



DIPARTIMENTO DI SCIENZE AGRARIE ALIMENTARI E AMBIENTALI

CORSO DI LAUREA IN: SCIENZE E TECNOLOGIE AGRARIE

INDAGINE SUI LEPIDOTTERI MINATORI DEL  
MAIS, *OSTRINIA NUBILALIS* HÜBNER  
(CRAMBIDAE) E *SESAMIA NONAGRIOIDES*  
LEFEBVRE (NOCTUIDAE), NELLE MARCHE.

A SURVEY OF THE CORN BORER  
MOTHS, *OSTRINIA*  
*NUBILALIS* HÜBNER (CRAMBIDAE)  
AND *SESAMIA NONAGRIOIDES* LEFEBVRE  
(NOCTUIDAE), IN THE MARCHE REGION.

TIPO TESI: sperimentale

Studente:

DIEGO PALPACELLI

Relatore:

PROF.SSA PAOLA RIOLO

ANNO ACCADEMICO 2018-2019

ELENCO DELLE TABELLE.....	1
ELENCO DELLE FIGURE.....	2
ELENCO DEI GRAFICI .....	3
ACRONIMI E ABBREVIAZIONI.....	5
1. INTRODUZIONE.....	8
1.1. Insetti fitofagi e piante ospiti.....	8
1.1.1. Interazione insetto-pianta .....	9
1.2. Semiochimici.....	13
1.2.1. Allelochimici.....	14
1.2.1.1. Metabolismo secondario e composti volatili delle piante .....	14
1.2.2. Feromoni .....	15
1.2.2.1. Feromoni nei Lepidotteri.....	17
1.3. <i>Ostrinia nubilalis</i> Hubner (Lepidoptera: Crambidae).....	20
1.3.1. Morfologia.....	21
1.3.2. Piante ospiti .....	22
1.3.2.1. Scelta delle piante ospiti per l’ovideposizione .....	23
1.3.2.2. Resistenza genetica delle piante di mais .....	23
1.3.3. Ciclo biologico .....	25
1.3.3.1. Monovoltinismo e Polivoltinismo .....	27
1.3.4. Danni .....	28
1.3.5. Feromone sessuale e ceppi di <i>Ostrinia nubilalis</i> .....	31
1.3.6. Distribuzione geografica dei ceppi feromonici .....	33
1.3.7. Monitoraggio.....	34
1.3.8. Lotta integrata .....	35
1.3.8.1. Limitatori naturali e lotta biologica classica .....	36
1.3.8.2. Mezzi agronomici.....	37
1.3.8.3. Mezzi chimici .....	38
1.3.8.4. <i>Bacillus thuringensis</i> .....	41
1.3.8.5. Piante geneticamente modificate.....	41
1.4. <i>Sesamia nonagrioides</i> Lefébvre (Lepidoptera: Noctuidae).....	44
1.4.1. Morfologia.....	44
1.4.2. Ciclo biologico .....	47

1.4.3.	Distribuzione delle popolazioni di <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	49
1.4.4.	Feromone sessuale.....	50
1.4.5.	Piante ospiti.....	51
1.4.6.	Danni.....	52
1.4.7.	Monitoraggio.....	53
1.4.8.	Lotta integrata.....	53
1.4.8.1.	Fattori abiotici e biotici di limitazione.....	53
1.4.8.2.	Mezzi agronomici.....	55
1.4.8.3.	Mezzo chimici.....	55
1.4.8.4.	Mezzi biotecnici.....	55
1.4.8.5.	Piante geneticamente modificate.....	56
2.	SCOPO DELLA TESI.....	56
3.	MATERIALI E METODI.....	57
3.1.	Sito di indagine.....	57
3.2.	Andamento climatico.....	57
3.3.	Catture degli adulti di <i>Ostrinia nubilalis</i> .....	57
3.4.	Analisi dei ceppi della popolazione di <i>Ostrinia nubilalis</i> .....	58
3.5.	Catture degli adulti di <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	58
3.6.	Rilievi sull'infestazione.....	59
4.	RISULTATI E CONSIDERAZIONI.....	60
4.1.	Andamento climatico.....	60
4.2.	Catture degli adulti di <i>Ostrinia nubilalis</i> .....	61
4.3.	Analisi dei ceppi della popolazione di <i>Ostrinia nubilalis</i> .....	68
4.4.	Catture degli adulti di <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	69
4.5.	Rilievi sull'infestazione.....	69
4.5.1.	Infestazione da piralide.....	71
4.5.2.	Infestazione da <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	72
4.5.3.	Distribuzione delle due specie di borer all'interno della pianta.....	72
4.5.4.	Gallerie vuote.....	76
5.	CONCLUSIONI.....	77
6.	BIBLIOGRAFIA.....	80
7.	SITOGRAFIA.....	93

8. RINGRAZIAMENTI .....	94
-------------------------	----

## ELENCO DELLE TABELLE

Tabella 1: Varietà in commercio e progettate di mais transgenico per il controllo della piralide del mais. Tabella modificata da Castagnola <i>et al.</i> , 2012.....	43
Tabella 2: Composti estratti per distillazione in corrente di vapore dalle foglie di mais in diversi ibridi. Fonte Konstantopoulou <i>et al.</i> , 2004.....	52
Tabella 3: test del $\chi^2$ per verificare se i ceppi di popolazioni di <i>Ostrinia nubilalis</i> rinvenuti sono in equilibrio Hardi-Weinberg.....	69
Tabella 4: tabella riassuntiva delle larve, totali (Piralide+Sesamia) e di ciascuna specie (Piralide; Sesamia), e della loro distribuzione percentuale, rinvenute nell'intera pianta e nelle parti di pianta; delle piante e delle parti di pianta infestate, da tutte e due le specie e da ciascuna specie. .....	76

## ELENCO DELLE FIGURE

Figura 1: Esempi di apparati boccali masticatori.....	9
Figura 2: A) Sequenza generalizzata della selezione della pianta ospite per gli insetti fitofagi. B) Sequenza per i Lepidotteri notturni ( <i>Manduca sexta</i> ).....	12
Figura 3: Risposte messe in atto dalla pianta a seguito dell'interazione insetto fitofago-pianta ospite. ....	13
Figura 4: A sinistra: principali composti chimici secondari vegetali. A destra: relative vie biochimiche. ....	15
Figura 5: A sinistra: catene biosintetiche per la formazione dei feromoni sessuali nei Lepidotteri. A destra: modello proposto per la stimolazione della produzione dei feromoni nelle ghiandole femminili tramite PBAN. ....	19
Figura 6: Distribuzione mondiale di <i>Ostrinia nubilalis</i> . ....	21
Figura 7: Adulti di <i>Ostrinia nubilalis</i> in cui è ben visibile il dimorfismo sessuale.....	22
Figura 8: Degradazione chimica del DIMBOA-GLC.. ....	24
Figura 9: Danni causati dalle larve di <i>Ostrinia nubilalis</i> . ....	31
Figura 10: Struttura delle sei piretrine dell'estratto di piretro.....	40
Figura 11. A sinistra: larva di <i>Sesamia nonagrioides</i> con relativi danni allo stocco dovuti all'attività minatoria. A destra: crisalidi di <i>Sesamia nonagrioides</i> a diversi stadi di sviluppo ...	46
Figura 12: Adulto di <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	46
Figura 13: Foto al microscopio elettronico delle antenne di <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	47
Figura 14: Distribuzione mondiale di <i>Sesamia nonagrioides</i> . ....	50
Figura 15: Schema del posizionamento delle trappole per le catture degli adulti di <i>O. nubilalis</i> (in nero) e di <i>S. nonagrioides</i> (in rosso), e della divisione in parcelle (1-6) e subparcelle (A; B; C; D) dell'appezzamento per il prelevamento delle piante. ....	58
Figura 16: Trappole utilizzate per il monitoraggio del volo degli adulti delle specie <i>Ostrinia nubilalis</i> e <i>Sesamia nonagrioides</i> .....	59

## ELENCO DEI GRAFICI

Grafico 1: andamento climatico del periodo 15/6-30/9 relativo all'anno dell'indagine (2016). Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi metereologici; nell'asse delle ordinate principale sono riportate la temperatura media giornaliera (°C) e l'umidità relativa (mm); nell'asse delle ordinate secondario sono riportate le precipitazioni giornaliere (mm). .....	61
Grafico 2: catture totali e distribuzione percentuali dei diversi sessi di <i>Ostrinia nubilalis</i> . .....	63
Grafico 3: Catture totali degli adulti di <i>Ostrinia nubilalis</i> e distribuzione percentuale nelle trappole attivate con differente miscela feromonica e PAA.....	64
Grafico 4: catture totali e distribuzione percentuale dei maschi di <i>Ostrinia nubilalis</i> nelle trappole attivate con differente miscela feromonica+PAA. ....	64
Grafico 5: andamento del volo degli adulti di <i>Ostrinia nubilalis</i> , considerando tutte le catture. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate sono riportati gli individui totali catturati. ....	65
Grafico 6: Andamento del volo di <i>Ostrinia nubilalis</i> , divisi per trappole in cui sono state registrate le catture. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.....	65
Grafico 7: andamento del volo dei maschi e delle femmine di <i>Ostrinia nubilalis</i> catturati dalle trappole E+PAA. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.....	66
Grafico 8: Andamento del volo dei maschi e delle femmine di <i>Ostrinia nubilalis</i> catturati dalle trappole Z+PAA. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date ei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.....	66
Grafico 9: Andamento del volo dei maschi e delle femmine di <i>Ostrinia nubilalis</i> catturati dalle trappole E/Z+PAA. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.....	67
Grafico 10: andamento del volo dei maschi di <i>Ostrinia nubilalis</i> catturati nelle differenti trappole. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di maschi totali rilevati.....	67
Grafico 11: catture totali dei maschi di <i>Ostrinia nubilalis</i> dei ceppi E e Z e rapporto E:Z. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate principale il numero di catture totali; nell'asse delle ordinate secondario il rapporto tra le catture totali dei maschi E e dei maschi Z (E:Z). ....	68
Grafico 12: Distribuzione delle larve totali di entrambi le specie di insetti rinvenute nelle diverse parti delle piante.....	70

Grafico 13: distribuzione nelle piante delle larve rinvenute fra le due specie: <i>Ostrinia nubilalis</i> e <i>Sesamia nonagrioides</i> . .....	71
Grafico 14: distribuzione delle larve di <i>O. nubilalis</i> (sx) e <i>S. nonagrioides</i> (dx) nelle diverse parti di pianta.....	72
Grafico 15: parti di pianta in cui è stata osservata la condivisione della stessa parte da entrambe le specie, <i>Ostrinia nubilalis</i> e <i>Sesamia nonagrioides</i> . Nell'asse delle ordinate è riportato il numero di parti di pianta risultate positive. Quando sono considerate più parti di pianta contemporaneamente (i. e. "Alta+Bassa" e "Pianta intera") si è considerato il dato positivo quando tutte le parti considerate sono state trovate infestate da entrambe le specie. Per "Pianta intera" si intendono tutte e tre le parti di pianta. ....	74
Grafico 16: parti di pianta in cui si è osservata esclusivamente una delle due specie di fitofagi, o <i>Ostrinia nubilalis</i> o <i>Sesamia nonagrioides</i> . Quando sono considerate più parti di pianta contemporaneamente (i. e. "Alta+Bassa" e "Pianta intera") si è considerato il dato positivo quando tutte le parti considerate sono state trovate infestate tutte infestate e solamente da una sola specie. Per "Pianta intera" si intendono tutte e tre le parti di pianta.....	75



## ACRONIMI E ABBREVIAZIONI

11-16:Ac	11-esadecenilacetato
11-16:Ald	11-esadecenale
11-16:OH	11-esadecenolo
11-tda	11-tetradecenilacetato
12:Ac	Dodecenilacetato
14:Ac	Tetradecenilacetato
16:Ac	Esadecilacetato
16Acid	Acido palmitico
20E	20-idrossiecdisone (ecdisterone)
9-tda	9-tetradecenilacetato
AC	Accessory cell
BEA	Beauveracina
BIK	Bikaverina
Btk	<i>Bacillus thuringensis</i> subsp. <i>Kurstaki</i>
CA	Corpora allata
CC	Corpora cardiaca
CNS	Central nervous system
Cry	Crystal protein
CS	Sindrome da correatetosi
CSP	Chemosensory protein
Cyt	Cytochrome protein
DAMP	Damage- associated molecular pattern
DIMBOA	2-4-diidrossi-7-metossi-(2H)-1,4-benzossiazin-3-(4H)-one
EIL	Economic injury level
EQU	Equisetina

ET	Economic threshold
EVE	Endogenous viral element
FA	Acido fusarico
FAR	Fatty-acyl reductase
FAS	Fatty-acid synthase
FUM	Fumosina
FUS	Fusaproliferina
GABA	Acido gamma-aminobutirrico
GC-EAD	Gas-cromatografia accoppiata alla risposta antennografica
HAMP	Herbivore-associated molecular pattern
HDR	High-dose refuge
ICP	Insecticidal crystal protein
IPM	Integrated pest management
IR	Ionotropic receptor
JA	Acido jasmonico
JH	Juvenile hormone
Kdr	Knockdown-resistance
L:B	Ore di luce : Ore di buio
LC	Concentrazione letale
LT	Temperatura letale
MAMP	Microbe- associated molecular pattern
MBOA	6-metossibenzoxazolinone
MON	Moniliformina
OBP	Odorant-binding protein
ODE	Odorant-degrading protein
OR	Olfactory receptor

ORN	Olfactory receptor neuron
PAA	Fenilacetaldede
PBAN	Pheromone biosynthesis activating neuropeptide
PBP	Pheromone-binding protein
Pdd	Post diapause development
PDV	Polydnavirus
PRR	Pattern recognition receptor
RNAi	RNA interference
RNS	Reactive nitrogen species
ROS	Reactive oxygen species
RyRs	Ryanodine receptors
SA	Acido salicilico
SG	Ganglio subesofageo
SNMP	Sensory neuron membrane protein
SRPV	Service Régional de la Protection des Végétaux
T	Sindrome da tremori
TS	Sindrome da tremori e salivazione
UM	Universal Moth Trap
USA	United States of America
USDA	United States Department of Agriculture
Vip	Vegetative insecticidal protein

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1. Insetti fitofagi e piante ospiti

Il Regno animale, comprendente anche gli insetti, non potrebbe esistere senza il Regno vegetale, che costituisce la fonte primaria di energia per gli organismi eterotrofi; dall'altro, la lunga esposizione dei vegetali agli animali sembra essere stata la causa principale della grande diversificazione all'interno del regno vegetale. Inoltre, il rapporto insetto-pianta ospite ha anche un'importante funzione pratica, essendo gli insetti gli autori delle più gravi perdite nelle colture e nei prodotti immagazzinati.

Più di 400.000 specie di insetti fitofagi si nutrono su circa 300.000 specie vegetali: non tutti gli Ordini di insetti contribuiscono allo stesso modo, ma la maggior parte dei fitofagi appartengono ai Lepidoptera, Hortoptera, Coleoptera, Diptera e Hymenoptera; tutte le specie appartenenti ai Lepidoptera e Hortoptera sono fitofaghe.

Tra gli insetti fitofagi possono esserci diversi gradi di specializzazione nella scelta delle piante ospiti: gli insetti monofagi si nutrono solamente di una o poche specie vegetali strettamente correlate; gli insetti oligofagi si nutrono di più specie di piante, ma tutte appartenenti alla stessa famiglia; gli insetti polifagi si nutrono di diverse specie di piante appartenenti a diverse famiglie. Un'altra distinzione sulla dieta distingue gli insetti in specialisti, classe comprendente sia i monofagi che gli oligofagi, e generalisti, cioè polifagi. Gli insetti possono mostrare anche un certo grado di specializzazione sia nella scelta della parte di pianta attaccata, fra radici, fusto, foglie, fiori e frutti, che nei confronti del tessuto attaccato, come il mesofillo fogliare, lo xilema o il floema.

L'attività di nutrizione degli insetti fitofagi segue tre tappe principali: scelta della pianta ospite, modalità di assunzione e quantità di cibo assunto.

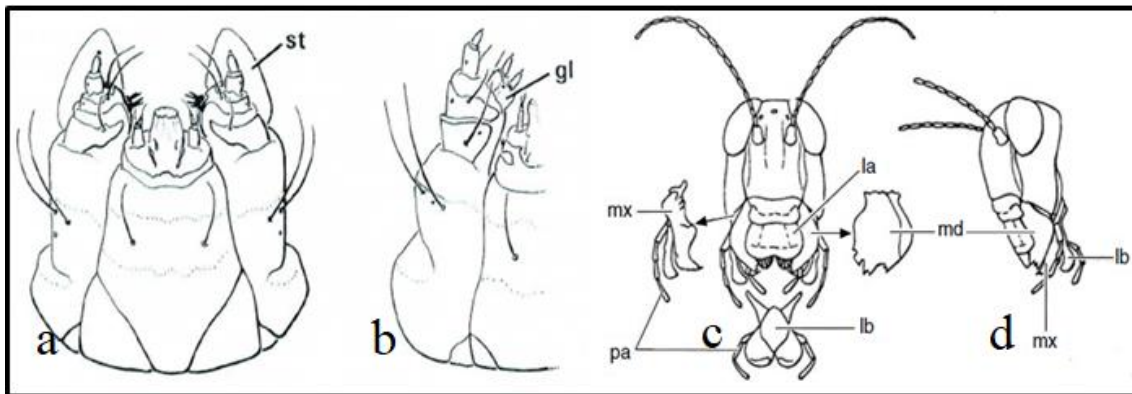
La scelta della pianta ospite può essere molto meticolosa, sia per la nutrizione che per l'ovideposizione; il processo di scelta segue una catena di reazioni comportamentali conseguenti ai segnali esterni ricevuti. Gli insetti usano principalmente due sensi per la ricerca: la vista e l'olfatto; l'importanza relativa fra questi dipende da specie a specie e dalle abitudini, diurne o notturne. Una volta raggiunta la pianta obiettivo, l'insetto può decidere se accettarla o rifiutarla: fattori fisici, come la superficie della pianta o la presenza di appendici, e fattori chimici rilevati con chemiorecettori di contatto guidano la scelta dell'insetto.

I modi con cui gli insetti fitofagi si nutrono sono sostanzialmente di due tipi, per masticazione o per suzione, e dipendono dall'apparato boccale posseduto.

Gli insetti masticatori, o mandibolati, sono dotati dell'apparato boccale ancestrale con 3 coppie di appendici: le mandibole seghettate, che hanno il compito di tagliare e tritare il substrato; le

mascelle, situate al di sotto delle mandibole e dotate, ognuna, di un palpo mascellare portante dei sensilli chemorecettori, che manipolano e guidano il cibo attraverso la bocca; le labbra, superiore ed inferiore, quest'ultima dotata di palpi labiali con chemorecettori, che formano rispettivamente soffitto e pavimento della cavità preorale (Figura 1).

Gli insetti che praticano la suzione hanno l'apparato boccale modificato in cui le appendici boccali si fondono in un unico complesso funzionale. Il gruppo di insetti con apparato boccale succhiante è polifiletico, e ci sono diversi esempi di apparati boccali con questa funzione. Nei lepidotteri la spiritromba è costituita esclusivamente dalle mascelle fuse a formare la proboscide. Nell'ordine Hemiptera il labbro forma una struttura allungata e scanalata, contenente le mandibole e le mascelle, che formano lo stiletto, con i palpi mascellari atrofizzati. Le mascelle fuse sono attraversate da due canali: il canale dorsale serve alla suzione mentre il canale ventrale serve all'iniezione di saliva (Schoonhoven *et al.*, 2005).



**Figura 1: Esempi di apparati boccali masticatori: a) vista ventrale del complesso maxillo-labiale di larva di *Lochmaeus bilineata* (Lepidoptera: Noctuidae); b) vista laterale del complesso maxillo-labiale di larva di *Hypsophora hormos* (Lepidoptera: Noctuidae); c) e d) vista frontale e laterale dell'apparato boccale masticatore del sottordine Ensifera (Orthoptera). st=lobo stipitale; gl=lobo galeale cilindrico; mx=mascelle; md=mandibole; la=labbro superiore; lb=labbro inferiore; pa=palpi. a) e b) immagini modificate da Kitching *et al.*, 1998. c) e d) immagini modificate da Schoonhoven *et al.*, 2005.**

### 1.1.1. *Interazione insetto-pianta*

La selezione delle piante ospiti da parte degli insetti consiste in una sequenza di risposte comportamentali a seguito di un vasto spettro di stimoli prodotti dalle piante, ospiti e non ospiti (Figura 2). Questi stimoli, nei confronti dei quali gli insetti sono dotati di specifici recettori per il riconoscimento, possono essere visivi, meccanici, gustativi e olfattivi.

Gli insetti hanno sviluppato un sofisticato sistema di riconoscimento dei composti volatili delle piante. Questi composti agiscono come segnali chimici che inducono alle risposte

comportamentali di orientamento e riconoscimento di particolari tipi di piante per la nutrizione, l'accoppiamento e l'ovideposizione. Due vie possono portare alla specificità dei composti volatili emessi dalle piante: i composti possono essere specie-specifici o possono essere generici ma emessi in miscele le cui concentrazioni dei composti sono specie-specifiche. I composti generici derivano da vie metaboliche comunemente presenti nelle piante, mentre i composti specie-specifici derivano da vie metaboliche esclusive per poche piante strettamente correlate. Dall'altro lato gli insetti non hanno recettori per tutti i composti volatili emessi dalle piante, ma sono dotati di recettori specie-specifici che funzionano da filtro discriminando gli odori delle piante ospiti dagli odori delle piante non ospiti.

Tre fattori influiscono sul raggio di attività dei composti volatili: la quantità iniziale di composti emessi dalla fonte nell'unità di tempo; la modalità di dispersione del composto attraverso il mezzo; i meccanismi di orientamento dell'insetto (Visser, 1986).

Nel processo di selezione della pianta ospite (Figura 2) si susseguono due tappe principali da parte dell'insetto: 1) la ricerca, che può terminare con l'individuazione, e 2) il contatto, che può terminare con l'accettazione o il rifiuto.

Durante la ricerca, l'insetto è guidato dai segnali mandati dalla pianta, che vanno aumentando di numero e di intensità che comunicano la diminuzione della distanza fra insetto e fonte emittente. La sequenza standardizzata della selezione della pianta ospite da parte dell'insetto può essere così riassunta:

1. L'insetto non ha nessun contatto con la pianta, resta fermo o si muove random, camminando o volando;
2. L'insetto intercetta i segnali olfattivi o visivi emessi dalla pianta;
3. L'insetto inizia dei movimenti che gli permettono di abbreviare la distanza fra esso e la pianta ospite;
4. L'insetto raggiunge la pianta, con cui viene ad avere il contatto fisico;
5. L'insetto esamina la superficie della pianta ospite;
6. L'insetto assaggia la pianta con diverse parti del corpo (apparato boccale, ovopositore)
7. La pianta viene accettata o rifiutata.

I movimenti random sono guidati dai programmi motori centrali, generati dal sistema neuronale centrale (CNS, *central nervous system*), e sono dovuti a cambiamenti interni che segnalano la necessità di trovare una pianta ospite. Durante i movimenti random possono venire captati dei segnali emessi dalla pianta ospite che inducono all'orientamento; questo può essere direzionale (*tassia*) o non direzionale (*kinesi*).

L'orientamento non direzionale può consistere in cambiamenti nella velocità ma non nella direzione (*ortokinesi*) o nel cambiamento della frequenza di virate (*klinokinesi*). La tassia diventa possibile quando il flusso dei segnali emessi dalla pianta permette al sistema sensoriale dell'insetto di riconoscere la direzione della fonte; la risposta può essere di avvicinamento (*tassia positiva*) o di allontanamento (*tassia negativa*).

La tassia può essere guidata dalla percezione di composti chimici (*chemiotassi*); diversi meccanismi sono messi in atto dall'insetto per l'orientamento verso la fonte emittente e il suo raggiungimento. La klinotassi è il movimento direzionale guidato dal confronto fra stimoli percepiti in differenti momenti temporali e dal loro confronto; la tropotassi è guidata dalla percezione dello stimolo su recettori bilaterali fino a raggiungere la stessa intensità di segnali in entrambi; la menotassi è il movimento che permette di mantenere costante la diversa intensità del segnale sui recettori bilaterali. Esempi particolari di menotassi sono l'anemotassi, il movimento guidato dalla direzione del vento, e la fotonemotassi, in cui la direzione del movimento è data dal mantenimento di un dato angolo nei confronti della direzione della luce. La direzione del vento viene percepita da appositi meccanorecettori, mentre la direzione della luce da fotorecettori.

In condizioni naturali si ha un gradiente del segnale odoroso sufficiente a mettere in atto la chemiotassi solo a pochi centimetri dalla fonte emittente. I movimenti trasversali perpendicolari alla direzione longitudinale del vento sono il miglior modo per l'insetto di trovare la fonte emittente: una volta ricevuto il segnale, viene localizzata la linea mediana del cono odoroso, che ha la punta nella direzione del vento rispetto alla posizione dell'insetto. Questa strategia, che unisce le risposte comportamentali alla conoscenza della direzione e dell'intensità del vento, risulta in movimento direzionali e a zig-zag.

Con il contatto l'insetto ottiene informazioni aggiuntive sulla qualità della pianta, non captabili nella precedente fase di ricerca, quali stimoli meccanici, attraverso i meccanosensilli cosparsi su tutto il corpo dell'insetto, e i chemiosensilli di contatto.

Subito dopo il contatto, l'insetto spesso si blocca o esegue piccoli movimenti circolari limitati ad un'area ristretta al fine di saggiare la pianta. Durante questa fase l'insetto tocca la superficie vegetale con varie parti del corpo, quali antenne, apparato boccale, tarsi o ovopositore. Inoltre, l'insetto può saggiare la pianta infliggendo danni con l'apparato boccale o con l'ovopositore. Se la valutazione della pianta ospite è positiva l'insetto inizia la nutrizione o l'ovideposizione, a seconda della funzionalità che la pianta ha nei confronti del ciclo biologico dell'insetto. L'accettazione può essere considerata la decisione cruciale durante la selezione della pianta ospite, per le conseguenze dirette che questa ha nell'acquisizione di nutrienti ed energia, nel

caso il fine sia la nutrizione, o nella sopravvivenza della progenie, nel caso il fine sia l'ovideposizione (Schoonhoven *et al.*, 2005).

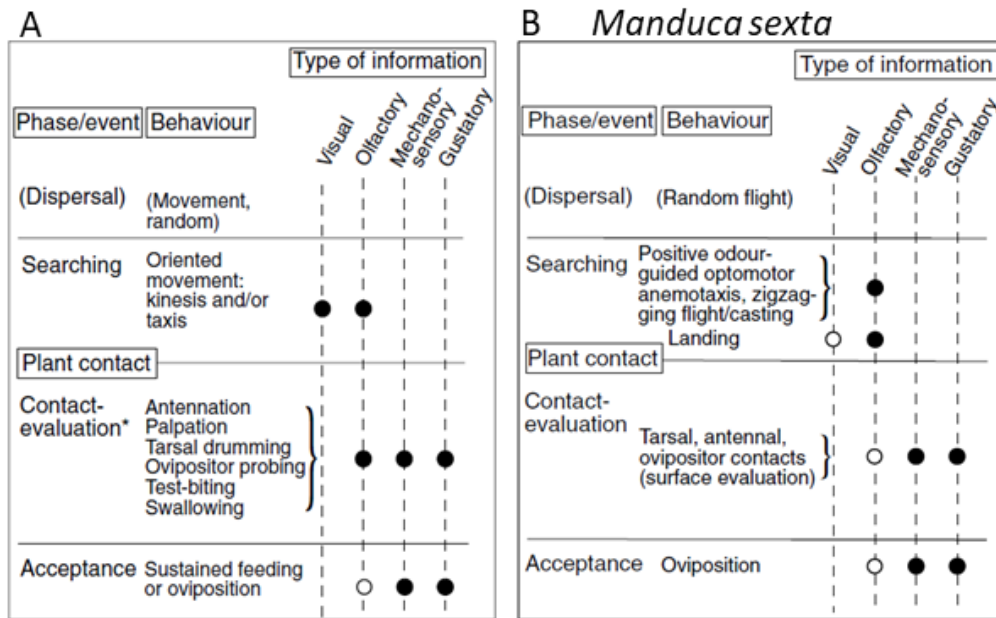


Figura 2: A) Sequenza generalizzata della selezione della pianta ospite per gli insetti fitofagi. B) Sequenza per i Lepidotteri notturni (*Manduca sexta*). I punti neri indicano segnali emessi dalle piante ben documentati; i punti bianchi indicano segnali proposti o probabili. Immagine modificata da Schoonhoven *et al.*, 2005.

Attraverso l'evoluzione, le piante hanno sviluppato una serie di meccanismi di difesa dai fitofagi, sia fondamentali che inducibili; inoltre, una pianta attaccata può emettere composti volatili che allertano le piante vicine dell'attacco in atto. L'induzione della difesa inizia quando specifici recettori della pianta (PRRs, *pattern recognition receptors*) riconoscono specifiche molecole, definite elicitori, che inducono ad una risposta di difesa. Queste molecole possono essere prodotte dal fitofago (HAMPs, *herbivore-associated molecular patterns*), dai microbi che vivono nell'apparato boccale del fitofago (MAMPs, *microbe-associated molecular patterns*) o possono essere parti di pianta danneggiate a seguito dell'attacco (DAMPs, *damage-associated molecular patterns*). Il riconoscimento di queste molecole o di segnali emessi da altre piante danneggiate induce una cascata di risposte a breve termine a livello della membrana cellulare per la resistenza all'attacco, che possono essere: depolarizzazione, flusso di  $Ca^{2+}$ , produzione di molecole reattive dell'ossigeno (ROS) e dell'azoto (RNS), produzione di fitormoni, principalmente acido jasmonico (JA), acido salicilico (SA) ed etilene. Successivamente si attivano meccanismi di resistenza a lungo termine, come la produzione di molecole



antinutrizionali, deterrenti, inibenti e tossiche nei confronti del fitofago; inoltre possono essere prodotte sostanze volatili attrattive nei confronti dei nemici naturali del fitofago (Figura 3).

Gli insetti possono produrre specifiche molecole che vanno ad ingannare o compromettere il sistema di difesa della pianta, definite effettori, come un meccanismo di contrattacco (Santamaria *et al.*, 2018).

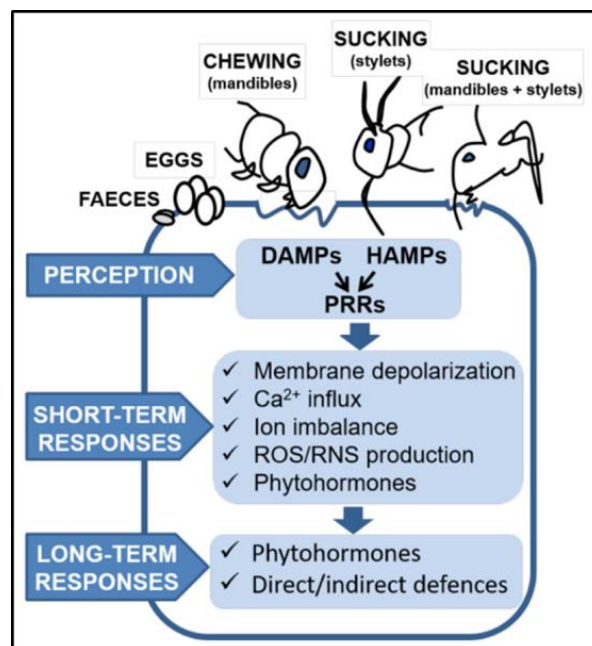


Figura 3: Risposte messe in atto dalla pianta a seguito dell'interazione insetto fitofago-pianta ospite. Fonte Santamaria *et al.*, 2018.

## 1.2. Semiochimici

La comunicazione si basa sulla ricezione di un segnale sensoriale esterno da parte di un ricevente, a cui segue una risposta: negli animali spesso il cambiamento comportamentale è dovuto alla ricezione di un segnale esterno che causa tale cambiamento. Gli animali usano 4 tipi di segnali: visivi, acustici, tattili e chimici. I segnali visivi e acustici sono molto precisi per la localizzazione, come per la ricerca del partner. Lo svantaggio dei segnali visivi sta nella necessità della vicinanza fra emittente e ricevente; è inoltre evidente lo svantaggio per gli insetti con abitudini notturne. La comunicazione sonora è indispensabile per gli individui di limitate dimensioni e che non possono essere individuati visivamente se nascosti fra la vegetazione; è inoltre efficace su distanze più lunghe rispetto alla comunicazione visiva. La comunicazione tattile richiede già la vicinanza fra emittente e ricevente. La comunicazione con segnali chimici può avvenire attraverso l'aria, l'acqua, il cibo o per trofallassi.

I segnali chimici che trasmettono informazioni ad un individuo sono chiamati semiochimici. I semiochimici possono essere distinti in base alla fonte emittente in allelochimici e feromoni (Ali *et al.*, 1990).

### **1.2.1. Allelochimici**

Per allelochimici si intendono quelle sostanze chimiche che permettono la comunicazione fra individui di specie diverse. Gli allelochimici possono essere distinti in base agli effetti che inducono sull'emittente e/o sul ricevente: i kairomoni portano vantaggio al ricevente dell'informazione a discapito dell'emittente, ad esempio nell'individuazione delle prede tramite i loro odori; gli allomoni portano vantaggio alla fonte emittente, ad esempio le sostanze repellenti; i sinomoni portano vantaggi ad entrambi gli individui, come può avvenire nell'impollinazione fra pianta e impollinatore (Ali *et al.*, 1990).

#### **1.2.1.1. Metabolismo secondario e composti volatili delle piante**

Nelle piante sono presenti un metabolismo primario, costituito dalle vie biochimiche necessarie per le funzioni primarie dell'organismo, e un metabolismo secondario, che comprende una serie di reazioni chimiche che portano alla formazione di composti chimici vegetali specifici. Questi composti secondari non sono presenti in tutte le specie vegetali, ma sono specifici di alcuni taxa o possono comparire in proporzioni diverse fra i diversi taxa. Per il ruolo ecologico svolto, i composti secondari possono essere classificati come allelochimici.

I composti secondari possono essere classificati in composti contenenti azoto, terpenoidi, composti fenolici e composti acetilici. In figura 4 sono riportati più in dettaglio i composti secondari e le vie biosintetiche che portano alla loro formazione.

Gli alcaloidi sono composti ciclici contenenti azoto, e sono prodotti da circa il 20% delle angiosperme; alcuni hanno funzione deterrente nei confronti degli insetti fitofagi.

I terpenoidi sono il più grande gruppo di composti secondari composti dalle piante, solitamente costituiti da più unità di isoprene, con differenze nei modi in cui si legano, nei tipi e numero di elementi ciclici, nel livello di saturazione e nei tipi di gruppi funzionali posseduti. I terpenoidi sono tipici degli oli essenziali e delle resine, e possono svolgere sia funzioni deterrenti, come il clerodano diterpene, che attrattive, come le cucurbitacine, nei confronti degli insetti fitofagi.

I fenoli sono composti ciclici contenenti uno o più gruppi idrossilici, assieme ad un numero variabile di altri elementi. Fra i fenoli sono compresi anche i tannini, composti polifenolici tipici delle piante vascolari. I fenoli possono svolgere sia ruolo deterrente, o tossico, nei confronti degli insetti, come la faseolina, o attrattivi: molti insetti monofagi o oligofagi utilizzano i fenoli per il riconoscimento della pianta ospite.

Alcuni composti primari e secondari con un peso molecolare compreso fra 100 e 200 Dalton possono essere facilmente volatilizzati quando vengono esposti all'aria.

I composti volatili possono essere classificati in generici e specifici. I composti generici derivano solitamente dall'ossidazione dei lipidi e sono costituiti per la maggior parte da alcoli e aldeidi, saturi o monoinsaturi, con 6 atomi di carbonio, e dai loro derivati; questi composti sono i responsabili dell'odore di erba tagliata tipico delle foglie danneggiate. Ogni specie può produrre questi composti in diverse proporzioni, utilizzate dagli insetti per l'identificazione della giusta pianta ospite (Schoonhoven *et al.*, 2005).

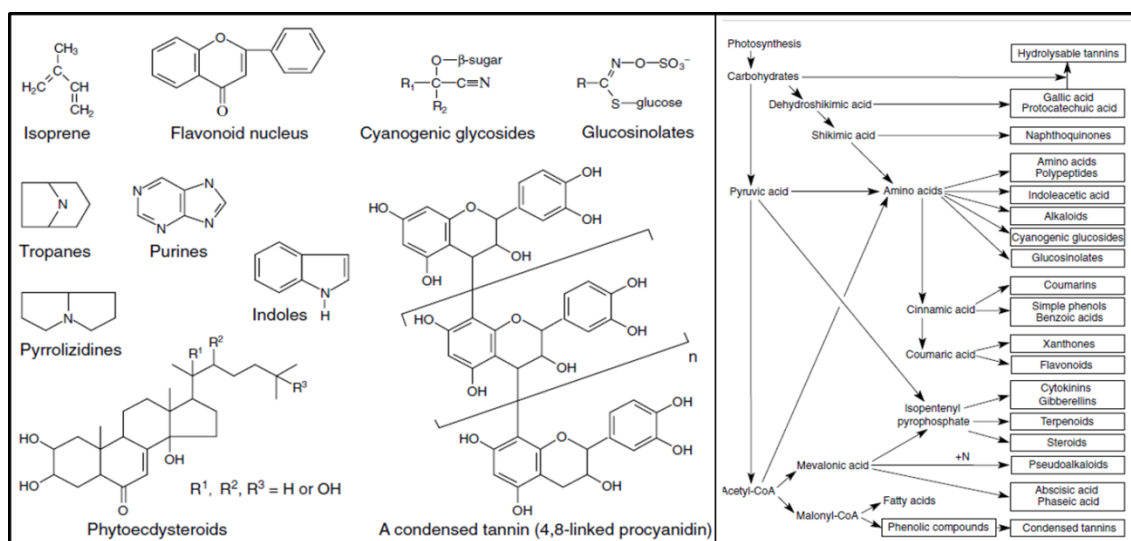


Figura 4: A sinistra: principali composti chimici secondari vegetali. A destra: relative vie biochimiche. Fonte Schoonhoven *et al.*, 2005.

### 1.2.2. Feromoni

I feromoni sono semiochimici che consistono in molecole, o blend di molecole, emessi da un individuo e ricevuti da un altro individuo della stessa specie il quale mostra una risposta comportamentale o fisiologica. I feromoni si possono suddividere in primari e di rilascio (*releaser pheromones*). I primari inducono una risposta fisiologica a lungo termine nel ricevente, come l'acido (E)-9-osso-2-decenoico, prodotto dalle ghiandole mandibolari della regina della specie *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), che ha effetto inibente sull'ovideposizione delle operaie. I feromoni di rilascio possono causare una vasta varietà di risposte comportamentali, e si suddividono in:

- feromoni sessuali: solitamente emessi dalle femmine per guidare il maschio sul luogo di accoppiamento e stimolarlo. Si suddividono in feromoni sessuali attrattivi se hanno la

funzione di guidare il maschio, afrodisiaci se hanno la funzione di stimolare la copulazione nell'altro sesso. Il successo dell'accoppiamento di molti insetti non sociali dipende da questi feromoni. Solitamente l'emissione avviene in un particolare momento della giornata specie-specifico. L'emissione dell'attrattivo e la risposta comportamentale sono sincronizzati all'interno della stessa specie.

- feromoni di aggregazione: inducono all'aggregazione attorno alla fonte emittente di tutti gli individui della stessa specie. Sono molto importanti per l'alimentazione, l'accoppiamento e l'ovideposizione.
- feromoni di dispersione: con funzione deterrente o repellente, hanno lo scopo di aumentare le distanze fra individui della stessa specie per evitare fenomeni di competizione intraspecifica.
- feromoni di allarme: svolgono la funzione di scatenare una risposta comportamentale comune a tutti gli individui della stessa specie, che rispondono con rapidi movimenti e l'attacco. Sono tipici degli imenotteri, degli isotteri e degli eterotteri.
- feromoni traccia: sono rilasciati da un individuo lungo un percorso al fine di far seguire lo stesso percorso agli individui della stessa specie. Sono tipici delle formiche, delle termiti, di alcune api senza pungiglione e di alcuni lepidotteri.
- feromoni territoriali: vengono emessi nei pressi della colonia col fine di allontanare altre colonie della stessa specie o individui di altre specie.
- feromoni di superficie: tipici delle colonie di insetti sociali, hanno differenti funzioni all'interno della colonia, quali il riconoscimento della colonia, lo stimolo alla pulizia di questa, lo stimolo al corteggiamento e allo scambio di cibo. Hanno effetto a breve distanza o al contatto.
- feromoni di funerale: prodotti dalle formiche morte, stimolano nelle altre formiche la risposta a portare fuori dalla colonia i corpi morti.
- feromoni di invito: sono emessi da un individuo che ha trovato una risorsa di cibo o un sito per l'ovideposizione al fine di attrarre altri individui della stessa specie. Al contrario dei feromoni di aggregazione, questi non portano all'aggregazione di un gran numero di individui (Ali *et al.*, 1990).

Gli insetti sono in grado di discriminare minime differenze nella composizione stereochimica o nella chiralità delle componenti del feromone e utilizzano rapporti specie-specifici nelle miscele feromoniche (Nakagawa *et al.*, 2005).

La biosintesi dei feromoni può seguire due strade: sintesi *ex-novo* o utilizzo di precursori della dieta. La biosintesi avviene nelle ghiandole, e queste possono essere localizzate in diversi punti del corpo dell'insetto, sia fra Ordini diversi sia all'interno dello stesso Ordine. La regolazione endocrina dei momenti di emissione dei feromoni dai momenti di non emissione, in risposta ai cambiamenti ambientali e interni, è molto importante per il successo della comunicazione. Nei lepidotteri e in altri ordini questa regolazione endocrina è svolta dagli ormoni: JH (*juvenile hormone*), 20-E (*20-idrossiecdisone*) e PBAN (*pheromone biosynthesis activating neuropeptide*) (Tillman *et al.*, 1999).

#### 1.2.2.1. Feromoni nei Lepidotteri

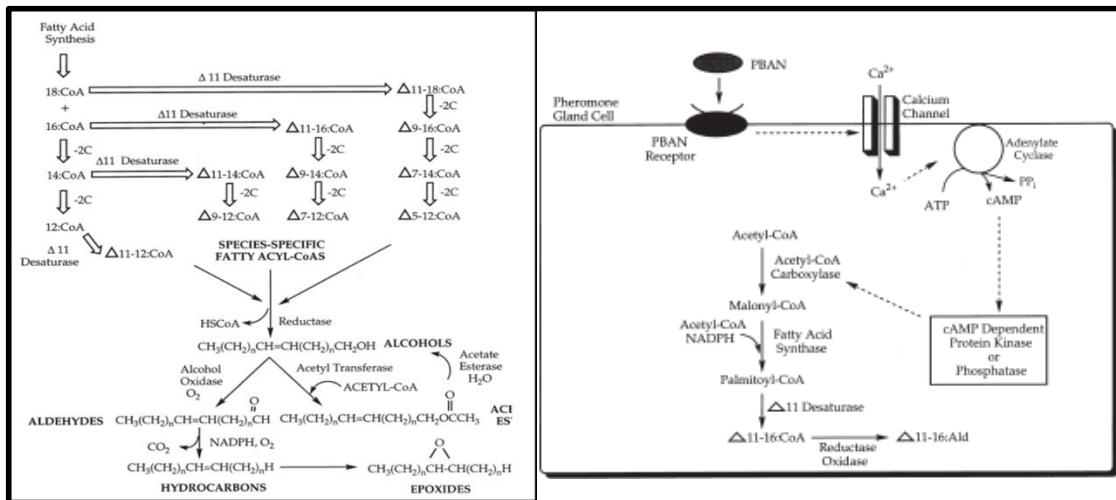
Uno sviluppato sistema di comunicazione specie-specifica basato sui feromoni sessuali ha sicuramente coadiuvato l'evoluzione delle 140.000 specie di Lepidotteri. La comunicazione specie-specifica costituisce una barriera pre-zigotica che assicura il successo nell'accoppiamento fra individui della stessa specie ad esempio in un habitat in cui convivono differenti specie con larve fitofaghe che condividono gli stessi substrati. In quasi tutte le specie di Lepidotteri è la femmina ad emettere il segnale per farsi localizzare dal maschio per il corteggiamento e l'accoppiamento. Il motivo del diverso ruolo fra i sessi nella comunicazione risiede nel fatto che una femmina vergine, una volta fecondata, ha completato il suo ruolo nell'accoppiamento, mentre il maschio può andare a fecondarne un'altra vergine. La selezione dei maschi che andranno a fecondare una femmina vergine può essere temporale (il primo maschio che raggiunge la femmina; es. *Lymantria dispar* L.), dimensionale (il maschio più grande; es. *Ephestia elutella* Hubner) o più maschi possono lottare per la femmina (es. *Grapholita molesta* Busck). Anche i maschi possono produrre feromoni sessuali: questi sono spesso legati al corteggiamento, hanno effetto a corta distanza e influenzano il successo o meno dell'atto copulativo (Cardé *et al.*, 2004).

La produzione e l'emissione dei feromoni sessuali avviene, per quasi tutte le specie, nelle ghiandole localizzate a livello delle membrane intersegmentali situate fra l'8° e il 9° segmento addominale. Queste ghiandole contengono cellule secretorie ipertrofizzate e cellule epiteliali modificate con un reticolo endoplasmatico particolarmente sviluppato (Tillman *et al.*, 1999). Per alcuni feromoni può avvenire la produzione in altre parti del corpo per poi essere trasportati da proteine specifiche (*lipoforine*) via emolinfa ai siti di stoccaggio e/o rilascio (Cardé *et al.*, 2004).

I feromoni sessuali dei Lepidotteri notturni sono stati da sempre i più studiati: la maggior parte di questi sono risultati essere una miscela specie-specifica di alcoli, acetati e aldeidi; una seconda classe di componenti è costituita da polieni epossidi ed idrocarburi. L'attività di

emissione da parte delle femmine e la ricezione-risposta dei maschi sono sincronizzati all'interno di ogni specie (Baker 2010). La biosintesi dei feromoni e la loro emissione sono sotto il controllo ormonale e/o neuronale, e, quando esaminate, sono risultate dipendenti dal ciclo circadiano (Cardé *et al.*, 2004). Il controllo ormonale nella maggior parte dei Lepidotteri notturni sembra non avere una forte dipendenza dalle ghiandole endocrine come i corpora allata (CA), in cui si sintetizza l'ormone giovanile (JH), o i corpora cardiaca (CC), come avviene invece in altri ordini. Il controllo è svolto dalle PBANs (Figura 5) isolate dal ganglio subesofageo (SG): le PBANs (pheromone biosynthesis-activating neuropeptide) vengono rilasciate dal ganglio subesofageo (SG) nell'emolinfa che, facendole transitare per i CC, che sono quindi indirettamente legati al processo, le trasporta nelle ghiandole dove vanno a stimolare la biosintesi dei feromoni specifici (Tillman *et al.*, 1999).

I componenti delle miscele feromoniche sono per la maggior parte derivati acilici degli acidi grassi con catene di 12-18 C, con un gruppo funzionale ossigenato (alcol, aldeide o estere acetato) e contenenti da zero a tre doppi legami (Figura 5). Possono essere presenti anche feromoni composti da idrocarburi ed epossidi derivati da idrocarburi ossidati. La catena di reazioni per la formazione delle componenti è: 1) formazione dei precursori di acidi grassi 16 e 18C mediata dal FAS (fatty-acid synthase) e dall'acetil-CoA carbossilasi; 2) desaturazione degli acidi grassi di diversa lunghezza ad opera di specifiche desaturasi, tra le quali la  $\Delta 11$  è la più rappresentativa in molte specie; 3) accorciamento delle catene degli acidi grassi da parte ad opera di specifici enzimi; 4) formazioni di specifici gruppi funzionali ossigenati (Figura 5) (Tillman *et al.*, 1999). Specie di Lepidotteri filogeneticamente vicine possono avere delle somiglianze nelle vie metaboliche di sintesi dei feromoni e condividere alcuni componenti delle miscele. Le componenti specie-specifiche sono dovute a differenze enzimatiche che agiscono su: posizioni dei doppi legami (es.  $\Delta 9$  o  $\Delta 11$ ), isomerizzazione (es. E o Z), accorciamento delle catene ( $\beta$ -ossidazione) o diversi gruppi funzionali lungo la catena. Anche fra famiglie divergenti possono esserci similarità, come per Nottuidi, Piralidi, Tortricidi e altre famiglie che condividono tutte i passaggi di accorciamento, desaturazione  $\Delta 11$ , riduzione ed acetilazione (Cardé *et al.*, 2004). Miscele di questi componenti in proporzioni specie-specifiche sono la norma nei lepidotteri notturni (Baker 2010).



**Figura 5: A sinistra: catene biosintetiche per la formazione dei feromoni sessuali nei Lepidotteri. A destra: modello proposto per la stimolazione della produzione dei feromoni nelle ghiandole femminili tramite PBAN. Fonte Tillman *et al.*, 1999.**

Il senso dell'olfatto nei lepidotteri si basa sostanzialmente su due gruppi di proteine integrali di membrana: 1) i recettori olfattivi ORs (*olfactory receptors*), più sensibili ad esteri, alcoli e chetoni, 2) i recettori ionotropici IRs (*ionotropic receptors*), più sensibili agli acidi carbossilici e alle ammine.

Sul capo degli insetti sono tipicamente presenti due appendici ricoperte di sensilli olfattivi, formazioni cuticolari simili a peli e deputate alla ricezione dei segnali chimici: le antenne e i palpi mascellari e labiali. Si possono distinguere due tipi di sensilli olfattivi: i sensilli tricoidei, lunghi e fini, e i sensilli basiconici, corti e larghi. Solitamente nei Lepidotteri notturni sono i primi ad essere specializzati nella percezione del feromone sessuale.

I sensilli olfattivi ospitano due tipi di cellule: le cellule accessorie ACs (*accessory cells*) e i recettori olfattivi neuronali ORNs (*olfactory receptor neurons*). In ogni sensillo si trovano generalmente 2 o 3 differenti ORNs, ognuno specializzato per un differente tipo di segnale.

La parte cuticolare (pareti) dei sensilli è attraversata da fori che permettono il passaggio delle molecole odorose. All'interno delle pareti le cellule accessorie riversano una linfa cellulare che bagna i dendriti degli ORNs; le pareti di questi sono attraversate dalle proteine integrali di membrana, ORs o IRs, che gli attribuiscono la specificità.

Tre tipi di proteine intervengono nel processo di captazione del segnale: 1) le OBP (*odorant-binding proteins*), sintetizzate e secrete dalle ACs, che sono piccole proteine solubili deputate alla prima captazione del segnale e al suo trasporto sui recettori delle membrane dei dendriti, e le CSPs (*chemosensory proteins*), anche queste con la funzione di captare e solubilizzare i composti odorosi; 2) i recettori transmembrana localizzati sul dendrite che ogni ORN proietta all'interno del sensillo, e responsabili della ricezione e trasduzione del segnale chimico; 3) gli

ODEs (*odorant-degrading enzymes*), enzimi che degradano le molecole segnale per la terminazione dell'impulso (de Fouchier *et al.*, 2014).

Una volta che la molecola segnale entra all'interno del sensillo e si diffonde nella linfa cellulare, viene legata da una OBP e trasportata sullo specifico recettore transmembrana. I recettori sono formati da complessi eteromerici costituiti da un OR specifico e da un co-recettore universale e obbligato, chiamato Orco, che funziona come una chaperonina per il corretto assemblaggio dell'OR sulla membrana e coadiuva nella trasduzione del segnale.

Quando l'ORN capta la molecola specifica attraverso il recettore transmembrana, produce un segnale elettrico che attraversa tutto l'assone fino al lobo antennale, la prima struttura del sistema nervoso degli insetti ad elaborare il segnale (de Fouchier *et al.*, 2014).

Ogni specie di Lepidottero può esprimere decine di differenti ORs, il più dei quali consiste in recettori feromonal. Gli ORs possono essere classificati in 3 classi, in base alla specificità del segnale intercettato: 1) ORs strettamente specifici per un solo componente feromonico; 2) ORs specifici per un componente, ma comunque sensibili anche ad altri componenti, seppur in modo minore; 3) ORs sensibili a più componenti. Tutti e tre i tipi possono essere espressi nella stessa specie (de Fouchier *et al.*, 2014). I differenti ORNs presenti sullo stesso sensillo sono specifici per le diverse componenti della stessa miscela feromonica, come dimostrato in *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), in cui BmOR1, specifico per il bombykol, e BmOR3, specifico per il bombykal, sono espressi nello stesso sensillo, probabilmente per rilevare meglio le giuste proporzioni della miscela feromonica specifica (Nakagawa *et al.*, 2005). La risposta locomotoria del maschio alla ricerca della fonte emittente è ottimizzata per la detenzione della direzione della fonte, piuttosto che del gradiente di concentrazione del feromone. Due reazioni indirette seguono la ricezione del segnale, mediamente tra 0,3 e 0,6s: una reazione optomotoria legata al vento (*optomotor anemotaxis*) e una reazione di pilota automatico (*steered counterturning*); non c'è nessuna reazione diretta guidata dalle variazioni del gradiente di concentrazione (Baker 2010).

Forze selettive agiscono sulla rapidità del maschio nella localizzazione della fonte emittente. La selezione può essere mirata: 1) sui caratteri che controllano la capacità di volo nell'esplorare la più vasta zona alla ricerca della fonte emittente o nell'orientarsi verso la giusta direzione della fonte emittente; 2) sui caratteri per la percezione del feromone alle più basse concentrazioni possibili (Cardé *et al.*, 2004).

### **1.3. *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Crambidae)**

La specie *Ostrinia nubilalis* (Hubner), conosciuta come piralide del mais o European Corn Borer (International Taxonomic Information System on-line database, <http://www.itis.gov>), è



un insetto minatore del mais globalmente diffuso, presente in tutti i continenti dell'emisfero Nord, fra il 13° e il 58° parallelo: Europa, America, Africa e Asia (Figura 6) (Anglade *et al.*, 1984; Roelofs *et al.*, 1985; Capinera, 2005).



**Figura 6: Distribuzione mondiale di *Ostrinia nubilalis*. Fonte CABI, 2019.**

### **1.3.1. Morfologia**

Gli stadi di sviluppo della piralide del mais sono quattro: uova, larva, pupa e adulto; la successione di queste quattro fasi costituisce una generazione (Showers *et al.*, 1989).

**Uovo:** Le uova, di dimensioni 0,6x0,9mm, sono di forma sub-ellittica, appiattite, di colore crema più o meno biancastro, con forte trasparenza nerastra data dal capo della larva. Sono deposte in ooplacche irregolari in numero di 15-20, solitamente sulla pagina inferiore delle foglie. Le uova si schiudono in 4-9 giorni. La soglia minima di temperatura per lo sviluppo delle uova è 15°C (Tremblay, 1993; Capinera, 2005).

**Larva:** Le larve mature misurano circa 2,5 cm, di colore bianco grigiastre. Ciascun segmento è munito sul dorso di piccoli tubercoli piliferi brunastrati, 4 anteriori e 2 posteriori. Longitudinalmente si osservano spesso 3 fasce lineari più scure, di cui quella mediana è dovuta al vaso dorsale. Lo sviluppo larvale è costituito da 6 età: la lunghezza media delle larve ad ogni età è di 1,6 mm, 2,6 mm, 4,7 mm, 12,5 mm, 14,5 mm, e 19,9 mm. La durata di ogni età, dalla prima alla sesta, è di: 9,0 giorni, 7,8 giorni, 6,0 giorni, 8,8 giorni, 8,5 giorni e 12,3 giorni, per un totale di circa 50 giorni per il passaggio da larva neonata a crisalide (Tremblay, 1993; Capinera, 2005).

**Crisalide:** Le crisalidi sono di colore rosso mattone, piuttosto allungate e ristrette. Presentano dimorfismo sessuale nelle dimensioni: i maschi misurano 13-14 mmx2-2,5 mm; le femmine

misurano 16-17 mmx3,5-4 mm. Il cremaster è costituito da 5-8 setole uncinata molto ravvicinate, utilizzate per ancorarsi al proprio bozzolo, anche se questo non è sempre presente. La fase di pupa dura circa 12 giorni. La temperatura minima per la metamorfosi è di circa 13° C (Tremblay, 1993; Capinera, 2005).

Adulto: Gli adulti della piralide presentano dimorfismo sessuale. I maschi, più piccoli, hanno un'apertura alare di 20-26 mm, mentre quella delle femmine, più grandi, è di 25-34 mm. Le ali anteriori della femmina sono di colore variabile dal giallo rossastro al giallo biancastro, con linee trasversali dentate (a zig-zag) e fascia terminale, talora sbiadita, più scure. Nel maschio le ali anteriori e posteriori sono più fosche, scure e cupe che nella femmina: le ali anteriori mostrano distalmente una netta fascia giallastra molto dentata (a zig-zag), nella parte mediana una maculatura giallastra ocellare e prossimalmente un'altra fascia stretta, dentata (a zig-zag), spesso incompleta; le ali posteriori sono di colore scuro, più uniforme, con un'ampia chiazza subdistale, gialla trasversale. Al maschio esce nel posteriore, dall'ombra delle ali, un pezzetto di addome (Figura 6) (Tremblay, 1993; Capinera, 2005).



Figura 7: Adulti di *Ostrinia nubilalis* in cui è ben visibile il dimorfismo sessuale. A sinistra il maschio (fonte antropocene.it). A destra la femmina (fonte [www.norfolkmoths.co.uk](http://www.norfolkmoths.co.uk)).

### 1.3.2. *Piante ospiti*

Le larve di piralide del mais sono tendenzialmente polifaghe (Tremblay, 1993; Beres 2012); possono attaccare oltre 130 generi di piante, spontanee e coltivate, appartenenti a 40 diverse famiglie. Considerando tutte le fasi di vita dell'insetto, questo è stato trovato su più di 200 fra specie, varietà botaniche e fra le più importanti varietà ortofrutticole coltivate. Oltre al mais, fra le piante coltivate quelle su cui sono stati trovati danni seri causati dalla piralide sono: luppolo, canapa, sorgo, melo, fagiolo, barbabietola, cavolfiore, sedano, melanzana, miglio, peperone, patata, rabarbaro, girasole, bietola e pomodoro. In North Carolina (U.S.A.) la coltura di patata è

più attaccata rispetto al mais dagli individui del primo volo, e su cui sono causati danni maggiori (Capinera, 2005). Il mais resta comunque l'ospite preferenziale (Beres 2012), mentre le infestazioni ad altre colture occorrono: 1) quando queste colture si trovano nelle vicinanze di colture di mais; 2) quando i resti colturali e le parti vegetali di una coltura infetta dello stesso appezzamento o di un appezzamento vicino restano in campo e non vengono distrutte; 3) quando piante suscettibili sono coltivate nello stesso appezzamento o in appezzamenti vicini nello stesso momento. Fra le specie spontanee frequentemente attaccate va ricordata in particolare l'artemisia (Caffrey *et al.*, 1927). Ponsard ha rilevato dalla letteratura un totale di 224 specie di piante ospiti per *O. nubilalis*, di cui 19 piante del tipo fotosintetico C4, tra le quali il mais è probabilmente l'unica significativa nelle zone temperate (Ponsard *et al.*, 2004). La fase fenologica della pianta di mais influisce sulla scelta della pianta ospite per l'ovideposizione, come dimostrato confrontando le risposte comportamentali delle femmine accoppiate ai composti volatili delle piante in diversi momenti fenologici (Udayagiri *et al.*, 1995).

#### 1.3.2.1. Scelta delle piante ospiti per l'ovideposizione

Le piante rilasciano una serie di composti volatili utilizzati dagli insetti per il riconoscimento della pianta ospite. Femmine gravide della ceppo feromonico Z di *Ostrinia nubilalis* testate sui composti volatili emessi dalle piante di mais hanno mostrato una risposta elettroantennografica (GC-EAD gas cromatografia accoppiata con la risposta antennografica) positiva per i componenti nonanolo e decanolo (Tabella 2), naturalmente prodotti dalla pianta, e una risposta comportamentale (*wind-tunnel bioassay*) positiva per la miscela di questi due componenti a concentrazioni relative (Nonanolo:Decanolo=1:2,4 nella miscela sintetica, concentrazione 1000ng/μl) simili a quelle presenti in natura. Anche la fenilacetaldide (PAA), un comune composto volatile emesso dai fiori, è attrattivo nei confronti della piralide, ma con il problema che, se usata per il monitoraggio dei voli, dà poche catture e attrae anche altri insetti indesiderati (Molnàr *et al.*, 2015).

La distribuzione delle uova sulla pianta segue un andamento bimodale, con la massima concentrazione nella zona mediana della pianta, che va diminuendo spostandosi reciprocamente verso l'alto o verso il basso. La quasi totalità delle ooplacche viene deposta nelle foglie, in particolare nella pagina inferiore, vicino la nervatura mediana (Suverkropp *et al.*, 2008).

#### 1.3.2.2. Resistenza genetica delle piante di mais

Il DIMBOA è un benzossiazinone presente come glucoside nelle foglie molto giovani di mais. Quando queste vengono danneggiate, avviene la conversione del glucoside (DIMBOA-GLC)

nell'aglucone 2,4-diidrossi-7-metossi-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA), ad opera dell'enzima idrolitico  $\beta$ -glucosidasi. Il DIMBOA viene decomposto in 6-metossibenzoxazolinone (MBOA) e acido formico (Figura 8), da una serie di reazioni pH e temperatura dipendenti. Al diminuire del pH diminuisce la conversione in MBOA e viene favorita la formazione di un isomero del DIMBOA (3,4-diidrossi-7-metossi-1,4-benzoxazin-2-one) (Campos *et al.*, 1988). Ibridi selezionati per l'alto contenuto di DIMBOA sono resistenti all'attacco della prima generazione larvale, che interessa le foglie (Guthrie *et al.*, 1986).

Sia il DIMBOA che il prodotto della sua scomposizione (MBOA) (Figura 8) agiscono a livello dell'apparato digerente. Il DIMBOA agisce per primo, sulla digestione, in particolare sulle proteasi digestive (*chymotripsina* e *tripsina*), inibendo la chimotripsina in modo non competitivo. MBOA agisce successivamente, dopo la digestione, andando a diminuire l'efficienza nella conversione del cibo digerito (Houseman *et al.*, 1992).

Le larve preferiscono alimentarsi dei tessuti immaturi, per la mancanza di barriere fisiche, anche se questi contengono alte concentrazioni di DIMBOA rispetto ad altri tessuti. Il DIMBOA non interrompe la nutrizione, ma va ad agire sulla crescita e la fecondità delle larve (Bergvinson *et al.*, 1995). Sia il DIMBOA sia l'MBOA interferiscono sui tempi di sviluppo delle larve e delle pupae allungandoli, sulla mortalità delle larve e sulla fecondità degli adulti. Fra i sessi, le femmine sono più sensibili all'MBOA, cosicché viene modificata sia la sex ratio, per la maggiore mortalità di queste rispetto ai maschi, sia il numero di ooplacche deposte per femmina, per la diminuzione della fecondità. Per il DIMBOA, invece, non c'è differenza nella suscettibilità fra i due sessi (Campos *et al.*, 1988; Campos *et al.*, 1989).

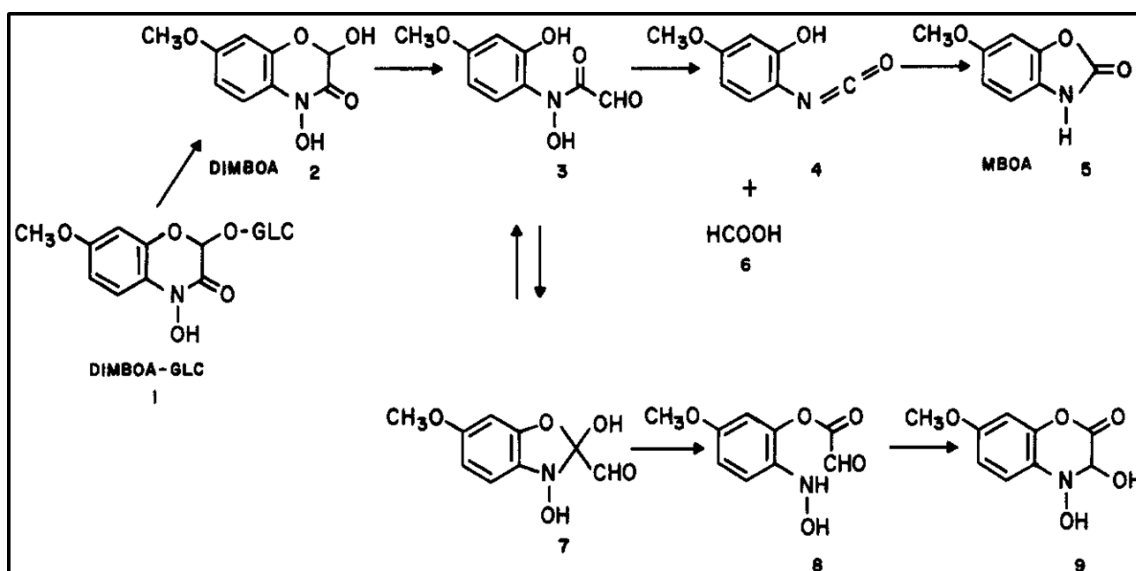


Figura 8: Degradazione chimica del DIMBOA-GLC. Fonte Campos *et al.*, 1988.

### 1.3.3. *Ciclo biologico*

La piralide sverna come larva matura in diapausa all'interno dei culmi delle piante attaccate (Tremblay, 1993). La diapausa è una particolare forma di dormienza che si esprime in uno specifico stadio di sviluppo dell'insetto, che dipende dalla specie dell'insetto stesso (la dormienza comprende anche la quiescenza, un'interruzione istantanea dello sviluppo, a qualunque stadio si trovi l'insetto, in qualunque periodo dell'anno, dovuta a condizioni sfavorevoli). Dall'entrata in diapausa, lo sviluppo dell'insetto si ferma e le attività metaboliche vengono soppresse. L'entrata in diapausa, comunque, non assicura in sé la sopravvivenza dell'individuo alla stagione fredda. Nelle regioni temperate e polari la sopravvivenza è assicurata da un insieme di adattamenti comportamentali, fisiologici e biochimici che permettono all'insetto di passare da non tollerante al freddo a tollerante. In alcune specie di insetti il programma genetico (*genetic program*) che porta alla diapausa è direttamente collegato a quello della resistenza al freddo; in altri i due programmi sono separati, per cui l'entrata in diapausa avviene senza la resistenza al freddo, che occorre successivamente durante la stagione in risposta all'abbassamento delle temperature (Lee, 2009; Denlinger, 2009). Nel complesso la diapausa non è uno stato inattivo, ma un processo dinamico che attraversa le seguenti fasi: induzione, preparazione, iniziazione, mantenimento, terminazione e post-diapausa. Questo dinamismo si esprime come risposta ai cambiamenti di temperatura, umidità, fotoperiodo, ormonali e di altri fattori. L'organismo gradualmente cambia attraverso le fasi della diapausa (Kostàl, 2006).

L'entrata in diapausa delle larve della piralide dipende dal fotoperiodo, è massima con un fotoperiodo L:B=12:12 (Skopik *et al.*, 1986) ed è inversamente proporzionale alla durata del dì, compresa fra le 14h e le 16h (Ikten *et al.*, 2011). Le variazioni di temperatura e il termoperiodo non agiscono direttamente sull'entrata in diapausa delle larve, regolata da fattori endogeni e dal fotoperiodo, ma va ad influenzare l'intensità della risposta metabolica allo stress da basse temperature (Popovic *et al.*, 2015; Vukasinovic *et al.*, 2015). In primavera, a seguito dei cambiamenti ambientali e del ritorno delle condizioni favorevoli, si ha la fine della diapausa. Questa fase consiste in un decremento dell'intensità della diapausa, dallo stato di mantenimento fino al suo minimo; ciò porta alla sincronizzazione degli individui della stessa popolazione. Dalla fine della diapausa la larva può riprendere lo sviluppo, in caso di condizioni favorevoli, o entrare in uno stato di quiescenza post-diapausa, in caso di condizioni sfavorevoli (Kostàl, 2006). Nella piralide fine della diapausa dipende dal fotoperiodo. In laboratorio si ha la più rapida uscita dalla diapausa e il più rapido passaggio da larva a crisalide con un fotoperiodo di L:B=16:8. La temperatura va ad influire sulla velocità di sviluppo della larva e il passaggio allo

stadio di crisalide, con un aumento del tempo richiesto al diminuire delle temperature. In campo questa situazione non avviene: un fotoperiodo di 16:8 corrisponde ad un giorno di piena estate, mentre le larve svernanti escono dalla diapausa a inizio primavera e sfarfallano prima o durante il verificarsi di queste condizioni di fotoperiodo. Ciò potrebbe essere dovuto al fatto che in condizioni naturali intervengono altri numerosi fattori come: l'esposizione a basse temperature stagionali; la graduale variazione del fotoperiodo, che prima si accorcia gradualmente (estate-autunno) e poi si riallunga gradualmente (inverno-primavera); il termoperiodo giornaliero, con ore più calde durante il dì e ore più fredde durante la notte (Skopik *et al.*, 1987). Alla ripresa dell'attività, prima dell'incrisalidamento, le larve scavano gallerie nel vegetale attaccato, ma non si nutrono; le larve, prima di incrisalidarsi, aprono un foro circolare sulla superficie del culmo e lo chiudono con seta opaca per permettere l'uscita degli adulti (Poos, 1927).

La maggioranza dei maschi sfarfalla 4 giorni prima della maggioranza delle femmine (Bethenod *et al.*, 2005), ma un buon numero di maschi continua a sfarfallare anche dopo il picco, per evitare la loro carenza nell'accoppiamento (Poos, 1927). Gli adulti passano la prima notte nell'area in cui sono sfarfallati e qui si accoppiano. Dalla seconda notte le femmine si spostano sulle colture di mais per ovideporre; le ore di luce vengono passate nella vegetazione spontanea ai margini dei campi (Suverkropp *et al.*, 2008), anche se non tutte le femmine tornano nei siti di aggregazione dopo l'ovideposizione, mentre i maschi vi restano alla ricerca di femmine vergini (Sappington *et al.*, 1983). Gli adulti hanno abitudini prettamente notturne. E' stato osservato che le femmine hanno il picco di catture nel lasso di tempo compreso fra le 21:00 e le 24:00 e di queste il 90,9% sono risultate già fecondate. I maschi hanno mostrato un periodo di volo dalle 21:00 alle 06:00, con la massima intensità tra le 24:00 e le 03:00 (Camerini *et al.*, 2015). Sappington (1983) ha osservato il picco di catture delle femmine fecondate immediatamente dopo il crepuscolo, mentre per i maschi tra le 24:00 e le 01:00, che coincide con il massimo periodo di accoppiamento. Comunque, il numero dei maschi catturati supera quello delle femmine durante tutta la notte, a significare che sono i maschi a muoversi alla ricerca delle femmine, meno mobili (Sappington *et al.*, 1983). L'accoppiamento nei siti di aggregazioni situati nella vegetazione spontanea bassa e densa, fino a 100 m di distanza dal luogo di ovideposizione sul mais (Showers *et al.*, 1976), ha luogo nei primi 2-3 giorni seguenti lo sfarfallamento, periodo di massima fertilità per le femmine; dopo una settimana dallo sfarfallamento la fertilità si avvicina allo zero (Fadamiro *et al.*, 1999). La stessa femmina può accoppiarsi anche più di una volta, con maschi diversi (Loughner, 1970). Le femmine che si accoppiano almeno due volte mostrano una fecondità e una fertilità maggiori rispetto alle femmine che si sono accoppiate una sola volta (Fadamiro *et al.*, 1999). La sincronizzazione

temporale fra maschi e femmine per l'accoppiamento è guidata da un ritmo circadiano endogeno imperfetto sincronizzato da fattori esogeni quali variazioni del termoperiodo e del fotoperiodo, come il crollo delle temperature notturne da 29,4°C fino a 19,4°C e la diminuzione dell'intensità luminosa (Loughner, 1970; Loughner *et al.*, 1971). L'umidità relativa influisce non tanto sulla capacità di recepire il feromone sessuale quanto sulla capacità del maschio di raggiungere la fonte del feromone. Testando le risposte dei maschi al feromone sessuale in un intervallo di umidità relativa compreso fra il 43% e il 100%, è stato osservato che la percentuale di maschi che raggiungono la fonte dell'emissione del feromone diminuisce all'aumentare dell'umidità relativa (Royer *et al.*, 1993). Anche l'acqua, o la rugiada sulla vegetazione, è essenziale per l'inizio degli accoppiamenti (de Rozari *et al.*, 1977). Le femmine nei siti di aggregazione assumono le gocce di pioggia o rugiada, dopodiché cominciano ad emettere il feromone sessuale. Questa attività inizia alle 22:00 e ha il picco massimo alle 01:00 (Showers *et al.*, 1989). Il vento non ha effetto sulla frequenza di accoppiamento fino a velocità di 4,8 km/h, mentre inibisce completamente l'accoppiamento al di sopra di 16,6 km/h (Loughner, 1970). Le femmine presentano un periodo medio di pre-ovideposizione di 4,4 giorni; il periodo di ovideposizione va da 1 a 28 giorni, con una media di 12,8 giorni; il periodo di post-ovideposizione va da 0 a 20 giorni, con una media di 2,5 giorni. La longevità media degli adulti maschi è di 20,4 giorni e quella delle femmine è di 18,9 giorni (Poos, 1927). Nell'arco della sua vita, la femmina può arrivare a deporre fino a 400-600 uova (Capinera, 2005).

#### 1.3.3.1. *Monovoltinismo e Polivoltinismo*

All'interno della specie coesistono biotipi monovoltini, che compiono una sola generazione l'anno, e polivoltini, che compiono da due fino a 5/6 generazioni l'anno nel Sud-Est asiatico (Tremblay, 1993). In molte aree il numero delle generazioni è variabile in dipendenza dell'andamento climatico (Capinera, 2005). In alcune zone possono convivere biotipi monovoltini e bivoltini (Roelofs *et al.*, 1985; Cagan *et al.*, 2000). Il 46° parallelo di latitudine Nord sembra essere la zona di transizione dei due biotipi, dove monovoltini e bivoltini coesistono. Il biotipo monovoltino presenta un lungo periodo di sfarfallamento che va dalla fine di maggio alla prima decade di settembre; il biotipo bivoltino presenta un primo volo dalla fine di maggio ai primi di luglio, e un secondo volo dalla metà di luglio a settembre. La coesistenza di due biotipi conduce a sfarfallamenti cumulativi in piena estate (Tremblay, 1993; Maini *et al.*, 1999). Dove i due biotipi coesistono, è stato dimostrato che questi hanno i picchi di volo in tempi diversi: il biotipo monovoltino a luglio, mentre quello bivoltino uno a giugno e l'altro ad agosto (Roelofs *et al.*, 1985). In Italia esistono situazioni variabili: il Dipartimento di Agricoltura degli Stati Uniti d'America (USDA) nel 1927 riportava 3 generazioni nei dintorni di

Firenze (Caffrey *et al.*, 1927). De Rozari riporta, per le zone mediterranee e della valle del Po, due generazioni (de Rozari 1974). In uno studio condotto a Bergamo e Mantova, sono state osservate due generazioni larvali successive, nettamente divise, la prima da fine giugno e la seconda da inizio agosto (Biraghi, 1975). In Piemonte è stata osservata una distribuzione dei voli continua che potrebbe significare una sovrapposizione di tre voli (invernale, prima generazione, seconda generazione) o la predominanza del biotipo monovoltino sui bivoltini (Maiorano *et al.*, 2014). Camerini ha riscontrato, nella valle del Po, una netta distinzione tra il picco di volo della prima generazione di adulti (fine maggio) e il volo della seconda generazione (seconda metà di agosto) (Camerini *et al.*, 2015).

Le differenze temporali che distinguono i due biotipi sembrano dovute a fattori che influenzano l'inizio e la fine della diapausa. Fra i due biotipi è stata rilevata una differenza nell'influenza della durata del dì sull'entrata in diapausa: nel biotipo bivoltino la soglia critica del fotoperiodo per l'entrata in diapausa (50% delle larve testate entrate in diapausa) è 14,80h di luce, mentre nel biotipo monovoltino è di 15,33h di luce. Nell'incrocio fra i due biotipi, l'influenza del maschio è maggiore di quella della femmina nel determinare l'incidenza della diapausa nella progenie. Dai risultati dati dalla F2 e dal back-cross si suppone che i geni legati all'entrata in diapausa siano localizzati sul cromosoma sessuale Z (Ikten *et al.*, 2011). Glover (1992) riporta sul cromosoma sessuale Z il gene *Pdd* (post diapause development); inoltre nota una differenza nei tempi di passaggio da larva a crisalide fra i due biotipi, una volta poste le larve in diapausa nelle condizioni favorevoli per la fine della diapausa stessa: mediamente, 15 giorni per il biotipo bivoltino contro 44 giorni per il biotipo monovoltino (Glover *et al.*, 1992). Il gene *Pdd* presenta due alleli: *PddS* (Short), proprio del biotipo bivoltino, che conferisce un tempo per la terminazione della diapausa inferiore, e *PddL* (Long), proprio del biotipo monovoltino, che conferisce un tempo maggiore per la fine della diapausa. L'asincronia nei tempi di incrisalidamento fra i due biotipi sembra dovuta alla differenza nei tempi per il passaggio dallo stato metabolico lineare del mantenimento allo stato metabolico esponenziale della terminazione e della ripresa dello sviluppo: mentre per le larve dei biotipi bivoltini sono richiesti circa 20 giorni, per le larve dei biotipi monovoltini occorrono 30 o più giorni (Wadsworth *et al.*, 2013).

#### **1.3.4.      *Danni***

Le larve di piralide determinano le più gravi perdite di mais nelle colture delle regioni dell'Italia centro-settentrionale. Le larve, potendo vivere all'interno di spighe e stocchi, scavano gallerie che indeboliscono gli stocchi e i peduncoli, con possibile rottura e caduta. Non è possibile poi, con la raccolta meccanizzata, raccogliere da terra le spighe o gli stocchi caduti per le rosure (Biraghi, 1975). Gli attacchi della seconda generazione possono interessare anche il 100% delle



piante (Tremblay, 1993). L'intensità dei danni diretti sulle piante e sulle spighe sono correlati al numero delle larve che si nutrono delle diverse parti della pianta. Inoltre, è stata dimostrata la correlazione tra i danni indotti dalle larve di piralide del mais e la concentrazione di 7 micotossine prodotte principalmente da *Fusarium* spp. della sezione *Liseola* (*F. verticilloides*; *F. proliferatum*; *F. sublutinan*): FUMs (*fumosine*), FUS (*fusaproliferina*), MON (*moniliformina*), BIK (*bikaverina*), BEA (*beauvericina*), FA (*acido fusarico*), EQU (*equisetina*). Fra queste, EQU è l'unica prodotta da *Fusarium equiseti*, della sezione *Gibbosum*. Le larve fungono da vettori per *Fusarium* spp.: entrando negli stocchi causano ferite e trasportano l'inoculo fungino dalla superficie della pianta alle spighe, promuovendo lo sviluppo del marciume delle spighe, causando un incremento nella contaminazione totale da micotossine (Blandino *et al.*, 2014). Anche le feci delle larve che si sono nutrite su un substrato già infetto da *Fusarium* spp. possono fungere da vettori per i conidi, resistenti alla digestione (Darvas *et al.*, 2011).

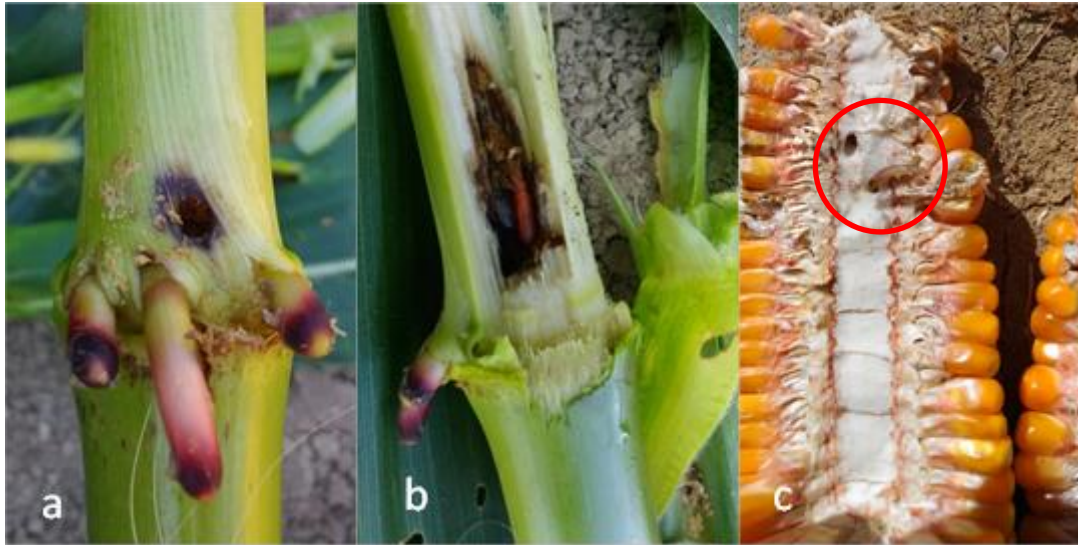
“I diversi punti in cui si localizzano le larve di *O. nubilalis* sul mais sono effetto della crescita della pianta più che dello stadio di sviluppo dell'insetto” (Biraghi, 1975). Si hanno differenti modalità di attacco da parte delle diverse generazioni a seconda che la coltura di mais sia semi-tardiva, a semina precoce in primo raccolto (semina ad aprile) o a semina tardiva in secondo raccolto (semina nella prima metà di maggio), o a breve ciclo a semina tardiva in secondo raccolto (semina prima metà di luglio).

Nel caso la coltura interessata sia di mais a grande sviluppo a semina precoce, in zone in cui sono presenti i biotipi bivoltini, le piante subiscono attacchi da entrambe le generazioni, che presentano cicli lineari nettamente divisi con differenti modalità di attacco. Gli attacchi delle larve di prima generazione iniziano a comparire nella seconda metà di giugno e si protraggono per circa due settimane, con la massima intensità di attacco nei giorni intermedi. Le piante attaccate in questo periodo hanno un'altezza fra 50 e 100 cm di altezza, con le foglie apicali ancora chiuse a cartoccio. Le larve neonate si affrettano a penetrare nella parte più interna del cartoccio e per fare ciò si aprono dei fori verso l'interno di diametro crescente mano a mano che le larve crescono. Quando il cartoccio apicale si dispiega e le foglie si srotolano i fori appaiono allineati in senso trasversale. Le larve esplorano anche in senso trasversale i cartocci, causando delle lacerazioni longitudinali irregolari, continue. All'apertura del cartoccio apicale e alla fuoriuscita dell'infiorescenza maschile, con le piante che hanno raggiunto un'altezza di 170-200 cm, alle larve vengono a mancare il riparo e i nutrienti. Durante la notte le larve si spostano verso parti più basse della pianta, camminando o calandosi per mezzo di un filo di seta, e raggiungono, per la maggior parte, le ascelle fogliari, da dove penetrano all'interno dei culmi,

aprendosi un foro sulla ligula. Qui si terminerà la fase di sviluppo larvale e l'incrisalidamento. Alcune larve possono restare ectofaghe, fra il culmo e la guaina fogliare, se queste non aderiscono bene fra loro; l'incrisalidamento comunque avviene quasi sempre all'interno dello stocco e solo occasionalmente avviene tra le pieghe delle foglie mediane (Biraghi, 1975).

Le larve neonate di seconda generazione compaiono ad agosto, solitamente sulle spighe, dove si nutrono degli stili all'apice o dei granelli ancora immaturi e del tutolo. All'avanzare dello sviluppo larvale, le larve si spostano all'interno del tutolo, nel peduncolo della spiga, nello spazio tra la guaina fogliare e lo stocco o all'interno degli stocchi. A differenza della prima generazione, la migrazione larvale della seconda generazione si protrae per tempi più lunghi, fino a 5 settimane, poiché alcune larve aspettano l'ultima età per approfondirsi nei tessuti.

Sulle piante di mais a semina tardiva sono rilevabili i danni di due generazioni successive, anche se con tempi di sviluppo diversi e parziale sovrapposizione delle due generazioni; queste differenze sono imputabili allo sviluppo tardivo di queste piante di mais rispetto a quelle a semina precoce. In particolare, i primi attacchi della prima generazione si manifestano con circa quindici giorni di ritardo, quando le piante hanno raggiunto un'altezza di 80-110 cm; al momento dell'apertura del cartoccio apicale e della fioritura, sulle spighe si possono trovare contemporaneamente le larve di quarta e quinta età della prima generazione e le larve neonate della seconda generazione, con la sovrapposizione delle due generazioni. Nel mais a ciclo breve seminato in secondo raccolto si hanno attacchi solo da parte delle larve di seconda generazione, ad agosto, quando le piante si trovano ancora ai primi stadi di sviluppo, con un'altezza di circa un metro. Le modalità di attacco sono simili a quelle delle larve di prima generazione negli altri due casi: la maggior parte degli attacchi interessano le foglie e gli stocchi, mentre sono scarsi gli attacchi alle spighe (Biraghi, 1975).



**Figura 9: Danni causati dalle larve di *Ostrinia nubilalis*. a) foro di sfarfallamento; b) particolare di culmo dissezionato in cui è visibile la crisalide; c) larva di piralide e relativo danno su spiga (Foto Palpacelli Diego).**

### **1.3.5. Feromone sessuale e ceppi di *Ostrinia nubilalis***

Il feromone sessuale emesso dalla femmina di *O. nubilalis* è composto principalmente da 11-tetradecenilacetato (11-tda), con tracce di E-9-tetradecenil acetato (E-9-tda) e di tetradecilacetato. All'interno della specie coesistono due ceppi feromonici che si differenziano per la concentrazione degli isomeri E (trans) e Z (cis) di tale composto nei rispettivi feromoni sessuali e nella risposta dei maschi allo stimolo: nella ceppo Z (aa) la concentrazione degli isomeri Z:E è di circa 97:3, mentre nel ceppo E (AA) la concentrazione Z:E è di circa 3:97. Le due specie possono vivere in simpatria, dove può avvenire l'ibridazione con la formazione di progenie eterozigote E/Z (Aa): le femmine ibride producono una miscela feromonica con concentrazioni Z:E di circa 35:65; i maschi ibridi rispondono preferenzialmente alle stesse concentrazioni. Comunque, i maschi di tutti e 3 i ceppi rispondono a tutte e 3 le miscele, seppur preferendo quella prodotta dalle sorelle consanguinee. Dallo studio della progenie femminile F1 data dall'incrocio ExZ si sono osservate le frequenze mendeliane 1:2:1 tipiche di geni portati su cromosomi omologhi (Klun *et al.*, 1975; Klun *et al.*, 1979).

Fra i due ceppi sembra esserci asincronia nei tempi di sfarfallamento degli adulti derivati dalle larve svernanti: in Francia, vicino Parigi, gli adulti del ceppo E sono sfarfallati, con delle variazioni, 10 giorni prima della ceppo Z (Thomas *et al.*, 2003; Bethenod *et al.*, 2005).

Nella piralide del mais la catena biochimica che porta alla formazione dell'11-tetradecenil acetato parte dall'acido palmitico (16C) e prevede i seguenti passaggi:  $\beta$  ossidazione che porta alla formazione di acido miristico (C14);  $\Delta$ 11 desaturazione; riduzione; acetilazione (Lassance *et al.*, 2010), ed avviene nelle ghiandole a feromone sessuale situate nella membrana

intersegmentale tra l'8° e il 9/10° urite (segmento addominale), in posizione dorsale (urotergo), centrale (Ma et al., 2002). L'enzima  $\Delta 11$  desaturasi permette il differenziamento interspecifico del feromone da quelli di altre specie, benché il genere *Ostrinia* condivida anche con altri generi questo enzima (Tillman et al., 1999; Cardé et al., 2004). È stato dimostrato che il differenziamento intraspecifico fra le miscele feromoniche prodotte dalle femmine dei due ceppi di *O. nubilalis* avviene a livello della riduzione, mentre l'acetilazione non sembra essere selettiva. Gli enzimi che convertono gli acidi grassi nei rispettivi alcoli sono le reduttasi (FAR, *fatty-acyl reductase*). I due ceppi feromonici presentano, a livello genico, due alleli differenti del gene *pgFAR*, che si esprimono nelle rispettive reduttasi: *pgFAR-Z* e *pgFAR-E*. Fra le due forme c'è una divergenza nucleotidica del 3,8%, e amminoacidica del 7,5%. In presenza della stessa quantità di substrato di partenza, cellule di *Saccharomyces cerevisiae* nelle quali è stato impiantato il gene *pgFAR-Z* hanno prodotto quasi esclusivamente l'isomero Z dell'11-tetradecenil acetato, producendo solo una piccola quantità dell'isomero E; il contrario è avvenuto con le cellule dotate del gene *pgFAR-E*. Le proporzioni delle due miscele prodotte da *S. cerevisiae* sono state le stesse prodotte da *O. nubilalis* in natura. La produzione della miscela del feromone sessuale femminile è quindi controllata dal singolo gene autosomico *pgFAR* che presenta due alleli, E e Z, che determinano i rispettivi allozimi FAR-Z e FAR-E, determinando le varianti E o Z dell'ormone 11-tetradecenil acetato a partire dall'acido palmitico (C16). Nella femmina eterozigote si ha la dominanza incompleta dell'allele E sull'allele Z, con la sintesi della miscela Z:E=35:65 (Lassance et al., 2010).

La percezione da parte del maschio della miscela feromonica sessuale richiede 2 fasi: 1) la ricezione delle componenti della miscela attraverso i recettori olfattivi posti sulle antenne; 2) l'elaborazione degli input esterni con la conseguente risposta comportamentale. Geneticamente, la risposta specie-specifica maschile allo stimolo femminile dipende sia da fattori autosomici sia da fattori legati al sesso che determinano il tipo e il numero dei recettori olfattivi (ORs) dei sensilli olfattivi localizzati nelle antenne dei maschi (de Fouchier et al., 2014), considerando che in *O. nubilalis* la femmina è emizigote XY e il maschio omozigote ZZ (Roelofs et al., 1987). Nel genoma di *O. nubilalis* sono stati trovati 8 differenti loci che traducono per 8 ORs (*OnubOR1-8*) (Yasuochi et al., 2011). *OnubOR 1, 3 e 6* presentano differenze legate ai due ceppi feromonici di piralide; in *OnubOR4 e 5* non ci sono variazioni legate al ceppo feromonico. Inoltre, i geni *OnubOR1, 3 e 6* sono legati al sesso, mentre *OnubOR4 e 5* sono legati al cromosoma autosomico 5 (Dopman et al., 2004) (Lassance et al., 2011). *OnubOR2* sembra essere il gene in *O. nubilalis* che codifica la proteina Orco. *OnubOR1 e OnubOR3-6* vengono trascritti con una frequenza nei maschi da 14 fino a 100 volte superiore rispetto alle femmine,

mentre *OnubOR2* eccede nel maschio rispetto alla femmina di solo 1,6 volte. In generale, i geni *OnubOR1-6* non vengono trascritti in modo significativo in altre parti del corpo oltre le antenne. Il fatto che non sia ancora stato identificato un recettore specifico per l'isomero E-11, il riconoscimento della giusta miscela feromonica da parte del maschio potrebbe derivare dalla coesistenza nello stesso ORN di un OR altamente specifico e di uno generico. Oltre agli ORs, che costituiscono sicuramente uno dei principali fattori per la ricezione specifica della miscela, per la trasduzione del segnale sono coinvolti dei complessi con altre proteine, come le SNMP1 (*Sensory Neuron Membrane Protein 1*) e le PBPs (*Pheromone Binding Proteins*), le quali possono aumentare la sensibilità fisiologica verso un componente feromonico (Miura *et al.*, 2009; Wanner *et al.*, 2010). Fatta eccezione per *OnubOR1*, tutti gli ORs sono espressi sullo stesso sensillo tricoideo, che contiene 3 ORNs: 2 ORNs contengono un solo tipo di OR ciascuno fra *OnubOR6*, sensibile a Z-11-tda, o *OnubOR4*, sensibile a E-11-tda, mentre il terzo ORN coesprime *OnubOR3*, 5, 7 e 8, sensibili a più componenti, compreso l'antagonista Z-9-tda. *OnubOR1* viene espresso su un sensillo tricoideo specifico. Fra i maschi dei due ceppi e dell'ibrido ci sono differenze nell'espressione dei diversi *OnubOR*: nel ceppo Z viene espresso *OnubOR6*, sensibile a Z-11, a livelli più alti rispetto al ceppo E; nel ceppo E sono espressi a livelli più alti, rispetto al ceppo Z, *OnubOR4* e *OnubOR1*. Il picco (*spiking*) nella risposta neuronale è maggiore verso il componente feromonale specifico del proprio ceppo, e quello minore verso il componente dell'altro ceppo, mentre la media verso Z-9; nell'ibrido si ha la risposta maggiore verso E-11, quella intermedia verso Z-11 e quella minore verso Z-9 (Koutroumpa *et al.*, 2014).

### **1.3.6. Distribuzione geografica dei ceppi feromonici**

Le frequenze dei due ceppi sono variabili, dipendenti dall'areale geografico considerato. In Canada è stata rilevata la presenza su mais quasi esclusiva del ceppo Z, con scarsa presenza dell'ibrido e quasi nulla della ceppo E, presente solamente nelle regioni orientali (Smith *et al.*, 2015). Negli Stati Uniti allo stesso modo prevale il ceppo Z. Nello stato di New York, uno studio condotto sui biotipi monovoltini e bivoltini, è stata rilevata la presenza di entrambi i ceppi E e Z, e fra questi il ceppo Z presenta entrambi i biotipi, monovoltino e bivoltino, con tre sfarfallamenti totali per anno, mentre il ceppo E presenta solo il tipo bivoltino, con due sfarfallamenti; nello stesso studio è stata rilevata anche la presenza dell'ibrido, e l'ibridazione sembra avvenire preferibilmente fra gli adulti della seconda generazione (Klun *et al.*, 1975; Roelofs *et al.*, 1985). In Europa la situazione è molto variabile in base all'areale considerato. Il ceppo Z è quello maggiormente presente in Austria, Bulgaria, Francia, Germania, Polonia, Romania, Jugoslavia e Ungheria. In Italia e Svizzera, al contrario, è stata rilevata la maggiore

presenza del ceppo E sul ceppo Z. La presenza dell'ibrido è maggiore dove è alta la presenza del ceppo E, cioè in Italia e Svizzera; a Bologna, Bergamo e Pistoia si è registrata una presenza maggiore dell'ibrido rispetto al ceppo E (Klun *et al.*, 1979; Anglade *et al.*, 1984). Sembrerebbe che le Alpi costituiscano la barriera fra la dominanza del ceppo Z, al Nord, e la dominanza del ceppo E, al Sud (Klun *et al.*, 1979).

Da una serie di studi condotti in Francia, dove la specie è monovoltina, è risultato che fra i due ceppi è avvenuta la segregazione genetica dovuta al cambio dell'ospite preferenziale, che ha portato all'accoppiamento selettivo (isolamento prezigotico) e all'ovideposizione della femmina sulla pianta ospite la cui specie coincide con quella in cui è avvenuto l'accrescimento della madre stessa (isolamento postzigotico). Ciò avrebbe portato alla formazione di due differenti ceppi feromonici che differiscono per il corredo genico, con una forte, anche se non assoluta, corrispondenza fra ceppo feromonico, pianta ospite e fenotipo di piralide. Il ceppo Z predilige le piante C4, come il mais, come ospiti per l'aggregazione e l'ovideposizione; il ceppo E, che predilige le piante C3 come l'artemisia e il luppolo (Bontemps *et al.*, 2004; Malausa *et al.*, 2005). Anche la sopravvivenza delle larve sembra dipendere dalla pianta ospite, con maggiore probabilità delle larve Z di sopravvivere su mais, e delle larve E sull'artemisia (Calcagno *et al.*, 2007). Considerando che fra i due ceppi può esserci anche asincronia temporale di diversi giorni nello sfarfallamento (Thomas *et al.*, 2003; Bethenod *et al.*, 2005) e che la massima fertilità per le femmine si ha nei primi 3 giorni, con la fertilità vicina allo zero dopo una settimana (Fadamiro *et al.*, 1999), si può considerare anche l'asincronia degli sfarfallamenti una causa importante dell'isolamento genetico. Questa divisione dei ceppi sembra essere il risultato di più fattori, quali l'isolamento postzigotico (Malausa *et al.*, 2005) e l'insorgenza di barriere prezigotiche (Cardé *et al.*, 2004). Questa segregazione delle popolazioni non è comunque una regola assoluta: in Italia, dove la specie è bivoltina, il mais è la pianta ospite di entrambi i ceppi, E e Z (Maini *et al.*, 1978).

### **1.3.7. Monitoraggio**

Indipendentemente dal metodo di lotta utilizzato (chimico, microbiologico o biologico) il tempismo con cui si interviene è di fondamentale importanza per l'efficacia dell'azione messa in atto. Diversi metodi di monitoraggio possono essere utilizzati per identificare il periodo ottimale di intervento (Beres, 2012).

Un metodo prevede il rilievo in campo delle piante attaccate e delle ooplacche deposte. Il controllo dovrebbe essere effettuato su 5 campioni ogni 20 piante consecutive, per appezzamenti con estensione compresa fra i 16,2 e i 20,2 ha, non considerando le piante poste entro 30,4 m dai bordi per eliminare l'effetto perimetrale. Per il posizionamento dei trattamenti

contro la prima generazione, il rilievo deve focalizzarsi sulle piante che presentano danni alle foglie, e su queste va praticata la dissezione per il conteggio delle larve vive. Il rilievo va effettuata quando le piante hanno raggiunto un'altezza di circa 43 cm. Per i trattamenti contro gli individui della seconda generazione, invece, il controllo deve focalizzarsi sulle ooplacche presenti sulle piante. L'inizio della deposizione delle uova può essere rilevato tramite trappole che catturano le femmine gravide, altrimenti la ricerca delle ooplacche deposte deve avvenire durante il periodo della fioritura (*pre- post- tasseling*) (Showers et al., 1989).

Per il monitoraggio degli adulti si possono utilizzare trappole luminose, che catturano sia i maschi che le femmine, o trappole di vario tipo (ad acqua, a cono di rete, "delta", "funnel") attivate con la miscela feromonica specifica per il ceppo feromonico presente e limitate alla sola cattura dei maschi (Maini et al., 1990; Beres 2012; Camerini et al., 2015), o con la PAA, che attira prevalentemente le femmine, e in minor numero anche i maschi (Maini, et al., 1990; Camerini et al., 2015), o con la combinazione di feromone sessuale e la PAA (Maini et al., 1990; Maini et al., 1999). La miscela feromonica è composta prevalentemente dagli isomeri E e Z dell'11-tetradecenil acetato nelle proporzioni Z:E di 97:3 per il ceppo Z; 3:97 per il ceppo E; 35:65 per l'ibrido (Anglade et al., 1984).

Le trappole luminose risultano efficaci nella previsione dei periodo di inizio e di picco di ovideposizione, con le prime catture degli adulti già alcuni giorni precedenti l'inizio dell'ovideposizione (Beres 2012), ma il loro utilizzo è più complicato per le difficoltà dovute alla non selettività del tipo di attrattivo utilizzato (Maini et al., 1999). La cattura dei maschi con il feromone sessuale o la PAA non è sufficiente alla previsione dell'inizio dell'ovideposizione (Beres 2012) e il numero di catture non è correlato al danno subito dall'attacco larvale. Diversamente, il numero di femmine catturate attraverso la PAA è correlato all'infestazione, considerato come numero di larve infestanti nelle piante (Maini et al., 1999).

In ogni caso, per il monitoraggio della piralide viene consigliato l'utilizzo di trappole a cono di rete attivate con il feromone sessuale e la PAA, visto anche che il numero di catture di maschi e femmine, dato dalla combinazione degli attrattivi, è quello con il più alto coefficiente di correlazione all'intensità del danno subito dalla vegetazione (Maini et al., 1999).

### **1.3.8. Lotta integrata**

La lotta integrata (IPM, *Integrated Pest Management*) consiste nell'attenta analisi di tutti i mezzi disponibili per il controllo dei parassiti, nell'integrazione di appropriate misure che dissuadono lo sviluppo delle popolazioni dei parassiti e nell'utilizzo di pesticidi ed altri trattamenti a livelli economicamente giustificati e che minimizzino il rischio umano ed

ambientale. La lotta integrata enfatizza la coltivazione di colture sane con la minore distruzione dell'agro-ecosistema ed incoraggia i naturali meccanismi di controllo dei parassiti (FAO, 2019). La soglia economica del danno (EIL, *economic injury level*) è il limite di densità di popolazione dell'insetto dannoso oltre il quale il danno subito, attuale o potenziale, equivale ai costi di lotta all'insetto. La soglia economica di intervento (ET, *economic threshold*) è la soglia di densità di popolazioni a cui bisognerebbe iniziare le pratiche di controllo per evitare che venga superato l'EIL. Nel caso della piralide del mais bisogna considerare anche il fatto che solo le larve che non si sono approfondite all'interno dei culmi o delle spighe subiscono gli effetti dei trattamenti con insetticidi che non penetrano nei tessuti vegetali. C'è quindi uno specifico periodo in cui intervenire perché il trattamento sia efficace se si decide di utilizzare insetticidi che non penetrano nella pianta (Showers et al., 1989).

#### 1.3.8.1. Limitatori naturali e lotta biologica classica

Le naturali riduzioni di popolazione della piralide sono dovute a fattori di limitazione, biotici e abiotici, e alla mancata schiusa delle uova, che varia dal 60 al 98%, a seconda delle condizioni più o meno favorevoli allo sviluppo.

I principali fattori di limitazioni abiotici sono la temperatura e l'umidità. La soglia termica di sviluppo per le uova e le larve si aggira sui 10°C, mentre valori di umidità anche relativamente bassi causano una mortalità delle uova molto elevata: con umidità relativa al 75% a 25°C si aggira sul 15-20%. Altri fattori abiotici quali vento, pioggia o umidità insufficiente possono causare alti livelli di mortalità larvale. Frequente è il distacco delle ooplacche dovuto ai venti caldi o agli scarti termici elevati fra giorno e notte (Tremblay, 1993).

Tra i limitatori naturali si trovano metaboliti delle piante, artropodi e microorganismi.

Il metabolita del mais più interessante per la mortalità indotta nelle larve è l'aglucone 2-4-diidrossi-7-metossi-(2H)-1,4-benzossiazin-3-(4H)-one (DIMBOA). Il DIMBOA è presente sui tessuti delle piante giovanili e va diminuendo la sua concentrazione con l'avanzare dello sviluppo della pianta, eccetto che nelle piante resistenti. Il DIMBOA ha effetti inibitori sull'alimentazione (antibiosi) (Tremblay, 1993).

Tra gli artropodi di maggiore importanza nel controllo naturale della piralide si ricordano *Trichogramma brassicae* Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae), conosciuto anche come *T. maidis* Pintureau & Voegelé, che parassitizza le uova, e *Lydella thompsoni* (Diptera: Tachinidae), che parassitizza le larve (Maini et al., 1988; Camerini et al., 2016; Camerini et al., 2018).



Tra i microorganismi, quelli con maggiore effetto sono il protozoo *Nosema pyrausta* (Protozoa: Nosematidae) (Lewis et al., 2009) e il fungo endofita del mais *Beauveria bassiana* (Wagner et al., 2000; Hajek et al., 2003).

Immissioni in campo di *T. brassicae*, attraverso i lanci inondativi di capsule contenenti uova di *Ephestia kuheniella* Zeller parassitizzate, controllano efficacemente le popolazioni di *O. nubilalis* sia in prima che in seconda generazione. I lanci di *T. brassicae* possono essere considerati sia inondativi che inoculativi, vista la capacità delle specie di allevamento di adattarsi alle condizioni di campo (Maini et al., 1983; Maini et al., 1988; Burgio et al., 1995).

#### 1.3.8.2. Mezzi agronomici

Dove la piralide compie due generazioni, la data di semina, se questa è primaverile, ha effetto sul controllo della piralide, non tanto sull'incidenza (numero di pannocchie attaccate) quanto sulla gravità (numero di semi attaccati): l'anticipazione della semina riduce sia la gravità dell'infestazione sia il contenuto di fumonisine. Anticipando la semina, le piante si trovano in uno stadio meno favorevole agli attacchi della seconda generazione della piralide. Ciò è dovuto sia all'anticipazione della fioritura, durante la quale i fiori emettono la PAA attrattiva per le femmine ovideponenti, che non coincide con il picco di sfarfallamento, sia alla maggiore durezza dei semi, meno appetibili per la nutrizione larvale (Blandino et al., 2008). Le varietà a ciclo lungo sono maggiormente esposte agli attacchi da entrambe le generazioni, specialmente se seminate presto e fornite di fertirrigazione. Le varietà a ciclo breve, seminate in anticipo, sono suscettibili solamente alla prima generazione (Showers et al., 1989).

Le colture a semina estiva, rispetto a quelle a semina primaverile, presentano minori attacchi alle spighe dalle larve di seconda generazione. Su mais seminato tardi gli attacchi della seconda generazione sono analoghi a quelli della prima generazione su mais seminato precocemente (Landi et al., 1981).

La densità di semina influisce sul numero di larve per pianta, minore per le alte densità. Ciò è dovuto, però, alla differenza del numero di larve nei culmi e, in minor misura, per peduncolo; il numero di larve per spiga, invece, non è significativamente influenzato dalla densità. A densità maggiori di semina si registra un maggior numero di larve per metro quadrato. Anche la varietà di mais influisce sulla consistenza degli attacchi, con le varietà a granella dentata più sensibili rispetto a quelle a granella semivitea (Landi et al., 1981).

#### 1.3.8.3. Mezzi chimici

Il metodo più utilizzato per il controllo dei fitofagi è l'utilizzo di insetticidi di origine sintetica. I principali problemi dell'uso di questi pesticidi sono i residui tossici, la resistenza parassitaria, i parassiti secondari e il ripresentarsi del parassita (Ehi-Eromosele et al., 2013).

In Italia i piretroidi sono i principi attivi più utilizzati durante la seconda generazione della piralide (Blandino *et al.*, 2010). I piretroidi sono insetticidi di origine sintetica derivati dalle piretrine che agiscono per contatto e ingestione. Queste sono estratte dal piretro, la polvere delle infiorescenze secche di alcune piante appartenenti al genere *Chrysanthemum*. Il piretro è una miscela di sei esteri di acidi carbossilici legati ad alcol aromatici. Gli acidi possono essere acido crisantemico (piretrine tipo I) o piretrico (piretrine tipo II); i sei esteri sono piretrina I e II, cinerina I e II, jasmolina I e II (Figura ). Le piretrine hanno il problema di essere velocemente fotodegradate e di avere un effetto paralisi (*knockdown*) di breve durata; i piretroidi di sintesi non presentano questi problemi (Schleier III et al., 2011).

I piretroidi sono classificati in base alla struttura e all'effetto insetticida. I piretroidi I non hanno il gruppo alfa-ciano legato al fenossibenzeno ed hanno un effetto letale; i piretroidi II possiedono il gruppo alfa-ciano legato al fenossibenzeno ed hanno un effetto paralisi. I piretroidi penetrano all'interno del corpo via cutanea, respiratoria, per ingestione o attraverso gli organi sensoriali, e agiscono a livello del sistema nervoso centrale (CNS), causando ipereccitazione nel bersaglio. L'azione neurotossica principale è dovuta all'interferenza nei confronti dei canali sodio/potassio voltaggio-dipendenti: i piretroidi mantengono aperti i canali, anche dopo che questi hanno raggiunto il picco del potenziale d'azione per la depolarizzazione della membrana a seguito dell'entrata di ioni  $\text{Na}^+$  dovuta alla ricezione di uno stimolo. L'effetto è un prolungamento del picco, causando una sovraeccitazione che si traduce in effetti differenti a seconda del tipo di piretroide. I piretroidi II hanno un effetto tossico dovuto alla depolarizzazione più potente dei piretroidi I. Oltre ai canali sodio/potassio voltaggio-dipendenti, i piretroidi agiscono anche sui canali del calcio voltaggio-sensibili, sui recettori dell'acido gamma-aminobutirrico (GABA), sui canali attivati dal GABA e sui canali del cloro voltaggio-sensibili. A seconda del tipo di piretroide, si hanno diverse sindromi da intossicazione: i piretroidi I causano la sindrome T, tremori in tutto il corpo e collasso, oltre all'innalzamento della temperatura corporea dovuta all'eccesso di eccitazione muscolare; i piretroidi II causano la sindrome CS, coreoatetosi e salivazione a cui segue un attacco cronico terminale, e abbassamento della temperatura corporea dovuto all'eccesso di salivazione e sudorazione. In alcuni piretroidi è stata osservata la sindrome TS, tremori e salivazione (Schleier III et al., 2011).

Le piretrine e i piretroidi agiscono molto velocemente sul bersaglio, causando mancanza di coordinazione e paralisi (effetto *knockdown*), tremori e spasmi violenti che possono causare la perdita di zampe o ali negli insetti (Schleier III et al., 2011).

Gli aspetti positivi delle piretrine e dei piretroidi sono l'alta lipofilia, una breve emivita nell'ambiente (*half-life*), la capacità di essere chelati da piccole particelle del suolo o sospese in acqua, la bassa tossicità nei confronti dei vertebrati e l'assenza di biomagnificazione (Schleier III et al., 2011); d'altro canto, però, piretrine e piretroidi non sono selettivi sugli artropodi, agendo anche sugli insetti non-target (Musser et al., 2003), e sono estremamente tossici per gli organismi acquatici (Schleier III et al., 2011).

Il controllo della piralide con i piretroidi riduce sia l'incidenza sia la gravità degli attacchi larvali, e riduce l'incidenza e la gravità degli attacchi da *Fusarium* e la contaminazione da fumonisine. Senza dimenticare gli accorgimenti tecnici al momento dell'applicazione (volume d'acqua, velocità di avanzamento, dosi d'impiego), la definizione del periodo più opportuno di intervento risulta essere l'aspetto più critico, per la limitata capacità oraria delle irroratrici e per il breve periodo utile per colpire le larve prima della loro penetrazione della pianta. Il periodo utile va dalla fine della fioritura al picco di catture degli adulti; l'applicazione durante l'aumento delle catture degli adulti è quello che ha maggiore effetto sul controllo larvale e fungineo. (Blandino *et al.*, 2008; Blandino *et al.*, 2010).

Nel 2012, in Francia, è stato osservato il primo caso di resistenza della piralide ai piretroidi (*lambda-cyhalothrin*) (Siegwart et al., 2012), dovuta ad una pressione selettiva a seguito dell'utilizzo intenso di questo gruppo di insetticidi per molto tempo, che ha portato a selezionare le popolazioni che mostrano una mutazione *kdr* (*knockdown-resistance*) nel gene dei canali del sodio (Siegwart et al., 2017).

Spinosad è una miscela di composti macrolidi tetraciclici, spinosina A e D, prodotti dall'attinomiceto *Saccharopolyspora spinosa* Mertz and Yao. Spinosina A è il composto più attivo, paragonabile ad alcuni piretroidi nell'efficacia contro i lepidotteri (Sparks et al., 1998). Spinosad agisce sul sistema nervoso bloccando i recettori nicotinici per l'acetilcolina (Ghosal, 2018), e causa contrazioni involontarie e tremori dovute all'eccitamento dei neuroni del CNS. L'esposizione prolungata causa paralisi dovuta all'affaticamento muscolare (Salgado, 1997). È translaminare e riesce a controllare anche i fitofagi che penetrano nel vegetale. È un insetticida con azione ovolarvicida.

L'uso di Spinosad agisce nel controllo di *O. nubilalis* e di altri lepidotteri parassiti del mais, mentre non va a diminuire le popolazioni coccinellidi o afidi (Musser et al., 2003); agisce invece contro le popolazioni di dermatteri (Cisneros *et al.*, 2002).

L'indoxacarb, insetticida appartenente alla classe delle oxadiazine, una volta attivato dal metabolismo dell'insetto ha un effetto neurotossico. Agisce bloccando i canali del sodio, causando paralisi, che comporta una rapida ed irreversibile interruzione della nutrizione (Wing et al., 2000). Agisce prevalentemente per ingestione e contatto sulle larve (su alcune specie possiede anche attività ovicida). Con riferimento al monitoraggio dei voli, i trattamenti si effettuano alla schiusura delle uova e prima della penetrazione delle larve. Oltre ad agire sui lepidotteri, agisce anche sulle popolazioni di afidi e di coccinellidi, riducendo la predazione delle uova di *O. nubilalis* (Musser et al., 2003).

Gli insetticidi appartenenti alla classe delle antranilic diammidi non hanno effetto neurotossico, ma vanno ad attivare selettivamente i recettori rianodinici RyRs (Gruppo 28 degli insetticidi: modulatore dei recettori rianodinici) presenti nelle fibre muscolari degli insetti, causando il rilascio incontrollato nel citosol degli ioni calcio, fino all'esaurimento delle scorte. Ciò provoca l'arresto immediato delle contrazioni, con sintomi di atassia, paralisi e morte. Il chlorantranilprole appartiene alla classe delle antranilic diammidi, ed è un insetticida specifico per i lepidotteri. Ha sia effetto larvicida che ovo-larvicida (Muccinelli, 2011). Il chlorantranilprole, applicato sulla coltura di fagiolino, espleta un maggiore controllo della piralide rispetto ai piretroidi (bifenthrin), dovuto alla sua attività sistemica e alla maggiore persistenza dei residui attivi (Schimdt-Jeffris, 2017).

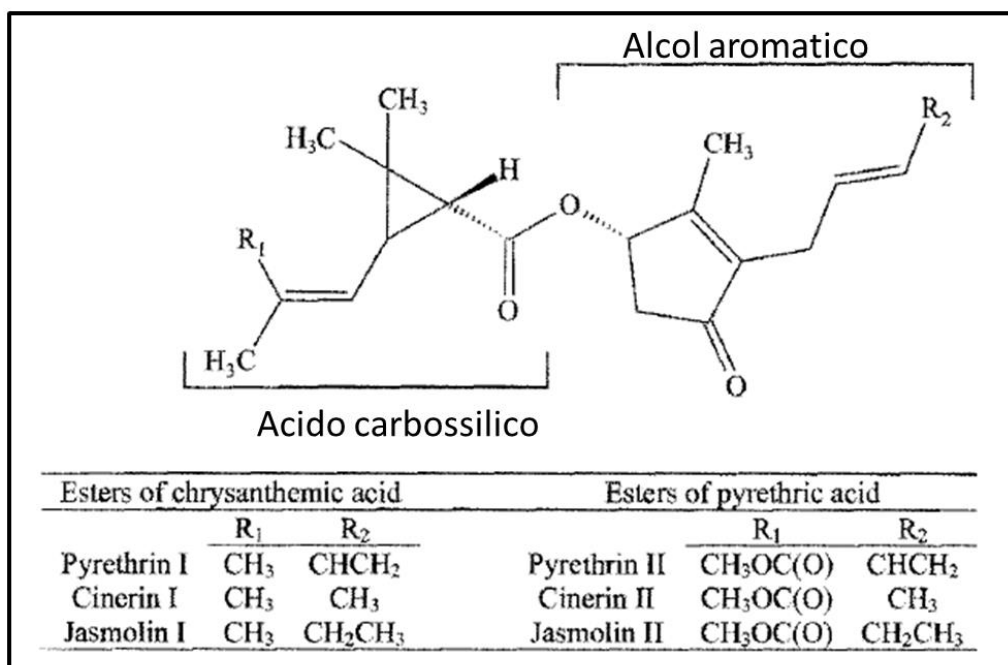


Figura 10: Struttura delle sei piretrine dell'estratto di piretro. Immagine modificata da Schleier III et al., 2011.

#### 1.3.8.4. Bacillus thuringiensis

Il *Bacillus thuringiensis* Berliner è un batterio appartenente alla famiglia *Bacillaceae*, a forma di bastoncino, che si moltiplica per scissione semplice. È un batterio aerobio, sporigeno, Grammi positivo. Ad oggi sono state individuate più di 80 sottospecie (Muccinelli, 2011).

Nella fase di sporulazione, *B. thuringiensis* produce dei corpi cristallini contenenti le paraspore e una o più proteine cristalline con proprietà insetticida (ICP, *insecticidal crystal proteins*), o delta-endotossine: proteine “cristallo” (Cry, *crystal*) o “citolitiche” (Cyt, *cytolytic*). L’attività biocida risiede in queste proteine, specifiche contro alcuni gruppi di invertebrati. La maggior parte delle delta-endotossine vengono codificate dai geni *cry* (Prieto-Samsonov et al., 1997). Oltre alle endotossine prodotte durante la fase di sporulazione, *B. thuringiensis* produce anche delle endotossine durante la fase vegetativa (Vip, *vegetative insecticidal proteins*) (Castagnola et al., 2012).

La sottospecie *kurstaki*, o *Btk*, sierotipo 3a e 3b, risulta efficace contro le larve di lepidotteri, mentre non ha effetti sulle uova e sugli adulti. Agisce per ingestione e non penetra nei tessuti vegetali. I cristalli proteici (protossine) manifestano l’attività insetticida solo dopo essere stati ingeriti dalle larve. Dopo l’ingestione delle spore e dei cristalli proteici da parte delle larve dei lepidotteri sensibili, le protossine vengono solubilizzate nell’ambiente basico dell’intestino e trasformate dalle proteasi in delta-endotossina, una sostanza estremamente tossica. Questa si lega a specifici recettori delle cellule epiteliali dell’intestino, con formazioni di piccoli pori: queste cellule perdono la loro funzionalità, si rigonfiano e subiscono lisi, a cui segue la paralisi della muscolatura intestinale e boccale, per cui le larve smettono di nutrirsi. Con la dissoluzione della parete intestinale si favorisce la germinazione delle spore che invadono l’emocele, provocando un’infezione setticemica a cui segue la morte dell’insetto (Muccinelli, 2011).

*Btk* comprende diversi ceppi, quali HD 1, EG 2348, PB 54, SA 11, SA 12, che vengono utilizzati nella lotta alle larve di lepidotteri parassiti (Muccinelli, 2011).

L’utilizzo di preparati a base di *Btk*, comunque, sembrano avere un’efficacia inferiore agli altri insetticidi nei confronti della piralide (Clark et al., 2000; Musser et al., 2003; Mazurek et al., 2005).

#### 1.3.8.5. Piante geneticamente modificate

Lo studio dei singoli geni *cry* e *vip* e il loro trasferimento nel genoma delle piante ha fornito, invece, un potente strumento nella difesa delle colture dagli insetti parassiti, creando varietà di piante *Bt* resistenti a diversi fitofagi (Prieto-Samsonov et al., 1997; Castagnola et al., 2012).

Attualmente più di 480 geni per la codifica di tossine sono stati identificati.

La produzione e la commercializzazione di colture transgeniche di mais *Bt* per il controllo della piralide sono stati uno dei primi successi per le colture transgeniche. Le larve di *O. nubilalis* sono altamente sensibili all'endotossina Cry1Ab, ed il gene di questa è stato il primo selezionato per produrre varietà di mais *Bt*; successivamente sono stati utilizzati anche i geni tossici *cryIFa* e *cry9C* per il controllo di *O. nubilalis* e *Spodoptera* spp. Attualmente sono in commercio varietà di mais transgeniche che mostrano resistenza sia per i lepidotteri che per i coleotteri, grazie alla presenza di più geni tossici nel genoma (Tabella 1) o all'integrazione di altre biotecnologie, come gli RNAi (*RNA interference*) o gli inibitori delle proteasi (Castagnola *et al.*, 2012).

L'efficacia delle varietà di mais *Bt* contro l'infestazione da piralide è stata dimostrata da diversi studi. L'uso di varietà transgeniche è risultato il miglior metodo di controllo contro le larve di *O. nubilalis*, a discapito dei trattamenti chimici o biologici (Clark *et al.*, 2000; Musser *et al.*, 2003). Negli Stati Uniti, dove le superfici coltivate con mais *Bt* rappresentano oltre il 60% di tutta la superficie coltivata a mais, l'uso di queste varietà transgeniche ha portato alla soppressione di *O. nubilalis* nell'area della *corn belt*. Per evitare l'insorgenza di resistenza è importante mantenere una parte della superficie coltivata a mais non-*Bt* come rifugio per gli insetti suscettibili (Hutchison *et al.*, 2010). Inoltre l'utilizzo di varietà *Bt* è utile anche per il controllo delle fumonisine (Folcher *et al.*, 2010).

Le coltivazioni *Bt* non sembrano avere effetti negativi contro gli insetti predatori (Lovei *et al.*, 2009).

Event(s)	Trade name(s)	Toxin(s)	M <sup>a</sup>	Targeted pest(s) <sup>b</sup>
<i>Syngenta Maize</i>				
Bt11	Agrisure CB/LL, Agrisure GT/ CB/LL	Cry1Ab	D	ECB
MIR604	Agrisure RW, Agrisure RW/ GT	Cry3Aa	A	WCR
Bt11, MIR604	Agrisure 3000GT, Agrisure CB/ LL/RW	Cry1Ab, Cry3Aa	D, A	ECB, WCR
Bt 11, MIR162	Agrisure Viptera 3110	Cry1Ab, Vip3Aa20	D, A	ECB, FAW, CEW, BCW, WBC
Bt11, MIR604, MIR162	Agrisure Viptera 3111	Cry1Ab, Cry3Aa Vip3Aa20	D, A, A	ECB, WCR, FAW, CEW, BCW, WBC,
<i>Monsanto Maize</i>				
MON810	YieldGard Corn Borer	Cry1Ab	B	ECB
MON863	YieldGard RW	Cry3Bb1	B	CRW
MON810, MON863	YieldGard VT Triple, Yield- Gard Plus	Cry1Ab, Cry3Bb1	B, B	CRW, ECB
MON89034	Genuity VT Double PRO	Cry1A.105/ Cry2Ab2	A	CEW, ECB, FAW
MON89034, MON88017	Genuity VT Triple PRO	Cry1A.105/ Cry2Ab2, Cry3Bb1	A, A	CEW, CRW, ECB, FAW
MON89034, TC1507, MON88017, DAS-59122-7	Genuity SmartStax	Cry1A.105/ Cry2Ab2, Cry1Fa2, Cry3Bb1, Cry34/35Ab1	A, B, B, A	BCW, CEW, CRW, ECB, FAW, WBC, SCB, SWCB, SCSB, CEW, SCB, WBC, WCR
<i>Pioneer (DuPont) and Dow Agrosciences Maize</i>				
DAS-06275-8		Cry1F	A	BCW, ECB, FAW, WBC, SWCB, CEW
TC1507	Herculex I	Cry1F	B	BCW, ECB, FAW, WBC, SWCB, CEW
MON810, TC1507, MON810	Optimum Intrasect	Cry1Ab Cry1F, Cry1Ab	B B, B	ECB ECB, WBC, BCW, FAW
DAS-59122-7	Herculex RW, Optimum AcreMax RW	Cry34/35Ab1	A	WCR
DAS-59122-7, TC1507	Optimum AcreMax 1, Herculex Xtra	Cry34/35Ab1, Cry1F	A, B	WCR, BEC, ECB, FAW, WBC

Tabella 1: Varietà in commercio e progettate di mais transgenico per il controllo della piralide del mais. Tabella modificata da Castagnola *et al.*, 2012.

<sup>a</sup> Metodo di inserzione transgenica: D-trasferimento diretto di DNA; B-biolistica; A-trasformazione agromediata.

<sup>b</sup> Varietà di mais Bt in commercio. ECB-*Ostrinia nubilalis*; WCR-*Diabrotica virgifera*; FAW-*Spodoptera frugiperda*; CEW-*Helicoverpa zea*; BCW-*Agrotis ipsilon*; WBC-*Richia albicosta*; BEC-*Loxagrotis albicosta*; SCB-*Diatraea saccharalis*; SWCB-*Diatraea grandiosella*; SCSB-*Diatraea crambidoides*; SPB-*Earias vittella*.

#### **1.4. *Sesamia nonagrioides* Lefébvre (Lepidoptera: Noctuidae)**

All'interno del genere *Sesamia* sono iscritte circa 50 specie distribuite in tutte le zone calde di Europa, Africa, Asia, soprattutto quelle tropicali. Riguardo al sottogenere *Sesamiina*, in Europa è presente solamente la specie *Sesamia nonagrioides* Lefébvre (Lepidoptera, Noctuidae) (Figura 14), eccetto per una sporadica presenza di *Sesamia cretica* Lederer (Riolo *et al.*, 2001; Moyal *et al.*, 2011). Nella regione mediterranea, *S. nonagrioides*, assieme *O. nubilalis*, è il minatore del mais che arreca maggiori danni alle colture (Fantinou *et al.*, 2005; Andreadis *et al.*, 2013).

##### **1.4.1. *Morfologia***

Lo sviluppo di *S. nonagrioides* attraversa 4 stadi: uovo, larva, pupa e adulto (Maiorano *et al.*, 2012).

Uova: le uova sono di colore biancastro e solcate alla deposizione, successivamente diventano rosa cremee. Sono deposte in ooplacche di qualche decina di elementi al di sotto della guaina fogliare. Le uova di *S. nonagrioides* sono differenziabili da quelle di *S. cretica* solamente al microscopio elettronico (Tremblay, 1993). Il tempo di schiusa delle uova dipende dalla temperatura esterna, e varia da circa 30 giorni a 14°C a 8,5 giorni a 25°C. La temperatura limite minima per lo sviluppo dell'uovo è di circa 9,5°C; temperature sopra i 31°C sono da considerarsi critiche per tutte le fasi dell'insetto (Andreadis *et al.*, 2013).

Larva: le larve mature misurano 3-4 cm, di colore variabile dal giallastro al brunastro (Figura 11). Sono molto simili alle larve di *S. cretica*, dalla quale differiscono per il colore, bianco rosato con capo e scuto pronotale giallo rossastri in *S. cretica*, mentre in *S. nonagrioides* è solitamente presente una sfumatura dorsale rugginosa e il caposcuto pronotale è rossiccio brunastro. Un altro carattere morfologico molto importante per il riconoscimento delle due specie è la disposizione delle setole al 9° urotergo: quattro setole in fila per lato in *S. nonagrioides*; tre setole in fila più una spostata in avanti per lato in *S. cretica* (Tremblay, 1993). Lo stadio di larva attraversa cinque o sei età (Eizaguirre *et al.*, 1994; Fantinou *et al.*, 2005). Le temperature massime e minime cambiano a seconda dell'età larvale: le larve di prima e seconda età hanno la soglia minima di 7°C e massima di 36°C; le larve di ultima età hanno la soglia minima a circa 10°C e massima a circa 32°C. La temperatura influenza anche il tempo di sviluppo larvale, che diminuisce all'aumentare della temperatura nella soglia compresa tra i 14°C e i 25°C (Andreadis *et al.*, 2013).

Crisalide: la crisalide misura circa 2 cm, subcilindrica, di colore bruno-castano (Figura 11). Presenta un cremaster formato da quattro denti robusti, due in posizione ventrale e due in



posizione dorsale, questi ultimi più piccoli. Simile alla crisalide di *S. cretica*, ma quella di quest'ultima ha il cremaster formato da spinette, in numero di due ventrali, più lunghe, e 2-4 dorsali più piccole; inoltre lo stigma toracico è ricoperto da un opercolo sclerotizzato, che in *S. nonagrioides* non è completo (Tremblay, 1993). Il limite inferiore di temperatura per lo sviluppo è di circa 10°C, quello massimo di circa 34°C, mentre la temperatura ottimale per il più rapido sviluppo è stimata a 28°C circa. I tempi di sviluppo diminuiscono all'aumentare della temperatura, dagli oltre 36 giorni a 14°C ai circa 12 giorni nell'intervallo compreso tra 25°C e 31°C (Andreadis *et al.*, 2013).

Adulto: gli adulti presentano le ali anteriori di colore grigio-giallastro, tendente all'ocra, con deboli puntini in serie marginale ricurva. Le ali posteriori sono bianche, senza imbrunimenti nervali (Figura 12). L'apertura alare è di 3-4cm (Tremblay, 1993). Fra i maschi e le femmine di *S. nonagrioides* ci sono differenza a livello delle antenne: le antenne delle femmine sono filiformi, mentre le antenne dei maschi sono bipennate (Figura 13) (Cruz *et al.*, 2016). Molto simili agli adulti di *S. cretica*, che presentano però il colore delle ali anteriori più tendente al giallo-rosato e sono quasi sempre sprovviste della punteggiatura marginale; inoltre le antenne non sono bipennate, ma presentano solamente 4 ciuffetti di setole per articolo (Tremblay, 1993). La temperatura influisce sulla longevità degli adulti, che diminuisce all'aumentare della temperatura: a 14°C è di circa 17 giorni, arrivando ad essere di circa 6 giorni a 21°C, assestandosi poi su questa durata anche per temperature superiori (Andreadis *et al.*, 2013).

Le femmine di *S. nonagrioides* presentano un sistema ghiandolare per la produzione sessuale inusuale, costituito da 2 differenti regioni comprese tra l'ottavo e l'ultimo (nono più decimo) urite, una in posizione ventrale, attorno all'ostium bursae, di forma circolare, mentre l'altra nelle membrane intersegmentali dell'ovopositore di sostituzione (Sreng *et al.*, 1988).



Figura 11. A sinistra: larva di *Sesamia nonagrioides* con relativi danni allo stocco dovuti all'attività minatoria. A destra: crisalidi di *Sesamia nonagrioides* a diversi stadi di sviluppo (Foto Diego Palpacelli).



Figura 12: Adulto di *Sesamia nonagrioides*. Fonte [www.lepiforum.de](http://www.lepiforum.de)

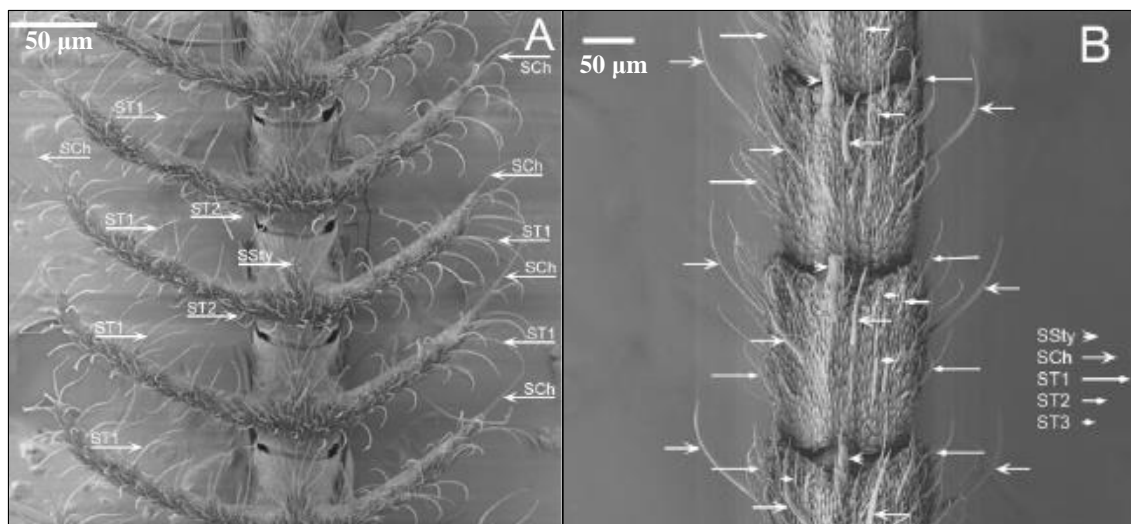


Figura 13: Foto al microscopio elettronico delle antenne di *Sesamia nonagrioides*. A sinistra: porzione intermedia dell'antenna bipennata del maschio. A destra: flagellomeri dell'antenna filiforme della femmine. SSty: sensillo stiloconico; Sch: sensillo chaetico; ST1: sensillo tricodeo tipo 1; ST2: sensillo tricodeo tipo 2; ST3: sensillo tricodeo tipo 3. Fonte Cruz *et al.*, 2016.

#### 1.4.2. Ciclo biologico

*Sesamia nonagrioides* sverna come larva matura in diapausa facoltativa (oligopausa) (Tremblay, 1993). La specie è polivoltina, compiendo nel Nord della penisola iberica 2 generazioni complete e una parziale terza (Eizaguirre *et al.*, 1994). In Grecia le generazioni sono 4, anche se la quarta è parziale (Tsitsipis, 1990); qui le larve entrano in diapausa ad agosto per terminarla a gennaio, a cui segue una fase di postdiapausa, probabilmente per salvaguardare le larve da eventuali ritorni di freddo, prima della comparsa delle crisalidi, da marzo a maggio (Fantinou *et al.*, 1998). Durante la diapausa le larve compiono altre mute, raggiungendo anche 13 età (Fantinou *et al.*, 1996). In laboratorio l'induzione della diapausa, la sua durata, la terminazione e la sopravvivenza delle larve sono risultate fortemente correlate al fotoperiodo. La diapausa è risultata facoltativa di tipo III (*short-long day type*) (Fantinou *et al.*, 1995; Fantinou *et al.*, 1996; Fantinou *et al.*, 1998). Anche la temperatura e il termoperiodo influenzano l'incidenza della diapausa, e i tempi di questa, ma non in modo cruciale come il fotoperiodo (Fantinou *et al.*, 2002).

Gli adulti sono sessualmente maturi appena sfarfallati. In Sardegna e Sicilia gli adulti compaiono già a marzo, mentre a aprile-maggio per le regioni più a nord (Tremblay, 1993). L'attività di accoppiamento è notturna, e l'emissione del feromone sessuale da parte della femmina inizia nelle prime due ore della scotofase. Nella fase di accoppiamento le femmine sono poco mobili, limitandosi all'emissione della miscela feromonica e all'accettazione o al

rifiuto del maschio. La risposta comportamentale del maschio allo stimolo feromonico è simile a quella di altri lepidotteri, e lo guida nelle vicinanze della femmina (Lopez et al., 2003).

Un periodo di pre-ovideposizione di 1-2,6 giorni segue l'accoppiamento, a seconda della pianta ospite su cui avverrà l'ovideposizione: nel caso del mais il periodo è massimo, e raggiunge 2,6 giorni. Il 90% delle uova viene comunque deposto entro il terzo giorno dall'accoppiamento e quasi tutte le femmine muoiono entro il quarto giorno (Dimotsiou et al., 2014). Non tutta la letteratura è in accordo sul periodo di pre-ovideposizione, come osservato in popolazioni spagnole di *S. nonagrioides* (Lopez et al., 2003).

Le femmine gravide iniziano l'attività della ricerca dell'ospite per l'ovideposizione dopo l'inizio della scotofase. L'attività sussiste dei momenti di ricerca, orientamento e contatto.

Dopo aver recepito i composti volatili emessi dalla pianta ospite, la prima parte della ricerca avviene con movimenti a random, poi con un volo a zig-zag orientato nella direzione della fonte emittente. L'atterraggio avviene sulla pagina superiore delle foglie, dopodiché procede, camminando, verso la parte bassa del fusto, tastando la superficie della pianta con le antenne, i tarsi e l'ovopositore. Raggiunta la parte bassa della pianta inizia a circondare lo stelo, tastando la superficie con le antenne e l'ovopositore alla ricerca del punto dove ovideporre. L'ovopositore viene inserito sotto la guaina fogliare, dove vengono deposte le uova (Cruz et al., 2016). Ogni femmina può arrivare a deporre diverse centinaia di uova nell'arco della vita (Dimotsiou et al., 2014). I composti volatili emessi dalle piante svolgono un ruolo fondamentale nell'orientamento della femmina verso l'ospite (Konstantopoulou et al., 2002).

Le uova deposte durante la primavera si schiudono in 10-14 giorni e le larve vivono solamente la prima età nella parte più esterna della pianta, poi si approfondiscono nel culmo; qui possono vivere gregarie o separarsi. Le prime crisalidi compaiono a fine giugno-luglio e dallo sfarfallamento si hanno gli adulti del secondo volo, che avviene a fine luglio-agosto. Le femmine del secondo volo ovidepongono su fiori e spighe. Nelle regioni centro-settentrionali può presentarsi un terzo volo parziale, mentre nelle regioni meridionali si può arrivare a 4 voli. Da queste uova nascono le larve svernanti e gli adulti del primo volo della stagione successiva (Tremblay, 1993). Le larve dell'ultima generazione si spostano verso la base del culmo, dove scavano una cella per svernare (Albajes et al., 2002).

Fra una generazione e la successiva la densità di popolazione, in assenza di controllo, può aumentare da 10 a 25 volte (Albajes et al., 2002).

La densità larvale va ad influire sui tempi di sviluppo delle larve e sul peso delle crisalidi: densità maggiori aumentano il tempo necessario allo sviluppo e diminuiscono il peso finale. Le

femmine sono più soggette a questi effetti, e diminuisce anche la loro fecondità all'aumentare della densità larvale. La sex ratio, comunque, non viene modificata (Fantinou et al., 2008).

#### **1.4.3. Distribuzione delle popolazioni di *Sesamia nonagrioides***

La specie *S. nonagrioides* è costituita da tre differenti popolazioni: due popolazioni africane, subsahariane, e una popolazione paleartica, distribuita nel bacino del Mediterraneo. L'origine della specie è subsahariana, e la popolazione paleartica (Spagna, Francia, Italia, Grecia, Turchia, Iran) sembra essere l'ibrido delle due popolazioni subsahariane. Si ipotizza che queste due popolazioni si sono incrociate in Nord Africa prima della migrazione, avvenuta probabilmente durante l'Eemiano, circa 110.000 anni fa, durante la fase interglaciale, attraverso lo stretto di Gibilterra. La successiva glaciazione avrebbe favorito il differenziamento della popolazione paleartica in tre sottopopolazioni derivanti dai superstiti rifugiati nel sud della penisola iberica, di quella italiana e in Grecia: orientale (Spagna, Francia), centrale (Italia, Grecia, Turchia) e occidentale (Grecia, Turchia, Iran). Il ruolo delle Alpi come barriera geografica sembra essere stato cruciale in questa separazione (Moyal et al., 2011).

Il deserto del Sahara è probabilmente il limite fra le popolazioni con ciclo biologico con diapausa, al nord, e quelle con ciclo biologico continuo, senza diapausa, al sud. L'entrata in diapausa per le popolazioni paleartiche avviene all'incirca alla metà di agosto, per effetto del fotoperiodo e del termoperiodo, anche se in particolari situazioni può avvenire che la diapausa non inizi fino ad ottobre. Il numero di generazioni dipende dalla comparsa del primo volo, che non dipende dal tempo di uscita dalla diapausa, che in natura avviene spontaneamente dopo circa quattro mesi dall'entrata (Fantinou et al., 1998), ma dalle temperature che influiscono sui tempi di quiescenza e di sviluppo fino all'adulto (Eizaguirre et al., 2012; Andreadis et al., 2013).

Nella regione Marche è stata accertata la presenza di *S. cretica* e *S. nonagrioides*: entrambe sono state rinvenute su piante di *Arecaceae* (Riolo et al., 2007), mentre solamente *S. cretica* è stata rinvenuta su mais (Riolo et al., 2001).

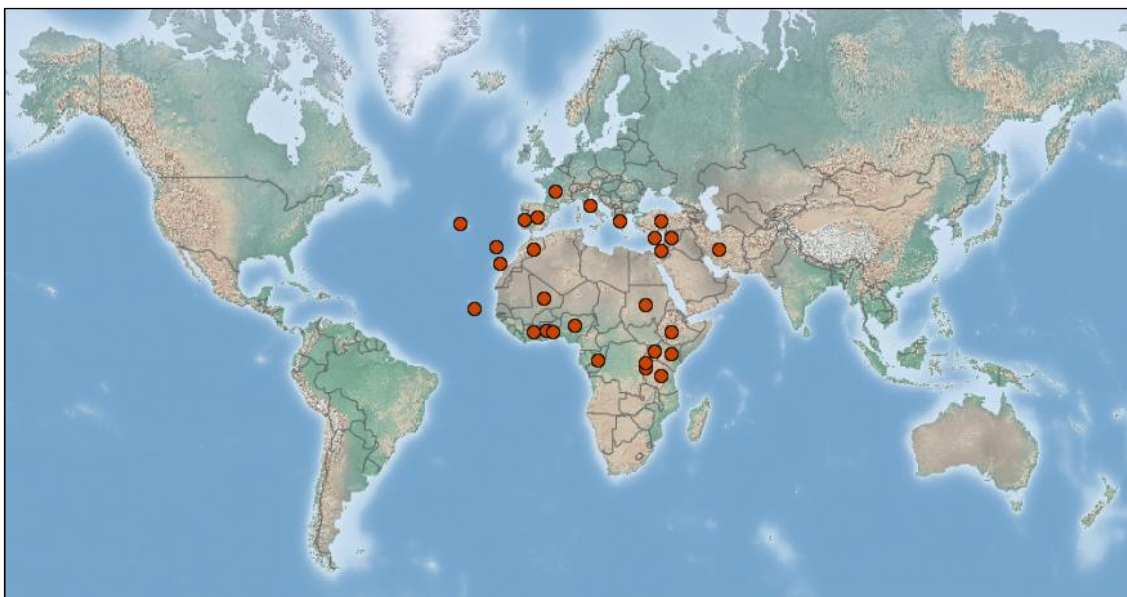


Figura 14: Distribuzione mondiale di *Sesamia nonagrioides*. Fonte CABI, 2019.

#### 1.4.4. *Feromone sessuale*

I componenti principali della miscela feromonica prodotta dalle femmine vergini di *S. nonagrioides* sono lo (Z)-11-esadecenilacetato (Z11-16:Ac), lo (Z)-11-esadecenolo (Z11-16:OH) e l'esadecilacetato (16:Ac). Questi componenti sono sempre presenti, anche se le proporzioni possono essere leggermente variabili a seconda della popolazione considerata. Inoltre possono essere presenti, in alcune popolazioni, dei composti minori, quali lo Z-11-esadecenale (Z11-16:Ald), il dodecenilacetato (12:Ac) e il tetradecenilacetato (14:Ac). Il 12:Ac, 14:Ac e 16:Ac non sono attrattivi nei confronti dei maschi; i tre componenti maggiori sono invece indispensabili per la massima risposta da parte dei maschi. Sia in condizioni di laboratorio che in condizioni di campo si riporta la miscela Z11-16:Ac/Z11-16:OH/Z11:16Ald/12:Ac nelle proporzioni 77:8:10:5 come la più attrattiva, anche se i maschi possono rispondere ad un più ampio spettro delle miscele rispetto a quanto possa essere prodotto dalla femmina di una certa popolazione, e altre specie di noctuidi possono essere attirati dalle stesse miscele feromoniche (Sans *et al.*, 1997; Krokos *et al.*, 2002).

Il substrato di partenza per la biosintesi del Z11-16:Ac è l'acido palmitico (16Acid), che passa attraverso le reazioni di  $\Delta^{11}$ -desaturazione, riduzione ed acetilazione; per la sintesi del Z11-16:Ald si è proposta la riduzione dall'intermedio Z11-16Acid. Il processo è sotto il controllo della PBANs (Mas *et al.*, 2000) ed è comune a molte specie di lepidotteri notturni (Cardé *et al.*, 2004).

Dallo studio del DNA sono state selezionate 13 sequenze che codificano per possibili ORs, chiamate *SnonORs*; fra queste è stata identificata *SnonOrco* e quattro sequenze in cluster,

possibili *SnonORs* (OR6, OR14, OR15 and OR16) specifici per i composti Z11-16:Ac, Z11-16:OH, Z11-16:Ald, 12:Ac (Glaser et al., 2013).

#### **1.4.5. Piante ospiti**

*Sesamia nonagrioides* è una specie polifaga, che predilige le graminacee come mais, sorgo, frumento, riso, orzo, avena miglio e canna da zucchero (Tremblay, 1993). È stata rinvenuta anche su melone (Sannino et al., 2004), asparago (Tarasco, 2001), banano (Uygun et al., 1993), e palma (Riolo et al., 2007) (Spigno et al., 2008).

Mettendo a confronto il mais e tre specie differenti di sorgo, in condizioni di laboratorio, la scelta della pianta ospite da parte delle femmine gravide è stata comunque preferenziale nei confronti del mais, dove sono state deposte anche più uova. Comunque l'ovideposizione è avvenuta su tutte le piante, ad indicare che *S. nonagrioides* ha la possibilità di ovideporre sia sull'ospite primario, il mais, che sugli ospiti secondari, in questo caso il sorgo (Dimotsiou et al., 2014).

Anche di fronte a diverse cultivar di mais le femmine gravide fanno delle scelte preferenziali, probabilmente guidate dai diversi composti volatili emessi dalle piante o dalle diverse proporzioni di questi. I composti estratti con il pentano come solvente e quelli distillati a vapore (Tabella 1) sembrano essere attrattivi, mentre quelli estratti con il metanolo sembrano essere repellenti (Konstantopoulou et al., 2002).

Le aldeidi C9-C14 hanno un potere deterrente nei confronti dell'ovideposizione di *S. nonagrioides*. Probabilmente il potere deterrente di certe cultivar viene dall'alta presenza di questi composti fra i metaboliti secondari prodotti, mentre il pentadecanale (C15) sembra avere potere attrattivo per le femmine ovideponenti (Konstantopoulou et al., 2004).

Nell'ovopositore è stata rilevata un'intensa espressione di un IR specifico, codificato dal gene *SnonIR2*, assieme ai due co-recettori IR8a e IR25a, che potrebbe essere coinvolto nel processo di selezione della pianta ospite da parte delle femmine gravide (Glaser et al., 2013).

Compound	31B13	3211	3283W	33A14	33R87	ARIS	DIAS
<i>Acid</i>							
Octadecenoic acid	140.12	61.62	29.91	11.16	148.24	75.09	12.33
<i>Alcohol</i>							
(Z)-3-Hexenol	185.88	132.08	182.02	129.75	220.13	125.49	326.13
Nonadecanol	20.36	20.75	18.34	13.31	25.98	29.63	26.20
Hexadecanol tetramethyl	28.97	51.88	75.85	23.94	43.03	79.41	70.39
Phytol	890.51	2756.02	1048.63	1048.70	1730.12	2025.59	2241.35
Total	1125.72	2960.73	1324.84	1215.7	2019.26	2260.12	2664.07
<i>Aldehyde</i>							
Nonanal	211.42	212.31	378.87	299.50	168.58	369.70	199.55
Decanal	19.76	41.85	32.56	23.98	22.53	24.11	29.11
Tetradecanal	2.79	6.64	3.01	0.79	4.16	4.70	2.30
Pentadecanal	88.54	193.52	122.29	81.19	202.13	143.13	75.28
Heptadecanal	2.39	6.83	5.85	4.91	3.11	5.83	5.59
Total	324.9	461.15	542.58	410.37	400.51	547.47	311.83
<i>Alkane-alkene</i>							
Heneicosane	31.16	60.41	35.49	35.22	41.74	24.31	40.36
Neophytadiene	224.00	286.38	244.41	349.01	215.73	203.72	222.82
Neophytadiene (isomer)	9.56	35.63	11.54	24.49	17.56	25.87	28.37
Total	264.72	382.42	291.44	408.72	275.03	253.9	291.55
<i>Ester</i>							
(Z)-3-Hexenyl acetate	149.19	104.97	134.87	242.65	197.89	182.10	343.58
Hydroxyphenyl propenoate	29.74	20.32	0	50.59	24.64	4.69	10.56
Benzyl benzoate	0	10.06	0	0	0	1.41	0
Methyl eicosatrienoate	14.94	50.12	22.39	28.48	51.41	22.05	12.14
Total	193.87	185.47	157.26	321.72	273.94	210.25	366.28
<i>Terpenoid</i>							
Farnesal	6.84	8.40	70.02	7.76	14.15	65.42	19.89
Linalool	4.17	0	0	22.18	48.73	19.73	39.27
<i>trans</i> -Caryophyllene	1.84	0	0	3.53	0	2.57	0
Unknown I	20.27	14.11	11.88	22.69	15.07	18.20	17.68
Unknown II	4.47	3.62	2.96	3.94	6.35	0	0
$\beta$ -Ionone	3.51	5.93	6.12	4.73	5.69	12.70	12.89
$\delta$ -Cadinol	5.84	11.85	8.29	5.28	12.47	34.15	22.62
Unknown III	0	0	0	1.41	0	5.88	3.05
Hexahydrofarnesyl Acetone	19.71	22.16	18.16	21.13	44.69	27.57	25.16
Total	66.65	66.07	117.43	92.65	147.15	186.22	140.56
<i>Other</i>							
DIMBOA analogue	209.42	130.36	145.83	253.23	205.72	86.83	283.95

Tabella 2: Composti estratti per distillazione in corrente di vapore dalle foglie di mais in diversi ibridi. Fonte Konstantopoulou *et al.*, 2004.

#### 1.4.6. *Danni*

Gli attacchi precoci alle piante di mais ne determinano la morte. Se l'attacco interessa piante più sviluppate, vengono scavati i culmi e le infiorescenze maschili, causando essiccamenti parziali, rotture da vento e scarsa produzione. I danni maggiori sono comunque arrecati alle spighe:



queste possono essere attaccate sia esternamente che internamente, durante i vari stadi di sviluppo, con erosioni parziali e con la mancata formazione di granella (Tremblay, 1993).

È stata dimostrata anche la correlazione fra danni provocati alle piante di mais da *S. nonagrioides* e l'accumulo di fumonisine prodotte dalle specie *F. verticilloides* e *F. proliferatum*, con l'incidenza che raggiunge anche il 100% (Avantaggiato *et al.*, 2003).

#### **1.4.7. Monitoraggio**

In un programma di lotta integrata, il monitoraggio degli adulti di *S. nonagrioides* tramite l'utilizzo di trappole attivate con il feromone sessuale è necessario per determinare il momento ottimale in cui intervenire nel controllo del fitofago.

Il modello di trappola e il tipo di miscela feromonica, naturale o sintetica, influenzano l'efficacia del monitoraggio. Le trappole delta, cilindriche e funnel non sono efficienti per il monitoraggio (Mazomenos *et al.*, 1988). Mettendo a confronto le trappole universali per i lepidotteri notturni (UM, *Universal Moth Trap*) e le trappole messe a disposizione dall' SRPV (Service Régional de la Protection des Végétaux, Francia), attivate entrambe con la miscela feromonica Z11-16:Ac (77%), Z11-16:OH (8%), Z11-16:Ald (10%), 12:Ac (5%), la trappola UM si è rivelata non efficace nel monitoraggio del volo di *S. nonagrioides*, per le scarse catture, mentre l'efficacia è stata dimostrata per la trappola SRPV. L'efficacia della trappola SRPV, rispetto a quella UM, sembra dovuto al maggior spazio per l'atterraggio degli adulti della prima rispetto alla seconda. Confrontando poi la miscela feromonica sintetica con la miscela naturalmente prodotta dalle femmine, è stato rilevato che la seconda è più efficace nell'attrazione dei maschi. Comunque, con entrambe le miscele si hanno avuti gli stessi risultati sull'attività di volo del fitofago, seppur quella con la miscela sintetica ha dato fino a tre volte meno catture rispetto a quella naturale. La differenza nell'efficienza fra le due sarebbe imputabile alle differenti proporzioni della miscela emessa dal dispenser rispetto a quella emessa dalla femmina. Anche se meno efficace rispetto alla miscela naturale, però, la miscela sintetica applicata alla trappola SRPV è un efficace mezzo per il monitoraggio dell'andamento del volo di *S. nonagrioides* (Ameline *et al.*, 2001).

#### **1.4.8. Lotta integrata**

##### **1.4.8.1. Fattori abiotici e biotici di limitazione**

Le gelate invernali possono uccidere le larve (Tremblay, 1993). Le larve in diapausa, comunque, mettono in atto strategie che gli consentono di abbassare il punto di congelamento (*supercooling point*) fino a temperature di -9° C. La LT<sub>50</sub> (temperatura letale per il 50% degli

individui testati) delle larve di quinta età in diapausa è inferiore a -9.°C, per due ore. L'aumento di concentrazione di glicerolo è determinante per la resistenza a queste basse temperature. Il fatto che *S. nonagrioides* presenti una  $LT_{50}$  inferiore al punto di congelamento lo rende un organismo tollerante alle basse temperature (Andreadis *et al.*, 2011).

L'imenottero parassitoide *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) è un nemico naturale di *S. nonagrioides* di cui parassitizza le uova. In Grecia, dove è naturalmente presente, il parassitoide può svolgere un buon controllo del fitofago quando le condizioni climatiche sono favorevoli, arrivando a parassitizzare oltre il 70% delle ooplacche e più del 40% delle uova totali (Alexandris *et al.*, 1990). Il tentativo di introduzione della specie dalla Grecia in Italia nel 1991 è fallito (Laudonia *et al.*, 1991).

*Cotesia typhae* Fernandez-Triana nov. sp. è la quinta specie appartenente al supergruppo monofiletico *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae: Microgastrinae). Questi parassitoidi sono parassitoidi koinobionti delle larve di lepidotteri, cioè la larva ospite (vittima) continua il suo sviluppo per un certo periodo anche dopo essere stata parassitizzata. Inoltre, come tutte le specie appartenenti alla famiglia Braconidae, nel loro genoma presentano dei polydnavirus (PDVs) (Polydnaviridae), che sono degli elementi virali endogeni (EVEs). Nelle cellule del calice, una regione delle ovaie alla base degli ovidotti, avviene l'espressione di questi geni, attraverso l'escissione e l'impacchettamento di PDVs, dsDNA ciclici. Questi, durante l'ovideposizione, vengono trasmessi all'ospite, dove inibiscono la degradazione delle uova della vespa (Herniou *et al.*, 2013). *Cotesia typhae* presenta un alto grado di specializzazione nei confronti di *S. nonagrioides* su piante appartenenti alle famiglie Typhaceae e Cynodonteae (Kaiser *et al.*, 2015). Questa specializzazione da parte del lepidottero nei confronti della pianta ospite si osserva nella popolazione dell'Africa orientale, dove l'ospite principale è *Typha domigensis* (Typhaceae) (Moyal *et al.*, 2011). *Cotesia typhae* potrebbe essere utilizzata nel controllo biologico contro *S. nonagrioides*, visto il suo alto grado di specializzazione nei confronti dell'ospite che non andrebbe ad interferire con altre specie di lepidotteri non bersaglio (Kaiser *et al.*, 2015).

*Bacillus thuringensis* subsp. *Kurstaki* si è dimostrato efficace contro le larve di *S. nonagrioides*, portando a morte in 16 giorni oltre 90% delle larve testate con un trattamento di 0,5g di *B. thuringensis* in 100ml di acqua. Risultati simili si sono raggiunti con l'utilizzo dei funghi entomopatogeni *Metarhizium robertsii* e *Beauveria bassiana* con un trattamento di  $10^5$  conidi/ml. Si è dimostrato anche l'effetto sinergico in un trattamento combinato di *B. thuringensis* e *B. bassiana*, con la morte delle larve fino al 100% in circa 9 giorni. Il batterio agisce per primo, e le larve che sopravvivono sono più suscettibili al successivo attacco da parte

del batterio, che agisce sulle cellule dell'intestino, dove si lega ai recettori delle glicoproteine e distrugge le cellule dell'epitelio per lisi (Mantzoukas et al., 2013).

#### 1.4.8.2. Mezzi agronomici

L'utilizzo di mezzi agronomici, come l'uso di ibridi resistenti, concimazioni e irrigazioni razionali e la distruzione dei residui colturali è consigliato rispetto agli interventi chimici (Tremblay, 1993).

Con il D.M. 17 aprile 1998 "Abrogazione di lotte obbligatorie prive di motivazioni scientifiche e tecniche nell'ambito del Servizio fitosanitario nazionale", è stato abrogato il D.M. 6 dicembre 1950 "Lotta obbligatoria contro la piralide e la nottua del mais" che imponeva la distruzione dei residui vegetali entro il 15 aprile (MIPAF 1998).

#### 1.4.8.3. Mezzo chimici

L'utilizzo dei mezzi chimici contro le larve è sconsigliato, vista la natura endofitica delle larve, che nascono sotto la guaina fogliare e si portano subito all'interno del culmo (Albajes et al., 2002).

#### 1.4.8.4. Mezzi biotecnici

L'utilizzo della tecnica della confusione sessuale attraverso l'immissione nell'ambiente di elevate quantità di feromone sessuale di *S. nonagrioides* è risultata efficace nella riduzione dell'infestazione larvale di seconda generazione e nella riduzione del numero di maschi della prima generazione (Albajes et al., 2002). Migliori risultati si sono ottenuti utilizzando degli erogatori di feromone sessuale, che creano dei punti di origine della traccia, piuttosto che l'utilizzo di spray fogliare che rilasciano nell'ambiente una quantità uniforme in tutta l'area (Eizaguirre et al., 2002; Albajes et al., 2002). Con il trattamento spray, comunque, si è avuta una riduzione media del 55% della popolazione successiva a quella del trattamento, rispetto al non trattamento. L'efficacia della tecnica della confusione sessuale è molto variabile, dipendendo da molti fattori come le dinamiche della popolazione considerata, la formulazione della miscela utilizzata e il metodo con cui la confusione viene messa in atto. L'elevata capacità di migrazione fra campi dei maschi e delle femmine gravide potrebbe essere uno dei motivi principali, in alcune situazioni, della non elevata efficacia del trattamento (Albajes et al., 2002). La miscela feromonica prodotta dalla femmina di *O. nubilalis* ha effetto deterrente nei confronti dei maschi di *S. nonagrioides*; lo stesso vale per i maschi di *O. nubilalis* nel caso in cui la miscela feromonica sia quella emessa dalla femmina di *S. nonagrioides* (interferenza mutualistica) (Eizaguirre et al., 2002). Inoltre, le femmine di *S. nonagrioides* preferiscono le

piante in cui non è presente il feromone della piralide (Cruz *et al.*, 2015). L'utilizzo della confusione sessuale per il controllo di *Sesamia* spp. attraverso dispenser ha effetto anche nel controllo della popolazione della piralide (Eizaguirre *et al.*, 2002).

#### 1.4.8.5. Piante geneticamente modificate

La tossicità della delta-endotossina Cry1Ab nei confronti delle larve di *S. nonagrioides* è stata dimostrata, e la suscettibilità di questa specie alla tossina è equiparabile a quella di *O. nubilalis* (González-Núñez *et al.*, 2000). Oltre alla protossina Cry1Ab, *S. nonagrioides* è suscettibile anche verso altre tossine prodotte dal batterio, quali Cry1Ac, Cry1Ca Cry1Fa. Cry1Ab, comunque, è quella con la LC<sub>50</sub> (concentrazione letale per il 50% delle larve testate) e la LC<sub>90</sub> più basse, rispettivamente di 23 ng/cm<sup>2</sup> di dieta e 119 ng/cm<sup>2</sup> (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2006). In Spagna, dove è consentita la coltivazione di mais *Bt*, le due varietà utilizzate per la lotta a *S. nonagrioides*, Event 176 e MON 810, esprimono entrambe i geni per la delta-endotossina Cry1Ab. L'utilizzo di queste varietà è stato intenso dal 1998, anno in cui ne è stata concessa la coltivazione. Nella varietà Event la concentrazione della tossina diminuiva nel tempo nella pianta, esponendo le larve del terzo volo a dosi subletali con il rischio di selezione di individui resistenti. Questa varietà è stata soppiantata dalla varietà MON810 che, invece, mantiene la concentrazione della tossina più stabile e elevata nel corso di tutta la vita della pianta (Castañera *et al.*, 2016). Nel 2017 è stato segnalato il primo caso di una popolazione spagnola di *S. nonagrioides* con gli alleli della resistenza verso il mais *Bt*, in particolare verso Cry1Ab. La frequenza osservata di questi alleli di resistenza è stata comunque molto bassa, ed è probabilmente dovuta al precedente utilizzo di Event 176. L'incremento della tecnica HDR (*high-dose refuge*), che prevede l'alternanza di superfici mais *Bt* e mais non-*Bt*, e l'impiego di varietà di mais *Bt* piramidali, che esprimono più geni *Bt*, potrebbero essere le soluzioni per evitare l'insorgenza di fenomeni di resistenza (Camargo *et al.*, 2018).

## 2. SCOPO DELLA TESI

La ricerca condotta ha avuto come scopo principale quello di approfondire le conoscenze dei principali Lepidotteri endofiti (borer) del mais in una zona collinare litoranea della Regione Marche, al fine di disporre di informazioni utili alla programmazione di eventuali strategie di contenimento delle infestazioni. In particolare si è operato per verificare la presenza delle diverse specie fitofaghe, l'incidenza degli attacchi, la distribuzione delle larve nelle piante, nonché conoscere i ceppi feromonici della popolazione di piralide del mais presenti.

### 3. MATERIALI E METODI

#### 3.1. Sito di indagine

Le prove sperimentali sono state condotte in un appezzamento coltivato a mais, sito nel comune di Senigallia, nella provincia di Ancona, a circa 2,5km dalla costa. Le coordinate dell'appezzamento sono: 43° 42' 08'' N 13°11'57'' E, 7 m s.l.m.. La zona è considerata collinare litoranea (comuni-italiani.it). L'appezzamento è di forma trapezoidale, con una superficie di circa 65.000 m<sup>2</sup>; le lunghezze dei lati sono circa 210m N; 350m S; 160m E; 310m W.

Nell'appezzamento oggetto dello studio non sono stati eseguiti interventi di controllo di alcun tipo nei confronti delle due specie fitofaghe.

#### 3.2. Andamento climatico

I dati meteo riguardanti temperatura media, umidità relativa e precipitazioni sono stati forniti dal Servizio Fitosanitario Regionale ed Agrometeorologia dell'Agenzia Servizi Settore Agroalimentare delle Marche (ASSAM). I dati sono stati rilevati dalla stazione meteo di Senigallia (43°40'24.766" N; 13°9'29.185" E; 25 m s.l.m.).

#### 3.3. Catture degli adulti di *Ostrinia nubilalis*

Per il monitoraggio di *Ostrinia Nubilalis* sono state usate trappole CORETRAP®( RIFF 98, Bologna). Le CORETRAP® sono trappole a cono di rete (Figura 16), con rete di plastica e il contenitore delle catture asportabile. La base della trappola misura 60 cm di diametro, l'altezza 65 cm. Sono state disposte in totale 9 trappole a circa 60 m di distanza l'una dall'altra, 3 lungo il confine Est dell'appezzamento e 6 lungo il confine Sud (Figura 15). Tutte le trappole sono state attivate con il feromone sessuale 11-14:Ac, diffuso attraverso un erogatore di gomma naturale, per la cattura dei maschi, e con il cairomone PAA, diffuso tramite un erogatore a piastrina, per la cattura anche delle femmine. Gli erogatori sono posti trasversalmente all'entrata del cono: gli adulti di piralide attratti all'interno del cono volando verso l'alto restano intrappolati nel contenitore. Sono stati testati i feromoni sessuali di tutti e tre i ceppi, in trappole differenti; in tutto si sono disposte 3 ripetizioni del blocco sperimentale E-Z-E/Z (Figura 15).

Le trappole sono state posizionate in campo in data 28 giugno per la rilevazione del secondo volo. Le erogatori del feromone sono stati sostituite ogni 15 giorni; quelli della PAA ogni 30 giorni. I rilievi per il conteggio delle catture sono stati svolti con intervalli di 7-10 giorni. Il primo rilievo è avvenuto il 5 luglio, proseguendo fino al 28 settembre, giorno di trebbiatura del mais. In totale sono stati fatti 12 rilievi per le trappole E+PAA e Z+PAA; 11 rilievi per le

trappole E/Z+PAA, per indisponibilità del feromone sessuale nella prima settimana di prova. Nel conteggio di ogni trappola sono stati divisi i maschi e le femmine.

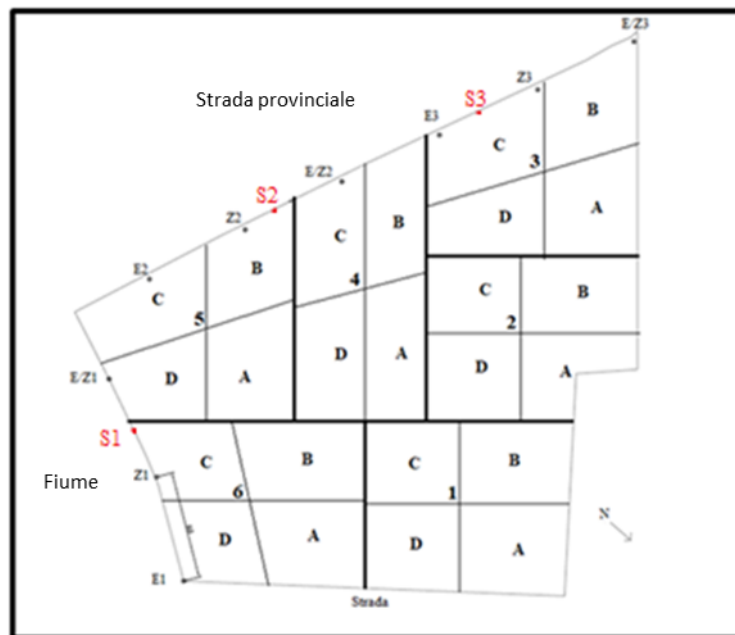


Figura 15: Schema del posizionamento delle trappole per le catture degli adulti di *O. nubilalis* (Z, E, E/Z in nero) e di *S. nonagrioides* (S in rosso), e della divisione in parcelle (1-6) e subparcelle (A; B; C; D) dell'appezzamento.

### 3.4. Analisi dei ceppi della popolazione di *Ostrinia nubilalis*

Si è proceduto al test del  $\chi^2$  per verificare se i ceppi di *O. nubilalis* sono in equilibrio Hardy-Weinberg (Hardy 1908). Si sono considerate solamente le catture maschili, assumendo che ogni maschio catturato sia stato attirato dalla miscela feromonica del proprio ceppo (Dopman et al., 2004), e che nessun maschio sia stato catturato da una delle miscele differenti da quella del proprio ceppo.

### 3.5. Catture degli adulti di *Sesamia nonagrioides*

Per le catture degli adulti di *Sesamia nonagrioides* sono state usate trappole a imbuto con alette (Funnel) (Figura 16), innescate con il feromone sessuale specifico composto dalla miscela Z-esadecenilacetato e Z-esadecenil alcol in rapporto 3:1. In tutto sono state disposte 3 trappole, una sul confine Est e due sul confine Sud, a distanza di 100 m l'una dall'altra (Figura 15), con la base della trappola a 150 cm dalla superficie del suolo. Le trappole sono state posizionate in campo in data 27 luglio. Le osservazioni sono state condotte nel periodo dal 3 agosto al 28 settembre, con rilievi ogni 7-10 giorni. Gli erogatori di feromone sessuale sono stati sostituiti a cadenza mensile.



Figura 16: Trappole utilizzate per il monitoraggio del volo degli adulti delle specie *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia nonagrioides*. A sinistra: trappola a cono di rete utilizzata per il monitoraggio di *Ostrinia nubilalis* (Foto Diego Palpacelli). A destra: trappola funnel utilizzata per il monitoraggio di *Sesamia nonagrioides* (Fonte extertronic.com)

### 3.6. Rilievi sull'infestazione

In data 28 settembre sono state prelevate 600 piante di mais. In particolare l'appezzamento è stato suddiviso in 6 parcelle, ciascuna divisa in 4 subparcelle. Da ogni subparcella sono state prelevate 25 piante per un totale di 100 piante per ogni parcella (Figura 15). Ogni gruppo di 25 piante è stato dotato di cartellino indicante la parcella e la subparcella da cui è stato prelevato. Durante il periodo autunno-inverno le piante sono state mantenute esposte alle condizioni atmosferiche esterne. 596 piante, in seguito, sono state dissezionate e gli stadi preimmaginali degli insetti (larve e crisalidi) e le gallerie abbandonate sono stati rilevati e suddivisi in base alla porzione di pianta in cui sono state rinvenute (parte bassa, parte alta e spiga). Tale osservazioni sono state condotte durante il periodo novembre 2016 marzo 2017. I dati sono stati riportati in una scheda rilievi. Il riconoscimento specifico delle larve di *Sesamia* spp. è stato condotto con l'utilizzo di uno stereoscopio su campioni di larve rinvenuti negli stocchi, in base alla chetotassi al 9° urotergite, come proposto da Tremblay (1993).

## 4. RISULTATI E CONSIDERAZIONI

### 4.1. Andamento climatico

I dati metereologici relativi al periodo 15 maggio – 30 settembre (108 giorni) sono riportati in grafico 1. Gli eventi atmosferici sfavorevoli all'andamento del volo degli adulti delle due specie di fitofagi, *O. nubilalis* e *S. nonagrioides*, sono stati sporadici.

Si sono registrati eventi piovosi in 22 giorni, ma di questi solamente in 14 giorni la piovosità è stata uguale o superiore a un mm. In quattro giorni sono stati superati 4 mm (20/6; 15/7; 25/7; 10/8). L'evento piovoso più intenso si è verificato il 20/6, facendo registrare 44,6 mm di pioggia. In quella data, comunque, non erano ancora state installate le trappole. In totale sono stati registrati 165,6 mm durante tutto il periodo considerato. Gli eventi piovosi non possono essere considerati stati sfavorevoli allo sviluppo delle due specie e al volo degli adulti.

La temperatura media si è sempre mantenuta all'interno dell'intervallo favorevole allo sviluppo di tutti gli stadi di entrambe le specie, *O. nubilalis* e *S. nonagrioides*. La temperatura media maggiore è stata 29,3°C, registrata il 12/7; quella minore si è registrata il 23/9 con 16°C. L'ultima settimana di rilievi la temperatura media non ha mai superato la soglia dei 19°C. È evidente come negli ultimi 15 giorni di settembre la temperatura media si sia abbassata rispetto all'andamento nel resto del periodo in cui i rilievi si sono svolti.

L'umidità relativa è stata superiore all' 80% solamente in 23 giorni, di cui 11 hanno fatto registrare anche eventi piovosi. In due giorni è stata superiore al 90%. L'umidità relativa si è mantenuta su livelli tali da non creare problemi per l'accoppiamento dei Lepidotteri.



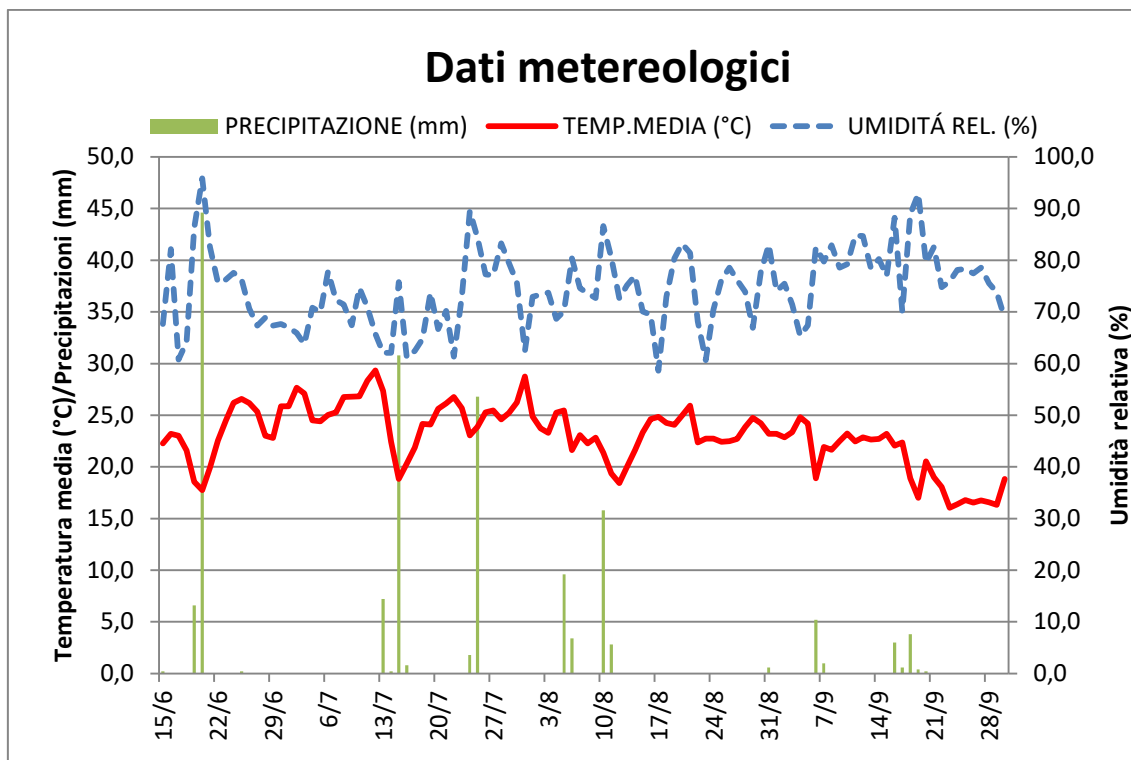


Grafico 1: Andamento climatico del periodo 15/6-30/9 relativo all'anno dell'indagine (2016). Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi meteorologici; nell'asse delle Y sono riportate la temperatura media giornaliera (°C) e le precipitazioni (mm); nell'asse delle Z è riportata l'umidità relativa (%).

#### 4.2. Cature degli adulti di *Ostrinia nubilalis*

Le catture sono state registrate durante il periodo 05/07/2016-28/09/2016.

I dati relativi le catture degli individui maschili hanno rivelato la presenza dei tre ceppi di *Ostrinia nubilalis*. Sono stati considerati solo i maschi nella determinazione della presenza dei ceppi, poiché solo gli individui maschili rispondono in modo discriminato alla miscela feromonica, mentre le femmine di tutti i ceppi rispondono alla PAA indipendentemente dalla miscela feromonica presente nella trappola.

Durante tutto il periodo di studio sono stati catturati 844 adulti. I maschi hanno fatto registrare 684 catture (81%), le femmine 105 (12%), mentre 55 (7%) adulti non sono stati identificabili. Questi ultimi sono poi stati inclusi nelle catture maschili, nel ceppo feromonico specifico della trappola in cui sono stati rilevati. In totale, quindi, sono stati contati 739 (88%) maschi e 105 (12%) femmine (Grafico 2).

Le trappole innescate con il ceppo feromonico E/Z+PAA hanno catturato il maggior numero di adulti, con 353 (42%) catture; seguono quelle con ceppo feromonico E+PAA con 346 (41%) catture e quelle con ceppo feromonico Z+PAA con 145 (17%) catture (Grafico 3). Fra i ceppi, quello E è stato quello che maggiormente presente, con 318 (43%) maschi catturati;

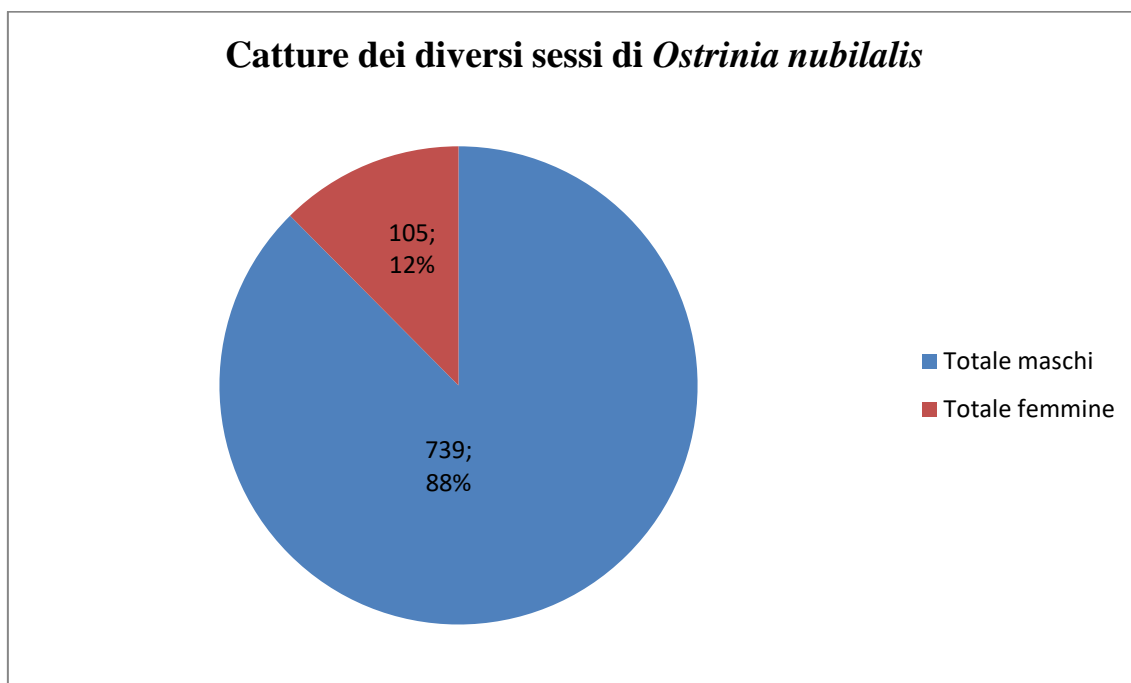
segue il ceppo E/Z, con 305 (41%) maschi catturati; il ceppo meno presente è risultato Z, con 116 (16%) maschi (Grafico 3).

In tutti i rilievi è stato catturato almeno un adulto, da un minimo di una cattura (28/09) ad un massimo di 197 catture (13/08). Sono stati osservati dei picchi di volo: il primo nel periodo 03-13 agosto (155+197 catture) e il secondo nel periodo 27 agosto-3 settembre (111+104 catture) (Grafico 4). L'andamento generale dei due picchi di volo viene osservato in tutte le trappole. Le catture fra trappole attivate con differente miscela feromonica+PAA mostrano andamenti differenti nei picchi di volo. In particolare, le trappole attivate con E+PAA hanno mostrato i due picchi nei rilievi del 13 agosto (95) e del 27 agosto - 3 settembre (44+48), per un totale di 187 catture nei tre rilievi su 346 totali (54%); nelle trappole attivate con Z+PAA i picchi di volo si sono registrati nei rilievi del 3 agosto (35) e del 27 agosto (25), per un totale di 60 catture su 145 (41%); le trappole attivate con E/Z+PAA hanno evidenziato due picchi di volo, il primo nei rilievi del 3-13 agosto (79+80) e il secondo nei rilievi del 27 agosto e 3 settembre (42+44), registrando in questi rilievi 245 catture su 353 totali (69%) (Grafico 5). Complessivamente, si sono registrate l'85% delle catture totali nei sei rilievi centrali (27luglio-3settembre); nei primi 3 rilievi (5-20 luglio) sono stati catturati l'8% di tutti gli adulti, mentre negli ultimi 3 rilievi (11-28 settembre) il 7%. Nessun evento climatico giustifica la diminuzione delle catture nel rilievo del 19/8, e il successivo incremento. Ciò potrebbe essere dovuto ad un terzo volo parziale, il cui inizio si sovrappone con la fine del secondo volo.

Le catture maschili hanno superato le catture femminili in tutte le trappole, in tutti i rilievi eccetto quello del 28/9, in cui è stata rinvenuta una femmina fra tutte le trappole, in particolare in quella attivata dal feromone E+PAA, e nessun maschio (Grafici 6, 7, 8). Le maggiori catture dei maschi fra i due sessi possono essere imputabili al fatto che questi sono più mobili, nella fase di ricerca del partner, rispetto alle femmine. Inoltre i maschi di seconda generazione hanno fatto registrare la prima cattura nel rilievo del 12/7, mentre le femmine nel rilievo del 20/7. Questo si è verificato in tutte le trappole, e potrebbe stare a significare che i maschi sfarfallano alcuni giorni prima rispetto alle femmine

Le femmine catturate in tutte le trappole hanno mostrato il picco di volo nel rilievo del 3/8 (Grafici 7, 8, 9). I maschi del ceppo Z hanno anticipato i maschi del ceppo E nel primo picco di volo. I maschi Z hanno mostrato il picco nel rilievo del 3/8, mentre i maschi E hanno mostrato il picco nel rilievo del 13/8. I maschi dell'ibrido hanno mostrato il picco prolungato in entrambi i rilievi. Nel secondo picco i maschi Z hanno mostrato la massima intensità di catture nel rilievo del 27/8, mentre per i maschi E e E/Z il secondo picco si è prolungato nei rilievi 27/8 e 3/9 (Grafico 10).

Il rapporto fra i ceppi E e Z, considerando i soli maschi, si è sempre mantenuto a favore del ceppo E ( $E:Z > 1$ ). Non sono stati considerati i rilievi del 12 luglio, in cui è stato contato un maschio per ciascuna trappola, e del 28 settembre, in cui non sono stati rinvenuti maschi nelle trappole (Grafico 11). Fra i maschi E e E/Z, invece, c'è stata una maggiore similitudine nel numero e nell'andamento delle catture (Grafico 10). Già Maini (1978) ha riportato la presenza dei ceppi E e Z sul mais in Italia, dove entrambi sono bivoltini, a differenza di quanto accade a Nord delle Alpi. La presenza dell'ibrido in Italia è stata già riportata (Anglade *et al.*, 1984). Inoltre i risultati ottenuti sulla presenza e l'intensità dell'ibrido sono in accordo con quanto riportato da Anglade (1984), secondo cui l'ibrido è maggiormente presente dove il ceppo E è dominante sul ceppo Z. Ciò potrebbe indicare che sono i maschi E a fecondare le femmine Z (Bethenod *et al.*, 2005).



**Grafico 2: Catture totali di maschi e femmine di *Ostrinia nubilalis*.**

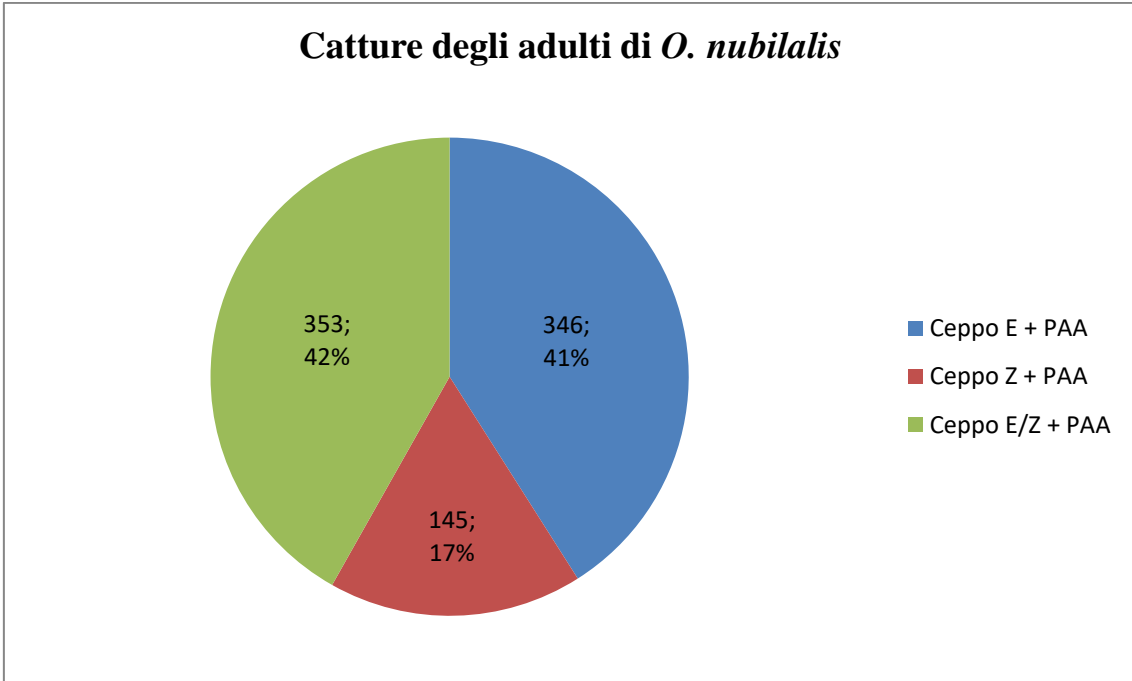


Grafico 3: Catture totali degli adulti appartenenti alle popolazioni dei diversi ceppi feromonici di *Ostrinia nubilalis* (E, Z, E/Z); PAA: fenilacetaleide.

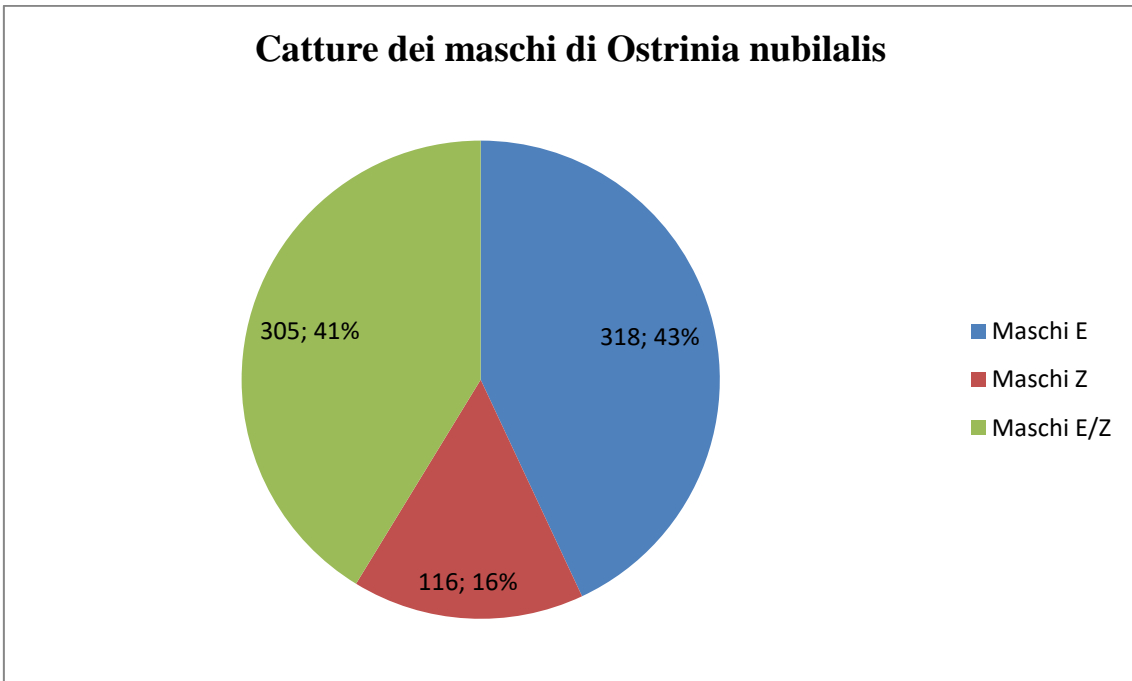


Grafico 4: Catture totali dei maschi di *Ostrinia nubilalis* appartenenti alle popolazioni dei diversi ceppi feromonici (E, Z, E/Z).

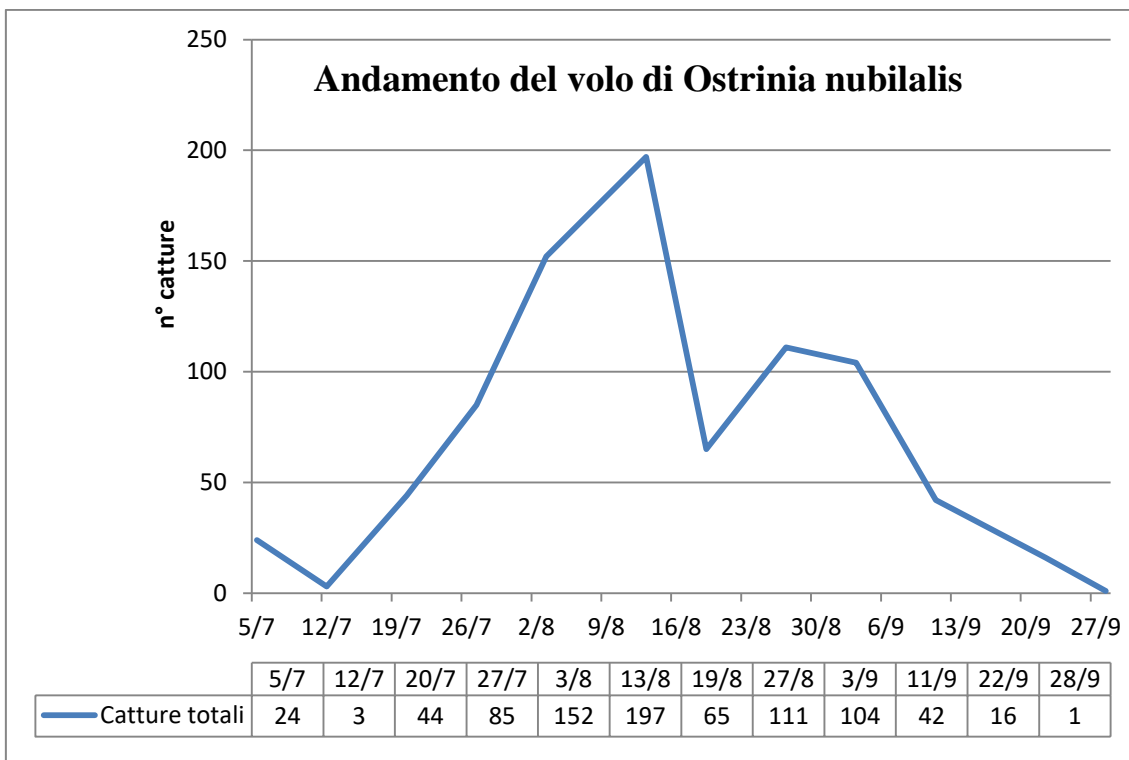


Grafico 5: andamento del volo degli adulti di *Ostrinia nubilalis*, considerando tutte le catture. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate sono riportati gli individui totali catturati.

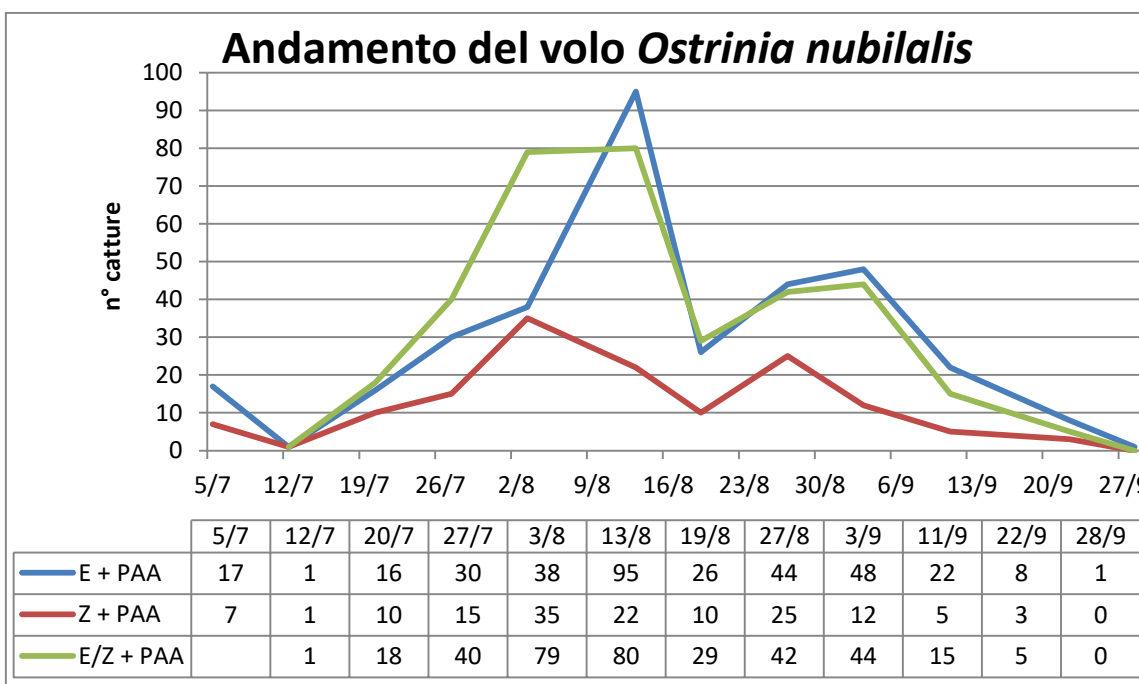


Grafico 6: Andamento del volo di *Ostrinia nubilalis*, in funzione dei diversi ceppi feromonici di *Ostrinia nubilalis* (E, Z, E/Z); PAA: fenilacetaleide. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.

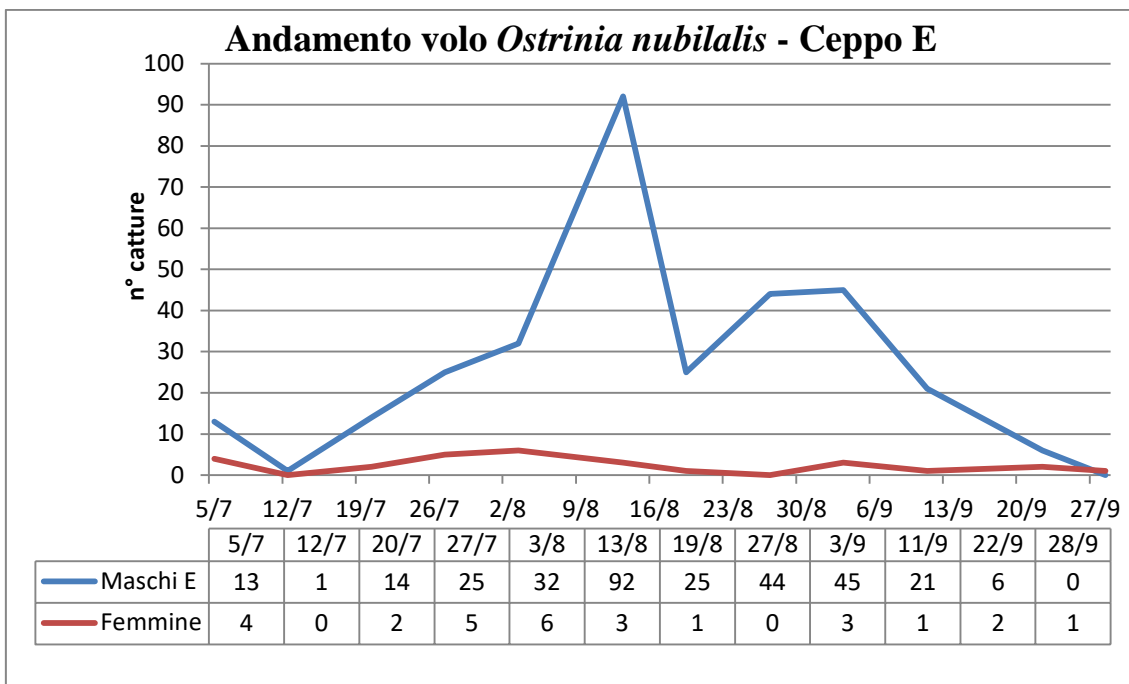


Grafico 7: Andamento del volo di *Ostrinia nubilalis*, in funzione del ceppo feromonico E. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.

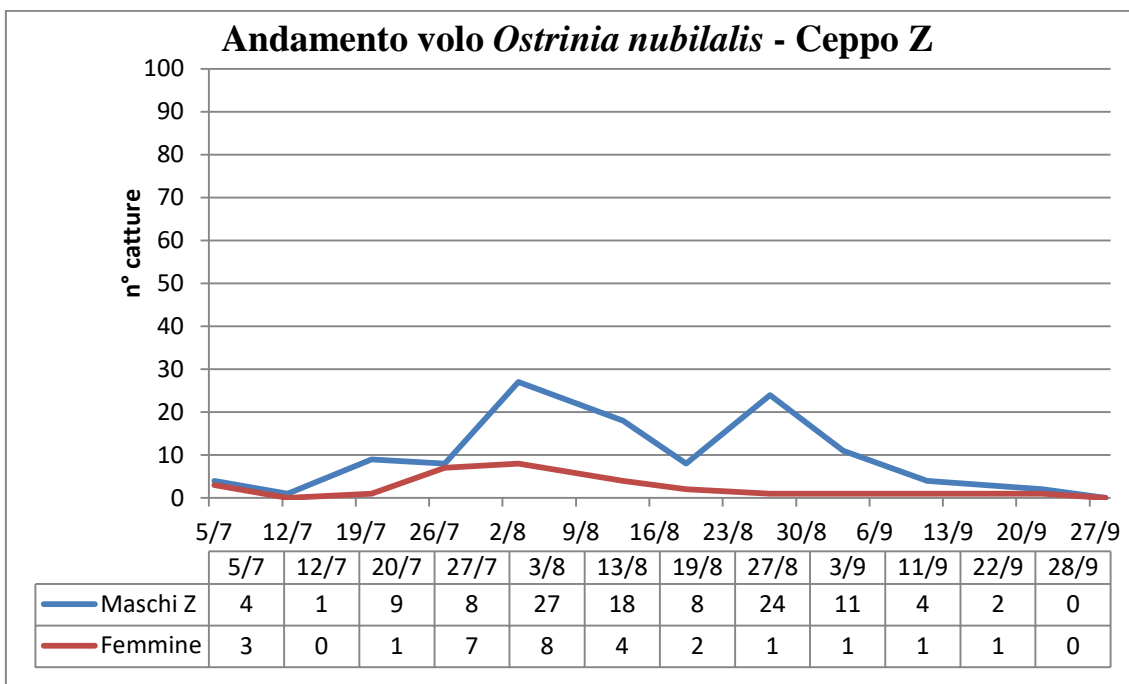
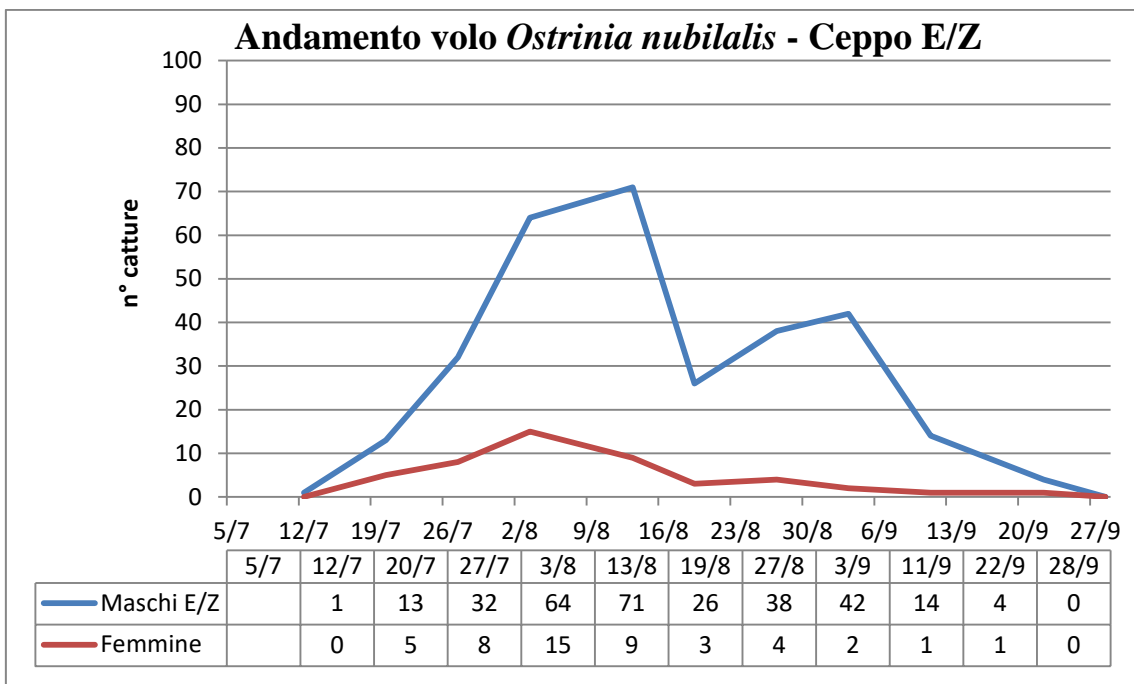
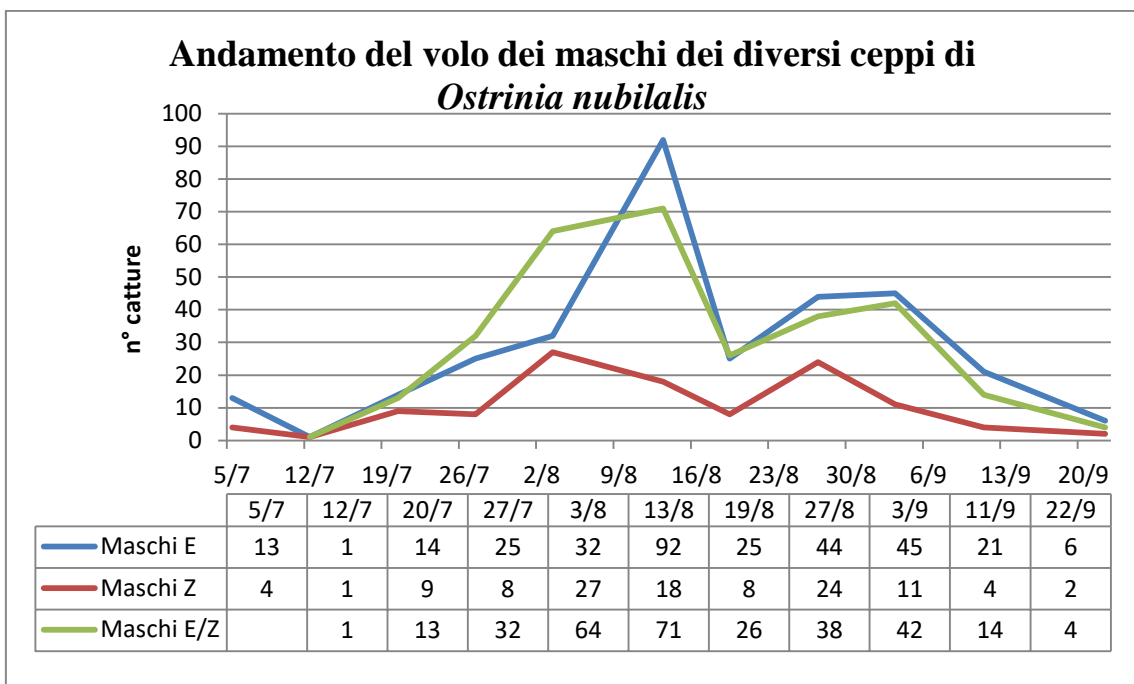


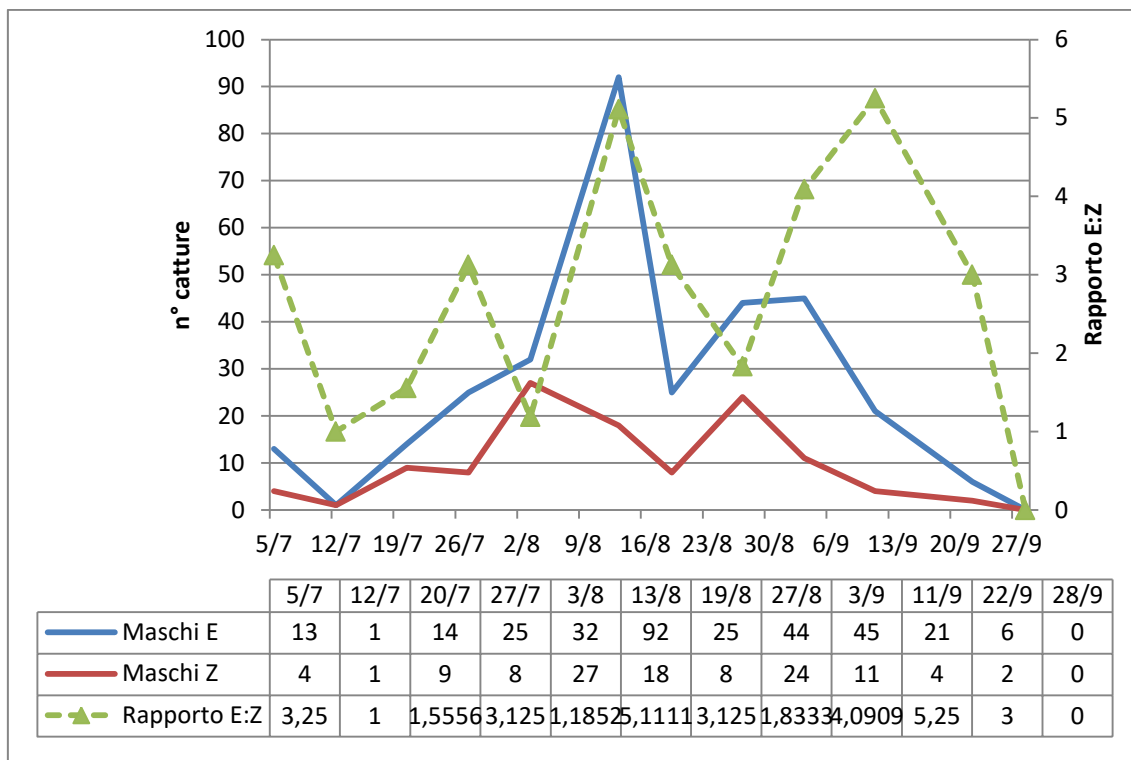
Grafico 8: Andamento del volo di *Ostrinia nubilalis*, in funzione del ceppo feromonico Z. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.



**Grafico 9:** Andamento del volo di *Ostrinia nubilalis*, in funzione del ceppo feromonico E/Z. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di adulti totali rilevati.



**Grafico 10:** andamento del volo dei maschi di *Ostrinia nubilalis* catturati nelle differenti trappole. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle ordinate il numero di maschi totali rilevati



**Grafico 11:** Catture totali dei maschi di *Ostrinia nubilalis* dei ceppi E e Z e rapporto E:Z. Nell'asse delle ascisse sono riportate le date dei rilievi; nell'asse delle Y il numero di catture totali; nell'asse delle Z il rapporto tra le catture totali dei maschi E e dei maschi Z (E:Z).

### 4.3. Analisi dei ceppi della popolazione di *Ostrinia nubilalis*

Il test del  $\chi^2$  mostra che i tre ceppi di *O. nubilalis* sono in equilibrio Hardy-Weinberg ( $P > 0,05$ ), sia ad ogni rilievo eseguito sia fra tutte le catture stagionali (Tabella 3). È il primo caso in cui viene verificato che i tre differenti ceppi sono in equilibrio Hardy-Weinberg. Bethenod (2005), in un suo studio, ha dimostrato come l'accoppiamento fra i differenti ceppi non sia casuale, e come l'ibridazione avvenga solamente fra femmine Z e maschi E. Nel nostro caso, dai risultati del test, risulta che l'accoppiamento è randomizzato (panmissia).



Frequenze genotipiche osservate												
Data catture	5/7	12/7	20/7	27/7	3/8	13/8	19/8	27/8	3/9	11/9	22/9	Totale
fEE O	0,636	0,500	0,367	0,339	0,234	0,516	0,424	0,419	0,459	0,538	0,500	0,421
fEZ O	0,000	0,500	0,367	0,536	0,559	0,385	0,441	0,352	0,429	0,359	0,333	0,423
fZZ O	0,364	0,000	0,267	0,125	0,207	0,099	0,136	0,229	0,112	0,103	0,167	0,156
Frequenze genotipiche attese												
Data catture	5/7	12/7	20/7	27/7	3/8	13/8	19/8	27/8	3/9	11/9	22/9	Totale
fEE A (fE*fE)	0,405	0,563	0,303	0,369	0,264	0,501	0,415	0,354	0,454	0,515	0,444	0,400
fEZ A (2*fE*fZ)	0,463	0,375	0,495	0,477	0,500	0,413	0,458	0,482	0,440	0,405	0,444	0,465
fZZ A (fZ*fZ)	0,132	0,063	0,203	0,154	0,237	0,085	0,127	0,164	0,107	0,080	0,111	0,135
Totale	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
(O-A) <sup>2</sup> /A												
EE	0,132	0,007	0,014	0,002	0,003	0,000	0,000	0,012	0,000	0,001	0,007	0,001
EZ	0,463	0,042	0,033	0,007	0,007	0,002	0,001	0,035	0,000	0,005	0,028	0,004
ZZ	0,405	0,063	0,020	0,006	0,004	0,002	0,001	0,026	0,000	0,007	0,028	0,003
Somma	1,000	0,111	0,067	0,015	0,014	0,005	0,002	0,072	0,001	0,013	0,063	0,008
P>0,05 (3,8415) (g.l.=1)	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato	Accettato

Tabella 3: test del  $\chi^2$  per verificare se i ceppi di popolazioni di *Ostrinia nubilalis* rinvenuti sono in equilibrio Hardy-Weinberg.

#### 4.4. Catture degli adulti di *Sesamia nonagrioides*

Le trappole per la cattura degli adulti di *S. nonagrioides* hanno dato esito positivo solamente nei rilievi del 22/9 e del 28/9. In totale sono stati catturati 9 adulti: 6 nel rilievo del 22/9 e 3 nel rilievo del 28/9.

Nel rilievo del 22/9 le catture sono state equamente distribuite nelle tre trappole, con due adulti per trappola. Nel rilievo del 28/9, un adulto è stato catturato dalla trappola S1 e due adulti dalla trappola S3.

#### 4.5. Rilievi sull'infestazione

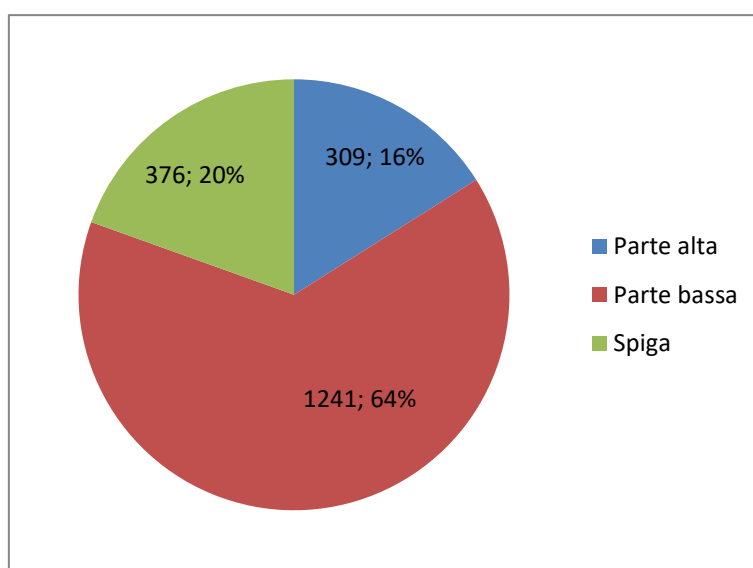
Dai risultati delle catture e dall'analisi dell'infestazione negli stocchi si è evidenziata la presenza di larve appartenenti a due specie di minatori *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia nonagrioides*. Nessuna crisalide è stata rinvenuta durante l'analisi degli stocchi, a dimostrazione che la fase di incrisalidamento sia successiva al periodo in cui sono state analizzate le piante (novembre-marzo). Le due specie sono state rinvenute anche sulla stessa pianta, ad evidenziare come le larve di entrambe condividano la stessa nicchia ecologica (Grafico 15).

Di 596 piante analizzate, 592 piante (99,33%) hanno mostrato evidenze di infestazione passata (gallerie vuote) o in corso (larve), per un totale di 3171 attacchi (media 5,32 attacchi/pianta; media 5,36 attacchi/pianta infestata). Sono state trovate 1926 larve di lepidotteri minatori (media 3,2 larve/pianta), distribuite su 542 piante (90,9% piante infestate; media 3,6 larve/pianta infestata) (Tabella 4). Ciò dimostra come, in assenza di controllo delle larve o degli adulti di entrambe le specie, si possa avere un'infestazione di quasi il 100%.

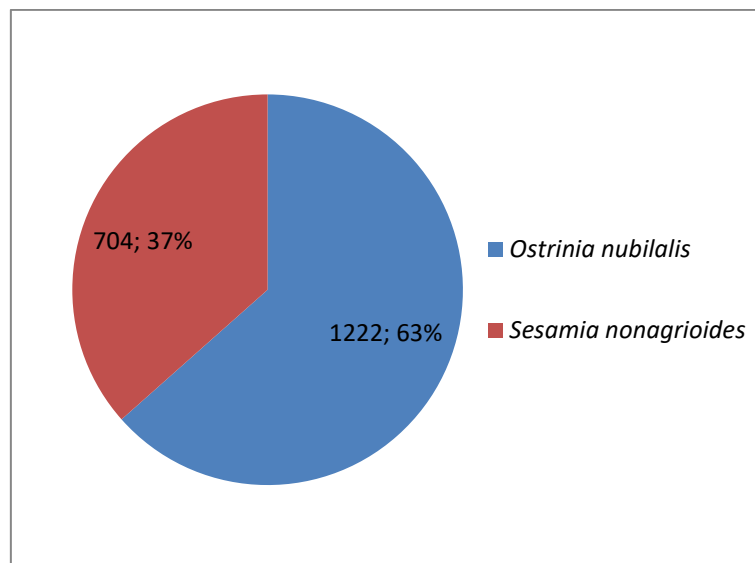
Le gallerie vuote rilevate sono state 1245 (media 2,09 gallerie/pianta) distribuite su 519 piante (87,08% di piante con gallerie vuote; media 2,40 gallerie/pianta infestata). Non è stato però possibile assegnare le gallerie vuote a una delle due specie considerate o da quale generazione esse siano state causate; nei calcoli dell'infestazione ci si è quindi attenuti solamente al numero di larve rinvenute.

La parte di pianta più infestata è risultata quella bassa, dove sono state rinvenute 1241 larve su 498 parti basse attaccate (64% delle larve; 2,1 larve/parte bassa; 2,5 larve/parte bassa infestata; 83,6% delle parti basse infestate; 91,9% delle piante infestate con la parte bassa infestata); seguono la spiga, con 376 larve su 278 spighe infestate (20% delle larve; 0,6 larve/spiga; 1,3 larve/spiga infestata; 46,7% delle spighe infestate; 51,3% delle piante infestate con la spiga infestata), e la parte alta, con 309 larve su 232 parti alte infestate (16% delle larve; 0,5 larve/parte alta; 1,3 larve/parte alta infestata; 38,9% delle parti alte infestate; 42,8% delle piante infestate con la parte alta infestata) (Grafico 12; Tabella 4). Questi risultati dimostrano come la parte bassa dello stocco sia quella in cui si concentrano maggiormente le larve.

L'infestazione di *O. nubilalis* ha superato quella di *S. nonagrioides* (Grafico 13).



**Grafico 12: Distribuzione delle larve dei due minatori del mais nelle diverse parti delle piante.**



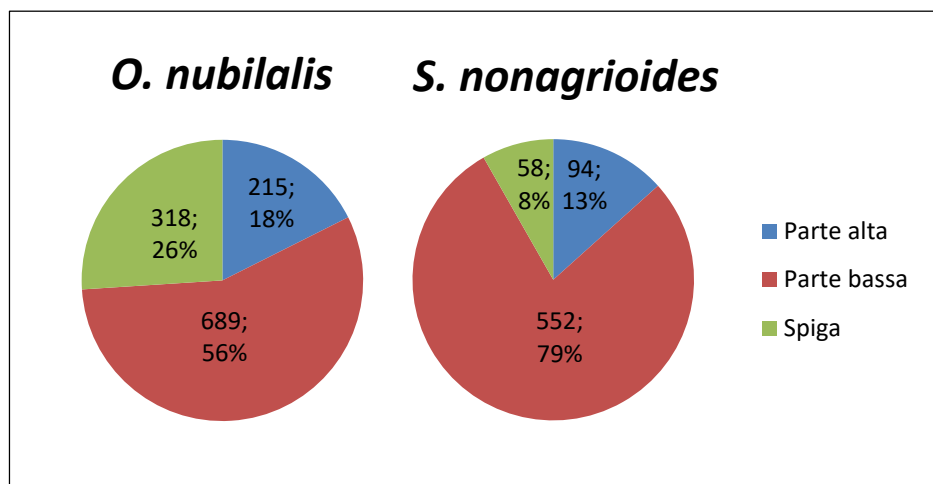
**Grafico 13:** Larve di Lepidotteri minatori del mais rilevate: *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia nonagrioides*.

#### **4.5.1 Infestazione da piralide**

Delle 1926 larve di lepidotteri minatori, 1222 sono risultate appartenere alla specie *Ostrinia nubilalis*, corrispondente al 63,4% di tutte le larve trovate (Grafico 13). La media è di 2,1 larve per il totale delle piante (infestate e sane). Delle 596 piante analizzate, 471 (79,03%) sono risultate infestate da larve di piralide (media 2,6 larve/pianta infestata da piralide). La distribuzione delle larve all'interno delle piante è stata così ripartita (Grafico 14):

- 215 larve (17,6 % di tutte le larve di piralide) nella parte alta (media 0,4 larve/parte alta) distribuite su 170 parti alte infestate da piralide (28,5% di tutte le parti alte; 73,3% di tutte le parti alte attaccate; media 1,3 larve/parte alta infestata).
- 689 larve (56,4% di tutte le larve di piralide) nella parte bassa (media 1,2 larve/parte bassa) distribuite su 362 parti basse attaccate da piralide (60,7% di tutte le parti basse; 72,7% delle parti basse infestate; media 1,9 larve/parte bassa attaccata).
- 318 larve (26,0% di tutte le larve di piralide) nella spiga (media 0,5 larve/spiga) distribuite su 245 spighe infestate da piralide (41,1 % di tutte spighe; 88,1% delle spighe infestate; media 1,3 larve/spiga infestata).

I risultati sono riassunti in Tabella 4.



**Grafico 14: Presenza delle larve di *Ostrinia nubilalis* (sx) e *Sesamia nonagrioides* (dx) nelle diverse parti di pianta.**

#### 4.5.2. *Infestazione da Sesamia nonagrioides*

Delle 1926 larve di lepidotteri minatori, 704 sono risultate appartenere alla specie *Sesamia nonagrioides*, corrispondente al 36,6% di tutte le larve trovate. La media è di 1,2 larve per pianta. Delle 596 piante analizzate, 386 (64,8%) sono risultate infestate da larve di sesamia (media 1,8 larve/pianta infestata da sesamia). La distribuzione delle larve all'interno delle piante è stata così ripartita (Grafico 14):

- 94 larve (13,4% di tutte le larve di sesamia) nella parte alta (media 0,2 larve/parte alta) distribuite su 83 parti alte infestate da sesamia (13,9% di tutte le parti alte; 35,8% delle parti alte infestate; media 1,1 larve/parte alta infestata).
- 552 larve (78,4% di tutte le larve di sesamia) nella parte bassa (media 0,9 larve/parte bassa) distribuite su 347 parti basse attaccate da sesamia (58,2% di tutte le parti basse; 69,7% delle parti basse infestate; media 1,6 larve/parte bassa attaccata).
- 58 larve (8,2% di tutte le larve di sesamia) nella spiga (media 0,1 larve/spiga) distribuite su 56 spighe infestate da sesamia (9,4% di tutte le spighe; 20,1% delle spighe infestate; media 1,0 larve/spiga infestata).

I risultati sono riassunti in Tabella 4.

#### 4.5.3. *Distribuzione delle due specie di borer all'interno della pianta*

In ogni parte il numero di larve di piralide ha superato quelle di sesamia: 1,2 volte nella parte bassa; 2,3 volte nella parte alta; 5,5 volte nella spiga. Ciò dimostra che la piralide è maggiormente infestante, specialmente nella parte alta e nella spiga; in quest'ultima potrebbe

quindi essere la causa principale anche dello sviluppo di infezioni fungine. Inoltre si evidenzia il fatto che sia la piralide a migrare nella maggior parte dei casi al di fuori della parte bassa.

Le parti di pianta infestate da entrambe le specie sono state: 211 parti basse (35,4% di tutte le parti basse; 42,4% delle parti basse infestate); 21 parti alte (3,5% di tutte le parti alte; 9,1% delle parti alte infestate); 23 spighe (3,9% di tutte le spighe; 8,3% delle spighe infestate). Una sola pianta ha presentato infestazioni in tutte e tre le parti da parte di entrambe le specie (Grafico 15). Ciò evidenzia come entrambe le specie prediligano la parte bassa della pianta per svernare, e come le due specie possano anche condividere la stessa parte bassa. Questo discorso non vale per la parte alta e per la spiga, che invece sono infestate quasi esclusivamente da una delle due specie, probabilmente per il ridotto spazio disponibile, considerando anche che il numero di larve per parte alta o per spiga infestate si aggira su uno per entrambe le specie, leggermente più alto per *Ostrinia nubilalis*. Entrambe le specie, quindi, possono essere la causa della rottura degli stocchi e conseguente perdita di prodotto alla raccolta.

Le parti di pianta infestate solamente dal *O. nubilalis* sono state:

- Parte alta: 149 su un totale di 232 parti alte infestate, di cui 170 parti alte infestate da piralide (25,1% di tutte le parti alte; 64,2% delle parti alte infestate; 87,6% delle parti alte infestate da piralide).
- Parte bassa: 151 su un totale di 498 parti basse attaccate, di cui 362 parti basse infestate da piralide (25,5% di tutte le parti basse; 30,3% delle parti basse infestate; 41,7% delle parti basse infestate da piralide).
- Spiga: 222 su un totale di 278 spighe infestate di cui 245 spighe infestate da piralide (37,4% di tutte le spighe; 79,9% di tutte le spighe infestate; 90,6% delle spighe infestate da piralide).

18 piante sono risultate infestate esclusivamente da piralide in tutte e tre le parti (3,0% di tutte le piante; 3,3% delle piante infestate) (Grafico 16).

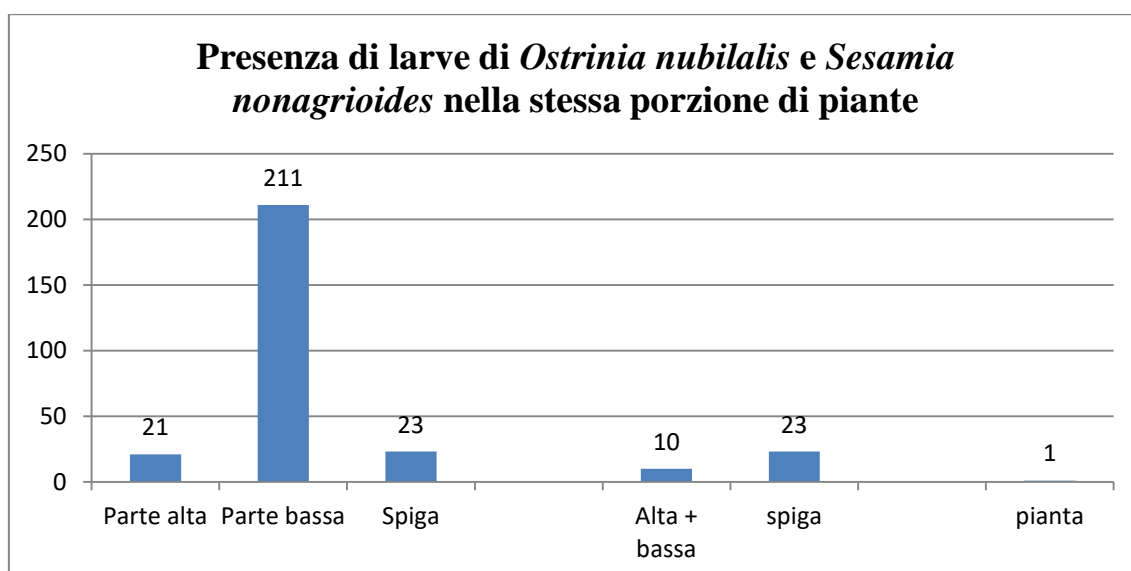
Le parti alte infestate solamente da *S. nonagrioides* sono state:

- Parte alta: 62 di 232 parti alte infestate, di cui 83 parti alte infestate da sesamia (10,4% di tutte le parti alte; 26,7% delle parti alte infestate; 74,7% delle parti alte infestate da sesamia).
- Parte bassa: 136 di 498 parti basse infestate, di cui 347 parti basse infestate da sesamia (22,8% di tutte le parti basse; 27,3% delle parti basse attaccate; 39,2%)
- Spiga: 33 di 278 spighe infestate, di cui 56 spighe infestate da sesamia (5,5% di tutte le spighe; 11,9% delle spighe infestate; 58,9% delle spighe infestate da sesamia)

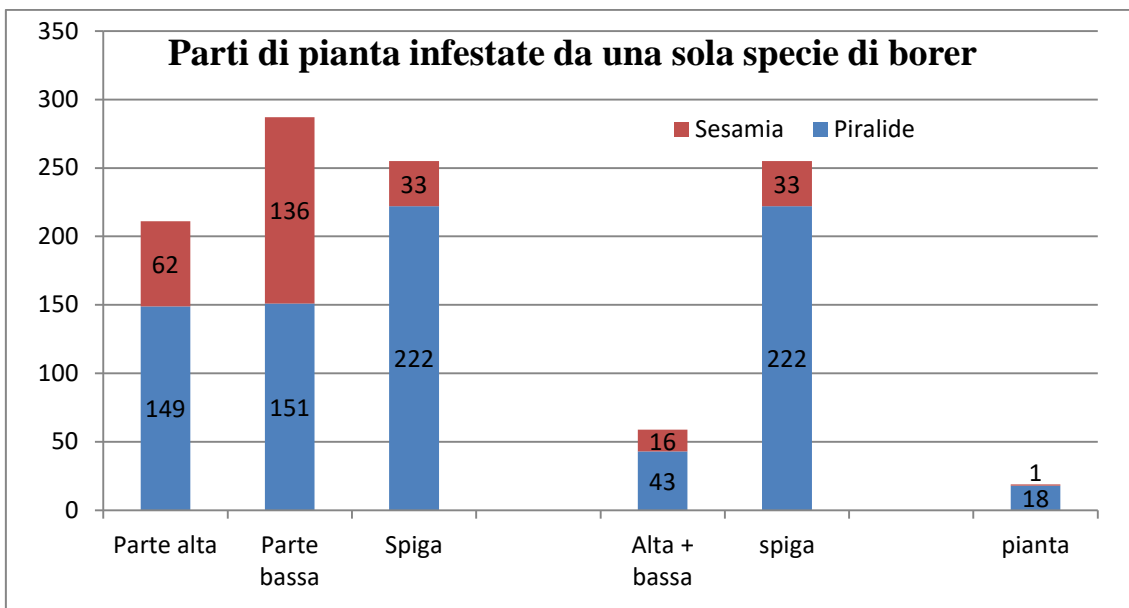
Una sola pianta è risultata infestata solamente dalla sesamia in tutte e tre le parti (Grafico 16).

I risultati delle parti infestate solamente da una delle due specie mostrano come la parte bassa possa essere condivisa da entrambe le specie: in entrambe le specie, le parti basse infestate esclusivamente da una delle due è stata inferiore al 50% rispetto alle parti basse infestate dalla specie considerata. La parte alta e la spiga, invece, quando infestate sono spesso infestate solamente da una delle due specie. In particolare, quando la spiga è infestata dalla piralide, nel 90,9% delle volte questa è l'unica presente, mentre quando questa infesta la parte alta, è l'unica specie presente nell'87,6% delle volte. La sesamia, invece, tende ad essere di meno l'unica specie nella parte alta (74,7%) o nella spiga (58,9%). Questi risultati mostrano come ci sia minor spazio disponibile nelle parti alte e nelle spighe per la condivisione della stessa nicchia ecologica, a differenza di quanto accade nelle parti basse.

Di 232 piante trovate con la parte alta infestata (da una delle due specie o da entrambe), 210 piante (90,5%) hanno mostrato infestazione larvale (da una delle due specie o da entrambe) anche nella parte bassa. Su 278 piante con la spiga infestata (da una delle due specie o da entrambe), 247 (88,8%) hanno avuto anche la parte bassa infestata. Di 125 piante con sia la parte alta sia la spiga infestate (da una delle due specie o da entrambe), 116 (92,8%) hanno avuto anche la parte bassa infestata. Delle 498 piante con la parte bassa infestata, invece, 157 (31,5%) erano infestate solamente nella parte bassa. Ciò conferma come le larve si spostino in parti differenti da quella bassa quasi esclusivamente quando questa è già infestata, e quindi per carenza di spazio/nutimento.



**Grafico 15:** Larve di *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia nonagrioides* nella stessa porzione di pianta. Nell'asse delle ordinate è riportato il numero piante o parti di piante in cui sono state presenti entrambe le specie di minatori (Pianta, Parte alta, Parte bassa, Spiga, Alta+Bassa).



**Grafico 16: Larve di *Ostrinia nubilalis* o *Sesamia nonagrioides*. Quando sono considerate più parti di pianta contemporaneamente (i. e. “Alta+Bassa” e “Pianta intera”) si è considerato il dato positivo quando tutte le parti considerate sono state trovate infestate tutte infestate e solamente da una sola specie. Per “Pianta intera” si intendono tutte e tre le parti di pianta.**

<b>Intera pianta</b>						
Specie	Larve		Infestate		N. larve/pianta*	
	N. totale	%	N. totale	%	Piante campionate	Piante infestate
Piralide+Sesamia	1926	100	542	90.9	3.2	3.6
Piralide	1222	63.4	471	79	2.1	2.6
Sesamia	704	36.6	386	64.8	1.2	1.8
<b>Parte alta</b>						
Specie	Larve		Infestate		N. larve/pianta*	
	N. totale	%	N. totale	%	Piante campionate	Piante infestate
Piralide+Sesamia	309	100	232	38.9	0.5	1.3
Piralide	215	69.6	170	28.5	0.4	1.3
Sesamia	94	30.4	83	13.9	0.2	1.1
<b>Parte bassa</b>						
Specie	Larve		Infestate		N. larve/pianta*	
	N. totale	%	N. totale	%	Piante campionate	Piante infestate
Piralide+Sesamia	1241	100	498	83.6	2.1	2.5
Piralide	689	55.5	362	60.7	1.2	1.9
Sesamia	552	44.5	347	58.2	0.9	1.6
<b>Spiga</b>						
Specie	Larve		Infestate		N. larve/pianta*	
	N. totale	%	N. totale	%	Piante campionate	Piante infestate
Piralide+Sesamia	376	100	278	46.7	0.6	1.3
Piralide	318	84.6	245	41.1	0.5	1.3
Sesamia	58	15.4	56	9.4	0.1	1

**Tabella 4: Dati relativi al rilievo dell'infestazione totale (Intera pianta) e nelle diverse parti della pianta (Parte alta, Parte bassa e Spiga) delle larve delle due specie di Lepidotteri minatori Piralide (*Ostrinia nubilalis*) e Sesamia (*Sesamia nonagrioides*).**

\*La media è stata calcolata su tutte le piante campionate (n. di larve/piante campionate; colonna sx) e sulle piante infestate da una singola specie (n. di larve della specie/piante infestate dalla specie; colonna dx).

#### **4.5.4. Gallerie vuote**

Nei 596 stocchi analizzati sono state rinvenute 1245 gallerie vuote in totale, il 39,26% delle infestazioni totali, con una media di 2,1 gallerie vuote per pianta. Le gallerie hanno interessato 519 piante, 87,08% di tutte le piante analizzate, con una media di 2,40 gallerie/pianta con gallerie. La distribuzione all'interno degli stocchi è:

- 389 gallerie (32,24% di tutte le gallerie) nella parte alta (media 0,65 gallerie/parte alta) distribuite su 308 parti alte (51,68% di tutte le parti alte; media 1,26 gallerie/parte alta con gallerie).



- 553 gallerie (44,42% di tutte le gallerie) nella parte bassa (media 0,93 gallerie/parte bassa) distribuite su 377 parte basse (63,25% di tutte le parti bassi (media 1,47 gallerie/parte bassa con gallerie).
- 303 gallerie vuote (24,33% di tutte le gallerie) nella spiga (media 0,51 gallerie/spiga) distribuite su 519 piante distribuite su 252 spighe (42,28% di tutte le spighe; media 1,20 gallerie/spiga con gallerie).

## 5. CONCLUSIONI

In seguito alle indagini condotte mediante trappole attivate con feromoni sessuali e cairomoni, unitamente all'analisi delle piante infestate, è stato possibile verificare la presenza di *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia nonagrioides*.

In particolare, per quanto riguarda *Ostrinia nubilalis* le trappole attivate con il feromone sessuale e la PAA per la cattura di entrambi i sessi si sono dimostrate efficaci nel monitoraggio dei voli, ed hanno evidenziato la presenza di tutti e tre i ceppi feromonici: E, Z e E/Z. Il fatto che siano stati catturati più maschi rispetto alle femmine potrebbe essere dovuto al fatto che i primi sono più mobili nella ricerca del partner rispetto alle femmine, in accordo con quanto già confermato da Sappington (1983). Sono stati osservati due picchi di volo. Il volo di seconda generazione (primo volo rilevato) è iniziato nella prima metà di luglio, facendo registrare il picco nella prima metà di agosto. Lo stesso periodo di inizio volo è stato osservato da Camerini (2015) nella valle del Po; l'autore riporta però il picco nella seconda metà di agosto, prolungato fino alla prima decade di settembre. Il fatto che nel nostro studio il picco sia avvenuto nella prima metà di agosto potrebbe essere imputabile alle diverse condizioni climatiche fra le due aree. Inoltre, nel nostro studio è stato osservato un terzo volo stagionale (secondo volo rilevato), parzialmente sovrapposto al primo volo. Non si sono osservate condizioni climatiche sfavorevoli da potere momentaneamente interrompere il volo degli adulti di seconda generazione. Le condizioni climatiche, invece, potrebbero avere permesso ad una parte delle larve di terza generazione, provenienti dagli adulti del secondo volo, di completare il loro ciclo, non entrare in diapausa ma compiere un terzo volo, minore, prolungato fino alla seconda metà di settembre. Non a caso nella Regione Marche il 2016 è stato registrato come anno particolarmente caldo e piovoso, oltre la media (ASSAM, 2016). L'innalzamento della temperatura media stagionale e la disponibilità di acqua potrebbero influire sul ciclo biologico della specie, consentendo appunto il verificarsi di un terzo volo parziale. L'andamento dei voli è stato simile in tutte le trappole. I maschi di seconda generazione sono sfarfallati una settimana prima rispetto alle femmine, in accordo con quanto riportato da Bethenod (2005),

secondo cui i maschi sfarfallano alcuni giorni prima delle femmine. Le catture delle femmine hanno avuto un picco in tutte le trappole nella stessa data. Al contrario, il picco di volo dei maschi del ceppo E è apparso posticipato rispetto a quello dei maschi del ceppo Z, mentre il ceppo E/Z ha mantenuto il picco in tutto il periodo di maggiore presenza degli altri due ceppi. Ulteriori indagini andrebbero svolte per verificare se questa tendenza sia stata casuale o se ciò è imputabile a differenze fra i ceppi nei tempi di sfarfallamento. In Francia, ad esempio, è stata riportata la situazione opposta, in cui i maschi del ceppo E sono emersi circa dieci giorni prima dei maschi del ceppo Z (Thomas et al., 2003). In Francia, però, la specie è monovoltina e i due ceppi mostrano anche differenze nella scelta dell'ospite preferenziale. Comunque, si può concludere che nella Regione Marche tutti e tre i ceppi sono polivoltini, e che i loro voli sono contemporanei.

Il ceppo E è stato quello che ha fatto registrare più catture, anche se queste non hanno differito di molto dal numero delle catture registrate del ceppo E/Z. Il ceppo Z, invece, ha fatto registrare un numero di catture inferiore agli altri due ceppi. La presenza del ceppo E, e la sua dominanza su quello Z, è stata già riportata per l'Italia (Maini et al., 1978; Anglade et al., 1984). Anche la presenza del ceppo ibrido E/Z è stata già osservata in passato; è stato inoltre osservato come questo ceppo sia più presente quando è il ceppo E a dominare sul ceppo Z (Anglade et al., 1984). Si può quindi affermare che, nelle condizioni ambientali della zona collinare litoranea della Regione Marche, i due ceppi E e Z vivono in condizioni di simpatria, e che fra i due avviene un flusso genico che porta alla presenza del ceppo ibrido. Dall'analisi dei tre ceppi di popolazione è anche risultato come queste si trovino in una condizione di panmissia, in cui la scelta del partner è casuale (Bethenod et al., 2005). Questo sembra essere il primo caso in cui viene riscontrata questa situazione, a dimostrare come in certe condizioni non ci siano barriere prezigotiche o postzigotiche fra i due ceppi E e Z (Malausa et al., 2005; Cardé et al., 2004). Ulteriori indagini sugli adulti e sugli stadi preimmaginali andrebbero condotte per verificare se questa situazione si mantiene nel tempo.

L'indagine sul volo degli adulti della specie fitofaga *Sesamia nonagrioides* con l'utilizzo di trappole attivate con la miscela del feromone sessuale non è stato molto efficace. Sono stati rilevati gli adulti solamente in due rilievi, a settembre, e il numero di catture è stato relativamente basso rispetto all'infestazione larvale successivamente trovata. Due motivi potrebbero aver influenzato il mancato funzionamento delle trappole. Il primo motivo potrebbe essere imputabile all'utilizzo del modello di trappola "funnel", non adatto al monitoraggio della specie, come già riportato dalla letteratura (Mazomenos et al., 1988). Il secondo motivo

potrebbe essere la non corretta formulazione della miscela feromonica in commercio utilizzata nei confronti della popolazione studiata.

Per quanto riguarda l'incidenza degli attacchi, quasi la totalità delle piante analizzate hanno mostrato segni di infestazione larvale passata o presente. Le due specie di Lepidotteri sono state rinvenute anche sulla stessa pianta, e sulla stessa parte di pianta. Mediamente sono state trovate più di tre larve per pianta. Questo risulta essere il primo rinvenimento della specie *Sesamia nonagrioides* su mais nel marchigiano, sebbene fosse già stata rinvenuta su palme (Riolo et al., 2007) sempre nella stessa area geografica. I risultati dell'infestazione totale, inoltre, dimostrano che, in assenza di strategie di controllo, l'infestazione può interessare il 91% delle piante.

Il numero di larve rilevate di *O. nubilalis* (n. 1222) è stato maggiore di quelle di *S. nonagrioides* (704). Ciò potrebbe essere collegato alla minore competizione delle larve di piralide rispetto a quelle di sesamia.

La parte di pianta in cui è stato osservato il maggior numero di larve (64%), di entrambe le specie di minatori, è stata quella bassa. In più della metà delle parti basse infestate sono state trovate le larve di entrambe le specie, a dimostrazione di come queste possano condividere la stessa nicchia ecologica. Risultati simili sono stati osservati durante indagini condotte dell'area della montagna litoranea della Regione Marche su popolazioni di *Ostrinia nubilalis* e *Sesamia cretica* che preferiscono la parte bassa dello stocco per lo svernamento (Riolo et al., 2001).

Per quanto riguarda la presenza delle larve dei due minatori nella pianta, la parte alta è stata maggiormente infestata dalla piralide, sia come numero di larve totali rinvenute che come parti alte attaccate. In meno del 10% delle parti alte di pianta infestate sono state trovate le larve di entrambe le specie. Le spighe infestate sono state pari al 46,7%: 41,1% infestate da piralide e 9,4% infestate da sesamia.

Il numero totale di spighe infestate da entrambe le larve dei minatori è stato inferiore al 10%. Questo dato è in disaccordo a quanto riportato in letteratura che a fine ciclo della pianta la spiga sia poco appetibile (Blandino et al., 2008). Si può affermare che, quando sono presenti entrambe le specie di minatori del mais *O. nubilalis* e *S. nonagrioides*, è la piralide la causa maggiore per lo sviluppo di infezioni fungine dovute a *Fusarium* spp. con conseguente accumulo di fumonisine, essendo le spighe infestate quasi esclusivamente da questa specie.

Dall'analisi della distribuzione delle larve all'interno delle piante e delle parti di piante infestate si può concludere che *O. nubilalis* è più versatile nel localizzarsi sulla pianta ospite, andando ad infestare anche parti diverse da quella bassa quando questa è già infestata. Al contrario, *S. nonagrioides* si localizza quasi esclusivamente nella parte bassa della pianta. Gli attacchi da queste due specie di Lepidotteri del mais possono essere la causa della rottura degli stocchi e

della perdita di prodotto per impossibilità di raccolta di questi con mezzi meccanici (Biraghi, 1975; Tremblay, 1993).

## 6. BIBLIOGRAFIA

**Albajes R. [et al.]** Mating disruption of the corn borer *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) using sprayable formulations of pheromone [Rivista] / Crop Protection. - 2002. - Vol. 21. - p. 217-225.

**Alexandris M. P. e Tsitsipis J. A.** Influence of the egg parasitoid *Platytenomus busseolae* [Hym.: Scelionidae] on the population of *Sesamia nonagrioides* [Lep.: Noctuidae] in central Greece [Rivista] / Entomophaga. - 1990. - Vol. 35. - p. 61-70.

**Ali M. F. e Morgan E. D** Chemical communication in insect communities: a guide to insect pheromones with special emphasis on social insects [Journal] / Biological Reviews. - 1990. - Vol. 65. - pp. 227-247.

**Ameline A. e Frérot B.** Pheromone blends and trap designs can affect catches of *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lep., Noctuidae) males in maize fields [Rivista] / Journal of Applied Entomology. - 2001. - Vol. 125. - p. 15-18.

**Andreadis S. S. [et al.]** Cold tolerance of field-collected and laboratory reared larvae of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / CryoLetters. - 2011. - Vol. 32. - p. 297-307.

**Andreadis S. S. [et al.]** Temperature-dependent development of *Sesamia nonagrioides* [Rivista] / Journal of Pest Science. - 2013. - Vol. 86. - p. 409-417.

**Anglade Pierre, Stockel Jacques e Cooperators I.W.G.O.** Intraspecific sex-pheromone variability in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lepidoptera, Pyralidae) [Rivista] / Agronomie, EDP Sciences. --- 1984. - Vol. 4. - p. 183-187.

**ASSAM Centro Operativo di Agrometeorologia** Regione Marche. Analisi clima 2016 / 2016

**Avantaggiato G. [et al.]** Fumonisin contamination of maize hybrids visibly damaged by *Sesamia* [Rivista] / Journal of the Science of Food and Agriculture. - 2003. - Vol. 83. - p. 13-18.

- Baker T. C.** Insect pheromones: useful lessons for crustacean pheromone programs? [Sezione di libro] / Chemical Communication in Crustaceans / aut. libro Breithaupt Thomas e Thiel Martin. - Springer, 2010.
- Beres P. K.** Damage caused by *Ostrinia nubilalis* Hbn. to fodder maize (*Zea mays* L.), sweet maize (*Zea mays* var. *saccharata* (Sturtev.) L. H. Bailey) and sweet sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) near Rzeszów (South-Eastern Poland) in 2008-2010 [Rivista] / Agricultura. - Acta Scientiarum Polonorum, 2012. - Vol. 11. - p. 3-16.
- Beres P. K.** Flight dynamics of *Ostrinia nubilalis* Hbn. (Lep. Crambidae) based on the light and pheromone trap catches in Nienadowka (South-Eastern Poland) in 2006-2008 [Rivista] / Journal of Plant Protection Research. - 2012. - Vol. 52. - p. 130-138.
- Bergvinson D. J., Hamilton R. I. e Arnason J. T.** Leaf profile of maize resistance factors to European corn borer, *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 1995. - Vol. 21. - p. 343-354.
- Bethenod M-T. [et al.]** Genetic isolation between two sympatric host plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner. II: assortative mating and host-plant preferences for oviposition [Rivista] / Heredity. - 2005. - Vol. 94. - p. 264-270.
- Biraghi C.** Appunti sulla localizzazione e sulla penetrazione delle larve di *Ostrinia Nubilalis* HB. negli steli di mais ibrido [Atti di convegno] / Messa a punto di metodi di lotta. - Giornate fitopatologiche, 1975. - p. 475-486.
- Blandino M. [et al.]** Pyrethroid application timing to control European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) and minimize fumonisin contamination in maize kernels [Rivista] / Cereal Research Communications. - 2010. - Vol. 38. - p. 75-82.
- Blandino M. [et al.]** The influence of sowing date and insecticide treatments on *Ostrinia nubilalis* (Hübner) damage and fumonisin contamination in maize kernels [Rivista] / Maydica. - 2008. - Vol. 53. - p. 199-206.
- Blandino M. [et al.]** The role of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) on contamination of maize with thirteen *Fusarium* mycotoxins. [Rivista] / Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. - 2014. - Vol. 32.
- Bontemps A. [et al.]** Managing the evolution of *Bacillus thuringiensis* resistance in natural populations of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: host plant, host race and

pherotype of adult males at aggregation sites [Rivista] / Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences. - The Royal Society, 2004. - Vol. 271. – p. 2179-2185.

**Burgio G. e Maini S.** Control of European corn borer in sweet corn by *Trichogramma brassicae* Bezd. (Hym., Trichogrammatidae) [Rivista] / Journal of Applied Entomology. - 1995. - Vol. 119. - p. 83-87.

**Caffrey D. J. e Worthley L. H.** A progress report on the investigation of the European corn borer [Rapporto] / United States Department of Agriculture. - 1927.

**Cagan L. [et al.]** Voltinism of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn., in Poland [Rivista] / Plant Protection Science. - 2000. - Vol. 36. - p. 147-149.

**Calcagno V., Thomas Y e Bourguet D.** Sympatric host races of the European corn borer: adaptation to host plants and hybrid performance [Rivista] / Journal of Evolutionary Biology. - 2007. - Vol. 20. - p. 1720-1729.

**Camargo A. M. [et al.]** First detection of a *Sesamia nonagrioides* resistance allele to *Bt* maize in Europe [Rivista] / Scientific Reports. - 2018. - Vol. 8.

**Camerini G. [et al.]** Influence of *Ostrinia nubilalis* larval density and location in the maize plant on the tachinid fly *Lydella thompsoni* [Rivista] / Bulletin of Insectology. - 2016. - Vol. 69. - p. 301-306.

**Camerini G. [et al.]** Semiochemicals of *Ostrinia nubilalis*: diel response to sex pheromone and phenylacetaldehyde in open field [Rivista] / Bulletin of Insectology. - 2015. - Vol. 68. - p. 45-50.

**Camerini G., Maini S. e Riedel M.** *Ostrinia nubilalis* parasitoids in Northern Italy: Past and present [Rivista] / Biological Control. - 2018. - Vol. 122. - p. 76-83.

**Campos F. [et al.]** Toxicity and toxicokinetics of 6-methoxybenzoxazolinone (MBOA) in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 1988. - Vol. 14. - p. 989-1002.

**Campos F. [et al.]** Toxicokinetics of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 1989. - Vol. 15. - p. 1989-2001.

**Capinera J. L.** European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: pyralidae) [Sezione di libro] / Encyclopedia of Entomology. - Springer Netherlands, 2005.

- Cardé R. T. e Haynes K. F.** Structure of the pheromone communication [Sezione di libro] / Advances in Insect Chemical Ecology / aut. libro Cardé Ring T. e Millar J. G.. - Cambridge University Press., 2004.
- Castagnola A. S. e Jurat-Fuentes J. L.** *Bt* Crops: Past and Future [Sezione di libro] / *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. - Sansinenea, E., 2012.
- Castañera P. [et al.]** Sixteen Years of *Bt* Maize in the EU Hotspot: Why Has Resistance Not Evolved? [Rivista] / PLoS ONE. - 2016. - Vol. 11.
- Cisneros J. [et al.]** Toxic Effects of Spinosad on Predatory Insects [Rivista] / Biological Control. - 2002. - Vol. 23. - p. 156-163.
- Clark T. L. [et al.]** Comparison of *Bt* (*Bacillus thuringiensis* Berliner) Maize and Conventional Measures for Control of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) [Rivista] / Journal of Entomological Science. - 2000. - Vol. 35.
- Cruz D. e Eizaguirre M.** Host location behaviour of gravid females in Mediterranean corn borer *Sesamia nonagrioides*: external morphology of antennae and ovipositor sensilla [Rivista] / Bulletin of Insectology. - 2016. - Vol. 69. - p. 181-192.
- Cruz D. e Eizaguirre M.** Response to conspecific and heterospecific semiochemicals by *Sesamia nonagrioides* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae) gravid females [Rivista] / Bulletin of Entomological Research. - 2015. - p. 1-8.
- Darvas B. [et al.]** Relationships of *Helicoverpa armigera*, *Ostrinia nubilalis* and *Fusarium verticillioides* on MON 810 Maize [Rivista] / Insects. - 2011. - Vol. 2. - p. 1-11.
- de Fouchier A. [et al.]** Current views on the function and evolution of olfactory receptors in Lepidoptera vol.(2) [Sezione di libro] / Short Views on Insect Biochemistry and Molecular Biology / aut. libro Chandrasekar Raman [et al.]. - International Book Mission Academic Publisher, 2014.
- de Rozari M. B., Showers W. B. e Shaw R. H.** Environment and the Sexual Activity of the European corn borer [Rivista] / Environmental Entomology. - 1977. - Vol. 6. - p. 657-665.
- de Rozari Manuel B.** Flight and mating of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner): response of the male and female moths to environmental conditions [Rapporto]. - Retrospective Theses and Dissertations, 1974.
- Denlinger D. L.** Diapause [Sezione di libro] / Encyclopedia of Insects / aut. libro Resh V. H. e Cardé R. T. - Academic Press, 2009. - II.

- Dimotsiou O. C., Andreadis S. S. e Savopoulou-Soultani M.** Egg laying preference of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) among primary and secondary hosts [Rivista] / Applied Entomology and Zoology. - 2014. - Vol. 49. - p. 27-33.
- Dopman E. B., Bogdanowicz S. M. e Harrison R. G.** Genetic Mapping of Sexual Isolation Between E and Z Pheromone Strains of the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) [Rivista] / Genetics. - 2004. - Vol. 167. - p. 301-309.
- Ehi-Eromosele C. O., Nwinyi O. C. e Ajani O. O.** Integrated Pest Management [Sezione di libro] / Weed and Pest Control - Conventional and New Challenges. - Soloneski, S.; Larramendy, M., 2013.
- Eizaguirre M. [et al.]** Effects of mating disruption against the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*, on the European corn borer *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / IOBC-WPRS Bulletin. - 2002. - Vol. 25. - p. 1-10.
- Eizaguirre M. [et al.]** Thermoperiodism, Photoperiodism and Sensitive Stage in the Diapause Induction of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / Journal of Insect Physiology. - 1994. - Vol. 40. - p. 113-119.
- Eizaguirre M. e Fantinou A. A.** Abundance of *Sesamia nonagrioides* (Lef.) (Lepidoptera: Noctuidae) on the edges of the Mediterranean Basin [Rivista] / Psyche A Journal of Entomology. - 2012. - p. 1-7.
- Fadamiro H. Y. e Baker T. C.** Reproductive performance and longevity of female European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: effects of multiple mating, delay in mating, and adult feeding [Rivista] / Journal of Insect Physiology. - 1999. - Vol. 45. - p. 385-392.
- Fantinou A. A. e Chourdas M. Th.** Thermoperiodic effects on larval growth parameters of the *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / Journal of Pest Science. - 2005. - Vol. 79. - p. 43-49.
- Fantinou A. A., Chatzoglou C. S. e Kagkou E. A.** Thermoperiodic effects on diapause of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / European Journal of Entomology. - 2002. - Vol. 99. - p. 421-425.
- Fantinou A. A., Karandinos M. G. e Tsitsipis J. A.** Diapause induction in *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). Effect of photoperiod and temperature [Rivista] / Environmental Entomology. - 1995. - Vol. 26. - p. 1458-1466.



- Fantinou A. A., Perdikis D. C. e Stamogiannis N.** Effect of larval crowding on the life history traits of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / European Journal of Entomology. - 2008. - Vol. 105. - p. 625-630.
- Fantinou A. A., Tsitsipis J. A. e Karandinos M. G.** Diapause termination in *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory and field conditions [Rivista] / Environmental Entomology. - 1998. - Vol. 27. - p. 53-58.
- Fantinou A., Tsitsipis J. A. e Karandinos M. G.** Effects of Short- and Long-Day Photoperiods on Growth and Development of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / Environmental Entomology. - 1996. - Vol. 25. - p. 1337-1343.
- Folcher L. [et al.]** Lower mycotoxin levels in *Bt* maize grain [Rivista] / Agronomy for Sustainable Development. - 2010. - Vol. 30. - p. 1-9.
- Ghosal A.** Mode of action of insecticides [Sezione di libro] / Applied Entomology and Zoology / aut. libro Chandel B. S.. - 2018. - Vol. 1. - p. 1-17
- Glaser N. [et al.]** Candidate chemosensory genes in the stemborer *Sesamia nonagrioides* [Rivista] / International Journal of Biological Sciences. - 2013. - Vol. 9. - p. 481-495.
- Glover T. J. [et al.]** Genetic control of voltinism characteristics in European corn borer races assessed with a marker gene [Rivista] / Archives of Insect Biochemistry and Physiology. - 1992. - Vol. 20. - p. 107-117.
- Gonzalez-Cabrera J. [et al.]** Toxicity and mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry proteins in the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) [Rivista] / Applied and Environmental Microbiology. - 2006. - Vol. 72. - p. 2594-2600.
- González-Núñez M., Ortego F. e Castañera P.** Susceptibility of Spanish populations of the corn borers *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) and *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) to a *Bacillus thuringiensis* endotoxin [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 2000. - Vol. 93. - p. 459-463.
- Guthrie W. D. [et al.]** European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) leaf-feeding resistance and DIMBOA content in inbred lines of dent maize grown under field versus greenhouse conditions [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 1986. - Vol. 79. - p. 1492-1496.
- Hajek A. E. e Leger R. J. St.** Interactions between fungal pathogens and insect host [Rivista] / Annual Review of Entomology. - 2003. - Vol. 39. - p. 293-322.

- Hardy G. H.** Mendelian proportions in a mixed population [Rivista] / Science. - 1908. - Vol. 28. - p. 49-50.
- Herniou E. A. [et al.]** When parasitic wasps hijacked viruses: genomic and functional evolution of polydnviruses [Rivista] / Philosophical Transactions of Royal Societies B. - 2013. - Vol. 368.
- Houseman J. G. [et al.]** Effect of the maize-derived compounds DIMBOA and MBOA on growth and digestive processes of European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 1992. - Vol. 85. - p. 669-674.
- Hutchison W.D. [et al.]** Areawide suppression of European corn borer with *Bt* Maize reaps savings to non-*Bt* maize growers [Rivista] / Science. - 2010. - Vol. 330. - p. 222-225.
- Ikten Cengiz [et al.]** Genetic variation and inheritance of diapause induction in two distinct voltine ecotypes of *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae) [Rivista] / Annals of the Entomological Society of America. - 2011. - Vol. 140. - p. 567-575.
- Kaiser L. [et al.]** Ongoing ecological speciation in *Cotesia sesamiae*, a biological control agent of cereal stem borers [Rivista] / Evolutionary Applications. - 2015. - p. 1-14.
- Kitching I. J. e Rawlins J. E.** The Noctuoidea [Sezione di libro] / Handbook of Zoology vol. 4: Lepidoptera, Moths and Butterflies. - Kristensen, Niels P., 1998. - Vol. 1: Evolution, Systematics, and Biogeography. - p. 355-401
- Klun J. A. e Cooperators** Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of *Ostrinia nubilalis* in North America and Europe [Rivista] / Environmental Entomology, vol. 4, issue 6. - 1975. - Vol. 4. - p. 891-894.
- Klun J. A. e Maini S.** Genetic basis of an insect chemical communication system: the European corn borer [Rivista] / Environmental Entomology. - 1979. - Vol. 8. - p. 423-426.
- Konstantopoulou M. A., Krokos F. D. e Mazomenos B. E.** Chemical composition of corn leaf essential oils and their role in the oviposition behavior of *Sesamia nonagrioides* females [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 2004. - Vol. 30. - p. 2243-2256.
- Konstantopoulou M. A., Krokos F. D. e Mazomenos B. E.** Chemical stimuli from corn plants affect host selection and oviposition behavior of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista]. - 2002. - Vol. 95. - p. 1289-1293.
- Kostàl V.** Eco-physiological phases of insect diapause [Rivista] / Journal of Insect Physiology. - 2006. - Vol. 52. - p. 113-117.

- Koutroumpa F. A. [et al.]** Shifts in sensory neuron identity parallel differences in pheromone preference in the European corn borer [Rivista] / *Frontiers in Ecology and Evolution*. - 2014.
- Krokos F. D. [et al.]** Comparative studies of female sex pheromone components and male response of the corn stalk borer *Sesamia nonagrioides* in three different populations [Rivista] / *Journal of Chemical Ecology*. - 2002. - Vol. 28. - p. 1463-1472.
- Landi P. e Maini S.** Infestazione da *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lepidoptera, Pyralidae) su mais in relazione ad alcuni aspetti culturali e morfologici della pianta [Rivista] / *Bollettino dell'Istituto di Entomologia, Università di Bologna*. - 1981. - Vol. 36. - p. 69-81.
- Lassance J-M [et al.]** Allelic variation in a fatty-acyl reductase gene causes divergence in moth sex pheromones [Rivista] / *Nature*. - 2010. - Vol. 466. - p. 486-489.
- Lassance J-M. [et al.]** Gene genealogies reveal differentiation at sex pheromone olfactory receptor loci in pheromone strain of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / *Evolution*. - 2011. - Vol. 65. - p. 1583-1593.
- Laudonia S., Viggiani G. e Rotundo G.** Dati morfo-biologici sul *Telenomus Busseolae* Gahan (Hym.: Scelionidae), ooparassitoide di *Sesamia Nonagrioides* (Lefevre) (Lepidoptera: Noctuidae) introdotto in Italia [Rivista] / *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri*. - 1991. - Vol. 48. - p. 125-136.
- Lee R. E. Jr.** Dormancy [Sezione di libro] / *Encyclopedia of Insects* / aut. libro Resh Vincent H. e Cardé Ring T.. - Academic Press, 2009. – Vol. 2.
- Lewis Leslie C. [et al.]** *Nosema pyrausta*: its biology, history, and potential role in a landscape of transgenic insecticidal crops [Rivista] / *Biological Control*. - 2009. - Vol. 48. - p. 223-231.
- Lopez C., Eizaguirre M, e Albajes R.** Courtship and mating behaviour of the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / *Spanish Journal of Agricultural Research*. - 2003. - Vol. 1. - p. 43-51.
- Loughner G. E. e Brindley T. A.** Mating success of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, as influenced by environmental factors [Articolo] / *Annals of the Entomological Society of America*. - 1971. - Vol. 64. - p. 1091-1094.
- Loughner G. E.** Factors influencing mating of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* [Rapporto]. - *Retrospective Theses and Dissertations*, 1970.

- Lovei G. L., Andow D. e Arpaia S.** Transgenic Insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies [Rivista] / *Environmental Entomology*. - 2009. - Vol. 38. - p. 293-306.
- Ma P. W. K. e Roelofs W. L.** Sex pheromone gland of the female European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis* and biochemical evidences [Rivista] / *Zoologica Science*. - 2002. - Vol. 19. - p. 501-511.
- Maini S. [et al.]** Presenza ed impiego del *Trichogramma maidis*, parassita oofago di *Ostrinia nubilalis*, in alcune zone dell'Italia settentrionale [Rivista] / *Bollettino dell'Istituto di Entomologia dell'Università di Bologna*. - 1983. - Vol. 37. - p. 209-217.
- Maini S. e Burgio G.** Influence of trap design and phenylacetaldehyde upon field capture of male and female of *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera, Pyralidae) and other moths [Rivista] / *Bollettino dell'Istituto di Entomologia "G. Grandi" dell'Università di Bologna*. - 1990. - Vol. 45. - p. 157-165.
- Maini S. e Burgio G.** *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lep., Pyralidae) on sweet corn: relationship between adults caught in multibaited traps and ear damages [Rivista] / *Journal of Applied Entomology*. - 1999. - Vol. 123. - p. 179-185.
- Maini S., Gattavecchia C. e Libè A.** Impiego di velivolo ultraleggero per lanci di *Trichogramma Maidis* Pint. e Voeg. contro *Ostrinia Nubilalis* (HB) [Atti di convegno] / *Giornate fitopatologiche*. - 1988. - Vol. 2. - p. 203-212.
- Maini S., Pallotti G. e Platia G.** Ricerche sulla identificazione del feromone sessuale in popolazioni bolognesi di *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lepidoptera, Pyralidae) e relative prove di campo [Rivista] / *Bollettino dell'Istituto Entomologico dell'Università di Bologna*. - 1978. - Vol. 34. - p. 15-25.
- Maiorano A. e Donatelli M.** Validation of an insect pest phenological model for the European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn) in the Po Valley in Italy [Rivista] / *Italian Journal of Agrometeorology*. - 2014. - Vol. 18. - p. 43-50.
- Maiorano A., Donatelli M. e Fumagalli D.** Potential distribution and phenological development of the Mediterranean corn borer (*Sesamia nonagrioides*) under warming climate in Europe [Atti di convegno] / *International Environmental Modelling and Software Society (iEMSs) 2012 International Congress on Environmental Modelling and Software Managing Resources of a Limited Planet, Sixth Biennial Meeting*. - Leipzig, Germany : Seppelt, R.; Voinov, A.A.; Lange, S.; Bankamp, D., 2012.

- Malausa T. [et al.]** Assortative mating in sympatric host races of the European corn borer [Rivista] / Science. - 2005. - Vol. 308. - p. 258-260.
- Mantzoukas S. [et al.]** Interaction between the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and two entomopathogenic fungi in bio-control of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / Annals of Microbiology. - 2013. - Vol. 63. - p. 1083-1091.
- Mas E. [et al.]** Control of the biosynthetic pathway of *Sesamia nonagrioides* sex pheromone by the pheromone biosynthesis activating neuropeptide [Rivista] / Insect Biochemistry and Molecular Biology. - 2000. - Vol. 30. - p. 455-459.
- Mazomenos B. E. e Bardas D.** Current status of the *Sesamia nonagrioides* sex pheromone and its potential use in the suppression of insect population [Rapporto]. - R. Cavalloro, 1988. - p. 179-186.
- Mazurek J., Hurej M. e Jackowski J.** The effectiveness of selected chemical and biological insecticides in control of European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) on sweet corn [Rivista] / Journal of Plant Protection Research. - 2005. - Vol. 45. - p. 41-47.
- MIPAF Ministero delle Politiche Agricole e Forestali** Abrogazione di lotte obbligatorie prive di motivazioni scientifiche e tecniche nell'ambito del Servizio fitosanitario nazionale [Articolo] / Gazzetta Ufficiale - Serie generale. - 2 Giugno 1998. - Vol. 126. - p. 19.
- Miura N. [et al.]** A male-specific odorant receptor conserved through the evolution of sex pheromones in *Ostrinia* moth species [Rivista] / International journal of biological sciences. - 2009. - Vol. 5. - p. 319-330.
- Molnàr B. P. [et al.]** Electrophysiologically-active maize volatiles attract gravid female European corn borer, *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 2015. - Vol. 41. - p. 997-1005.
- Moyal Pascal [et al.]** Origin and taxonomic status of the Palearctic population of the stem borer *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) [Rivista] / Biological Journal of the Linnean Society. - 2011. - Vol. 103. - p. 904-922.
- Muccinelli M.** Prontuario degli agrofarmaci [Libro]. - Edagricole, 2011. - 13.
- Musser F. e Shelton A. M.** *Bt* sweet corn and selective insecticides: impacts on pests and predators [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 2003. - Vol. 96. - p. 71-80.

- Nakagawa Takao [et al.]** Insect sex-pheromone signals mediated by specific combinations of olfactory receptors [Journal] / Science. - 2005. - Vol. 307. - pp. 1638-1642.
- Ponsard S. [et al.]** Carbon stable isotopes: a tool for studying the mating, oviposition, and spatial distribution of races of European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, among host plants in the field [Rivista] / Canadian Journal of Zoology. - 2004. - Vol. 82. - p. 1177-1185.
- Poos F. W.** Biology of the European corn borer (*Pyrausta nubilalis* Hubn.) and two closely related species in Northern Ohio [Rivista] / The Ohio Journal of Science. - 1927. - Vol. 27. - p. 47-94.
- Popovic Zeljko D. [et al.]** Expression of stress-related genes in diapause of European corn borer (*Ostrinia nubilalis* Hbn.) [Rivista] / Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology. - 2015. - Vol. 186. - p. 1-7.
- Prieto-Samsonov D. L. [et al.]** *Bacillus thuringiensis*: from biodiversity to biotechnology [Rivista] / Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. - 1997. - Vol. 19. - p. 202-219.
- Riolo P. [et al.]** Insetti associati ad arecaceae nelle Marche [Atti di convegno] / XXI Congresso Nazionale di Entomologia, Sessione V - Entomologia agraria. - 2007. - p. 216.
- Riolo P., Nardi S. e Maini S.** Sesamia e piralide: attacchi su mais da granella nel marchigiano [Rivista] / L'Informatore Agrario. - 2001. - Vol. 57. - p. 101-105.
- Roelofs W. L. [et al.]** Three European corn borer populations in New York based on sex pheromones and voltinism [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 1985. - Vol. 2. - p. 829-836.
- Roelofs Wendel [et al.]** Sex pheromone production and perception in European corn borer moths is determined by both autosomal and sex-linked genes [Rivista] / Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. - 1987. - Vol. 84. - p. 7585-7589.
- Royer Lucie e McNeil Jeremy N.** Effect of relative humidity conditions on responsiveness of European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) males to female sex pheromone in a wind tunnel [Rivista] / Journal of Chemical Ecology. - 1993. - Vol. 19.
- Salgado V. L.** Studies on the mode of action of Spinosad: insect symptoms and physiological correlates [Rivista] / Pesticide Biochemistry and Physiology. - 1997. - Vol. 60. - p. 91-102.

- Sannino L, Espinosa B. e Campese B.** Melon: a new host of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) [Rivista] / Informatore Fitopatologico. - 2004. - Vol. 54. - p. 32-34.
- Sans A. [et al.]** Electroantennogram, wind tunnel and field responses of male Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides*, to several blends of its sex pheromone components [Rivista]. - 1997. - Vol. 82. - p. 121-127.
- Santamaria M. E. [et al.]** Plant perception and short-term responses to phytophagous insects and mites [Rivista] / International Journal of Molecular Sciences. - 2018. - Vol. 19. P. 1-20
- Sappington T. W. e Showers W. B.** Adult European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) flight activity in and away from aggregation sites [Rivista] / Environmental Entomology. - 1983. - Vol. 12. - p. 1154-1158.
- Schmidt-Jeffris R.** Residual activity of diamide insecticides for *Ostrinia nubilalis* control in processing snap bean [Rivista] / Crop Protection. - 2017. - Vol. 98. - p. 116-123.
- Schleier III J. J. e Peterson R. K. D.** Pyrethrins and pyrethroid insecticides [Sezione di libro] / Green trends in insect control. - Lopez, O.; Fernandez-Bolanos J. G., 2011.
- Schoonhoven L. M., van Loon J. J. A. e Dicke M.** Insect–plant biology [Libro]. - Oxford University Press, 2005. - II.
- Showers W. B. [et al.]** European corn borer development and management [Rapporto]. - Iowa State University, Ames, Iowa, 1989.
- Showers W. B. [et al.]** Flight and sexual activity of the European corn borer [Rivista] / Environmental Entomology. - 1976. - Vol. 5. - p. 1099-1104.
- Siegwart M. [et al.]** Biochemical and molecular mechanisms associated with the resistance of the European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) to lambda-cyhalothrin and first monitoring tool [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 2017. - Vol. 110. - p. 598-606.
- Siegwart M. [et al.]** Premier cas de résistance de la pyrale du maïs *O. nubilalis* à la lambda-cyhalothrine [Rivista] / Phytoma. - 2012. – Vol. 658. - p. 35-37.
- Skopik S. D. e Makio T.** Diapause induction and termination: North-South strain differences in *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / Journal of Biological Rhythms. - 1987. Vol. 2.

- Skopik S. D. e Makio T.** Photoperiodic control of diapause induction and termination in *Ostrinia nubilalis*: two different clocks? [Rivista] / Journal of Biological Rhythms. - 1986. - Vol. 1. - p. 137-143.
- Smith J. L., Baute T. S. e Mason C. E.** Pheromone races of *Ostrinia nubilalis* Hübner (Lepidoptera: Crambidae) infesting grain corn in Manitoba, Ontario, and Québec provinces of Canada [Rivista] / Journal of the Entomological Society of Ontario. - 2015. - Vol. 146. - p. 41-49.
- Sparks T. C. [et al.]** Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on Tobacco Budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae [Rivista] / Journal of Economic Entomology. - 1998. - Vol. 91. - p. 1277-1283.
- Spigno P. [et al.]** Infestations of *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) on palms [Rivista] / Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria Filippo Silvestri. - 2008. - p. 6291-6294.
- Sreng I. e Sreng L.** Fine structure of the female sex pheromone-producing glands in *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera : Noctuidae) [Rivista] / International Journal of Insect Morphology and Embriology. - 1988. - Vol. 17. - p. 345-357.
- Suverkropp B. P., Dutton A., Bigler F. e Van Lenteren J. C.** Oviposition behaviour and egg distribution of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, on maize, and its effect on host finding by *Trichogramma* egg parasitoids [Rivista] / Bulletin of Insectology. - 2008. - Vol. 61. - p. 303-312.
- Tarasco E.** Damaging insects in asparagus [Rivista] / Informatore Agrario. - 2001. - Vol. 57. - p. 36-38.
- Thomas Y. [et al.]** Genetic isolation between two sympatric host-plant races of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hübner. I. Sex pheromone, moth emergence timing, and parasitism. [Rivista] / Evolution. - 2003. - Vol. 57. - p. 261-273.
- Tillman J. A. [et al.]** Insect pheromones—an overview of biosynthesis and endocrine regulation [Rivista] / Insect Biochemistry and Molecular Biology. - 1999. - Vol. 29. - p. 481-514.
- Tremblay Ermenegildo** Entomologia applicata [Libro]. - 1993. - Vol. 2.
- Tsitsipis J. A.** Contribution toward the development of an integrated control method for the corn stalk borer [Rivista] / Pesticides and Alternatives. - 1990. - p. 217-228.



**Udayagiri S. e Mason C. E.** Host plant constituents as oviposition stimulants for a generalist herbivore: European corn borer [Rivista] / *Entomologia Experimentalis et Applicata*. - 1995. - Vol. 76. - p. 59-65.

**Uygun N. e Kayapinar A.** A new pest on banana: corn stalk borer, *Sesamia nonagrioides* Lefebvre (Lep. Noctuidae) [Rivista] / *South Anatolia Turkiye Entomoloji Dergisi*. - 1993. - Vol. 1. - p. 33-40.

**Visser H. J.** Host odor perception in phytophagous insects [Articolo] / *Annual Review of Entomology*. - Novembre 1986. - Vol. 31. - p. 121-144.

**Vukasinovic E. L. [et al.]** Diapause induces remodeling of the fatty acid composition of membrane and storage lipids in overwintering larvae of *Ostrinia nubilalis*, Hubn. (Lepidoptera: Crambidae) [Rivista] / *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. - 2015. - Vol. 184. - p. 36-43.

**Wadsworth C. B. [et al.]** One phase of the dormancy developmental pathway is critical for the evolution of insect seasonality [Rivista] / *Journal of Evolutionary Biology*. - 2013. - Vol. 26. - p. 2359-2368.

**Wagner B. L. e Lewis L. C.** Colonization of Corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* [Rivista] / *Applied and Environmental Microbiology*. - 2000. - Vol. 66. - p. 3468–3473.

**Wanner K. W. [et al.]** Sex pheromone receptor specificity in the European corn borer moth, *Ostrinia nubilalis* [Rivista] / *PLoS One*. - 2010. - Vol. 5. - p. 1-9.

**Wing K. D. [et al.]** Bioactivation and mode of action of oxadiazine indoxacarb in insects [Rivista] / *Crop Protection*. - 2000. - Vol. 19. - p. 537-545.

**Yasuochi Y. [et al.]** Sex-linked pheromone receptor genes of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*, are in tandem arrays [Rivista] / *PLoS One*. - 2011. - Vol. 6. - p. 1-4.

## 7. SITOGRAFIA

**Anonimo**, *Ostrinia nubilalis*, <http://antropocene.it/2018/11/13/ostrinia-nubilalis/> - 2018

**Assam Centro Operativo di Agrometeorologia** Regione Marche. Analisi clima 2016, [www.meteo.marche.it](http://www.meteo.marche.it) - 2016

**CAB international** *Ostrinia nubilalis* (European maize borer),  
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/46129#toDistributionMaps> - 2019

**CAB international** *Sesamia nonagrioides* (Mediterranean corn stalk borer)  
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/49754>, 2019, 2019

**Comuni-Italiani.it** **Senigallia** Clima e Dati Geografici, <http://www.comuni-italiani.it/042/045/clima.html> - 2019

**Damiano Money** *Ostrinia nubilalis*  
<https://www.norfolkmoths.co.uk/micros.php?bf=13750&photoid=1440601723> – 2015

**exotronic** Trampa a embudo para procesionaria del pino,  
<https://www.exotronic.com/es/trampas-para-procesionaria-pino/3783-trampa-embudo-para-procesionaria-del-pino.html> – 2019

**FAO AGP** - Integrated Pest Management, <http://www.fao.org/agriculture> – 2019

**Wolfgang Langer** Nr. 42 *Sesamia nonagrioides?* \*Bild\*,  
<http://www.lepiforum.de/forum2010.pl?md=read;id=37936> - 2011

## 8. RINGRAZIAMENTI

Un ringraziamento al dipartimento di entomologia, in particolare alla Prof.ssa Paola Riolo, relatrice della tesi.

Vorrei ringraziare inoltre tutto lo staff di HORT (HORTiculture Oriented to Recreation and Technique Soc. Coop) per aver messo a disposizione materiali e tempo per la riuscita di questa ricerca. In particolare vorrei ringraziare la Dott.ssa Francesca Massetani per il suo aiuto nella fase di campo.