otter *et al.*, 1991). In tali esperimenti, per ciascuna sostanza, la dose per cui il limite inferiore dell'errore standard della risposta media EAG è risultato maggiore del limite superiore dell'errore standard della risposta indotta dalla dose precedente è stata considerata come soglia di attivazione (Germinara *et al.*, 2009). Il livello di saturazione è stato considerato raggiunto per la dose alla quale la risposta media è risultata uguale o minore di quella precedente (Sant'ana e Dickens, 1998).

5.2 Attrattività di miscele feromoniche

5.2.1 Descrizione dei siti

Le attività di studio sono state condotte, nei tre anni di ricerca, in diversi siti di coltivazione del pomodoro da industria a diversa epoca di maturazione, dislocati in zone differenti della provincia di Foggia, e condotti secondo i criteri dell'agricoltura integrata (Fig. 5).

Anno 2011

Sito 1: ubicato in località Faraniello (N 41°30'26", E 15°39'38") del comune di Foggia. L'appezzamento avente una superficie di circa 30 ha è stato interessato dalla coltura del pomodoro tra il 20 aprile ed il 10 agosto, con ciclo produttivo precoce. Nell'anno precedente, il terreno era occupato da una coltivazione di sedano. Il sito su descritto era circondato nei quattro lati, da una coltivazione di carciofo, da una coltivazione di grano duro seguito da sedano, da un appezzamento di grano duro seguito da cavolo broccolo (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) mentre un lato è delimitato da una piccola strada, la quale era costeggiata sul lato opposto da terreno incolto. E' stato utilizzato l'ibrido Talent (Esasem) con un investimento areico di 27.500 piante/ha.

Sito 2: ubicato in località Tavernola (N 41°27'27", E 15°43'07") del comune di Foggia. L'appezzamento, avente la superficie di 20 ha, è stato interessato dalla coltura del pomodoro dal 15 maggio al 10 settembre, con ciclo produttivo medio-tardivo. L'appezzamento è gestito, in genere, secondo una rotazione triennale che prevede l'alternarsi di frumento e pomodoro. Nell'anno precedente, il fondo è stato investito a frumento. L'appezzamento era contornato da frumento e sul lato nord da una strada interpodereale. E' stato utilizzato l'ibrido Docet (Monsanto) con un

investimento areico di 28.000 piante/ha.

Anno 2012

Sito 1: ubicato in località Nisi (N 41°51'09", E 15°22'23") del comune di Lesina. L'appezzamento, avente la superficie di 12 ha, è stato interessato dalla coltura del pomodoro dal 15 aprile al 3 agosto, con ciclo produttivo precoce. L'appezzamento è gestito, in genere, secondo una rotazione triennale che prevede l'alternarsi di frumento, cavolo broccolo e/o finocchio e pomodoro. Nell'anno precedente, il fondo è stato investito a finocchio. L'appezzamento era contornato da frumento, confinava sul lato nord con una strada interpoderale e a sud con la strada provinciale 40. È stato utilizzato l'ibrido Pietrarossa, a bacca tonda, (Clause) con un investimento areico di 32.000 piante/ha.

Sito 2: ubicato in località Tavernola (N 41°28'6", E 15°42'50") del comune di Foggia. L'appezzamento, avente la superficie di 40 ha, è stato interessato dalla coltura del pomodoro dal 19 maggio al 4 settembre, con ciclo produttivo medio-tardivo. L'appezzamento è gestito, in genere, secondo una rotazione triennale che prevede l'alternarsi di frumento e pomodoro. Nell'anno precedente, il fondo era stato investito a frumento. L'appezzamento era contornato da frumento e sul lato sud da una strada interpoderale. È stato utilizzato l'ibrido Docet (Monsanto) con un investimento areico di 28.000 piante/ha.

Anno 2013

Sito 1: ubicato in località Tavernola (N 41°27'99", E 15°43'27") del comune di Foggia. L'appezzamento, avente la superficie di 40 ha, è stato interessato dalla coltura del pomodoro dal 20 maggio al 6 settembre, con ciclo produttivo medio-tardivo. L'appezzamento è gestito, in genere,

secondo una rotazione biennale che prevede l'alternarsi di frumento e pomodoro. Nell'anno precedente, il fondo era stato investito a frumento. L'appezzamento era contornato da frumento e sul lato sud da strada interpoderale. E' stato utilizzato l'ibrido Dres (Clause) con un investimento areico di 28.000 piante/ha.

Sito 2: ubicato in località Posta d'Innanzi (N 41°25'00", E 15°41'54") del comune di Manfredonia. L'appezzamento, avente la superficie di 15 ha, è stato interessato dalla coltura del pomodoro dal 25 maggio al 9 settembre, con ciclo produttivo medio-tardivo. L'appezzamento è gestito, in genere, secondo una rotazione biennale che prevede l'alternarsi di frumento e pomodoro. Nell'anno precedente, il fondo è stato investito a frumento. L'appezzamento era contornato su tutti i lati da frumento. E' stato utilizzato l'ibrido Talent (Esasem) con un investimento areico di 27.000 piante/ha.

5.2.2 *Attrattivi sessuali*

Allo scopo di individuare una miscela di attrattivi sessuali in grado di attirare efficacemente i maschi della popolazione italiana di *H. armigera*, nel triennio di dottorato sono state condotte prove di attrattività in campo al fine di valutare il potere di cattura di diverse miscele feromoniche. I componenti feromonici e le miscele saggiate nel primo anno sono stati desunti da dati bibliografici. Le miscele feromoniche utilizzate negli anni successivi sono state definite sulla base dei risultati ottenuti nell'anno precedente, e nel tentativo di ottimizzare l'attrattività.

Per le prove sono stati utilizzati dispensatori sperimentali di gomma contenenti 2 mg di attrattivi sessuali nelle diverse combinazioni (Fig. 6) preparati da Novapher s.a.s. (San Donato Milanese, Italia).

I anno - Gli attrattivi sessuali saggiati durante il primo anno di dottorato (Tab. 4) sono stati Z11-16:Ald da solo, miscele binarie Z11-16:Ald/Z9-16:Ald rispettivamente nei rapporti 85:15, 90:10, 95:5 e 97:3 e miscele ternarie Z11-16:Ald/Z9-16:Ald/16:Ald rispettivamente nei rapporti 81:14:5, 86:9:5, 90:5:5 e 92:3:5 ottenute aggiungendo alle miscele binarie un uguale quantità di 16:Ald (100 µg). Le prove sono state condotte in campi di pomodoro da industria a raccolta tardiva ubicati in due diverse località della provincia di Foggia rispettivamente dal 6 luglio all'8 settembre (località Faraniello) e dal 4 agosto all'1 settembre 2011 (località Tavernola).

II anno - Nel secondo anno di attività sono state saggiate (Tab. 4) oltre alle miscele binarie e ternarie del primo anno anche le miscele binarie di Z11-16:Ald/Z9-16:Ald nei rapporti 60:40, 50:50 e 40:60. La valutazione di queste ulteriori miscele ha avuto lo scopo di verificare l'eventuale perdita di attrattività della miscela binaria allorquando questa contenga una percentuale di Z11-16:Ald inferiore all'85% e di Z9-16:Ald superiore al 15% (vedasi I anno). Le prove sono state condotte in due campi di pomodoro da industria della provincia di Foggia a raccolta precoce (località Lesina) e tardiva (località Tavernola) rispettivamente dal 24 aprile al 7 di agosto e dal 29 maggio al 28 di agosto 2012.

III anno - Nel terzo anno di attività sono stati saggiati Z11-16:Ald da solo, le miscele binarie di Z11-16:Ald/Z9-16:Ald nei rapporti di 95:5 e 97:3, che negli anni precedenti avevano fornito i risultati migliori, le miscele ternarie Z11-16:Ald/Z9-16:Ald/16:Ald e Z11-16:Ald/Z9-16:Ald/Z9-14:Ald rispettivamente nei rapporti 93:5:2 e 95:3:2 e le miscele quaternarie di Z11-16:Ald/Z9-16:Ald/16:Ald/Z9-14:Ald nei rapporti di 90:5:2,5:2,5 e 92:3:2,5:2,5 (Tab. 4). Con la scelta di tali miscele si è inteso valutare l'effetto dell'aggiunta di 16:Ald in ragione del 2,5% alle miscele binarie e quello dell'aggiunta di un eguale percentuale (2,5%) dell'ulteriore componente

secondario Z9-14:Ald, segnalato in grado di incrementare l'attrattività del blend feromonico (Zhang, 2012), sia in miscela ternaria che quaternaria.

Le prove sono state condotte in un campo di coltivazione del pomodoro da industria della provincia di Foggia a raccolta tardiva (località Tavernola) dal 29 maggio al 14 agosto 2013.

5.2.3 Trappole

Per le prove di attrattività in campo con le diverse miscele di attrattivi sessuali sono state utilizzate trappole del tipo ad olio costruite a mano a partire da cestini getta carta e sottovasi di plastica (Fig. 7) (Rotundo *et al.*, 1983). Il cestino (\emptyset inferiore 16 cm; \emptyset superiore 31 cm altezza 25 cm), avente pareti forate nella parte superiore (16 cm) e chiuse in quella inferiore (9,0 cm) sono stati ritagliati in modo da formare nella parte superiore 3 aperture (altezza 17 cm, larghezza 12 cm). Un sottovaso di plastica (\emptyset 32 cm, altezza bordo 4 cm) è stato forato lungo il perimetro di base in due punti diametralmente opposti e fissato, come coperchio, mediante filo di ferro, al cestino. Al centro del coperchio è stato praticato un ulteriore foro per il passaggio di un filo di ferro utilizzato per sospendere al centro della trappola l'erogatore di attrattivo sessuale.

Al momento dell'applicazione in campo, nel fondo chiuso della trappola è stata aggiunta acqua ed uno strato di olio sintetico, per limitare le perdite di acqua per evaporazione. L'erogatore di attrattivo sessuale è stato sospeso ad un'altezza di ca. 5 cm dallo strato d'olio.

Le trappole sono state distribuite lungo i bordi della coltura distanziate di 30 m e posizionate a ca. 50 cm da terra. Ciascuna trappola è stata legata, mediante filo di ferro, su una cassetta di plastica (50 x 30 x 30 cm) fissata al terreno con archetti di ferro.

Il controllo delle catture è stato effettuato a cadenza settimanale. L'identificazione delle specie catturate è stata effettuata mediante esame al microscopio stereoscopio degli organi genitali (Fig. 8-9). A tal fine, gli apici addominali degli individui catturati sono stati preventivamente lavati con etere etilico e tenuti per 2-3 giorni in KOH al 10%.

5.2.4 Confronto tra modelli di trappola

Nel terzo anno di attività è stata condotta una prova di confronto tra diversi modelli di trappola utilizzando la miscela feromonica maggiormente attrattiva nel corso del secondo anno. La prova è stata condotta in due diverse località dalla provincia di Foggia (Tavernola e Lucera) dal 4 luglio al 7 agosto 2013.

I modelli di trappola posti a confronto sono stati la trappola ad olio, descritta in precedenza, la trappola a pagoda e la trappola a delta, queste ultime fornite da Novapher s.a.s.

La trappola a pagoda (Fig.10) è costituita da un coperchio e da una base collata, entrambi di forma quadrata con lato di 240 mm, in materiale plastico alveolato bianco (polipropilene). Un supporto per l'erogatore di feromone è posizionato tra la base ed il coperchio. La trappola permette l'ingresso del fitofago interessato attraverso quattro differenti aperture laterali, ognuna con un'altezza di 110 mm. La diffusione del feromone assicurata da questa trappola è di tipo bidirezionale.

La trappola a delta (Fig.11) è costituita da un supporto di forma prismatica con lunghezza di 215 mm, larghezza di 135 mm e altezza di 115 mm, in materiale laminato in propilene di colore verde. Sulla base della trappola è posizionato un pannello collato rettangolare su cui viene alloggiato anche l'erogatore di feromone. La diffusione del feromone assicurata da questa trappola è di tipo monodirezionale.

5.3 Attrattività di volatili vegetali

5.3.1 Scelta dei composti

Allo scopo di valutare l'eventuale potere attrattivo, verso i maschi e le femmine di *H. armigera*, di composti volatili della foglia verde (GLVs = green leaf volatiles), di composti aromatici e di terpenoidi sono state preparate tre miscele base per ciascuna categoria di sostanze. I composti da saggiare (Sigma-Aldrich, Milano, Italia) sono stati scelti tra quelli identificati da piante ospiti di *H. armigera* (Bruce e Cork, 2001; Del Socorro *et al.*, 2010) e sulla base della loro presenza in miscele risultate attrattive in studi di laboratorio, condotti in tunnel del vento (Gregg *et al.*, 2010), e di uno studio di campo (Li *et al.*, 2005) (Tab. 5).

I GLVs (E2-esenale, Z3-esenolo, E2-esenolo, Z3-esenil acetato) sono tipici composti volatili emessi dalla foglia verde, principalmente a seguito di un danno meccanico (odore di erba tagliata fresca), i composti aromatici (benzaldeide, fenilacetaldeide e fenetil alcool) sono emessi principalmente dai fiori, i terpeni (limonene, α -pinene, eucaliptolo) sono presenti nelle emissioni sia di foglie che di fiori di numerose piante, tra cui alcune ospiti di *H. armigera*.

In ciascuna miscela, il rapporto in peso tra i diversi componenti è stato definito sulla base di quanto riportato in letteratura relativamente alla presenza dei composti nelle emissioni di materiale vegetale attrattivo (per i GLVs) o alla loro presenza in miscele precedentemente individuate come attrattive (per aromatici e terpeni) (Tab. 5). Le tre miscele base, inoltre, sono state abbinate tra loro in 3 combinazioni binarie ed 1 ternaria. Le miscele base, preparate utilizzando i composti tal quali, sono state conservate a -20 °C fino al loro utilizzo.

5.3.2 Preparazione degli erogatori di volatili vegetali

Per la preparazione degli erogatori, 1 g di agar (Agar Noble, Difco) in 200 ml di acqua distillata è stato posto in una beuta (500 ml) su una piastra magnetica riscaldante e mantenuto sotto agitazione alla temperatura di 100°C fino a completa dissoluzione della sostanza. Aliquote (5 ml) della soluzione di agar sono state trasferite in provette di vetro (20 ml) ed aggiunte di 200 mg di una delle miscele da saggiare allorché la temperatura della soluzione ha raggiunto i 40°C. Immediatamente dopo l'aggiunta dei composti volatili, la provetta è stata chiusa con un tappo di polietilene (\varnothing 2 cm), per evitare perdita di sostanze per evaporazione, e agitata per 30 secondi mediante un agitatore meccanico (vortex), per assicurare un'uniforme distribuzione delle sostanze nel gel di agar.

Per la preparazione degli erogatori contenenti combinazioni binarie (GLV + aromatici, GLV + terpeni, terpeni + aromatici) e quella ternaria (GLV + aromatici + terpeni) di singole miscele sono stati impiegati rispettivamente 100 e 67 mg di ciascuna miscela componente. Prima della loro applicazione in campo, effettuata nella stessa giorno della loro preparazione, il tappo degli erogatori è stato sostituito con uno simile recante al centro un foro di 2 mm.

5.3.3 Rilascio dei volatili vegetali dagli erogatori

Per valutare il rilascio delle sostanze vegetali dagli erogatori sperimentali sopra descritti, 3 erogatori di ciascuna miscela base e 3 erogatori non attivati (controllo) sono stati posti in una cappa a flusso laminare alla temperatura di 25°C, umidità relativa del 60%, e velocità dell'aria di 0,3 m/s. Gli erogatori sono stati pesati subito dopo la loro preparazione e ad intervalli di 24 h. La quantità di sostanze rilasciata da ciascun erogatore è stata calcolata dalla differenza di peso tra una pesata e quella successiva detratta dalla riduzione media di peso subita dagli erogatori di controllo.

5.3.4 Saggi di attrattività

L'eventuale potere attrattivo delle tre miscele base di sostanze volatili di origine vegetale e delle loro combinazioni binarie e ternaria verso i maschi e le femmine di *H. armigera* è stata valutata in prove di attrattività condotte su una coltivazione di pomodoro da industria situata in agro di Manfredonia (Fg) (località Posta d'Innanzi) a 50 m s.l.m. Trappole ad olio attivate con le diverse miscele di volatili vegetali e loro combinazioni, sono state collocate in campo dal 3 luglio al 4 settembre 2013. Per ciascuna tesi ed il controllo (trappola non attivata) sono state allestite 3 ripetizioni. Le trappole sono state distribuite lungo i bordi della coltura distanziate di 30 m e, appoggiate su paletti di legno, posizionate a ca. 1 m da terra (Fig. 12). Il controllo delle catture è stato effettuato a cadenza settimanale. Gli erogatori sono stati sostituiti ogni due settimane. L'identificazione della specie e l'individuazione del sesso sono state effettuate mediante esame allo stereomicroscopio degli organi genitali (Figg. 8-9).

5.4 Interazione tra feromone sessuale e volatili vegetali

Sono state condotte prove di attrattività in campo per valutare la risposta dei maschi al feromone sessuale da solo ed in combinazione con ciascuna delle tre miscele base (GLV, composti aromatici e terpeni). Gli erogatori di feromone da soli o insieme ad una provetta contenente una miscela di volatili vegetale da saggiare sono stati utilizzati per attivare trappole ad olio. Le prove sono state condotte dal 4 di luglio al 3 di settembre nello stesso campo utilizzato per le prove di attrattività con volatili vegetali ed adottando le medesime modalità e disposizione. Il rinnovo degli erogatori è stato effettuato ogni due settimane, per quelli contenenti le sostanze vegetali, ed ogni 4

settimane per quelli con il feromone sessuale. Il numero di adulti di *H. armigera* catturati è stato rilevato a cadenza settimanale.

Al fine di definire le curve di volo dell'insetto, nel campo di Posta d'Innanzi trappole a feromone ($n = 3$) sono state installate il 29 maggio e mantenute fino al 13 novembre.

5.5 Analisi statistica

Le catture medie per trappola di maschi ottenute con i diversi attrattivi sessuale a confronto sono state sottoposte ad analisi della varianza (ANOVA) e confrontate mediante il test HSD di Tukey per la separazione delle medie.

Le catture medie per trappola di maschi, femmine e totali ottenute con le diverse miscele di volatili vegetali e loro combinazioni sono state sottoposte ad analisi della varianza (ANOVA) ed al test di Tukey per la separazione delle medie. Le catture medie per trappola di maschi e di femmine ottenute con la medesima miscela di volatili vegetali sono state confrontate mediante il test-*t* di Student.

Per valutare l'interazione tra feromone e volatili vegetali sull'attrazione dei maschi, le catture medie per trappola ottenute con il solo feromone sono state confrontate con le catture medie per trappola ottenute con feromone più ciascuna miscela di composti vegetali utilizzando il test-*t* di Student. Le analisi statistiche sono state eseguite mediante il pacchetto statistico SPSS® per Windows (versione 10.7).

6 RISULTATI

6.1 Elettroantennografia

Le risposte EAG dei maschi di *H. armigera* a dosi crescenti dei diversi componenti del feromone sessuale identificati dalle femmine vergini sono riportate nelle Figure 15-16.

Nell'Intervallo di dosi saggiato tutti i composti hanno indotto risposte EAG misurabili. Per tutti i composti, inoltre, la risposta EAG è risultata dose-dipendente.

Nell'intervallo di dose compreso tra 10 ng e 1 mg, la risposta EAG è variata da 0,15 mV a 4,3 mV per Z11-16:Ald (Fig. 13), da 0,10 a 1,30 mV per Z9-14:Ald (Fig. 14), da 0,10 a 0,75 mV per 16:Ald (Fig. 15) e da 0,10 a 1,12 mV per Z9-14:Ald (Fig. 16).

La soglia di attivazione è risultata di 100 ng per Z11-16:Ald e di 1 µg per Z9-16:Ald, 16:Ald e Z9-14:Ald. Per i quattro composti saggiati, nell'intervallo di dosi considerato, non è stata raggiunta la soglia di attivazione.

6.2 Prove di attrattività in campo con attrattivi sessuali

I anno - Le catture medie di maschi di *H. armigera* ottenute con trappole ad olio attivate con diverse miscele binarie e ternarie di Z11-16:Ald, Z9-16:Ald e 16:Ald sono riportate in Tabella 6 e 7.

L'analisi della varianza ha evidenziato differenze significative tra le diverse tesi a confronto sia nell'azienda ubicata a Faraniello (ANOVA: $df = 10$; $F = 8,065$, $P < 0,001$) che a Tavernola (ANOVA: $df = 10$; $F = 6,416$, $P < 0,001$).

Nella prima azienda (località Faraniello), sono stati catturati complessivamente 1012 maschi. Le catture medie più elevate sono state ottenute con la miscela di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald nel rapporto di 95:5; le

catture conseguite con il solo Z11-16:Ald (componente principale) sono risultate statisticamente simili ($P > 0,05$; test di Tukey) a quelli della trappola attivata con un erogatore commerciale di feromone e della trappola di controllo (Tab. 6). L'aggiunta dell'aldeide satura (16:Ald), nella misura del 5%, ai blend binari di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald compresi tra 85:5 e 97:3 non ha influenzato significativamente ($P > 0,05$; test di Tukey) il potere di cattura delle trappole (Tab. 6).

Nella seconda azienda (località Tavernola) sono stati catturati complessivamente 1393 maschi. Le catture medie più elevate sono state ottenute con i blend ternari 81:14:5, 90:5:5 e 92:3:5; tuttavia, esse sono risultate statisticamente simili ($P > 0,05$; test di Tukey) a quelle ottenute con le altre miscele binarie e ternaria. I livelli di cattura conseguiti con i blend binari e ternari sono risultati significativamente maggiori ($P < 0,05$; test di Tukey) di quelli della trappola attivata con il solo Z11-16:Ald e con l'erogatore commerciale di feromone e della trappola di controllo (Tab. 7).

Il anno - L'analisi della varianza ha mostrato differenze significative tra le catture medie di maschi di *H. armigera*, ottenute con i diversi tipi di attrattivi sessuali, nel campo di pomodoro a raccolta precoce (ANOVA: $F = 4,045$; $df = 10$; $P = 0,003$) (Tab. 8) ed in quello a raccolta medio-tardiva (ANOVA: $F = 12,114$; $df = 13$; $P < 0,001$) (Tab. 9).

Nel campo a raccolta precoce (Nisi, Lesina) sono stati catturati complessivamente 196 maschi. Il ridotto numero di catture, non ha permesso di individuare differenze marcate tra il potere di cattura delle diverse tesi. Le catture medie più elevate sono state evidenziate per la miscela ternaria 92:3:5 di Z11-16:Ald, Z9-16:Ald e 16:Ald; tali catture sono risultate statisticamente simili ($P > 0,05$; test di Tukey) a quelle realizzate con la miscela ternaria 90:5:5 e con le miscele binarie 90:10, 95:5 e 97:3 di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald

e significativamente maggiori ($P < 0,05$; test di Tukey) di quelle conseguite con tutti gli altri attrattivi a confronto (Tab. 8).

Nel campo a raccolta medio-tardiva (Tavernola, Foggia) sono stati catturati complessivamente 2841 maschio del fitofago. Le miscele binarie nel rapporto di 40:60, 50:50 e 60:40 di Z11-16:Ald e Z9-14:Ald hanno fatto registrare livelli di cattura molto ridotti, simili a quelli registrati con la trappola di controllo e con due erogatori commerciali di feromone e significativamente minori di quelli ottenuti con le altre miscele binarie (85:15, 90:10, 95:5 e 97:3) e ternarie. Le catture medie più elevate sono state ottenute con la miscela ternaria 92:3:5 di Z11-16:Ald, Z9-16:Ald e 16:Ald, risultate significativamente maggiori ($P < 0,05$; test di Tukey) di quelle ottenute con le altre miscele binarie e ternarie. Ad eccezione di tale miscela ternaria, le catture medie delle altre miscele ternarie, in cui è stato aggiunto il composto 16:Ald, hanno fatto registrare catture in media più basse, anche se non significativamente differenti, rispetto alle corrispondenti miscele binarie (Tab. 9).

III anno - Nel terzo anno, nella prova riguardante gli attrattivi sessuali, sono stati catturati complessivamente 11.916 maschio di *H. armigera*. L'analisi della varianza ha individuato differenze significative tra le tesi a confronto (ANOVA: $F = 24,765$; $df = 12$; $P < 0,001$) (Tab. 10).

Le catture medie più elevate sono state conseguite dalla miscela binaria 97:3 di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald sebbene statisticamente non differente ($P > 0,05$; test di Tukey) da quelle ottenute con la miscela binaria 95:5, le miscele ternarie (95:5:2 e 93:5:2) e quella quaternaria (91:5:2:2). La trappola attivata con il solo Z11-16:Ald ha catturato un ridotto numero di individui statisticamente non differente ($P > 0,05$; test di Tukey) da quello della trappola di controllo e della trappola attivata con erogatore commerciale 1 (Isagro). L'erogatore commerciale 2 (Biogard) ha conseguito livelli di cattura

significativamente maggiori ($P < 0,05$; test di Tukey) di quelli ottenuti con l'erogatore commerciale 1 e della trappola di controllo, simili a quelli della miscela quaternaria (93:3:2:2) e significativamente minori ($P < 0,05$; test di Tukey) di quelli delle altre miscele sperimentali.

6.2.1 Confronto tra modelli di trappola

L'analisi della varianza ha evidenziato differenze significative tra le catture medie di maschi di *H. armigera* ottenute con diversi modelli di trappola attivate con la miscela di attrattivi sessuali (Z11-16:Ald/Z11-16:OH/16:Ald nel rapporto 92:3:5) che era risultata efficace nelle prove di attrattività del secondo anno, sia in località Serracapriola ($df = 2$; $F = 999,9$; $P < 0,001$) che a Lucera ($df = 2$; $F = 2378$; $P < 0,001$) (Fig. 17). Il numero medio di maschi catturati con la trappola ad olio è risultato significativamente maggiore di quello ottenuto con trappole a delta e a pagoda. Non sono state evidenziate differenze significative tra il numero di catture conseguite con trappole a delta e a pagoda. Il potere di cattura delle trappole ad olio è stato, in media, da 8 a 13 volte superiore a quello della trappola a delta e da 6 a 9 volte maggiore di quello osservato per la trappola a pagoda.

Oltre al maggior numero di adulti catturati, la trappola ad olio, caratterizzata da una più elevata capacità di contenere gli insetti rispetto agli altri modelli di trappola, ha mostrato una maggiore sensibilità nel rilevare le variazioni di densità della popolazione e, quindi, di descrivere l'andamento del volo.

6.3 Attrattività di composti volatili vegetali

6.3.1 Rilascio dei volatili vegetali dagli erogatori

L'andamento del rilascio delle tre miscele di composti volatili dagli erogatori sperimentali in condizioni controllate di temperatura, umidità e velocità

dell'aria è riportato in Figura 18. Gli erogatori della miscela di terpeni hanno fatto registrare un rilascio sostenuto tra il primo ed il secondo giorno (17 e 18 mg) che si è stabilizzato a partire dal terzo (8-5 mg/giorno). Gli erogatori di GLVs e di composti aromatici hanno rilasciato le due miscele in quantità pressoché costanti a partire dal primo giorno e per l'intera durata del periodo di osservazione (2 settimane) durante il quale il rilascio giornaliero è variato tra 5 a 4 mg/giorno per gli erogatori di GLVs e tra 3 e 5 mg/giorno per gli erogatori di composti aromatici.

Tra il primo ed il quattordicesimo giorno il rilascio medio giornaliero degli erogatori di terpeni, GLVs e composti aromatici è stato rispettivamente di 7,79, 5,36 e 3,71 mg/giorno. Alla fine del periodo di osservazione le quantità complessivamente rilasciate dagli erogatori di terpeni, GLVs e composti aromatici sono state rispettivamente di 109, 75 e 52 mg corrispondenti al 54,5% al 37,5% e al 26 % della quantità iniziale di miscela (200 mg) posta in ciascun erogatore. Sulla base di tali osservazioni, gli erogatori sono stati rinnovati ogni due settimane di esposizione in campo.

6.3.2 Attrattività in campo

Dal 3 luglio al 4 settembre, tutte le miscele di composti volatili di origine vegetali hanno catturato adulti di *H. armigera*. In tale periodo sono stati catturati complessivamente 618 adulti di cui 501 maschi e 117 femmine.

Considerando l'intero periodo di osservazione, le catture dei maschi sono risultate in media maggiori di quelle delle femmine per tutte le miscele e loro combinazioni binarie e ternaria (Fig. 19). Tali differenze sono risultate significative per la miscela di GLVs, la miscela di terpeni e la combinazione di GLVs e terpeni ad un livello di significatività del 5% (test-*t* di Student) e per la combinazione di composti aromatici e terpeni al livello di significatività dell'1% (test-*t* di Student) (Fig. 19).

Il rapporto di cattura maschio:femmina (*sex ratio*) durante la generazione di agosto ha fatto registrare un incremento rispetto a quella di luglio molto marcato per le miscele di GLVs (da 4,5 a 10,6) e di terpeni (da 4,5 a 9,2) e meno evidente per la miscela di composti aromatici e la loro combinazione con i GLVs e per la miscela ternaria (Fig. 20). Tali incrementi dei valori di *sex ratio* sono stati dovuti alla cattura di un maggior numero di maschi rispetto a quello delle femmine.

Per la combinazione di composti aromatici e terpeni il rapporto di cattura maschio:femmina si è mantenuto invariato (2,3) tra la generazione di luglio e quella di agosto (Fig. 20).

Per la combinazione di GLVs e terpeni, infine, la *sex ratio* si è ridotta dalla generazione di luglio a quella di agosto passando da un valore teorico di “infinito” in quanto durante la prima generazione la miscela ha catturato esclusivamente maschi, a quello di 4,7 (Fig. 20). In quest’ultimo caso la riduzione della *sex ratio* è stata determinata dalle catture delle femmine durante la generazione di agosto sebbene inferiore a quelle dei maschi e che sono comunque aumentate rispetto alla generazione di luglio.

Considerando le catture di adulti di *H. armigera* (maschi + femmine), le tre miscele base (GLVs, composti aromatici e terpeni) di volatili vegetali e le loro combinazioni binarie e ternaria hanno mostrato differenze significative di attività attrattiva ($F = 2,869$; $df = 6$; $P = 0,49$) (Fig. 21). Le catture totali significativamente più elevate ($P < 0,05$, test di Tukey) sono state ottenute con la miscela di composti aromatici e con la combinazione di composti aromatici e terpeni, mentre non sono state evidenziate differenze significative tra le altre miscele a confronto. In particolare, il livello di catture totali ottenuto combinando i composti aromatici con i GLVs, sia nella miscela binaria che in quella ternaria, è risultato significativamente minore di quello conseguito con la sola miscela di composti aromatici (Fig. 21).

Considerando le catture dei maschi, la miscela di composti aromatici da sola e in combinazione con la miscela di terpeni hanno fatto registrare livelli di cattura in media più elevati rispetto alle altre miscele e loro combinazioni ma tali differenze non sono risultate significative ($F = 1,366$; $df = 6$; $P = 0,294$) (Fig. 22).

Esaminando le catture delle femmine, l'analisi statistica ha evidenziato differenze significative tra le diverse miscele e loro combinazioni a confronto ($F = 27,876$; $df = 6$; $P < 0,001$) (Fig. 23). In particolare, la combinazione di composti aromatici e terpeni ha conseguito il livello di cattura significativamente più elevato ($P < 0,05$; test di Tukey) rispetto a tutte le altre tesi. Tra le tre miscele base, quella dei composti aromatici ha mostrato un'attività attrattiva verso le femmine significativamente maggiore rispetto a quelle dei GLVs e dei terpeni (Fig. 23).

6.4 Interazione tra feromone sessuale e volatili vegetali

Dal 3 luglio al 4 settembre le trappole ad olio attivate con il solo feromone hanno catturato in 2571 maschi di *H. armigera* con una media 857 individui/trappola. Le combinazioni del feromone sessuale con la miscela di GLVs, di composti aromatici e di terpeni hanno catturato rispettivamente un totale di 1483, 1718 e 1689 maschi corrispondenti ad una media di 494, 573 e 563 maschi/trappola (Tab. 11).

La riduzione di catture rispetto al solo feromone sessuale sono risultate significative al livello del 5% per le combinazioni del feromone con i GLVs e con i terpeni ed al livello del 1% per la combinazione feromone più composti aromatici (test-*t* di Student) (Tab. 11).

6.5 Curve di volo

In Figura 24 è riportato l'andamento di volo di *H. armigera* durante il periodo delle prove così come monitorato con le trappole a feromone, che catturano maschi, e le trappole innescate con la combinazione di composti aromatici e terpenici, che catturano sia maschi che femmine. Si può osservare come, sebbene i livelli di cattura siano molto differenti, l'andamento delle due curve è del tutto sovrapponibile, indicando che la miscela cairomonale può permettere di seguire le variazioni di densità che la popolazione del fitofago subisce passando da una generazione a quella successiva.

Nel campo che ha ospitato la sperimentazione le trappole a feromone sono state mantenute da fine maggio a fine novembre al fine di evidenziare i picchi di volo dell'insetto. Dalla curva di volo riportata in Figura 25 si evince che dopo il volo di agosto si è verificata una nuova ripresa del volo in settembre ma di entità molto più limitata rispetto al volo precedente. Dagli inizi di ottobre a fine novembre, invece, le catture si sono mantenute molto basse e di 1-2 maschi/trappola/settimana.

7 DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il lepidottero notturno, *H. armigera* è una specie estremamente polifaga ed è annoverata tra i fitofagi di maggiore rilevanza economica a livello mondiale. L'insetto è considerato potenzialmente dannoso per tutte le colture ortive e industriali e, in determinate aree del globo, rappresenta il principale fitofago di colture quali mais, sorgo, pomodoro, tabacco, cotone, erba medica, fagiolo. In Capitanata, *H. armigera* rappresenta il fitofago chiave del pomodoro da industria i cui attacchi possono determinare perdite di prodotto variabili, in funzione dell'epoca di raccolta, tra il 3 e l'8 %, in annate di presenza moderata, e tra il 20 e il 70% in annate di presenza elevata, come si è verificato nel 2013.

Da diversi decenni, l'uso di sostanze ad attività larvicida ha rappresentato la principale strategia di controllo del notturno (King, 1994). Tuttavia, l'uso spesso indiscriminato di insetticidi di sintesi (esteri fosforici, carbammati, piretroidi) e biologici (*Bacillus thuringiensis*) hanno portato all'insorgenza di ceppi resistenti alle principali molecole finora utilizzate (Forrester *et al.*, 1993; McCaffery, 1998). Le difficoltà di controllo, unitamente a problemi legati alla salubrità degli alimenti ed alla contaminazione ambientale, negli ultimi anni hanno dato notevole impulso alla ricerca di metodi di lotta innovativi ed ecosostenibili come quelli basati sull'uso di semiochimici e di piante geneticamente modificate (Wilson *et al.*, 1998).

I semiochimici sono sostanze chimiche segnale che regolano vari aspetti della vita di relazione degli insetti sia a livello intraspecifico (feromoni) che interspecifico (cairomoni, allomoni, sinomoni). Essendo, tali molecole, in grado di agire come “modificatori del comportamento” degli insetti (Insect-behaviour modifying compounds) possono essere utilizzati per manipolare opportunamente i loro movimenti (attrazione, repellenza).

Con l'entrata in vigore del PAN, che recepisce la direttiva UE 128/09 sull'uso sostenibile degli agrofarmaci e che rende obbligatoria la difesa integrata, l'applicazione del feromone sessuale di *H. armigera* per il monitoraggio degli adulti ha assunto un particolare interesse in quanto strumento fondamentale a supporto delle decisioni relative alla scelta dei principi attivi da utilizzare per il controllo dell'insetto e del momento ottimale della loro applicazione. L'interesse in Italia è ulteriormente accentuato dal fatto che i diversi erogatori di feromone attualmente in commercio non forniscono risultati soddisfacenti. Sulla base di tali considerazioni, nel corso del dottorato di ricerca si è deciso di rivisitare, mediante saggi elettrofisiologici e di attrattività in campo, il feromone sessuale della popolazione di *H. armigera* presente in Capitanata, principale area di coltivazione del pomodoro da industria in Europa. Inoltre, considerato che composti volatili di origine vegetale potrebbero essere attrattive verso gli adulti ed in particolare le femmine e che potrebbero migliorare l'attrattività del feromone verso i maschi, sono stati indagati anche questi ulteriori aspetti.

Diversi studi hanno portato all'identificazione dei componenti del feromone sessuale di *H. armigera*. Sono state documentate, inoltre, differenze di composizione tra popolazioni di aree geografiche diverse ed un'elevata plasticità della sensibilità olfattiva dei maschi che consente loro di rispondere ad un ampio spettro di miscele feromoniche (Kumar e Shivakumara, 2003).

Il sistema olfattivo antennale dei maschi della popolazione italiana di *H. armigera* è in grado di percepire i quattro componenti del feromone sessuale attualmente noti, come dimostrato dai saggi elettroantennografici.

Il componente principale del feromone, Z11-16Ald, è risultato il composto con la soglia di attivazione più bassa (100 ng) e, alle dosi più elevate, ha indotto le risposte EAG maggiori. Tuttavia, anche i componenti secondari hanno indotto risposte EAG dose-dipendenti tipiche di composti biologicamente attivi.

I saggi di attrattività, durante il primo anno di dottorato, con i diversi componenti feromonici, hanno indicato che nella popolazione italiana il componente principale (Z11-16:Ald) non è in grado di indurre una significativa attrazione dei maschi del nottuide a differenza di quanto riportato da Piccardi *et al.* (1977) in popolazioni del Sudan. Viceversa, miscele binarie di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald, nei rapporti rispettivamente di 97:3, 95:5, 90:10 e 85:15, hanno indotto elevati livelli di cattura. In una prova, la miscela 95:5 è risultata quella maggiormente attiva. L'aggiunta del 5% di 16:Ald, altro componente secondario del blend feromonico, alle diverse miscele binarie non ne ha significativamente migliorato il potere attrattivo; suggerendo che tale composto non svolge un ruolo fondamentale per l'attrazione come riportato anche da Kehat e Bunkelblum (1990) e Wu *et al.* (1997). I livelli di cattura dei maschi in trappole ad olio conseguiti con le suddette miscele binarie e ternarie sono risultati da 15 a 50 volte superiori a quelli ottenuti con gli erogatori di attrattivi sessuali in commercio.

Nel secondo anno è stato valutato il potere di cattura dei blend feromonici studiati durante il primo e di ulteriori miscele binarie di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald, nei rapporti rispettivamente di 60:40, 50:50 e 40:60 allo scopo di individuare il rapporto Z11-16:Ald/Z9-16:Ald al di sotto del quale il messaggio feromonico perde la propria attrattività. In entrambi gli areali, le miscele binarie di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald, nei rapporti rispettivamente di 60:40, 50:50 e 40:60 hanno indotto livelli di cattura molto limitati e inferiori a quelli conseguiti con le altre miscele binarie (85:15; 90:10; 95:5; 97:3) e ternarie. Tali risultati indicano una perdita di attrattività della miscela feromonica allorquando il componente primario Z11-16:Ald è utilizzato in percentuale pari o inferiore al 60% rispetto al componente secondario, Z9-16:Ald. Dal confronto tra le catture medie per trappola, conseguite con le diverse miscele, è emerso che in entrambe le aree l'aggiunta di 16:Ald alle miscele binarie di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald nei rapporti di 85:15, 90:10 e 95:5

ha ridotto il numero di catture anche se in modo non significativo. Al contrario, l'aggiunta del 5% di 16:Ald alla miscela binaria di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald nel rapporto di 97:3 ne ha migliorato il potere attrattivo. Tale incremento nel numero di catture è risultato significativo in località Tavernola. La stessa miscela (92:3:5) oltre a conseguire i valori medi di cattura più elevati ha registrato l'inizio del volo del fitofago con circa 3 settimane di anticipo rispetto agli attrattivi in commercio, indicando un'elevata capacità di rilevare la presenza del fitofago anche a basse densità di popolazione. Nel complesso, anche nel secondo anno, i livelli di cattura conseguiti con le miscele binarie e ternarie sono risultati nettamente superiori (fino ad un massimo di 100 volte) a quelli ottenuti con gli attrattivi sessuali in commercio, confermando i risultati del primo anno.

La densità di popolazione rilevata a Lesina su una coltivazione di pomodoro a raccolta precoce (inizi agosto) è risultata di circa 10 volte superiore rispetto a quella osservata, con le medesime miscele attrattive e trappole, in località Tavernola su una coltivazione a raccolta tardiva (fine agosto). Ciò indica probabilmente un progressivo adattamento dell'insetto alla coltura con innalzamenti repentini dei livelli di popolazione tra la prima e la seconda generazione e spiega la maggiore dannosità dell'insetto sulle coltivazioni di pomodoro a raccolta medio-tardiva (Bouchard *et al.*, 1992; Cameron *et al.*, 2001).

Nel terzo anno di attività, l'aggiunta del componente secondario Z9-14:Ald, in ragione del 2%, alle miscele binarie e ternarie che avevano fornito i risultati migliori negli anni precedenti non ha determinato incrementi significativi delle catture. Tali risultati sono in accordo con quanto osservato in popolazioni israeliane (Kehat e Dunkelblum, 1990) e non confermano quanto osservato da Zhang *et al.* (2012) in popolazioni cinesi del fitofago per le quali l'aggiunta di Z9-14:Ald migliora l'attrattività del blend feromonico ternario.

Il potere di cattura delle trappole ad olio è stato, in media, da 8 a 13 volte superiore a quello della trappola a delta e da 6 a 9 volte maggiore di quello osservato per la trappola a pagoda. Oltre al maggior numero di adulti catturati, la trappola ad olio, caratterizzata da una più elevata capacità di contenere gli insetti rispetto agli altri modelli di trappola, ha mostrato una maggiore sensibilità nel rilevare le variazioni di densità della popolazione. Di contro, le trappole a delta e a pagoda permettono un più agevole riconoscimento degli insetti, rispetto alle trappole ad olio, per la migliore conservazione degli individui catturati.

Un'approfondita conoscenza delle interazioni insetto-pianta ospite può contribuire alla messa a punto di nuove strategie di controllo. In genere, il processo di selezione della pianta ospite da parte degli insetti fitofagi richiede una serie di sequenze comportamentali e di scelte che iniziano con l'orientamento verso il potenziale ospite (localizzazione dell'ospite) e terminano con il contatto e la deposizione delle uova (accettazione dell'ospite) (Miller e Strickler, 1984). Stimoli olfattivi e visivi, potendo essere percepiti anche a lunga distanza, influenzano la fase di localizzazione mentre stimoli gustativi e meccanici forniscono ulteriori importanti informazioni nella fase di accettazione dell'ospite per l'ovideposizione (Ramaswamy, 1988).

Osservazioni notturne hanno dimostrato che in *H. argimera* l'ovideposizione è intervallata dall'ingestione di nettare da parte delle femmine suggerendo che esse sono attratte dai fiori mentre ovidepongono (Roome, 1975). Diversi studi hanno identificato i composti volatili emessi da vari organi (fiori, foglie) di piante attrattive verso *H. armigera*. Screening elettroantennografici hanno evidenziato la capacità del sistema olfattivo dell'insetto di percepire una vasta gamma di sostanze volatili vegetali mentre studi di comportamento in laboratorio hanno verificato l'attrattività di parti vegetali, estratti e loro frazioni, e di miscele di composti sintetici verso gli adulti del nottuide (Bruce

e Cork, 2001; Bruce *et al.*, 2001; Burguiere *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2005; Del Socorro *et al.*, 2010; Gregg *et al.*, 2010). Tuttavia gli studi di valutazione in campo di miscele di composti sintetici risultate attive in laboratorio sono pochi e la stessa interpretazione dei risultati è difficile in quanto non convergenti verso la definizione di un unico attrattivo. Tale difficoltà è probabilmente dovuta all'elevata polifagia della specie, che deve essere in grado di riconoscere e selezionare un elevato numero di piante ospiti, ma anche a differenze intraspecifiche nell'utilizzo della pianta ospite (Jallow *et al.*, 2004), per cui l'efficacia di un determinato attrattivo può variare in funzione del contesto agroecosistemico ed in particolare della coltura in cui viene applicato. Esistono, inoltre, difficoltà applicative legate al tipo di diffusore da utilizzare in campo per le sostanze volatili vegetali. Negli studi di campo condotti su *H. armigera*, sono stati utilizzati varie sistemi di erogazione (bustine di polietilene di vario spessore, carta da filtro in provette di vetro, agarpectine in provette di vetro) innescati con dosi diverse di sostanze e senza una caratterizzazione del rilascio dai diversi tipi di erogatori (Bruce *et al.*, 2001; Li *et al.*, 2005); ciò rende difficoltoso la comparazione dei risultati ottenuti dai diversi studi.

Nel lavoro di dottorato si è inteso valutare, mediante saggi di attrattività in campo, l'attività biologica, verso gli adulti di *H. armigera* infestanti il pomodoro da industria in Capitanata, di composti volatili ampiamente diffusi nel regno vegetale e distinti nelle tre categorie chimica dei GLVs, composti aromatici e terpeni. Studi di laboratorio sulla risposta comportamentale degli adulti a varie miscele di composti sintetici, infatti, suggerivano le suddette categorie di composti come le probabili responsabili dell'effetto attrattivo osservato verso gli adulti del nottuidae (Gregg *et al.*, 2010; Bruce e Cork, 2001).

Dallo studio è emerso che tutte le miscele saggiate, singole e in combinazione tra loro, hanno permesso di catturare adulti di *H. armigera* sebbene con una diversa efficacia nei due sessi.

L'attività attrattiva di tutte le tipologie di sostanze saggiate indicano che entrambi i sessi del noctuid possono utilizzare un'ampia varietà di volatili vegetali per la localizzazione della pianta ospite e confermano i risultati di precedenti studi elettroantennografici (Burguiere *et al.*, 2001; Bruce e Cork, 2001). Esiste, però, una diversa specializzazione dei maschi e delle femmine nell'utilizzo degli stimoli olfattivi saggiati. I maschi, infatti, hanno mostrato la capacità di rispondere, dal punto di vista comportamentale, quasi indistintamente a GLVs, composti aromatici e terpeni, risultati ugualmente attrattivi. Le femmine, invece, sono state attratte principalmente dai composti aromatici e tale attrattività è migliorata sensibilmente quando questi composti sono stati abbinati ai terpeni. La maggiore sensibilità delle femmine verso i composti aromatici ed i terpeni sono in accordo con il comportamento di ricerca dei fiori da parte della femmina ovideponente (Roome, 1975); infatti, composti aromatici ed alcuni terpeni sono tipici componenti degli odori dei fiori della maggior parte delle piante.

Il rapporto di cattura tra maschi e femmine è risultato sempre a favore dei maschi per tutti gli stimoli saggiati e, ad eccezione della combinazione di composti aromatici e terpeni, per tutti gli altri stimoli è variato in modo evidente passando dalla generazione di luglio e quella di agosto.

Il maggior numero di maschi catturati, rispetto alle femmine, anche per la miscela di aromatici differisce da quanto osservato da Li *et al.* (2005) in campi di cotone per miscele simili di composti aromatici dove il rapporto tra i sessi nelle diverse generazioni è risultato sempre a vantaggio delle femmine e di circa due femmine per ogni maschio catturato. Tale differenza nel rapporto dei sessi osservata su pomodoro rispetto al cotone molto probabilmente dipende da una diversa attrattività esercitata dalle due colture verso entrambi i

sessi del nottuide che si traduce in una diversa competizione nei confronti degli erogatori utilizzati in campo. Ciò può spiegare anche le variazioni del rapporto tra i sessi osservate tra una generazione e quella successiva. E' noto, infatti, che l'emissione di volatili della pianta varia sia qualitativamente che quantitativamente con la sua fenologia.

La matrice di agar, utilizzata per la preparazione degli erogatori, ha mostrato una buona capacità di controllare il rilascio delle sostanze. Le curve di scarico degli erogatori di GLVs, composti aromatici e terpeni, determinate in condizioni controllate di laboratorio, hanno evidenziato, infatti, una buona costanza di rilascio nelle prime due settimane successive alla loro preparazione per tutte le tipologie di composti. Dopo 2 settimane, inoltre, le quantità di sostanze che residuavano negli erogatori erano comprese tra il 45% (terpeni) ed il 74% (composti aromatici) di quelle iniziali d'innescamento, indicando una durata potenziale degli erogatori di circa 4 settimane.

Le prove hanno dimostrato che le diverse miscele di composti vegetali, alla dose saggiata, non solo non hanno indotto aumenti dell'attrattività del feromone sessuale verso i maschi di *H. armigera* ma ne hanno determinato una significativa riduzione. Infatti, il numero medio di maschi catturati per trappola durante l'intero periodo con il solo feromone sessuale è risultato significativamente maggiore di quello osservato in presenza delle diverse miscele. Tale risultato, probabilmente dovuto alla dose di miscela utilizzata, suggerisce di valutare le stesse sostanze in un ampio intervallo di dosi. E' probabile, infatti, che un'elevata concentrazione di sostanze volatili vegetali abbia interferito con la percezione, a livello antennale, dei diversi componenti feromonici. Studi recenti, infatti, hanno dimostrato la presenza, nei sensilli antennali di diverse specie di insetti, di neuroni olfattivi in grado di percepire sia componenti feromonici che composti volatili delle piante e che, pertanto, sono possibili interazioni tra le due tipologie di composti a livello del sistema olfattivo periferico (De Cristofaro *et al.*, 2001; De Cristofaro *et al.*, 2008). In

ogni caso, lo studio, indicando la possibilità di interferire sull'attrattività del feromone verso il maschio mediante volatili vegetali, apre l'interessante prospettiva di limitare l'attività riproduttiva della specie attraverso l'impiego di sostanze naturali. In futuro, sarà interessante valutare se tale interferenza dipenda dalla miscela nel suo complesso o dovuta a loro singoli componenti.

Il confronto delle curve di volo ottenute con il feromone e la miscela cairomonale (composti aromatici e terpeni) ha evidenziato che in presenza di bassi livelli di popolazione (fine luglio), le catture con feromone e cairomone sono del tutto comparabili (4 adulti/trappola/settimana). Sarà interessante in futuro confrontare i poteri di cattura di feromone e cairomone all'inizio dell'infestazione determinata dalla prima generazione.

In conclusione, lo studio dimostra che anche per le popolazioni italiane di *H. armigera*, Z11-16:Ald e Z9-16:Ald sono essenziali per l'attrazione dei maschi. L'attrattività della miscela si mantiene elevata nell'intervallo di rapporti compresi tra 85:15 e 97:3 di Z11-16:Ald e Z9-16:Ald con una maggiore attrattività per i blend 95:5 e 97:3. Incerto rimane l'effetto di 16:Ald che tendenzialmente non ha migliorato l'attrattività dei blend binari ad eccezione di una prova. Analoga conclusione si può trarre anche per Z9-14:Ald che alla dose saggiata (2%) non ha migliorato l'attrattività dei migliori blend binari e ternari. Tuttavia, per questi ultimi due componenti secondari ulteriori studi sono necessari per valutarne l'effetto a concentrazioni diverse da quelle utilizzate. Le difficoltà incontrate nell'individuazione di un blend feromonico ottimale è complicato dall'elevata plasticità olfattiva dei maschi di *H. armigera* verso i componenti del feromone sessuale. Anche i maschi della popolazione italiana, infatti, sono efficacemente attratti da un ampio numero di miscele feromoniche contrariamente a quanto osservato per diversi altre specie di nottuidi per le quali la specificità del rapporto dei componenti fondamentali per l'attrazione è determinante per l'attrazione (Linn *et al.*, 1987; Germinara *et al.*, 2007).

Il lavoro di tesi rappresenta il primo studio sulla valutazione in campo dell'attività biologica di composti di origine vegetale verso gli adulti di *H. armigera* nel contesto agroecosistemico del pomodoro da industria. I risultati, potranno contribuire, oltre che alle conoscenze sulle interazioni *H. armigera*-pianta ospite, anche a sviluppare un attrattivo per le femmine del notturno che potrebbe essere utilizzato secondo una strategia "Attract and Kill". Una tale strategia per essere efficace, non deve necessariamente attirare un elevato numero di individui come nel caso del feromone sessuale (Buce *et al.*, 2001). Le femmine di *H. armigera*, infatti, depongono in media 730-1702 uova (Fitt, 1989) per cui l'eliminazione di una femmina prima dell'ovideposizione corrisponde ad eliminare diverse centinaia di larve. Ne consegue che, in un programma di "Attract and Kill", una trappola attivata con attrattivi vegetali, in grado di catturare le femmine ha un'efficienza molto più elevata nel ridurre il livello di ovideposizione rispetto alla trappola a feromone sessuale che cattura solo i maschi. Poiché *H. armigera* è un insetto molto mobile, ogni possibile miglioramento nel monitoraggio delle sue popolazioni può contribuire a migliorare gli strumenti di supporto alle decisioni sull'impiego degli insetticidi. In particolare, l'osservazione al microscopio degli ovari delle femmine catturate può fornire indicazioni sul livello di attività riproduttiva in campo (accoppiate o non accoppiate) e, quindi, le catture potrebbero riflettere meglio il livello di ovideposizione nella area monitorata.

L'attività di ricerca svolta durante il dottorato rappresenta il primo contributo alla conoscenza del feromone sessuale della popolazione italiana di *H. armigera*, dell'attrattività di composti volatili di origine vegetale verso gli adulti del notturno e sulle possibili interazioni tra feromone e composti volatili di origine vegetale. I risultati ottenuti potranno essere utilizzati per migliorare il monitoraggio della specie e, quindi, il timing delle applicazioni insetticide. Inoltre, l'identificazione di una miscela attrattiva efficace potrà contribuire, nei nostri comprensori, allo sviluppo di strategie innovative ed ecosostenibili

di controllo diretto del fitofago, secondo i metodi della confusione sessuale, lotta attratticida e cattura massale.

8 FIGURE



Fig. 1. Uova di *H. armigera*



Fig. 2. Larva di *H. armigera*



Fig. 3 Adulto di *H. armigera*



Fig. 4. Danno larvale su pomodoro



Fig. 5. Localizzazione dei siti di indagine



Fig. 6. Erogatori di gomma



Fig. 7. Trappola a olio

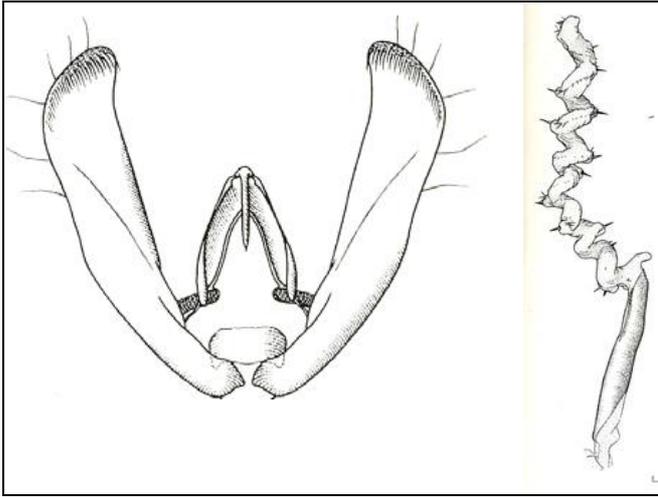


Fig. 8. Organi genitali maschili di *H. armigera*

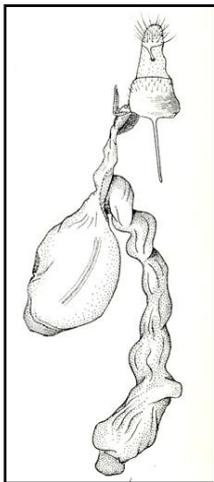


Fig. 9. Borsa copulatrice di femmina di *H. armigera*



Fig 10. Trappola a pagoda



Fig. 11. trappole a delta



Fig. 12. Distribuzione delle trappole in campo

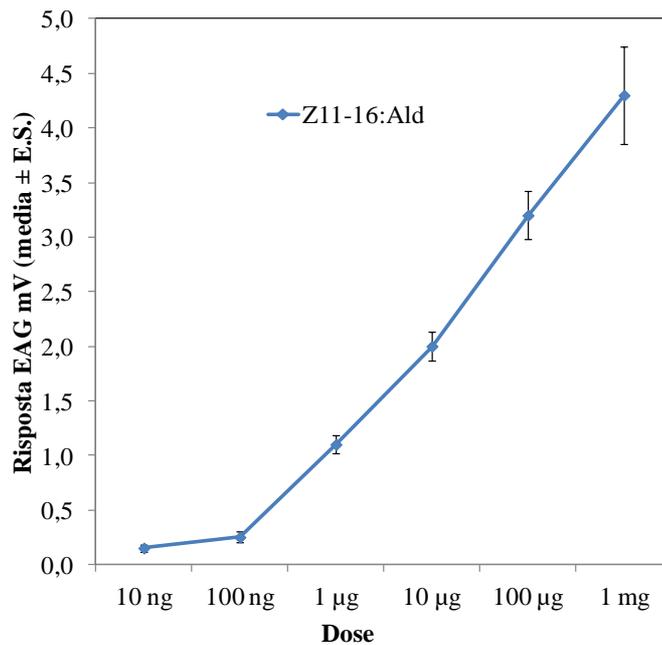


Fig. 13. Curva dose-risposta EAG di maschi di *H. armigera* verso Z11-16:Ald.

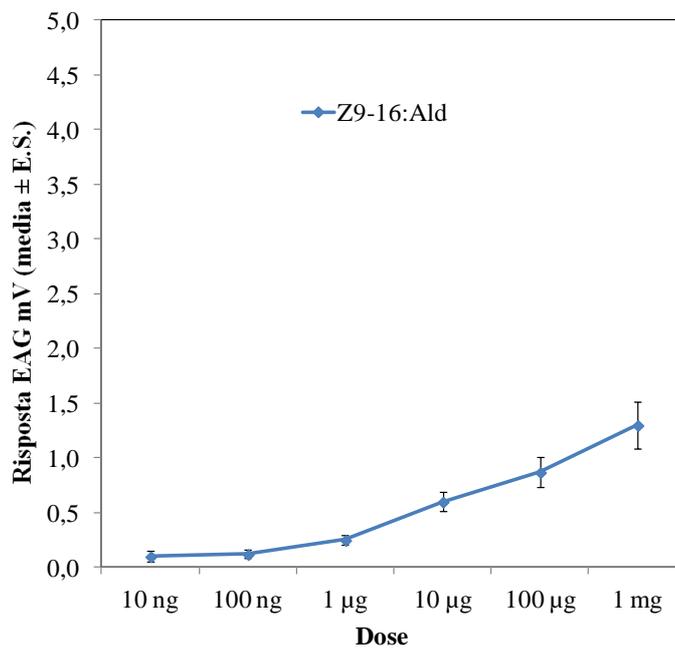


Fig. 14. Curva dose-risposta EAG di maschi di *H. armigera* verso Z9-16:Ald.

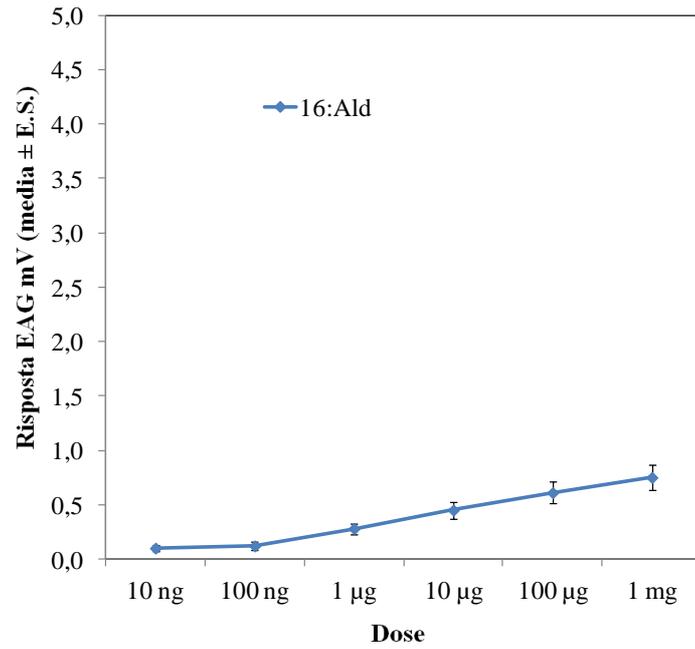


Fig. 15. Curva dose-risposta EAG di maschi di *H. armigera* verso 16:Ald.

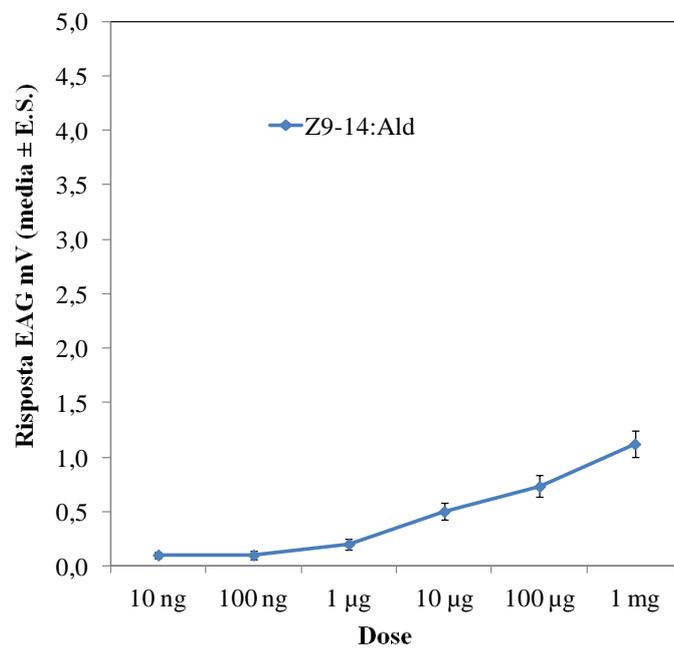


Fig. 16. Curva dose-risposta EAG di maschi di *H. armigera* verso Z9-14:Ald.

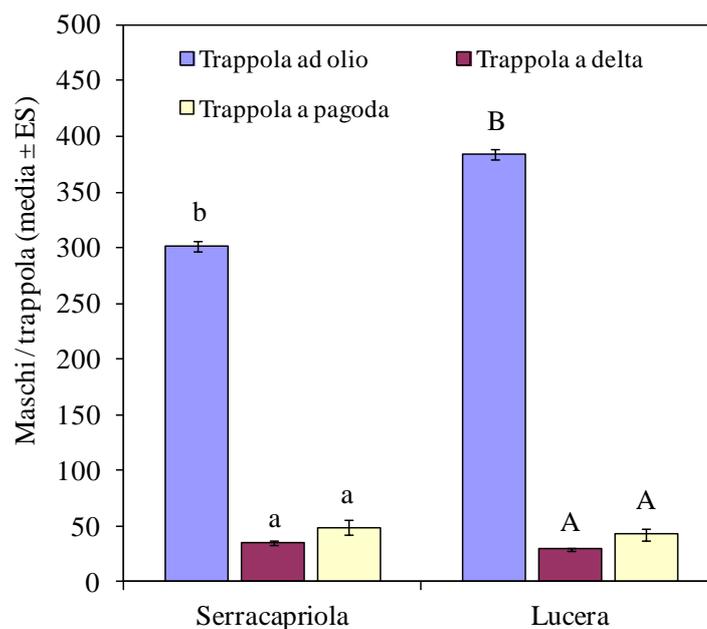


Fig. 17. Catture di maschi di *H. armigera* mediante diversi modelli di trappola attivati con una miscela feromonica sperimentale (Z11-16:Ald/Z11-16:OH/16:Ald nel rapporto 92:3:5) in due diverse località della provincia di Foggia dal 4 luglio al 7 agosto 2013.

Fig. 18. Rilascio medio, in condizioni controllate (25°C, 60% U.R., 0,3 m/s velocità dell'aria), di tre miscele di sostanze volatili, appartenenti a categorie chimiche diverse (GLV, composti aromatici e terpeni), da un erogatore sperimentale costituito da una soluzione (2%) di agar (5 mL) posta in provetta di vetro (20 mL) chiusa da un tappo forato (2 mm).

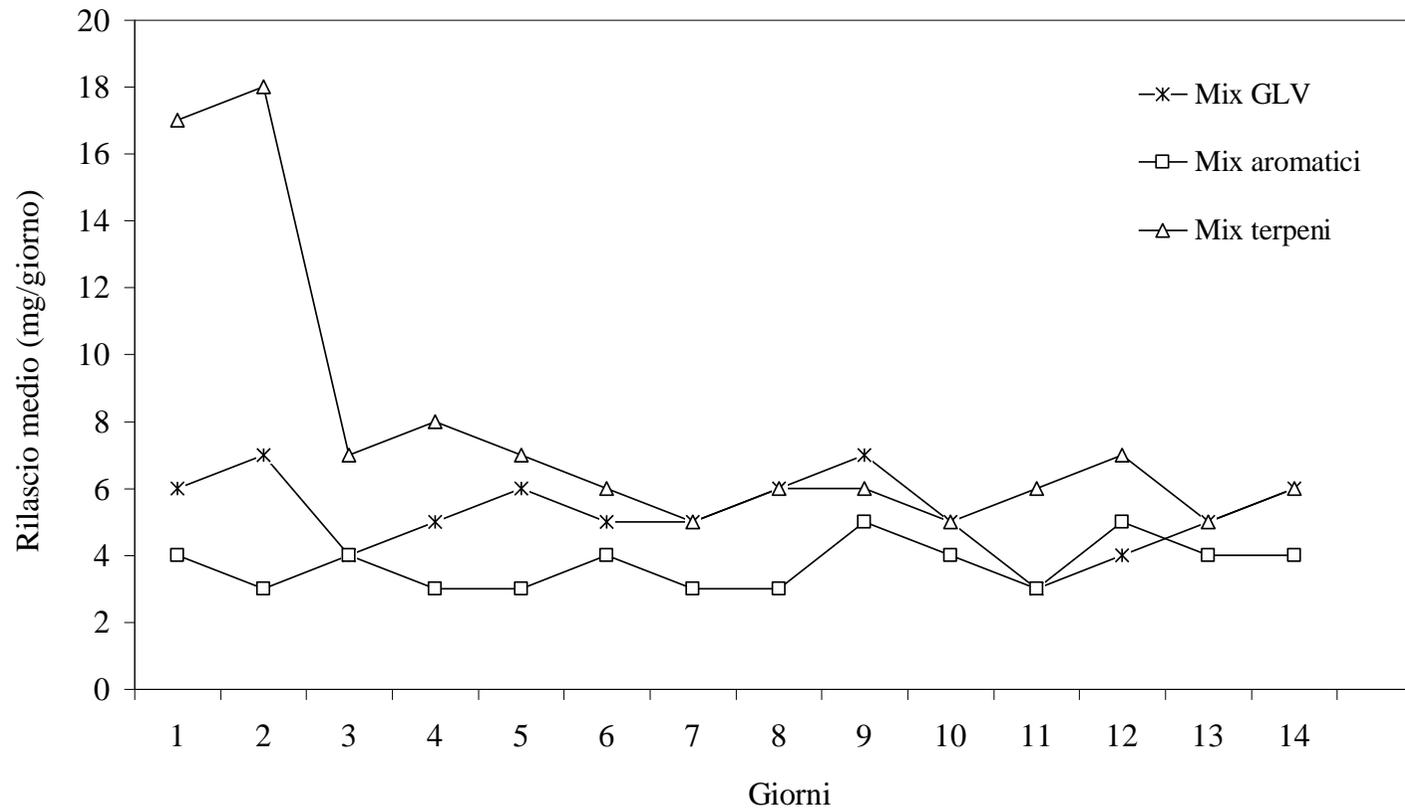


Figura 19. Confronto tra catture di maschi e di femmine di *H. armigera* (3 luglio - 4 settembre 20013) in trappole ad olio innescate con miscele di composti volatili appartenenti a tre diverse categorie chimiche (GLVs, composti aromatici, terpeni) e loro combinazioni binarie e ternaria. Significatività: * P = 0,05, ** P = 0,01 (test-*t* di Student).

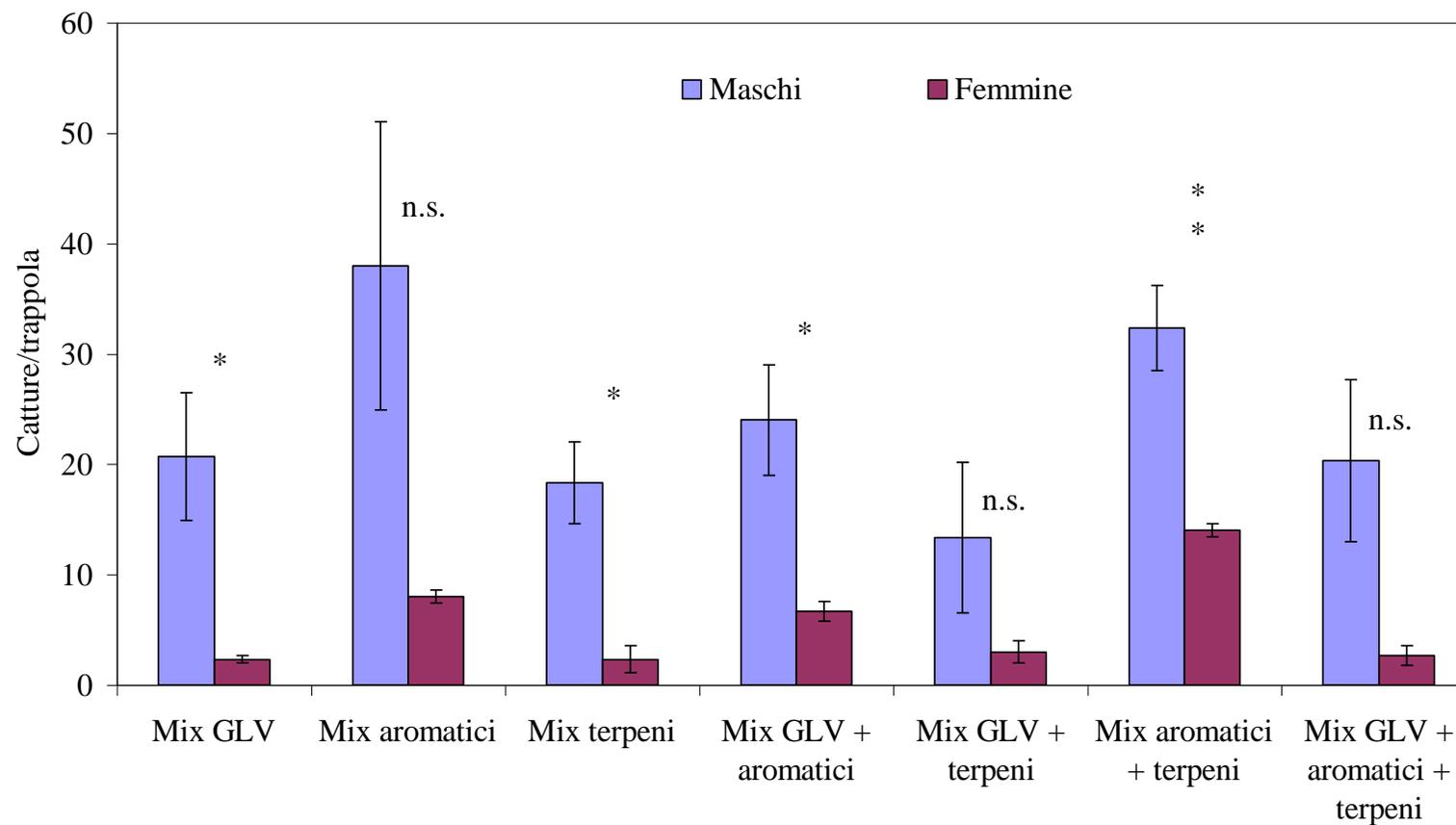


Fig. 20. *Sex ratio* (maschio:fammina) di adulti di *H. armigera* catturati in trappole ad olio attivate con diverse miscele di composti volatili di origine vegetale in due diverse generazioni a Posta D'Innanzi (Fg) nel 2013.

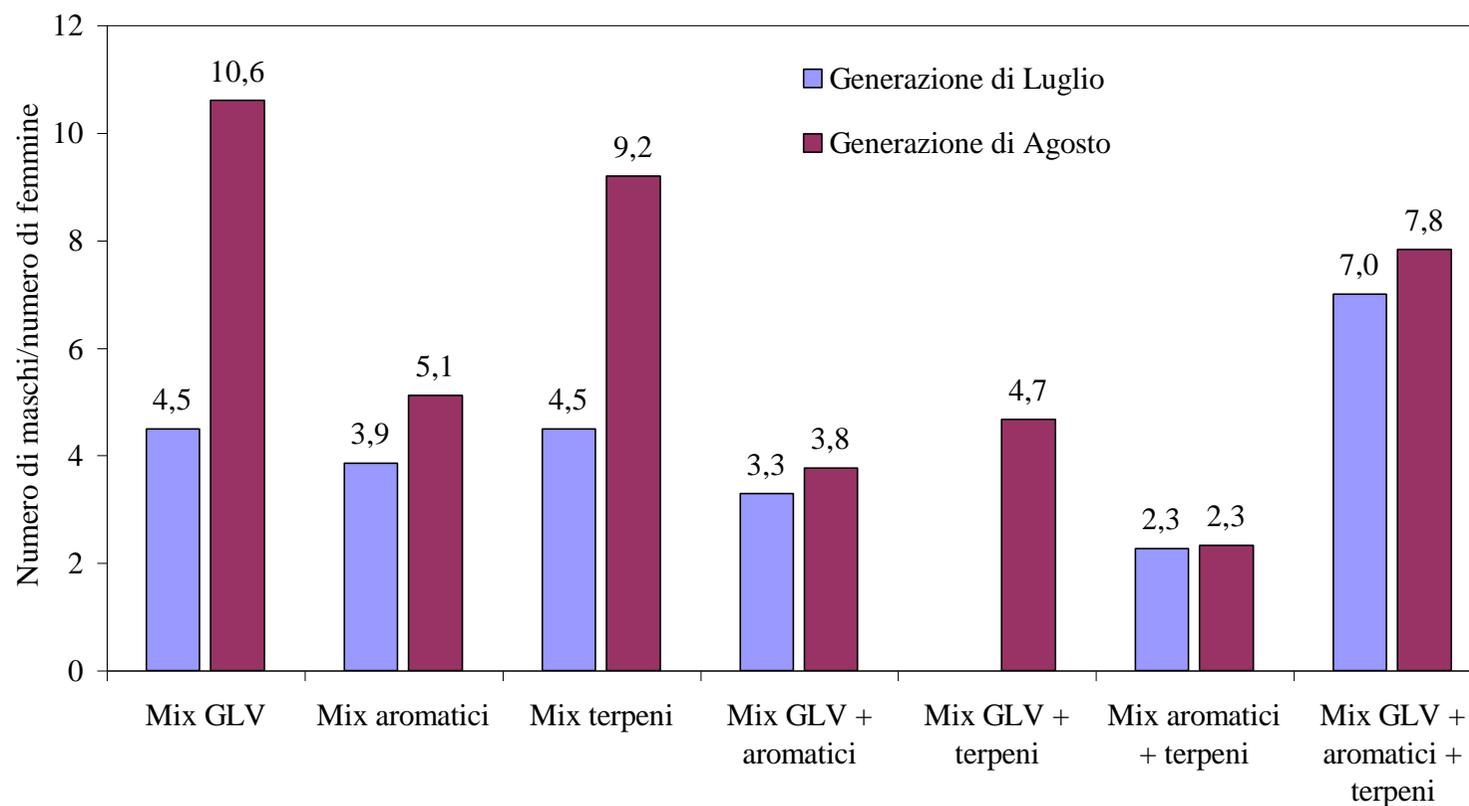


Figura 21. Catture di adulti di *H. armigera* (3 luglio - 4 settembre 20013) in trappole ad olio innescate con miscele di composti volatili appartenenti a tre diverse categorie chimiche (GLVs, composti aromatici, terpeni) e loro combinazioni binarie e ternaria. Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

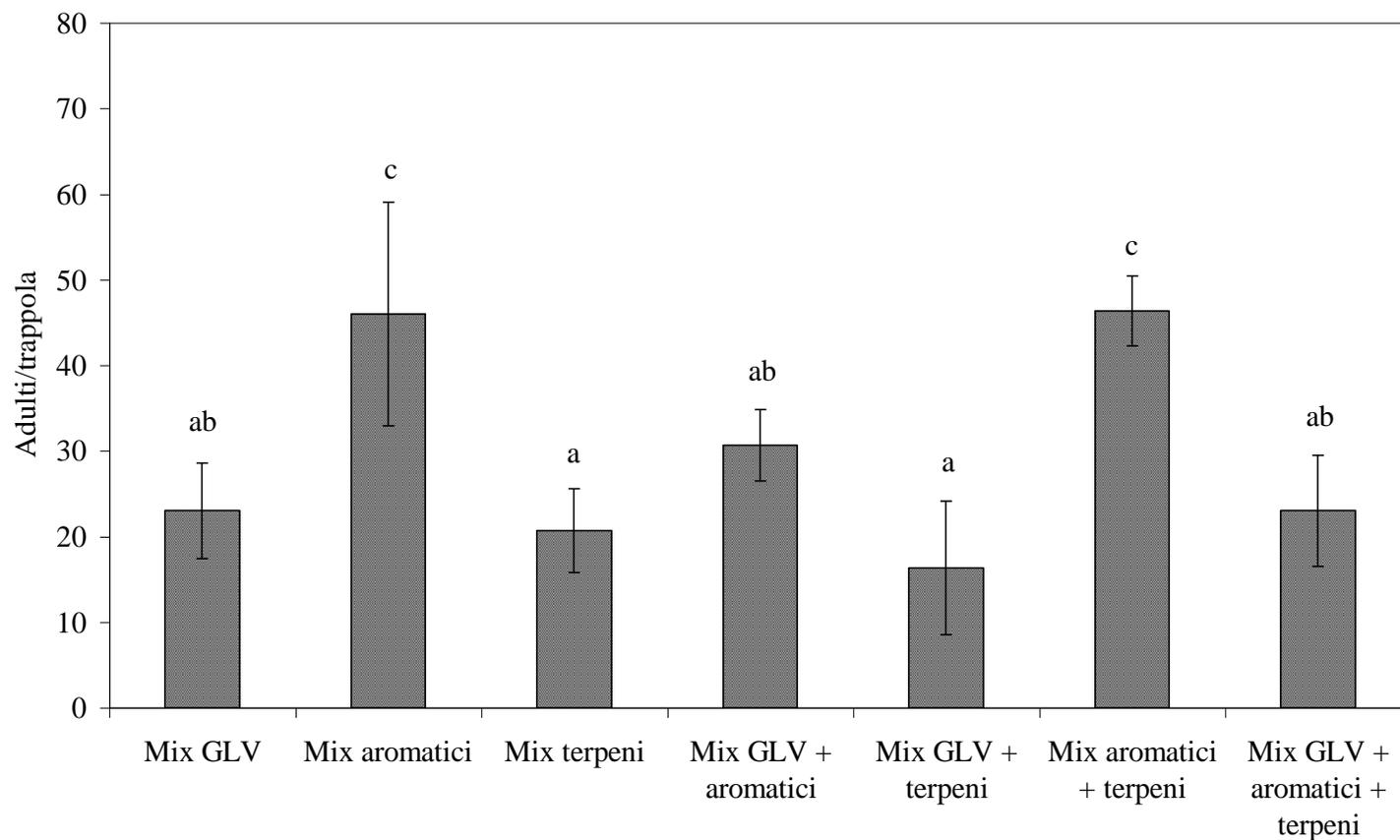


Figura 22. Catture di maschi di *H. armigera* (3 luglio - 4 settembre 20013) in trappole ad olio innescate con miscele di composti volatili appartenenti a tre diverse categorie chimiche (GLVs, composti aromatici, terpeni) e loro combinazioni binarie e ternaria. Valori contrassegnati con le stesse lettere non sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

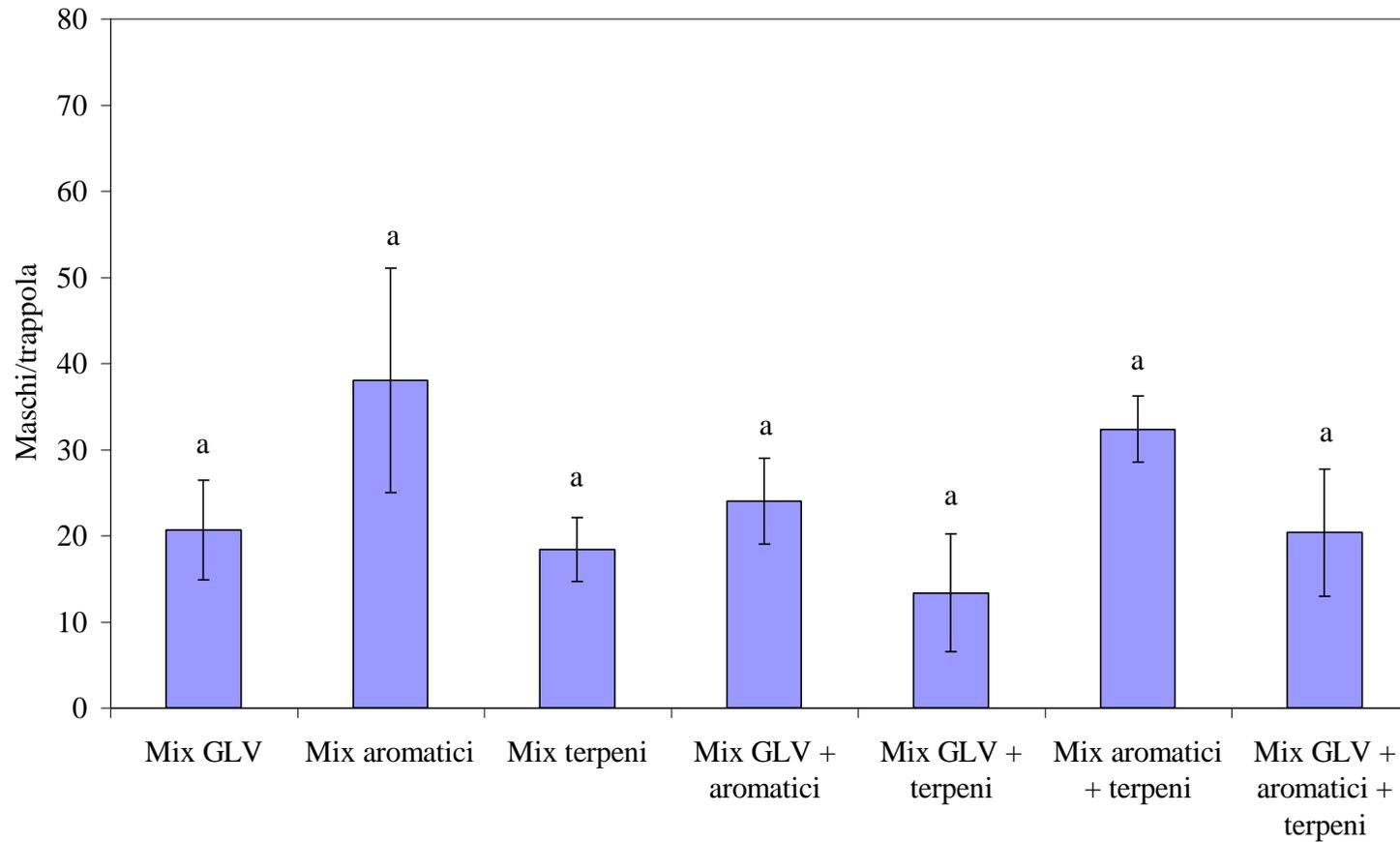


Figura 23. Catture di femmine di *H. armigera* (3 luglio - 4 settembre 20013) in trappole ad olio innescate con miscele di composti volatili appartenenti a tre diverse categorie chimiche (GLVs, composti aromatici, terpeni) e loro combinazioni binarie e ternaria. Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

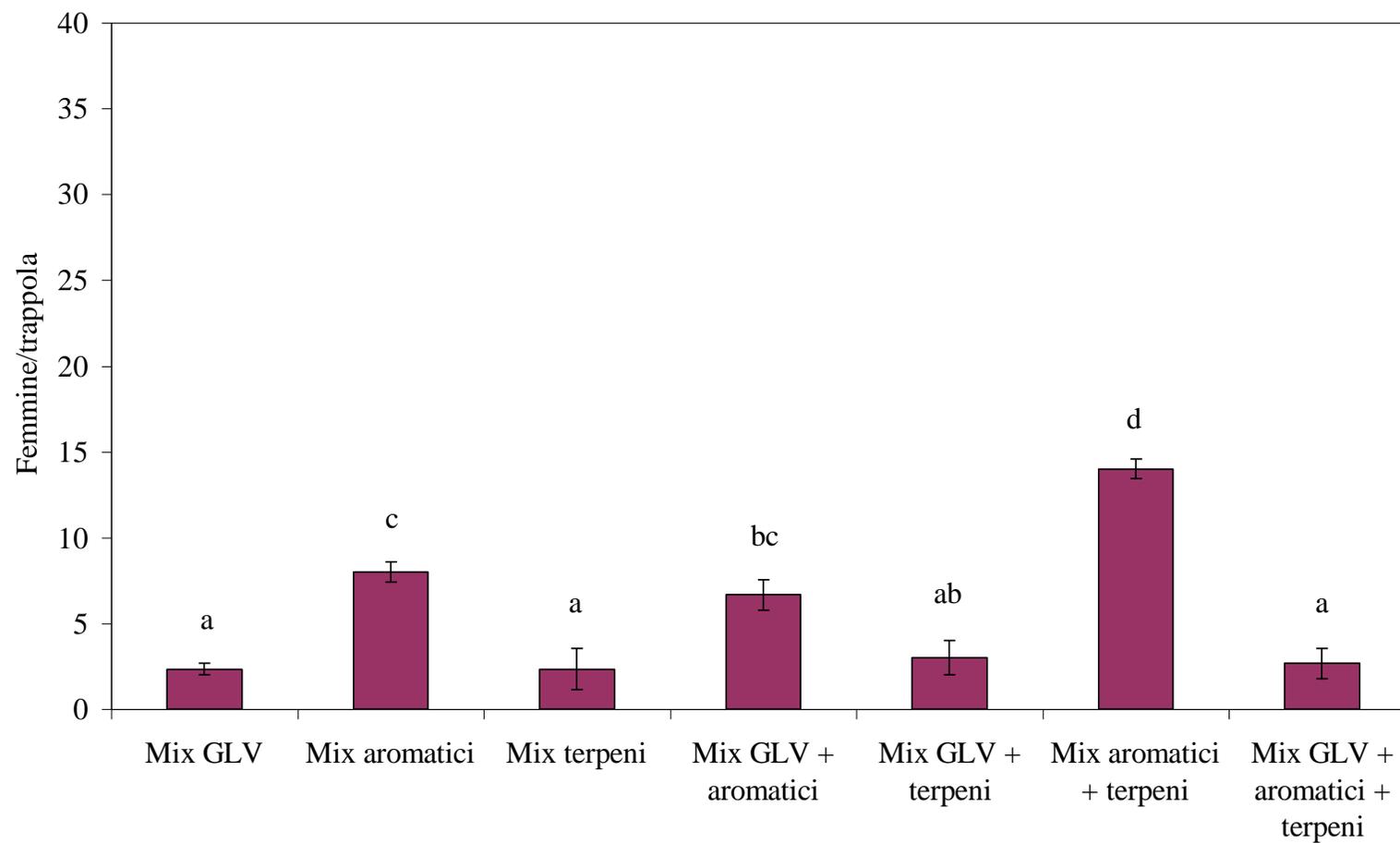


Figura 24. Confronto tra le catture di adulti di *H. armigera* mediante trappole ad olio attivate con attrattivi sessuali (maschi) o miscela cairomonale di volatili vegetali (mix di aromatici + terpeni) (maschi e femmine) in località Posta d'Innanzi (Fg) dal 3 luglio al 4 settembre 2013.

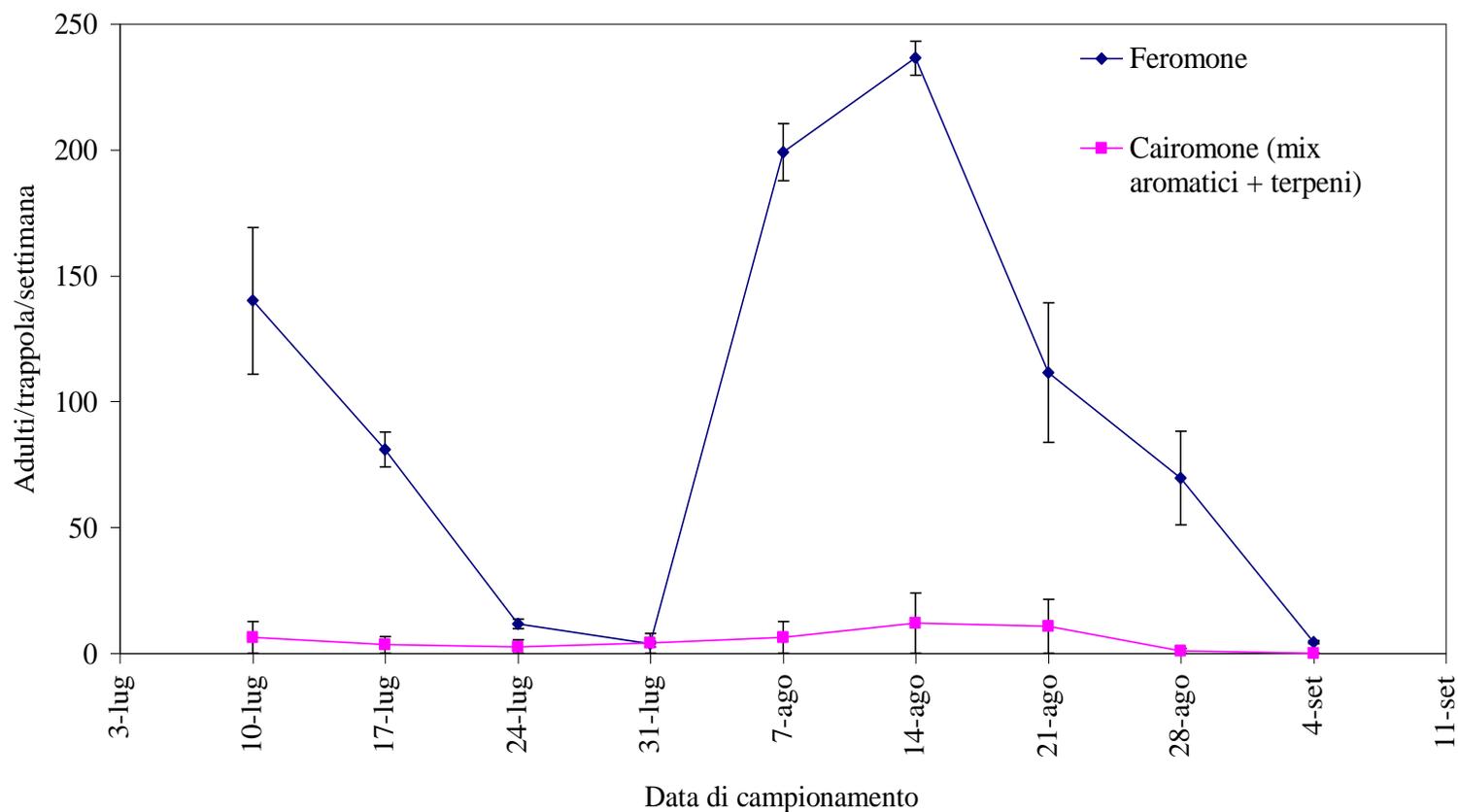
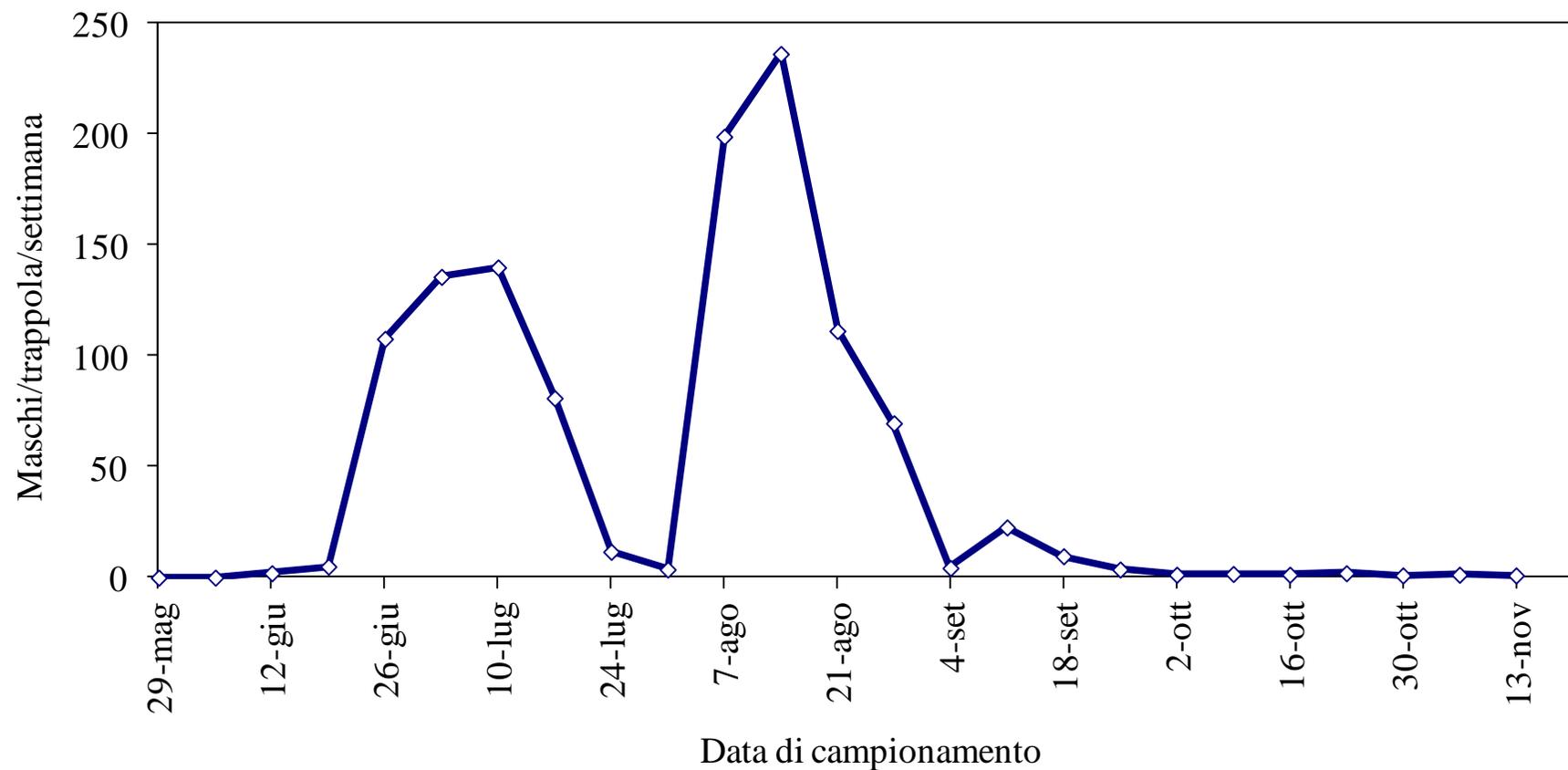


Figura 25. Curve di volo di maschi di *H. armigera* mediante trappole ad olio attivate con feromone sessuale in località Posta d'Innanzi (Fg) dal 29 maggio al 13 novembre 2013.



9 TABELLE

Tabella 1. Principali Paesi produttori di pomodoro da industria.

Nazione	Tonnellate	% del totale
Stati Uniti	10.900.000	29,30%
Cina	6.792.000	18,30%
Italia	4.900.000	13,30%
Spagna	2.000.000	5,38%
Turchia	1.900.000	5,11%
Iran	1.850.000	4,98%
Brasile	1.590.000	4,28%
Portogallo	1.060.000	2,85%
Tunisia	850.000	2,29%
Cile	794.000	2,14%
Totale produzione	37.185.000	

Fonte: Branthome (2010)

Tabella 2. Produzione di pomodoro da industria in diverse Regione d'Italia.

Ordine	Regione	Tonnellate (1.000)	% del totale
1	Puglia	1.740	37,24%
2	Emilia Romagna	1.555	33,29%
3	Lombardia	430	9,20%
4	Campania	254	5,44%
5	Toscana	143	3,06%
6	Calabria	134	2,84%
7	Lazio	133	1,97%
8	Sicilia	92	1,57%
	Totale Pomodoro da Industria	4.793	

Fonte: dati ISTAT 2012

Tabella 3. Produzione di pomodoro da industria a livello provinciale.

Provincia	Superficie (Ha)	Produzione (t)
Piacenza	8.590	652.980
Ferrara	6.165	372.982
Foggia	19.000	1.615.000
Brindisi	2.500	95.000

Fonte: Dati ISTAT 2012

Tabella 4. Miscela di attrattivi sessuali ed erogatori commerciali saggiati in campo verso i maschi di *H. armigera* nei tre anni di dottorato.

I anno	Attrattivi (%)			
	Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
2000		-	-	
85		15	-	
90		10	-	
95		5	-	
97		3	-	
80		15	5	
85		10	5	
90		5	5	
92		3	5	
Commerciale 1 (ISAGRO)				
Controllo (trappola non attivata)				
II anno	Attrattivi (%)			
	Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
40		60	-	
50		50	-	
60		40	-	
85		15	-	
90		10	-	
95		5	-	
97		3	-	
80		15	5	
85		10	5	
90		5	5	
92		3	5	
Commerciale 1 (ISAGRO)				
Commerciale 2 (SERBIOS)				
Controllo (trappola non attivata)				
III anno	Attrattivi (%)			
	Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	Z9-14:Ald
100		0	0	0
95		5	0	0
97		3	0	0
93		5	0	2
95		3	0	2
91		5	2	2
93		3	2	2
Commerciale 1 (ISAGRO)				
Commerciale 2 (BIOGARD)				
Controllo (trappola non attivata)				

Tabella 5. Miscele base di composti volatili di origine vegetale saggiate in campo per la loro attività biologica verso gli adulti di *H. armigera* e loro giustificazione.

<i>Categoria chimica</i> Composto	Purezza (%)	Miscela saggiata (parti in peso)	Riferimenti bibliografici
<i>GLV</i>			I composti ed i loro rapporti sono stati desunti sulla base di quelli identificati da foglie appassite di <i>Populus nigra</i> L. (Li <i>et al.</i> , 2005).
E2-esenale	95	2	
E2-esenolo	96	3	
Z3-esenolo	98	3	
Z3-esenil acetato	98	0,25	
<i>Aromatici</i>			I composti sono riportati come componenti di diverse miscele attrattive in laboratorio (Bruce e Cork, 2001; Gregg <i>et al.</i> , 2010). I rapporti sono stati desunti da una miscela risultata attrattiva in campo (Li <i>et al.</i> , 2005).
Benzaldeide	98	5,3	
Fenilacetaldeide	95	3,4	
Fenetil alcool	99	20,9	
<i>Terpeni</i>			I composti sono riportati come componenti di miscele attrattive in laboratorio ((Bruce e Cork, 2001; Gregg <i>et al.</i> , 2010). I rapporti sono stati desunti da una miscela attrattiva (Gregg <i>et al.</i> , 2010).
(S)-(-)-Limonene	96	1,4	
α -Pinene	98	0,4	
Eucaliptolo	99	1,0	

Tabella 6. Catture di maschi di *H. armigera* con trappole ad olio attivate con erogatori di gomma contenenti diverse miscele di componenti feromonici in un campo di pomodoro da industria a raccolta tardiva (Faraniello, Foggia) dal 4 agosto all'1 settembre 2011.

	Attrattivi (%)			Maschi/trappola (media \pm E.S.) *
	Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
100	-	-	-	2,7 \pm 1,2 a
85	15	0	0	35,7 \pm 16,7 bc
90	10	0	0	51,7 \pm 11,3 bc
95	5	0	0	125,7 \pm 25,4 d
97	3	0	0	56,3 \pm 10,1 bc
81	14	5	5	33,7 \pm 9,2 bc
86	10	5	5	41,7 \pm 12,7 bc
90	5	5	5	67,0 \pm 11,0 cd
92	3	5	5	48,0 \pm 14,1 bc
Commerciale 1 (Isagro)				2,7 \pm 0,6 a
Controllo (trappola non attivata)				0,5 \pm 0,3 a

*Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

Tabella 7. Catture di maschi di *H. armigera* con trappole ad olio attivate con erogatori di gomma contenenti diverse miscele di componenti feromonici in un campo di pomodoro da industria a raccolta tardiva (Tavernola, Foggia) dal 6 luglio all'8 settembre 2011.

	Attrattivi (%)			Maschi/trappola (media \pm E.S.) *
	Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
2000	-	-	-	2,7 \pm 0,7 a
85	15	-	-	40,7 \pm 4,3 bc
90	10	-	-	28,0 \pm 5,7 bc
95	5	-	-	46,3 \pm 2,6 bc
97	3	-	-	24,3 \pm 5,0 bc
80	15	5	5	57,0 \pm 22,1 c
85	10	5	5	27,3 \pm 4,9 bc
90	5	5	5	48,7 \pm 2,8 c
92	3	5	5	62,3 \pm 15,5 c
Commerciale 1 (Isagro)				2,3 \pm 0,9 a
Controllo (trappola non attivata)				0,3 \pm 0,3 a

*Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

Tabella 8. Catture di maschi di *H. armigera* con trappole ad olio attivate con erogatori di gomma contenenti diverse miscele di componenti feromonici in un campo di pomodoro da industria a raccolta precoce (Nisi, Lesina) dal 24 aprile al 7 agosto 2012.

Attrattivi (%)			Maschi/trappola (media \pm E.S.) *
Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
40	60	-	0,7 \pm 0,3 a
50	50	-	1,0 \pm 1,0 a
60	40	-	0,7 \pm 0,3 a
85	15	-	3,3 \pm 0,9 a
90	10	-	6,3 \pm 1,3 ab
95	5	-	8,0 \pm 2,6 ab
97	3	-	11,3 \pm 4,7 ab
80	15	5	2,7 \pm 0,9 a
85	10	5	3,0 \pm 1,5 a
90	5	5	10,3 \pm 2,3 ab
92	3	5	18,0 \pm 6,4 b

*Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per P = 0,05 (test di Tukey).

Tabella 9. Catture di maschi di *H. armigera* con trappole ad olio attivate con erogatori di gomma contenenti diverse miscele di componenti feromonici in un campo di pomodoro da industria a raccolta medio-tardiva (Tavernola, Foggia) dal 29 maggio al 28 agosto 2012.

Attrattivi (%)			Maschi/trappola (media \pm E.S.) *
Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	
40	60	-	1,0 \pm 0,6 a
50	50	-	1,0 \pm 0,6 a
60	40	-	1,0 \pm 0,6 a
85	15	-	84,0 \pm 7,0 bc
90	10	-	102,7 \pm 26,5 bc
95	5	-	162,7 \pm 39,5 c
97	3	-	138,3 \pm 13,1 bc
80	15	5	98,3 \pm 15,8 bc
85	10	5	72,0 \pm 13,0 bc
90	5	5	72,3 \pm 29,2 bc
92	3	5	294,7 \pm 33,3 d
Commerciale 1 (Isagro)			0,6 \pm 0,3 a
Commerciale 2 (Serbios)			3,7 \pm 0,7 a
Controllo (trappola non attivata)			0,6 \pm 0,3 a

*Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per P = 0,05 (test di Tukey).

Tabella 10. Catture di maschi di *H. armigera* con trappole ad olio attivate con erogatori di gomma contenenti diverse miscele di componenti feromonici in un campo di pomodoro da industria a raccolta medio-tardiva (Tavernola, Foggia) dal 29 maggio al 28 agosto 2012.

Attrattivi (%)				Maschi/trappola (media \pm E.S.) *
Z11-16:Ald	Z9-16:Ald	16:Ald	Z9-14:Ald	
100	0	0	0	6,8 \pm 2,5 a
95	5	0	0	354,5 \pm 29,5 cd
97	3	0	0	394,3 \pm 21,8 d
93	5	0	2	258,5 \pm 26,0 cd
95	3	0	2	255,5 \pm 25,2 cd
91	5	2	2	279,0 \pm 61,5 cd
93	3	2	2	209,0 \pm 53,3 c
Commerciale 1 (Isagro)				3,5 \pm 1,5 a
Commerciale 2 (Biogard)				166,0 \pm 24,8 bc
Controllo (trappola non attivata)				1,0 \pm 0,3 a

*Valori contrassegnati con lettere diverse sono significativamente differenti per $P = 0,05$ (test di Tukey).

Tabella 11. Catture di maschi di *H. armigera* (3 luglio - 4 settembre 2013) in trappole ad olio innescate con feromone sessuale da solo e in combinazione con miscele di composti volatili appartenenti a tre diverse categorie chimiche (GLVs, composti aromatici, terpeni).

Composti	Maschi/trappola (Media \pm E.S.) ^a	Valore assoluto del <i>t</i> di Student	Significatività P
Feromone	857,0 \pm 34,4	-	-
Feromone + GLVs	494,3 \pm 102,2 *	3,188	0,028
Feromone + aromatici	572,7 \pm 26,9 * *	7,772	0,002
Feromone + terpeni	563,0 \pm 62,4 *	5,931	0,014

^a Gli asterischi indicano differenze significative rispetto alle catture effettuate con il solo feromone sessuale: * $P = 0,05$, ** $P = 0,01$.

10 BIBLIOGRAFIA

Anju D., Kanaujia K.R., Sudha K., 2004. Efficiency of different pheromonal blends to monitor *Helicoverpa armigera* (Hübner) moth catches. Indian Journal of Plant Protection, 32: 147-148.

Akash V., Mehtre S., Koli B., Veer D., 1997. Biology of *Helicoverpa armigera* (Hb.) on safflower. The P.K.V. Research Journal, 21: 230-231.

Bantewad S.D., Sarode S.V., 2000. Influence of different hosts on the biology of *Helicoverpa armigera* (Hubner). Shashpa, 7: 133-136.

Boeckh J., Kaissling K.E., Schneider D., 1965. Insect olfactory receptors. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 30: 263-280.

Bouchard D., Ouedraogo A., Boivins G., 1992. Vertical distribution, special dispersion and sequential sampling plan for fruit damage by *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato crop in Burkina Faso. Tropical Pest Management, 38: 250-253.

Brown G., 1984. Field experience in cotton pest management in north western New South Wales, pp. 128-134. In P. Bailey and D. Swincer [eds.], Proceedings of the fourth Australian Applied Entomological Research Conference, Adelaide, Australia.

Bruce T.J., Cork A., 2001. Electrophysiological and behavioral responses of female *Helicoverpa armigera* to compounds identified in flowers of African marigold, *Tagetes erecta*. Journal of Chemical Ecology, 27: 1119-1131.

Bruce T.J., Cork A., Hall D.R., Dunkelblum E., 2001. Laboratory and field evaluation of floral odours from African marigold, *Tagetes erecta*, and sweet pea, *Lathyrus odoratus*, as kairomones for the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. IOBC Bulletin Vol. 24. Proceedings of a conference, "Use of Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Control." September 2000.

Burguiere L., Marion-Poll F., Cork A. 2001. Electrophysiological responses of female *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic host odours. Journal of Insect Physiology, 47: 509-514.

CAB., 2003. Crop protection compendium: global module. Commonwealth Agricultural Bureau International, Wallingford, UK.

Cameron P., Walker G., Herman T., Wallace A., 2001. Development of economic thresholds and monitoring systems for *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in tomatoes. Journal of Economic Entomology, 94: 1104-1112.

Cantelo W.W., Jacobson M., 1979. Corn silk volatiles attract many pest species of moths. Journal Science Health, 14: 695-707.

Conner We., Roach B., Benedict E., Meinwald J., Eisner T., 1990. Courtship pheromone production and body size as correlates of larval diet in males of the arctiid moth, *Utethisa ornatrix*. Journal of Chemical Ecology 16, 543-552.

Czepak C., Albernaz K.C., Vivan L. M., Guimareas H.O., Carvalhains T., 2013. First reported occurrence of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Pesquisa Agropecuária Tropical, Goiania, 43: 110-113.

De Cristofaro A., Rotundo G., Germinara G.S., 2000. Electrophysiological and olfactory responses of *Ephestia kuehniella* Zeller adults to cereals' semiochemicals. IOBC/WPRS Bulletin 23 (10): 189–194.

De Cristofaro A., Ioriatti C., Pasqualini E., Anfora G., Germinara G.S., Villa M., Rotundo G., 2004. Electrophysiological responses of *Cydia pomonella* to codlemone and pear ester ethyl (*E,Z*)-2,4-decadienoate: peripheral interactions in their perception and evidences for cells responding to both compounds. Bulletin of Insectology, 57: 137-144.

De Cristofaro A., Vitagliano S., Anfora G., Germinara G.S., Tasin M., Lucchi A., Ioriatti C., Rotundo G. 2008. Olfactory cells responding to the main pheromone component and plant volatiles in *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.): possible effects on monitoring systems. IOBC/WPRS Bulletin, (8): 245-251.

Del Socorro A.P., Gregg P.C., Alter D., Moore C.J., 2010a. Development of a synthetic plant volatile based attracticide for female noctuid moths. I. Potential sources of volatiles attractive to *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Australian Journal of Entomology, 49: 10-20.

Del Socorro A.P., Gregg P.C., Hawes A.J., 2010b. Development of a synthetic plant volatile-based attracticide for female noctuid moths. III.

Insecticides for adult *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Australian Journal of Entomology, 49: 31-39.

Den Otter J.C., Tchicaya T., Schutte A.M., 1991. Effects of age, sex and hunger on the antennal olfactory sensitivity of tsetse flies. Physiological Entomology, 16: 173-182.

Dillon G., Fitt G., 1995. Reassessment of sampling relationships for *Helicoverpa* spp. (Lepidoptera: Noctuidae) in Australian cotton. Bulletin of Entomological Research, 85: 321-329.

Dickens J.C., 1989. Green leaf volatiles enhance aggregation pheromone of the boll weevil *Anthonomus grandis*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 52: 191-203.

Dickens J.C., Smith J.W., Light D.M., 1993. Green leaf volatiles enhance sex attractant pheromone of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae). Chemoecology, 4: 175-177.

Dunkelblum E., Gothilf S., Kehat M., 1980. Identification of the sex pheromone of the cotton bollworm, *Heliothis armigera*, in Israel. Phytoparasitica, 8: 209-211.

Eger J.E., Witz J.A., Hartzack A.W., Sterling L., 1982. Survival of pupae of *Heliothis virescens* and *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae) at low temperatures. Canadian Entomologist, 114: 289-301.

Fahey J., Zalcmann A., Talalay P., 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*, 56: 5-51.

Farrow R.A., Daly J.C., 1987. Long-range movements as an adaptive strategy in the genus *Heliothis* (Lepidoptera: Noctuidae) a review of its occurrence and detection in four pest species. *Australian Journal of Zoology*, 35: 1-24.

Finch S., 1980. Chemical attraction of plant-feeding insects to plants. In: *Applied Biology V* (ed TH Coaker), Academic Press, London and New York, pp. 67-143.

Flint H.M., Salter S.S., Walters S., 1979. Caryophyllene: an attractant for the green lacewing. *Environmental Entomology*, 8: 1123-1125.

Firempong S., Zaluki M., 1990. Host plant selection by *Helicoverpa armigera*: role of certain plant attributes. *Australian Journal of Zoology*, 37: 675-683.

Fitt G.P., 1989. The ecology of *Heliothis* species in relation to agroecosystems. *Annual Review of Entomology*, 34: 17-52.

Fowler G., Lakin K., 2001. Risk Assessment: The Old Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner), (Lepidoptera: Noctuidae). USDA-APHIS, Center for Plant Health Science and Technology (Internal Report), Raleigh, NC: 1-19.

Forrester N.W., Cahill M., Bird L.J., Layland J.K. 1993. Management of pyrethroid and endosulfan resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia. Bulletin of Entomological Research (Suppl. 1), 132.

Gabba A., Pavon M., 1970. Researches on trail and alarm substances in ants. In : “Advance in chemioreception” J.W. Johnston et al. Ed. 1: 161-195

Germinara G.S., Rotundo G., De Cristofaro A. 2000. Meridic diet for rearing *Sesamia nonagrioides* (Lefèbvre) (Lepidoptera, Noctuidae): evaluation by insects' developmental parameters, sex pheromone production and its perception. Phytophaga, 10: 25-34.

Germinara G.S., Elgargoti A., De Cristofaro A., Rotundo G. 2007. Female sex pheromone of *Sesamia cretica*: chemical and behavioral evidence for a three-component blend. Entomologia Experimentalis et applicata, 124: 213-219.

Germinara G.S., De Cristofaro A., Rotundo G. 2009. Antennal olfactory responses to individual cereal volatiles in *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae). Journal of Stored Products Research, 45: 195-200.

Gregg P.C., 1993. Pollen as a marker for migration of *Helicoverpa armigera* and *H. punctigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from western Queensland. Australian Journal of Ecology, 18: 209-219.

Gregg P.C., Del Socorro A.P., Henderson G., 2010. Development of a synthetic plant volatile based attracticide for female noctuid moths. II. Bioassays of synthetic plant volatiles as attractants for the adults of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Australian Journal of Entomology, 49: 21-30.

Hardwick D.F., 1965. The corn earworm complex. Memoirs of the Entomological Society of Canada, 40: 247 pp.

Hoffmann A.A., Parsons P.A., 1984. Olfactory response and resource utilization in *Drosophila*: interspecific comparisons. Biological Journal of Linneus Society, 22: 43-53.

Hou M.L., Sheng C.F., 2000. Effects of different foods on growth, development and reproduction of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Acta Entomologica Sinica, 43: 168-175.

Jacobson M., 1976. Indian *Calamus* Root Oil: Attractiveness of the Constituents to Oriental Fruit Flies, Melon Flies, and Mediterranean Fruit Flies, Lloydia, 39: 412-415

Jallow M., Zalucki M., 1998. Effects of egg load on the host-selection behaviour of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Australian Journal of Zoology, 46: 291-299.

Jallow M.F.A., Zalucki M.P., Fitt G.P., 1999. The role of chemical cues in mediating host selection and oviposition behaviour by *Helicoverpa*

armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Australian Journal of Entomology, 38: 359-366.

Jallow M.F.A., Cunninghamb J. P., Myron P. Zaluckib M.P., 2004. Intra-specific variation for host plant use in *Helicoverpa armigera* Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae): implications for management. Crop Protection, 23: 955-964.

Jones J.C., 1968. The sexual life of a mosquito. In: Eisner T., "The insect", Scient. Am., 1977, W. H. Freeman & C. Publishers S. F.:71-78.

Kant K., Kanaujia K.R., Kanaujia S., 1999. Rhythmicity and orientation of *Helicoverpa armigera* (Hubner) to pheromone and influence of trap design and distance on moth trapping. Journal of Insect Science, 12: 6-8.

Karlson P., Butenandt A., 1959. Pheromones: a new term for a class of biologically active substances. Nature, 183: 55-56.

Kyi A., Zalucki M., 1991. An experimental study of early stage survival of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton. Bulletin of Entomological Research, 81: 263-271.

King A.B.S., 1994. *Heliothis/Helicoverpa* (Lepidoptera: Noctuidae). In G.A. Matthews Tunstall J.P., [ed.], Insect Pests of Cotton. CAB International, Wallingford: pp. 39-106.

Kirkpatrick T.H., 1961. Queensland distributions and host records for *Heliiothis* species (Lepidoptera: Noctuidae). Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, 18: 195-202.

Kirkpatrick T.H., 1962. Notes on the life-histories of species of *Heliiothis* (Lepidoptera: Noctuidae) from Queensland. Queensland Journal of Agricultural and Animal Sciences, 19: 567-570.

Knight L., Light D.M., 2001. Attractants from Bartlett pear for codling moth, *Cydia pomonella* (L.), larvae. Naturwissenschaften, 88: 339-342 .

Hartlieb E & Rembold H. 1996. Behavioral response of female *Helicoverpa (Heliiothis) armigera* Hb. (Lepidoptera: Noctuidae) moths to synthetic pigeonpea (*Cajanus cajan* L.) kairomone. Journal of Chemical Ecology, 22: 821-837.

Heckett, D. and Gatehouse, A.G., 1982. Diapause in *Heliiothis armigera* (Hubner) and *H. fletcheri* (Hardwick) (Lepidoptera Noctuidae) in the Sudan Gezira. Bulletin of Entomological Research, 72: 409-422.

Hendrikse A., Vos-Bunnemyer E., 1987. Role of host plant stimuli in sexual behavior of small ermine moths (*Yponomeuta*). Ecological Entomology, 12: 363-371.

Law J.H., Ragneir F.E., 1971. Pheromones. Annual Review of Biochememistry, 40: 533-544.

Landolt P.J., Phillips T.W., 1997. Host plant influences on sex pheromone behavior of phytophagous insects. *Annual Review of Entomology*, 42: 371-391.

Levinson H.Z., Levinson A.R., Muller K. (1990). Influence of some olfactory and optical properties of fruits on host location by Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata* Wied). *Journal of Applied Entomology*, 109: 44-54.

Lewis T., Mackaulay D.M..1976. Design and elevation of sex- attractant traps for pea moth, *Cydia nigricana* (Steph.) and effect of plume shape on catches. *Ecological Entomology*, 1: 178-187.

Li W.-Z., Yuan G.-H., Sheng C.-F., Guo X.-R., 2005. Active compounds in *Populus nigra* L. wilted leaves responsible for attracting *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep., Noctuidae) and new agarose formulation. *Journal of Applied Entomology*, 129: 557-562.

Light D.M., Jang E.B., 1987. Electroantennogram responses of the oriental fruit fly, *Dacus dorsalis*, to a spectrum of alcohol and aldehyde plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 45: 55-64.

Light D.M., Knight A.L., Henrick C.A., Rajapaska D., Lingren B., Dickens J.C., Reynolds K.M., Buttery R.G., Merrill G., Roitman J., Campbell B.C., 2001. A pear-derived kairomone with pheromonal potency that attracts male and female codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Naturwissenschaften*, DOI 10.1007/s001140100243

Light D.M., Jang E.B., Flath R.A. 1992. Elettroantennogram responses of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*, to the volatile constituents of nectarines. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 63:13-26.

Light D.M., Flath R.A., Buttery R.G., Zalom F.G., Rice R.E., 1993. Host-plant green volatiles synergize the synthetic sex pheromones of the corn earworm and codling moth (Lepidoptera). *Chemoecology*, 4: 145-152.

Linn C.E. Jr, Campbell M.G., Roelofs W.L., 1987. Pheromone component and active spaces. What do moths smell and where do they smell it? *Science*, 237: 650-652.

Loganathan M., Uthamasamy S., 1998. Efficacy of a sex pheromone formulation for monitoring *Heliothis armigera* Hübner moths on cotton. *Journal of Entomological Research*, 22: 35-38.

Loganathan M., Sasikumar M., Uthamasamy S., 1999. Assessment of duration of pheromone dispersion for monitoring *Heliothis armigera* (Hüb.) on cotton. *Journal of Entomological Research*, 23: 61-64.

Luckner M., 1972. *Secondary Metabolism in Plants and Animals*. Chapman and Hall, London.

Ma D., Gordh G., Zalucki M., 2000. Survival and development of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) on neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaves. *Australian Journal of Entomology*, 39: 208-211.

Maradufu A., Lubega R., Dora F., 1978. Isolation of (5E)-ocimene, a mosquito larvicide from *Tagetes minuta*. *Llyodia*, 41: 181-182.

Matsumoto Y., Thorsteinson A.J., 1968. Effect of organic sulfur compounds on oviposition in onion maggot, *Hylemya antiqua* Meigen (Diptera: Anthomyiidae). *Applied Entomology and Zoology*, 3: 5-12.

Maelzer D., Zalucki M., 1999. Analysis of long-term light-trap data for *Helicoverpa spp.* (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: the effect of climate and crop host plants. *Bulletin of Entomological Research*, 89: 455-463.

McCaffery A.R. 1998. Resistance to insecticides in heliothine Lepidoptera: a global view. *Philos. Transaction of Royal Society of London Ser. B* 353,: 1735-1750.

McNeil J.N., Delisle J., 1989. Host plant pollen influences calling behavior and ovarian development of the sunflower moth, *Homeosoma electellum*. *Oecologia*, 80: 201-205.

Meagher R.L., 2001. Collection of soybean looper and other noctuids in phenylacetaldehyde-baited field traps. *Florida Entomologist*, 84: 154-155.

Meagher R.L., 2002. Trapping noctuid moths with synthetic floral volatile lures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 103: 219-226.

Meagher R.L., Landolt P.J., 2008. Attractiveness of binary blends of floral odorant compounds to moths in Florida, USA. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 128: 323-329.

Miller J.R., Strickler K., 1984. Finding and accepting host plants. In: Bell, W.J., Carde, R. (Eds.), *Chemical Ecology of Insects*. Sinauer and Sunderland, Massachusetts, pp. 127-134.

Montgomery M.E., Wargo P.M., 1983. Ethanol and other host-derived volatiles as attractants to beetles that bore into hardwoods. *Journal of Chemical Ecology*, 9: 181-190.

Mulimani V.H., Sudheendra K., 2002. Screening of wild species of pigeonpea against *Helicoverpa armigera* gut proteinases. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*: 53-56.

Nadganda D., Pitre H., 1983. Development, fecundity and longevity of tobacco bullworm (Lepidoptera: Noctuidae) fed soybean, cotton and artificial diet at three temperatures. *Environmental Entomology*, 12: 582-586.

Nesbitt B.F., Beevor P.S., Hall D.R., Lester R., 1979. Female sex pheromone components of the cotton bollworm, *Heliothis armigera*. *Journal of Insect Physiology*, 25: 535-541.

Nishida R., 2002. Sequestration of defensive substances from plants by Lepidoptera. *Annual Review of Entomology*, 47: 57-92.

Nordlund D.A., Lewis J., 1976. Terminology of chemical releasing stimuli in intraspecific and interspecific interactions. *Journal of Chemical Ecology*, 2: 211-220.

Parè P.W., Tumlinson J.H., 1997a. *De novo* biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiology*, 114: 1161-1167.

Parè P.W., Tumlinson J.H., 1997b. Induced synthesis of plant volatiles. *Nature*, 385: 30-31.

Parè P.W., Tumlinson J.H., 1999. Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiology*, 121: 325-331.

Pawar C., Sithanatham S., Bhatnagar V., Srivastava C., Reed W., 1988. The development of sex pheromone trapping of *Heliothis armigera* at ICRIAT, India. *Tropical Pest Management*, 34: 39-43.

Pearson E.O., 1958. *The insect pests of cotton in tropical Asia*. 355 pp, London, U.K.

Pettersson L., 1970. An aphid sex attractant. I. Biological studies. *Entomologica scandinavica*, 1: 63-73.

Piccardi P., Capizzi A., Cassani G., Spinelli P., Arsura E., Massardo P., 1977. A sex pheromone component of the old world bollworm *Heliothis armigera*. *Journal of Insect Physiology*, 23: 1443-1445.

Pollini A., 1998. *Manuale di entomologia applicata*. Edagricole, pp. 666-669.

Quiroz A., Pettersson J., Pickett J.A., Wadhams L.J., Niemeyer H.M., 1997. Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, feeding on cereals. *Journal of Chemical Ecology*, 23: 2599-2607.

Kehat M., Gothilf S., Dunkelblum E., Greenberg S., 1980. Field evaluation of female sex pheromone components of the cotton bollworm, *Heliothis armigera*. *Entomologia experimentalis et Applicata*, 27: 188-193.

Kehat M., Dunkelblum E., 1990. Behavioral responses of male *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) moths in a flight tunnel to combinations of components identified from female sex pheromone glands. *Journal of Insect Behavior*, 3: 75-83.

Kumar A.R.V., Shivakumara B., 2003. Variable response of male *Helicoverpa armigera* moth to sex pheromone blends: A case of behavioural polymorphism? *Current Science*, 84:705-709.

Ramaswamy S.B. 1988. Host finding by moths: sensory modalities and behaviours. *Journal of Insect Physiology*, 34: 235-249.

Reddy G.V.P., Guerrero A., 2000. Behavioral responses of the diamondback moth, *Plutella xylostella*, to green leaf volatiles of *Brassica oleracea* subsp. *capitata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48: 6025-6029.

Rembold H., Tober H., 1987. Kairomones in legumes and their effect on behaviour of *Heliothis armigera*. In: *Insects-Plants, Proceedings of the 6th*

International Symposium on Insect-Plant Relationships (PAU 1986) (eds V Labeyrie, G Fabres & D Lachaise). DR W. Junk Publishers, Dordrecht, South Africa: 25-29.

Rembold H., Köhne A.C., Schroth A., 1991. Behavioural response of *Heliothis armigera* Hb. (Lep., Noctuidae) moths on a synthetic chickpea (*Cicer arietinum* L.) kairomone. Journal of Applied Entomology, 112: 252-262.

Riddiford L.M., 1967. Trans-2-hexenal: Mating stimulation for *Polyphemus* moths. Science, 158 (3797): 139-141.

Rodrigues V., 1980. Olfactory behavior of *Drosophila melanogaster*. In Siddiqi O., Babu P., Hall L.M., e Hall J.C. (eds.), Development and Neurobiology of *Drosophila*. New York, London, Plenum, 1980: 361-371.

Roelofs W.L., 1984. Electroantennogram assay: rapid and convenient screening procedures for pheromones. In : Hummel H.E., Miller T.A., Techniques in pheromone research, Springer Verlag, New York: 131-160.

Rome, R.E. 1979. Pupal diapause in *Heliothis armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) in Botswana: its regulation by environmental factors. Bulletin of Entomological Research, 65: 523-530.

Rotundo G., Ippolito R., Parenzan P., 1983. Catture di *Gortyna xanthenes* (Germ.) (Lepidoptera: Noctuidae) con trappole di diverso tipo. Nota preliminare. XIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Sestrier-Torino 27.VI-1.VII.1983: 245-252.

Rotundo G., Tremblay E., 1993. Electroantennographic responses of chestnut moths (Lepidoptera: Tortricidae) and their parasitoid *Ascogaster quadridentatus* Wesmel (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles from chestnut (*Castanea sativa* Miller) leaves. *Redia*, 46: 361-373.

Saito O. 1999. Flight activity changes of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), by aging and copulation as measured by flight actograph. *Applied Entomology and Zoology*, 35: 53-61.

Sannino L., Espinosa B., 2009. I Parassiti Animali delle solanacee. *Edagricole*: 180-185.

Sant'ana J., Dickens J.C., 1998. Comparative electrophysiological studies of olfaction in predaceous bugs, *Podisus maculiventris* and *P. nigrispinus*. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 965-984.

Saour G., Causse R., 1993. Oviposition behaviour of *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) on tomato. *Journal of Applied Entomology/Zeitschrift für Angewandte Entomologie*, 115: 203-209.

Schneider D., 1957. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori*. *Zeitschrift für Vergleichende Physiologie*, 40: 8-41.

Sekhar P.R., Venkatalah M., Venugopal Rao N., 1996. Influence of crop phenology and nutritional status of host plant on *Helicoverpa armigera* (Hübner) in cotton. *Annals of Agricultural Research*, 17: 56-59.

Sequeira R., 2001. Inter-seasonal population dynamics and cultural management of *Helicoverpa* spp. in a central Queensland cropping system. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 41: 249-259.

Shanower T., Yoshida M., Peter A., 1997. Survival, growth, fecundity, and behavior of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) on pigeonpea and two wild *Cajanus* species. *Journal of Economic Entomology*, 90: 837-841.

Sheng C.F., Su J.W., Wang H.T., Fan W.M., Xuan W.J., 2002. An efficiency comparison of cone and water tray traps baited with pheromone for capturing male moths of *Helicoverpa armigera*. *Acta Entomologica Sinica*, 45: 271-274.

Schoonhoven L.M., 1968. Chemosensory bases of host selection. *Annual Review of Entomology*, 13: 115-136.

Shorey H.H., 1977. *Animal communication by pheromones*. Ac. Press., New York: 167 pp.

Sidde Gowda D.K., Yelshetty S., Kotikal Y.K., Patil B.V., Benagi V.I., 2002. Validation of integrated pest management of pigeonpea pod borer *Helicoverpa armigera*. *International Chickpea and Pigeonpea Newsletter*: 46-47.

Sigsgaard L., Ersbøll A., 1999. Effects of cowpea intersowing and insecticide application on *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies in pigeonpea intercropped with sorghum. *International Journal of Pest Management*, 45: 61-67.

Soni S.K., Finch S., 1979. Laboratory evaluation of sulphur-bearing chemicals as attractants for larvae of the onion fly, *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae) Bulletin of Entomological Research, 69: 291-298.

Sutherland O.R.W., Hutchins R.F.N., 1973. Attraction of newly hatched codling moth larvae (*Laspeyresia pomonella*) to synthetic stereo-isomers of farnesene. Journal of Insect Physiology, 19: 723-727.

Tamhankar A.J., Rajendran T.P., Rao N.H., Lavekar R.C., Jeyakumar P., Monga D., Bambawale O.M., 2003. Variability in response of *Helicoverpa armigera* males from different locations in India to varying blends of female sex pheromone suggests male sex pheromone response polymorphism. Current Science, 84: 448-450.

Tumlinson J.H., Lewis W.J., Vet L.E.M., 1993. How parasitic wasps find their hosts. Scientific American, 268: 100-106.

Tremblay E., 1982. Entomologia applicata. Vol. I. Generalità e mezzi di controllo. Liguori Ed., Napoli: 203 pp.

Tremblay E., 1993. Entomologia applicata. Vol. II. Parte II. Liguori Ed., Napoli: 437 pp.

Tripathi S., Singh R., 1991. Population dynamics of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Science Applications, 12: 367-374.

Vega F.E., Kaya H.K., 2012. Insect Pathology. Second Edition, Elsevier Inc., 512 pp.

Visalakshmi V., Arjuna Rao P., Krishnayya P., 2000. Utility of sex pheromone for monitoring *Heliothis armigera* (Hüb.) infesting sunflower. Journal of Entomological Research, 24: 255-258.

Visser, J.H., 1979. Electroantennogram responses of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata* to plant volatiles. Entomologia Experimentalis et Applicata, 25: 86-97.

Visser J.H., 1983. Differential sensory perceptions of plant compounds by insects, pp. 215-230, in P.A. Hedin (ed.). Plant Resistance to Insects. ACS Symposium Series 208, American Chemical Society, Washington, D.C.

Visser J.H., 1986. Host odor perception in phytophagous insect. Annual Review of Entomology, 31: 121-144.

Voros G. 1996. Damage of cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hübner) in grapevine. Növényvédelem, 32: 229-234.

Walker G., Cameron P., 1990. Pheromone trapping and field scouting for tomato fruitworm in tomatoes and sweet corn., pp. 17-20, Proceedings of the 43rd New Zealand Weed and Pest Control Conference. New Zealand Weed and Pest Control Society, Inc.

Wang L., Meng Z., Li L., 2003. Trapping cotton boll worm with organic acid and insecticide treated poplar branch bundles. Chinese Journal of Biological Control, 19: 31-33.

Wilson L.J., Fitt G.P., Mensah R.K., 1998. INGRAD cotton-its role in cotton IPM. In: Zalucki, M.P., Drew, R.A.I., White, G.G. (Eds.), Pest management-Future Challenges. University of Qld Press, Brisbane, pp. 267-276.

Wu D.M., Yan Y.H., Cui J.R. 1997. Sex pheromone components of *Helicoverpa armigera*: Chemical analysis and field tests. Insect Science, 4: 350-356.

Xiao C., Gregg P., Hu W., Yang Z., Zhang Z.. 2002. Attraction of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), to volatiles from wilted leaves of a non-host plant, *Pterocarya stenoptera*. Applied Entomology and Zoology, 37: 1-6.

Zalucki M.P., Daghli G., Firempong S., Twine P.H., 1986. The biology and ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* Wallengren (Lepidoptera: Noctuidae) in Australia: what do we know? Australian Journal of Zoology, 34: 779-814.

Zalucki M.P., Murray D.A.H., Gregg P.C., Fitt G.P., Twine P.H., Jones C., 1994. Ecology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) and *H. punctigera* (Wallengren) in the inland of Australia: larval sampling and host plant relationships during winter and spring. Australian Journal of Zoology, 42: 329-346.

Zhang J.P., Salcedo C., Fang U.L., Zhang R.J., Zhang Z.N., 2012. An overlooked component (Z)-9-tetradecenal as a sex pheromone in *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Physiology, 58: 1209-1216.

Zhou X., Coll M., Applebaum S., 2000. Effect of temperature and photoperiod on juvenile hormone biosynthesis and sexual maturation in the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*: implications for life history traits. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30: 863-868.

RINGRAZIAMENTI

Un sincero ringraziamento ai miei genitori e alla mia famiglia per aver sottopportato le lunghe assenze di questi anni.

Ringrazio, il dott. Salvatore Germinara, per aver guidato la rivisitazione delle mie conoscenze entomologiche con grande disponibilità ed infinita pazienza.