

I semiochimici in agricoltura

I semiochimici (Gk. *semeon* = segnale) sono sostanze naturali a basso peso molecolare (< 250), coinvolte nella comunicazione chimica tra gli organismi viventi, che possono indurre modificazioni soprattutto di carattere etologico, talvolta anche fisiologico o perfino anatomico. I semiochimici sono generalmente classificati in feromoni e allelochimici; i primi favoriscono la comunicazione all'interno della specie (semiochimici intraspecifici), i secondi, invece, mediano la comunicazione tra specie e regni di esseri viventi diversi (semiochimici interspecifici).

SEMIOCHIMICI INTRASPECIFICI

Il termine feromone (Gk. *pherein* = trasportare e *ormao* = stimolo) venne introdotto dal biochimico tedesco Peter Karlson e dall'entomologo svizzero Martin Lüscher (1959) per evitare confusione con gli ormoni. Successivamente, nell'ambito dei semiochimici intraspecifici, Koene e Ter Maat (2001) introdussero il termine di allormone indicando con esso sostanze attive che bypassano gli organi di senso, come ad esempio i composti che inducono l'ovideposizione in *Drosophila funebris* (F.) (Baumann 1974a, 1974b) o che inibiscono il riaccoppiamento, attraverso il blocco della recettività della femmina, in *Musca domestica* (L.) (Riemann et al. 1967; Leopold et al., 1971a, 1971b).

I feromoni sono sostanze in grado di indurre reazioni specifiche di tipo fisiologico e/o comportamentale. In base alla risposta si distinguono feromoni

* Dipartimento di Agricoltura, Ambiente ed Alimenti, Università degli Studi del Molise

** Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia

sessuali, di allarme, traccia, marcanti, inibitori, di aggregazione, ecc. Alla percezione di un feromone può seguire una risposta comportamentale immediata (effetto releaser), o un complesso di risposte fisiologiche e/o morfologiche (formazione di una casta e/o maturità sessuale) a cui in un secondo momento possono conseguire manifestazioni comportamentali (effetto primer) (Wilson e Bossert, 1963). L'entomologo inglese Colin G. Butler nel 1961, mediante studi comportamentali, individuò in *Apis mellifera* (L.) il primo feromone primer che regola lo sviluppo di un insetto.

I feromoni sessuali possono essere diffusi nell'aria o in altro mezzo disperdente (feromoni olfattivi) o depositati direttamente sull'organo di ricezione del partner (feromoni di contatto).

FEROMONI OLFATTIVI

Il naturalista francese Jean-Henry Fabré nel 1870 osservò, per la prima volta, che una femmina di *Saturnia pyri* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Saturnidae) è in grado di attrarre decine di maschi, anche a notevole distanza (Fabrè, 1911). Successivamente, l'utilizzo di stimoli olfattivi per l'incontro tra i sessi è stato dimostrato in numerose specie appartenenti a diversi Ordini di insetti. I feromoni sono generalmente rilasciati dalla femmina, ma anche il maschio (es. *Galleria mellonella* L.) (Finn e Payne, 1977) o entrambi i sessi possono emettere l'attrattivo (es. *Ceratitis capitata* Wiedemann e *Bactrocera oleae* Rossi) nelle fasi di ricerca del partner, corteggiamento e accoppiamento (Ohinata et al., 1977; Canale et al., 2015).

I feromoni sessuali sono complesse miscele di messaggeri chimici in cui il componente principale, dotato di elevata attività biologica, può fungere inizialmente da attrattivo e successivamente, a concentrazione più elevata, come quella che un maschio avverte in prossimità della femmina, anche da arrestante e spesso da stimolante sessuale. Tale sostanza di richiamo agisce su lunghe distanze (anche oltre 7,5 km) inducendo l'individuo ricevente a orientarsi verso la sorgente e stimolandolo a volare controvento. Il componente principale di un feromone di richiamo è in genere poco specifico se non accompagnato dai componenti secondari come dimostrato dal fatto che una trappola innescata con il componente principale può attirare maschi di più specie, anche di gruppi diversi, mentre l'attrazione diventa altamente specifica se attivata con una femmina vergine di una delle specie attratte. I composti del blend feromonico sono emessi in un preciso rapporto che consente la "sinergia intraspecifica", ossia il completamento ottimale del messaggio "ri-

chiamo – arresto – eccitazione”. Il chimico americano Robert Silverstein e l'entomologo americano David Wood dimostrarono nel 1966 che sono necessari tre componenti del feromone di aggregazione per attrarre gli adulti di *Ips confusus* LeConte (Silverstein, 1977).

Nella miscela feromonica può essere presente un isomero dell'attrattivo che funge da inibitore del richiamo (antiferomone) per altre specie, anche gemelle. Tuttavia, la miscela feromonica è caratteristica della specie e gioca un ruolo fondamentale nell'isolamento riproduttivo. Altri composti, presenti nel feromone sessuale, agiscono a breve distanza e stimolano i partners al corteggiamento e/o all'accoppiamento e, per tale ragione, sono denominati afrodisiaci. I maschi di alcuni Lepidotteri espongono vistosissimi ciuffi odorosi (*coremata* o *hair tufts* o *hair pencils*) allo scopo di placare la femmina e indurla alla copula.

Quando una sostanza chimica svolge la medesima attività attrattiva di un feromone ma non è rilasciata dall'organismo è chiamata paraferomone (Chambers, 1977). Generalmente queste sostanze sono meno potenti dei feromoni ai quali corrispondono; un ottimo esempio è il trimedlure che attira i maschi di *C. capitata*.

I feromoni sessuali sono generalmente molecole volatili alifatiche (C_{10} - C_{23}), con doppi legami (1-3) e un gruppo terminale (acetato, alcol, aldeide o raramente chetone), oppure epossidi, catene laterali metiliche o piccole molecole monoterpenoidi cicliche. Il chimico tedesco Adolf Budenandt, dopo 30 anni di studi e aver triturato mezzo milione di femmine di baco da seta, alla fine del 1959 identificò il primo feromone sessuale che attira i maschi di *Bombyx mori* (L.) battezzandolo “bombicolo” (Budenandt et al., 1959), dal nome del lepidottero e per la natura alcolica.

L'emissione e la ricezione dei feromoni sessuali sono influenzate da condizioni intrinseche o fisiologiche (es. età, tipo di bioritmo, monogamia o poligamia, ecc.) ed estrinseche o ambientali (temperatura, velocità del mezzo disperdente, intensità luminosa e vegetazione). Lo scambio di informazioni mediante feromoni tra una coppia di Lepidotteri notturni può avvenire in un periodo della notte, in cui la temperatura è ottimale per l'attività muscolare, e per una durata che può dipendere dalla velocità dell'aria. Per alcune specie, il rilascio del feromone può essere condizionato dalla presenza o assenza del vegetale preferito (es. specie monofaghe) e dalle sue fasi fenologiche o da intensità luminose (es. insetti notturni) superiori a quella della luna piena (0,3 lux).

I feromoni vengono generalmente emessi da punti diversi del corpo degli insetti e sono percepiti da sensilli chemiorecettori presenti soprattutto sulle

antenne. I chemiocettori sono in grado di rilevare e riconoscere i singoli componenti di un blend chimico secondo il modello 'chiave-serratura' (interazione substrato-recettore). L'interazione del substrato con il recettore è possibile se la loro forma è esattamente complementare per permetterne un incastro perfetto.

I feromoni penetrano attraverso i submicroscopici pori dei sensilli e giungono ai dendriti delle cellule recettrici sulla cui membrana determinano una variazione della carica elettrica, rilevabile attraverso tecniche elettrofisiologiche (Single Sensillum Recording - SSR, Single Cell Recording - SCR) che visualizzano il fenomeno sottoforma di variazione della frequenza dei potenziali di azione (spikes) delle singole cellule sensoriali. La somma delle risposte di tutti i sensilli olfattivi, raggiunti dallo stimolo, è registrata mediante la tecnica elettroantennografica (EAG). L'ampiezza della risposta elettrofisiologica è in genere correlata con la concentrazione delle sostanze attive.

Gli stimoli elettrici generati a seguito della percezione di sostanze attive vengono sommati e integrati nel sistema nervoso centrale, e la parziale amputazione dell'antenna diminuisce l'intensità della risposta olfattiva.

Le ghiandole odorifere sono, generalmente, delle membrane intersegmentali modificate poste, nel caso dei Lepidotteri, fra il settimo e l'ottavo segmento addominale oppure fra l'ottavo e il nono, e possono essere presenti a livello dorsale, ventrale, o sotto forma di anelli.

L'elettromicrografia delle sacche odorifere ha rilevato che le membrane cellulari si presentano ripiegate, aumentando così la superficie della cellula di 60-70 volte; la presenza di tali pieghe potrebbe essere correlata con l'emissione del feromone.

La comprensione dei meccanismi di controllo che governano la produzione, il rilascio e la percezione del feromone sono attuali argomenti di studio.

FEROMONI DI CONTATTO

Sono sostanze presenti sulla superficie del corpo degli insetti ed esplicano la loro attività a corta distanza, completando l'attrazione dei feromoni sessuali o di aggregazione.

I feromoni di contatto, spesso utilizzati per il riconoscimento della specie nell'incontro tra i sessi, sono idrocarburi saturi o insaturi ($C_{23} - C_{29}$) con una diramazione terminale costituita da monometilalcheni, o interna da monometil-, dimetil-, trimetil- e tetrametilalcani. La variabilità della struttura di questi idrocarburi consente la diversità dei feromoni necessaria per

la loro specificità; la stabilità chimica e la bassa volatilità li rendono adatti a espletare l'attività di feromoni di contatto. Tali composti, in genere presenti su un sesso, possono esserlo anche sulla cuticola di entrambi, ma più abbondanti su uno di essi. In entrambi i sessi di *Musca autumnalia* De Geer (Diptera, Muscidae) sono presenti (Z)-14-nonacosene, (Z)-13-nonacosene e (Z)-13-eptacosene ma più abbondanti sulla femmina (Uebel et al., 1975). Stesso comportamento è stato osservato in *Xylotrechus colonus* F. (Coleoptera, Cerambycidae) i cui sessi presentano n-pentacosane, ma in quantità maggiore sulla femmina (Ginzel et al., 2003). In *Danaus gilippus* Cramer (Lepidoptera, Nymphalidae), il maschio estroflette un ciuffo di setole che spruzzano il feromone sulle antenne della femmina inducendo atterraggio, ripiegamento delle ali e disponibilità all'accoppiamento (Brower et al., 1965).

Tali feromoni "close-range" sono stati osservati e/o identificati in diversi Ordini di insetti tra cui Ditteri, Imenotteri, Coleotteri, Isotteri e Lepidotteri.

SEMIOCHIMICI INTERSPECIFICI

I semiochimici interspecifici, noti con il termine di allelochimici (Gk. *allelon* = reciproco), sono messaggeri chimici che consentono la comunicazione tra specie e regni viventi diversi (Whittaker e Feeny, 1971). Gli allelochimici si classificano in base a una valutazione della comunicazione, individuando la specie che trae vantaggio, e comprendono gli allomoni, cairomoni, sinomoni, apneumoni e antiferomoni (Brown et al., 1970; Dicke e Sabelis, 1992).

Gli ALLOMONI (Gk. *allos* = altro) sono sostanze chimiche di tipo difensivo, più o meno volatili, che sollecitano l'allontanamento di altre specie a vantaggio di quella che le emette; esempi sono i secreti delle cimici, l'acido formico delle formiche, il falso feromone di allarme di alcune specie di formiche schiaviste (es. *Formica subintegra* Emery e *F. pergandei* Emery), utilizzato per mettere in fuga le operaie dai propri nidi e rapirne larve e pupe (Regnier e Wilson, 1971), il secreto repellente di alcuni Imenotteri Vespoidei, impiegato per impedire alle formiche di saccheggiare il proprio nido (Jeanne, 1970; Pardi e Turillazzi, 1985).

Anche le piante producono un'ampia varietà di allomoni che utilizzano per proteggersi da insetti fitofagi e altri erbivori. Generalmente sono metaboliti secondari che scoraggiano gli attacchi dei fitofagi. Alcuni allomoni sono

tossici (alcaloidi, glicosidi ecc.) altri hanno attività disappetente temporanea o deterrente permanente.

I CAIROMONI (Gk. *kairos* = momento giusto o opportuno) sono composti volatili favorevoli all'organismo che riceve il segnale come, ad esempio, quelli emessi dalle piante e che risultano attrattivi per i fitofagi, la melata degli afidi che attira le crisope, gli odori presenti sulle uova che richiamano i parassitoidi oofagi (Celli e Maini, 1988). Tra i cairomoni si può annoverare l'acido eptanoico emesso dalla larva della Tignola della patata *Phthorimaea operculella* Zeller, e utilizzato dal suo parassitoide, l'Imenottero *Orgilus lepidus* Muesebeck, per localizzarla nelle gallerie scavate nei tuberi (Hendry et al., 1973).

I SINOMONI (Gk. *sin* = con, insieme) sono sostanze volatili utili sia all'organismo che le emette che al ricevente; esempi sono l'odore emesso dai fiori che attira insetti pronubi (vantaggio sia per la pianta che ottiene la fecondazione incrociata che per l'insetto che trova nettare e polline) (Celli e Maini, 1988) e i composti volatili rilasciati da piante infestate che attirano i nemici naturali dei fitofagi. Foglie di pomodoro, *Lycopersicon lycopersicum* (L.) Karsten ex. Farw e fagiolo, *Phaseolus lunatus* L., rispettivamente infestate da *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) e *L. sativae* (Blanchard), attirano rispettivamente i Braconidi *Dacnusa sibirica* Telenga (Dicke e Minkenberg, 1991) e *Opius dissitus* Muesebeck (Petitt et al., 1992).

Gli APNEUMONI (Gk. *ápnoia* = mancanza di respiro) sono emessi da sostanze non viventi e avvantaggiano l'organismo ricevente; svolgono funzione di messaggeri in specie sociali predatrici o parassitoidi. Questo termine è stato proposto da Nordlund e Lewis (1976), ma pochi casi di questo tipo di allelochimici sono segnalati in letteratura.

Gli ANTIFEROMONI, infine, sono sostanze utilizzate per l'isolamento riproduttivo, in grado di inibire i maschi eterospecifici.

La classificazione di un particolare composto, tuttavia, dipende dal contesto ecologico nel quale è considerato e una stessa sostanza può essere utilizzata per molti scopi. Il feromone di allarme 6-metil-5-epten-2-one della formica carnivora *Eridomyrmex purpureus* F. Smith, per esempio, è usato anche dal ragno *Habronestes bradleryi* Walckenaer per localizzare la preda. In questo caso il composto è utilizzato, nello stesso tempo, da una specie come feromone e dall'altra come cairomone.

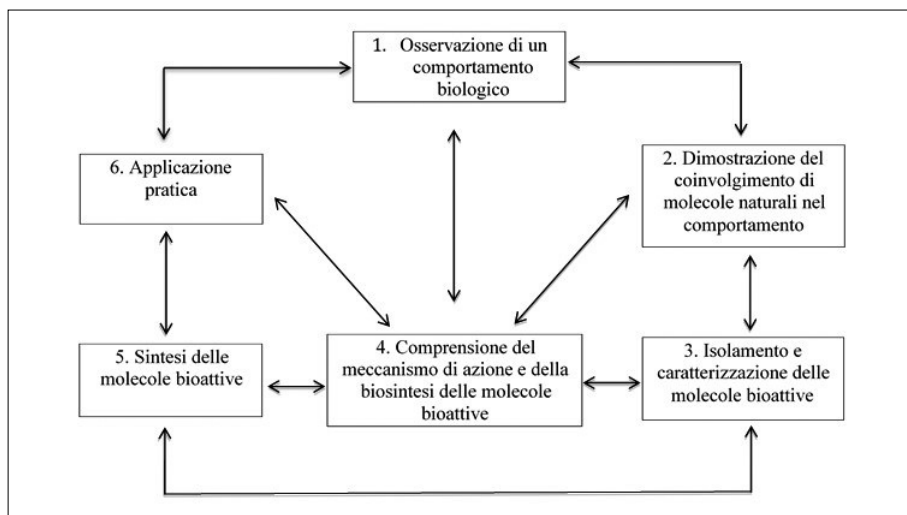


Fig. 1 *Fasi della ricerca sui semiochimici e possibili interazioni*

RICERCA DI SEMIOCHIMICI

La ricerca di un semiochimico si sviluppa attraverso varie fasi e interessa diverse competenze (fig. 1). Essa inizia con l'osservazione di un comportamento biologico e la dimostrazione del coinvolgimento di una sostanza chimica nello specifico fenomeno. Successivamente il composto bioattivo deve essere isolato e la sua struttura chimica determinata. Seguono ulteriori indagini chimiche e biochimiche per individuare la biosintesi della molecola e il meccanismo di azione. Nello stesso tempo si può procedere a sintetizzare composti analoghi e derivati e determinare la loro attività biologica mediante opportuni saggi comportamentali e fisiologici. Infine, diverse formulazioni dei composti attivi sintetizzati sono valutate mediante osservazioni di campo per una loro applicazione pratica in agricoltura.

Di seguito si riportano le attività in genere necessarie per l'identificazione dei semiochimici e in particolare dei feromoni sessuali.

- Osservazioni comportamentali sull'incontro dei sessi o sull'accoppiamento. È importante acquisire conoscenze sul comportamento dell'insetto nelle condizioni naturali in cui abitualmente vive, onde evitare false interpretazioni. È necessario definire le condizioni ambientali e fisiologiche in cui l'insetto emette il segnale chimico e il sesso coinvolto nel rilascio dell'attrattivo. Le risposte a tale domande possono notevolmente aiutare il ricercatore a progettare opportuni esperimenti di laboratorio.

- Allevamento dell'insetto. La messa a punto di un allevamento continuo di un insetto non è sempre necessario, ma può considerevolmente accelerare l'avanzamento della ricerca. In particolare, il lavoro del chimico è imprevedibile, poiché dipende dalla complessità del blend feromonico e dalle quantità di sostanze che possono essere estratte, e non può essere facilmente sincronizzato con la disponibilità dell'insetto in campo.
- Messa a punto di un biosaggio. Un saggio biologico, in genere in olfattometro, dovrebbe essere progettato per misurare il comportamento dell'insetto ed eseguito nelle condizioni ottimali osservate in campo. Esso dovrebbe essere semplice, di facile ripetibilità e in grado di predire la risposta dell'insetto in natura.
- Estrazione dell'attrattivo. Utilizzando le conoscenze biologiche acquisite nelle precedenti fasi della ricerca, l'insetto deve essere posto, da solo o in gruppo, in un ambiente confinato e nelle condizioni ottimali per l'emissioni delle sostanze naturali da estrarre mediante solvente, adsorbente, trappola fredda, ecc.
- Valutazione delle risposte comportamentali e/o fisiologiche dell'insetto verso gli estratti. Per verificare se la sostanza attiva è stata estratta o si è modificata durante la procedura di estrazione è utile valutare l'attività biologica dell'estratto verso la specie oggetto della ricerca.
- Analisi chimiche degli estratti e suo frazionamento. Analisi gascromatografiche (GC) possono essere utilizzate per determinare la varietà di composti presenti nell'estratto ed eventualmente suddividerlo in frazioni.
- Selezione delle frazioni attive. Le frazioni collezionate sono valutate mediante EAG e olfattometria per individuare quelle biologicamente attive.
- Analisi chimiche e strumentali delle frazioni attive. I composti presenti nelle frazioni attive sono identificati mediante microanalisi, gascromatografia abbinata a spettrometria di massa (GC-MS), risonanza magnetica nucleare (RMN).
- Sintesi dei composti identificati. La sintesi dei composti può essere un processo complesso e complicato, soprattutto se non sono stati identificati e sintetizzati in precedenza.
- Valutazione delle risposte comportamentali e/o fisiologiche dell'insetto verso i composti sintetici. Questa fase coinvolge saggi di laboratorio e di campo con opportune trappole innescate con dispensatori attivati con le sostanze sintetizzate.
- Sintesi di enantiomeri. Gli insetti a volte rispondono a una miscela racemica, ma questo non preclude la possibilità che essi possono ri-

spondere in modo ottimale a un enantiomero. Pertanto, i composti da utilizzare nei biosaggi devono essere sintetizzati in una forma estremamente pura.

- Prove di campo utilizzando opportuni dispensatori a lento rilascio. Completate le fasi suddette, si può essere certi di avere a disposizione un feromone simile a quello naturale che può essere utilizzato per gestire il controllo dell'insetto dannoso. Tuttavia, per una sua applicazione pratica, è necessario mettere a punto un dispensatore che rilasci la sostanza o le sostanze attive nelle quantità e nei rapporti ottimali per settimane o mesi.

È da evidenziare che in molte fasi della ricerca sui semiochimici il saggio biologico riveste un ruolo importante, per tal motivo deve essere correttamente progettato per avere risposte chiare e altamente discriminanti al fine di evitare false interpretazioni.

In letteratura si ritrovano casi di errata identificazione di feromoni dovuti a un minore potere risolutivo delle strumentazioni analitiche disponibili ma anche all'inadeguatezza del saggio biologico utilizzato. Nello studio dei feromoni sessuali di Lepidotteri, per esempio, il battito delle ali nel maschio è stato più volte assunto come comportamento sufficiente per dimostrare una risposta positiva al feromone; successivamente si è constatato che la stessa risposta può essere indotta da diversi altri composti o anche dalla semplice esposizione a un determinato flusso d'aria.

In un saggio biologico è importante individuare un evento del comportamento di facile registrazione e in grado di prevedere la risposta finale dell'organismo. Non tutti gli eventi di una sequenza comportamentale sono utilizzabili per tale scopo, in generale, quelli vicini al livello della ricezione sensoriale hanno minore valore predittivo.

La maggior parte dei saggi biologici consistono nel registrare i cambiamenti comportamentali e utilizzano apparecchiature che possono essere disposte in condizioni standard di laboratorio. Particolari saggi biologici consistono, invece, nel registrare cambiamenti nell'attività fisiologica. Il più conosciuto e più comunemente usato di tali metodi, in cui solo una parte dell'animale può essere utilizzato, coinvolge la registrazione neurofisiologica da nervi sensoriali. Nello studio dei semiochimici è necessario individuare l'organo coinvolto nella comunicazione, nei feromoni, generalmente, è l'antenna. La registrazione può essere effettuata dall'intero organo o da singole cellule sensoriali (EAG, SCR). La registrazione da muscoli è effettuata occasionalmente.

APPLICAZIONI DEI SEMIOCHIMICI

I semiochimici, sia interspecifici che intraspecifici, pur regolando aspetti diversi della vita di relazione degli insetti, hanno la caratteristica comune di agire come modificatori del comportamento. Essendo sostanze naturali, biologicamente attive a dosi molto basse, altamente specifiche e a impatto pressoché nullo sulle specie non bersaglio, sono utilizzati per la messa a punto di metodi di lotta innovativi ed ecosostenibili che mirano a manipolare opportunamente il comportamento di insetti dannosi di interesse agrario, forestale, merceologico e medico-veterinario.

In generale, i semiochimici trovano applicazione sia come mezzi indiretti (catture spia) che diretti di controllo (cattura massale, lotta attratticida, confusione sessuale, disorientamento del maschio). Tali applicazioni riguardano principalmente i semiochimici intraspecifici, e in particolare i feromoni sessuali, e in minor misura alcuni semiochimici interspecifici, cairomoni e allomoni.

I SEMIOCHIMICI COME MEZZI INDIRETTI DI CONTROLLO

I semiochimici, formulati in opportuni erogatori e in combinazione con diversi modelli di trappola, sono utilizzati per rilevare la presenza di una specie in un nuovo ambiente, per definire l'attività di volo di una specie bersaglio e, meno frequentemente, per stimare la densità di popolazione di un fitofago al fine di individuare la soglia di intervento. In tali casi, il contributo dei semiochimici al controllo della specie è indiretto in quanto esso rimane affidato ad altri mezzi di lotta (es. insetticidi).

Negli ultimi anni, l'impiego dei semiochimici per il monitoraggio delle specie dannose ha acquisito un'importanza sempre maggiore sia per le recenti disposizioni legislative che per le caratteristiche dei moderni insetticidi. La lotta integrata è stata resa obbligatoria dal 1° gennaio 2014, dal Piano di Azione Nazionale che recepisce la Direttiva UE 128/2009 relativa a "Uso sostenibile degli agrofarmaci". L'adozione di validi strumenti di monitoraggio dei parassiti rientra tra le azioni obbligatorie da adottare, prima di qualsiasi misura di lotta. Diversi insetticidi attualmente in commercio sono caratterizzati da un'attività ovo-larvicida e, a differenza di molte molecole utilizzate in passato, da una ridotta capacità di penetrazione nei tessuti della pianta; essi, pertanto, devono essere applicati tempestivamente sin dall'inizio della presenza in campo degli adulti della specie dannosa. A tal fine, in un'ottica di difesa

sostenibile, l'adozione di strumenti di monitoraggio efficaci e specifici, quale quelli basati sull'uso dei feromoni, diventa fondamentale per la riuscita e per limitare il numero dei trattamenti.

L'impiego di feromoni per il monitoraggio è in teoria possibile per le numerose specie di cui sono noti attrattivi di questo tipo (El-Sayed, 2014). Nella pratica, gli attrattivi maggiormente utilizzati per il monitoraggio sono i feromoni sessuali di diverse specie di Lepidotteri e i feromoni di aggregazione di alcuni Coleotteri, tra cui specie dannose alle derrate e scolitidi di interesse forestale (Phillips e Throne, 2010; El-Sayed, 2014). Per alcune specie, tuttavia, i componenti dei feromoni sessuali attualmente noti non sono sempre in grado di assicurare un'elevata efficacia e specificità attrattiva. Ciò può dipendere da una limitata conoscenza del feromone sessuale oppure dall'esistenza di variazioni geografiche nella composizione del blend feromonico di una stessa specie. In alcuni casi, il feromone sessuale è stato definito molti anni fa con tecniche analitiche poco sensibili oppure sulla base di saggi di attrattività in campo con molecole a presunta attività feromonica che hanno consentito di individuare il solo componente principale. Il basso potere selettivo delle relative formulazioni commerciali, per la mancanza di componenti secondari, può indurre a errori di valutazione dei risultati quando il controllo delle catture è affidato a personale non specializzato. Per molte specie, il feromone sessuale rappresenta uno dei principali meccanismi pre-zigotici coinvolti nell'isolamento riproduttivo. Tuttavia, è stato più volte osservato che popolazioni geograficamente isolate di una stessa specie possono aver evoluto blend feromonici diversi, probabilmente come risultato dell'adattamento a contesti ecologici differenti (Groot et al., 2009). Tale osservazione, può avere importanti ricadute sull'applicazione pratica dei feromoni e suggerisce l'opportunità di valutare attentamente le formulazioni commerciali quando applicate su popolazioni geograficamente lontane da quelle su cui sono stati effettuati gli studi di identificazione.

La rivisitazione dei blend feromonici di alcune specie con tecniche avanzate di indagine chimica, elettrofisiologica e comportamentale ha portato all'identificazione di ulteriori componenti del feromone sessuale di specie di rilevante interesse economico anche in Italia e a un significativo miglioramento dell'attrattività e della specificità dei formulati in commercio (Klun et al., 1975; Rotundo et al., 2001; Germinara et al., 2007).

Tra i principali semiochimici interspecifici utilizzati per il monitoraggio di specie dannose meritano una particolare menzione i sali di ammonio, attivi verso ditteri tefritidi tra cui la mosca delle olive *B. oleae*, e l'estere (*E,Z*)-2,4-decadienoato di etile, attrattivo verso i maschi e le femmine della carpocapsa

delle mele *Cydia pomonella* L. (Light et al., 2001) e delle tortrici delle castagne (Schmidt et al., 2007). Dal punto di vista pratico, la possibilità di monitorare le femmine con caïromoni appare ancora più interessante, rispetto al monitoraggio dei maschi con feromoni sessuali, essendo esse più direttamente responsabili dei danni derivanti dalle larve della generazione successiva. Un'interessante applicazione di (*E,Z*)-2,4-decadienoato di etile riguarda la possibilità di catturare le femmine della carpocapsa nei campi gestiti con la confusione sessuale che permette di accertare agevolmente lo stato fisiologico delle femmine (accoppiate o meno) e, quindi, di verificare l'efficacia del metodo.

I SEMIOCHIMICI COME MEZZI DIRETTI DI CONTROLLO

L'inquinamento ambientale, i rischi per la salute di operatori e consumatori e l'insorgenza di fenomeni di resistenza nelle popolazioni degli insetti dannosi, generati dall'uso irrazionale degli insetticidi di sintesi ad ampio spettro, da anni indirizza la ricerca alla messa a punto di nuovi mezzi di lotta alternativi e a basso impatto. In tale ambito, soprattutto i feromoni sessuali, hanno trovato applicazione pratica come mezzi diretti di controllo di specie dannose attraverso tecniche che mirano a interferire con la loro attività riproduttiva quali cattura massale, lotta attratticida, confusione sessuale, disorientamento del maschio.

La cattura massale ha come obiettivo l'eliminazione dall'ambiente del maggiore numero possibile di maschi, se realizzata contro lepidotteri mediante feromoni sessuali, o di maschi e femmine, se attuata contro coleotteri con feromoni di aggregazione, al fine di limitare al massimo le possibilità di accoppiamento e, quindi, di conseguire una graduale diminuzione della popolazione nel tempo. La tecnica si è dimostrata efficace contro popolazioni isolate, quali quelle che vivono in ambienti confinati, contro specie non eccessivamente poligame e in presenza di basse densità di popolazione. Per queste caratteristiche, la cattura massale, se supportata da un'elevata efficacia degli attrattivi, potrebbe essere utilizzata per l'eradicazione di specie esotiche che subito dopo l'introduzione in un nuovo ambiente vivono in popolazioni isolate e a basse densità (El Sayed et al., 2006).

La lotta attratticida rappresenta una variante della cattura massale in cui gli individui anziché essere catturati all'interno di apposite trappole, sono attratti su un supporto trattato con un insetticida ad ulticida di contatto. L'insetto contaminato dall'insetticida ha la possibilità di allontanarsi dalla super-

ficie trattata e, prima di morire, potrebbe contaminare propri conspecifici (es. la femmina in caso di accoppiamento). La lotta attratticida è stata ideata inizialmente per specie per le quali la cattura massale era poco efficace a causa della non completa conoscenza del feromone sessuale che permetteva solo l'avvicinamento degli insetti alla sorgente attrattiva. Rientra nella lotta attratticida anche l'uso di esche proteiche avvelenate con insetticidi, anche biologici, attivi per ingestione e che attualmente trovano applicazione per il controllo di ditteri tefritidi.

La confusione sessuale, applicata per il controllo di alcuni Lepidotteri, ha l'obiettivo di interferire sulla percezione e sulla risposta comportamentale del maschio al feromone sessuale emesso dalla femmina. Il meccanismo di azione della confusione sessuale non è ancora del tutto definito ma è probabile che esso sia il risultato di una serie di meccanismi concomitanti che possono assumere una rilevanza diversa a secondo della specie considerata (Miller et al., 2006a, 2006b).

Essa viene realizzata applicando in campo un adeguato numero di diffusori (500-700) attivati con poche centinaia di milligrammi di feromone. Tra i meccanismi più frequentemente ipotizzati vi sono il mascheramento del messaggio feromonico, la desensibilizzazione del maschio, lo sbilanciamento del messaggio feromonico. Secondo la prima ipotesi, il maschio non riesce a localizzare la femmina in quanto i margini del "corridoio odoroso", creato dall'emissione del feromone naturale, sono oscurati dalla presenza del feromone sintetico per cui esso, pur conservando la capacità di percepire il feromone, non riesce a compiere il tipico movimento a zig-zag che gli consente di seguire la traccia odorosa della femmina. La seconda ipotesi si basa sull'osservazione che maschi esposti a una dose elevata di feromone subiscono una riduzione della capacità di percepirla e di risposta comportamentale, anche dopo aver ristabilito la capacità percettiva, indicando sia un meccanismo di saturazione dei recettori antennali che di assuefazione del sistema nervoso centrale. Infine, lo sbilanciamento del messaggio feromonico sarebbe determinato dall'immissione in ambiente di un'elevata quantità di uno dei componenti, in genere il principale, del feromone sessuale della specie da controllare che alterando il rapporto ottimale tra i diversi componenti, non permetterebbe al maschio di riconoscere il messaggio proveniente dalla femmina conspecifica. Questi possibili meccanismi sono stati definiti non-competitivi, in quanto il feromone sessuale immesso in ambiente non compete con l'emissione naturale delle femmine nell'attrazione del maschio.

Un meccanismo di tipo competitivo è considerato alla base della tecnica del disorientamento del maschio o delle false tracce di volo. Questo metodo,

infatti, ha l'obiettivo di simulare l'emissione del feromone naturale attraverso il posizionamento in campo di un elevato numero di erogatori (1000-2000) attivati con una quantità di feromone di circa dieci volte minore rispetto a quella utilizzata per la confusione sessuale (Anfora et al., 2008).

Nel 2010, in tutto il mondo, gli ettari sottoposti a confusione sessuale per il controllo biotecnico di specie fitofaghe sono stati circa 770.000 e ha riguardato principalmente il controllo di *Lymantria dispar* (L.), di *C. pomonella*, *Cydia molesta* (Busck), *Lobesia botrana* (Dennis & Schiffermüller) (Witzgall et al., 2010). Negli ultimi anni, l'impiego della confusione sessuale è in continua espansione anche grazie alla messa a punto di nuove tecnologie, come quella dei diffusori temporizzati (puffers), che permettono di ottimizzare l'impiego del feromone e di ridurre tempi di applicazione e costi.

RIASSUNTO

I semiochimici, per molti organismi e in particolare per gli insetti, sono importanti sostanze naturali che condizionano profondamente la loro sopravvivenza, riproduzione e organizzazione sociale. Negli ultimi 50 anni, sono state condotte intense ricerche in laboratorio e in campo che hanno consentito di identificare numerose sostanze naturali e di classificarle, in base al ruolo biologico, in semiochimici interspecifici (allelochimici) e intraspecifici (feromoni).

La natura, qualità e quantità del segnale emesso determinano nell'individuo ricevente una risposta centripeta o centrifuga, a cui corrisponde un comportamento di attrazione, aggregante, arrestante o repellente. La caratterizzazione delle strutture, funzioni e biosintesi dei semiochimici hanno permesso non solo di sviluppare strategie innovative ed ecosostenibili per il controllo di insetti dannosi, ma anche di capire aspetti importanti di biologia. In questa recensione, si descrivono le fasi della ricerca e le diverse tecniche analitiche utilizzate per l'identificazione dei semiochimici e si presentano, nel contesto della Direttiva europea 128/2009 sull'uso sostenibile degli agrofarmaci, alcune applicazioni pratiche divenute componenti importanti dei programmi di controllo integrato (IPM) degli insetti dannosi.

ABSTRACT

Semiochemicals are important natural substances that deeply affect the survival, reproduction, and social organization of many organisms, particularly insects. Over the past five decades, extensive laboratory and field research has allowed for the identification of several insect semiochemicals which were classified in the two main categories of allelochemicals (interspecific) and pheromones (intraspecific), according to their biological role. The nature, quality and quantity of the odor signal emitted by one organism elicit a centripetal or centrifugal response in the receiving individual corresponding to

an attraction, aggregation, arrestant or repellent behaviour. The characterization of semiochemical structures, functions and biosynthesis allowed to develop innovative and sustainable control strategies of insect pests and also to understand important aspects of their biology. In this review, the research steps and main analytical techniques used to identify semiochemicals are described. Moreover, some practical applications of semiochemicals that have become important components of IPM strategies are presented in the context of Directive 128/2009 EC on the sustainable use of plant protection products (PPPs).

BIBLIOGRAFIA

- ANFORA G., BALDESSARI M., DE CRISTOFARO A., GERMINARA G.S., IORIATTI C., REGGIORI F., VITAGLIANO S. ANGELI G. (2008): *Control of Lobesia botrana (Lepidoptera: Tortricidae) by biodegradable Ecodian sex pheromone dispensers*, «Journal of Economic Entomology», 101, pp. 444-450.
- BAUMANN H. (1974a): *The isolation, partial characterization, and biosynthesis of paragonial substances PS-1 and PS-2, of Drosophila funebris*, «Journal of Insect Physiology», 20, pp. 2181-2194.
- BAUMANN H. (1974b): *Biological effects of paragonial substances PS-1 and PS-2, in females of Drosophila funebris*, «Journal of Insect Physiology», 20, pp. 2347-2362.
- BROWN W.L., EISNER T., WHITTAKER R.H. (1970): *Allomones and kairomones: transpecific chemical messengers*, «BioScience», 20, pp. 21-22.
- BROWER, L.P., BROWER J.V. Z., CRANSTON F.P. (1965): *Courtship Behaviour of the queen butterfly, Danaus gilippus berenice (Cramer)*, «Zoologica», 50, pp. 1-39.
- BUTENANDT A., BECKMANN R., STAMM D., HECKER E. (1959): *Über den sexual-lockstoff des seidenspinners Bombyx mori*, «Reindarstellung und konstitutionsermittlung, Zeitschrift für Naturforschung», 14, pp. 283-284.
- BUTLER C.G. (1961): *The scent of queen honey bees (Apis mellifera) that causes partial inhibition of queen rearing*, «Journal of Insect Physiology», 15, pp. 237-244.
- CANALE A., GERMINARA G.S., CARPITA A., BENELLI G., BONSIGNORI G., STEFANINI C., RASPI A., ROTUNDO G. (2015): *Behavioural and electrophysiological responses of the olive fruit fly, Bactrocera oleae (Rossi) (Diptera: Tephritidae), to male- and female-borne sex attractants*, «Chemoeology», 25, pp. 147-157.
- CELLI G., MAINI S. (1988): *Lotta biologica integrata in agricoltura*, Cestaat, Ministero Agricoltura e Foreste, S.E.P.E., Roma, pp. 196.
- CHAMBERS D.L. (1977): *Attractants for fruit fly survey and control*, in *Chemical control of insect behavior*, in H.H. Shorey & J.J. Mckelvey jr Ed., J. Wiley N.Y., pp. 327-344.
- DICKE M., MINKENBERG O.P.J.M. (1991): *Role of volatile infochemicals in foraging behaviour of the leafminer parasitoid Daenusa sibirica (Diptera: Agromizidae)*, «Journal of Natural History», 33, pp. 1089-1105.
- DICKE M., SABELIS M.W. (1992): *Cost and benefits of chemical information conveyance: proximate and ultimate factors*, in *Insect Chemical Ecology*, Chapman & Hall, New York and London, pp. 122-155.
- EL-SAYED A.M. (2014): *The Pherobase: Database of Insect Pheromones and Semiochemicals*. <<http://www.pherobase.com>>.

- EL-SAYED A.M., SUCKLING D.M., WEARING C.H., BYERS J.A. (2006): *Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species*, «Journal of Economic Entomology», 99, pp. 1550-1564.
- FABRE' J.H. (1911): *Social life in the insect world*, Harmondsworth, UK, Penguin.
- FINN W.E., PAYNE T.L. (1977): *Attraction of Greater Wax Moth females to male-produced pheromones*, «Southwest Entomology», 2, pp. 62-65
- GERMINARA G.S., ELGARGOTI A., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G. (2007): *Female sex pheromone of Sesamia cretica: chemical and behavioural evidence for a three-component blend*, «Entomologia Experimentalis et applicata», 124, pp. 213-219.
- GINZEL M.D., BLOMQUIST G.J., MILLAR J.G., HANKS L.M. (2003): *Role of contact pheromones in mate recognition in Xylotrechus colonus*, «Journal of Chemical Ecology», 29, pp. 533-545.
- GROOT A. T., INGLIS O., BOWDRIDGE S., SANTANGELO R. G., BLANCO C., LOPEZ J. D., VARGAS A. T. GOULD F., SCHAL C. (2009): *Geographic and temporal variation in moth chemical communication*, «Evolution», 63, pp. 1987-2003.
- HENDRY L.B., GREANY P.D., GILL R.J. (1973): *Kairomone mediated host-finding behavior in parasitic Wasp Orgilus lepidus*, «Entomologia Experimentalis et applicata», 16, pp. 471-477.
- JEANNE R.L. (1970): *Chemical defense of brood by a social Wasp*, «Science», 168, pp. 1465-1466.
- KARSON P., LÜSCHER M. (1959): *Pheromones: a new term for a class of biologically active substances*, «Nature», 183, pp. 55-56.
- KLUN J.A., I.W.G.O. COOPERATORS (1975): *Insect sex pheromones: intraspecific pheromonal variability of Ostrinia nubilalis in North America and Europe*, «Environmental Entomology», 4, pp. 891-894.
- KOENE J.M., TER MAAT A. (2001): *Allohormone: a class of bioactive substances favoured by sexual selection*, «Journal of Comparative Physiology, Part A», 187, pp. 323-326.
- LEOPOLD R.A., TERRANOVA A.C., SWILLEY E.M. (1971a): *Mating refusal in Musca domestica: effects of repeated mating and decerebration upon frequency and duration of copulation*, «Journal of Experimental Zoology», 176, pp. 353-360.
- LEOPOLD R.A., TERRANOVA A.C., THORSON B.J., DEGRUGILLIER M.E. (1971b): *The biosynthesis of the male housefly accessory secretion and its fate in the mated female*, «Journal of Insect Physiology», 17, pp. 987-1003.
- LIGHT D.M., KNIGHT A.L., HENRICK C.A., RAJAPASKA D., LINGREN B., DICKENS J.C., REYNOLDS K.M., BUTTERY R.G., MERRIL G., ROITMAN J., CAMPBELL B.C. (2001): *Ethyl (2E, 4Z)-2,4-decadienoate: a pear-derived kairomone with pheromonal potency that attracts male and female codling moth, Cydia pomonella (L.)*, «Naturwissenschaften», 88, pp. 333-338.
- MILLER J.R., GUT L.J., DE LAME F.M., STELINSKI L.L. (2006 a): *Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (Part 1): theory*, «Journal of Chemical Ecology», 32, pp. 2089-2114.
- MILLER J.R., GUT L.J., DE LAME F.M., STELINSKI L.L. (2006 b): *Differentiation of competitive vs. non-competitive mechanisms mediating disruption of moth sexual communication by point sources of sex pheromone (Part 2): case studies*, «Journal of Chemical Ecology», 32, pp. 2115-2143.
- NORDLUND, D.A., LEWIS, W.J. (1976): *Terminology of chemical releasing stimuli in intra-specific and interspecific interactions*, «Journal of Chemical Ecology», 2, pp. 211-220.

- OHINATA K., JACOBSON M., NAKAGAWA S., FUJIMOTO M., HIGA H. (1977): *Mediterranean fruit fly: laboratory and field evaluation of synthetic sex pheromone*, «Journal of Environmental Science and Health - Part A Environmental Science and Engineering», 12, pp. 67-78.
- PARDI L., TURILLAZZI S. (1985): *Biologia delle Stenogastrinae*, «Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti», 30-32, pp. 25-43.
- PETITT F.L., TURLINGS T.C.J., WOLF S.P. (1992): *Adult experience modifies attraction of the leafminer parasitoid Opius dissitus (Hymenoptera: Braconidae) to volatile semiochemicals*, «Journal of Insect Behavior», 5, pp. 623-634.
- PHILLIPS T.W., THRONE J.E. (2010): *Biorational approaches to managing stored-product insects*, «Annual Review of Entomology», 55, pp. 375-397.
- REGNIER F.E., WILSON E.O. (1971): *Chemical communication and «propaganda» in slave-maker ants*, «Science», 172, pp. 267-269.
- RIEMANN J.G., MOEN D.J., THORSON B.J. (1967): *Female monogamy and its control in houseflies*, «Journal of Insect Physiology», 13, pp. 407-418.
- ROTUNDO G., GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A. (2001): *Sex pheromone extraction methods from individual females of Lepidoptera Sesamia nonagrioides (Lefèbvre) (Lep.: Noctuidae)] by solid-phase microextraction*, «Redia», 84, pp. 7-18.
- SCHMIDT S., ANFORA G., IORIATTI C., GERMINARA G.S., ROTUNDO G., DE CRISTOFARO A. (2007): *Biological activity of ethyl (E,Z)-2,4-decadienoate on different tortricid species: electrophysiological responses and field tests*, «Environmental Entomology», 36, pp. 1025-1031.
- SILVERSTEIN R.M. (1977): *Complexity, diversity, and specificity of behavior-modifying chemicals: axamples mainly from Coleoptera and Hymenoptera*, in *Chemical control of insect behaviour. Theory and application*, ed. H.H. Shorey e J.J.J. Mckelvey, Plenum Press, New York, pp. 231-251.
- UEBEL E.C., SONNET P.E., MILLER R.W., BEROZA M. (1975): *Sex pheromone of the face fly, Musca autumnalis De Geer (Diptera: Muscidae)*, «Journal of Chemical Ecology», 1, pp. 195-202.
- WHITTAKER R.H., FEENY P. (1971): *Allelochemicals: chemical interactions between species*, «Science», 171, pp. 757.
- WILSON E.O., BOSSERT W.H. (1963): *Chemical communication among animals, recent progress*, «Hormone Research», 19, pp. 673-716.
- WITZGALL P., KIRSCH P., CORK A. (2010): *Sex pheromones and their Impact on pest management*, «Journal of Chemical Ecology», 36, pp. 80-100.

