

ROBERTO OBERTI*

Tecnologie innovative per il monitoraggio automatico delle popolazioni di insetti fitofagi

Signor Presidente, Signori Georgofili, Signore e Signori,

è un onore e motivo di grande emozione potervi presentare, in una sede così carica di prestigio, di scienza e di storia, alcuni risultati delle ricerche che con i miei colleghi conduciamo al Dipartimento di Ingegneria Agraria, sotto la guida di Maestri di questa disciplina.

INTRODUZIONE

Lo sviluppo di metodi e tecnologie capaci di garantire una più accurata distribuzione dei prodotti fitoprotettivi costituisce da più di due decenni un fondamentale argomento di ricerca e innovazione nel settore dell'ingegneria agraria.

Obiettivo generale di tali ricerche è di contribuire ad aumentare significativamente l'efficacia dei trattamenti, soprattutto mediante applicazioni meglio mirate sul bersaglio; ottenendo con ciò evidenti benefici sia ambientali, grazie alla riduzione della frazione di fitofarmaci inutilmente e dannosamente dispersa nell'ambiente, sia di costo, grazie alla potenziale diminuzione del numero di trattamenti necessari alla protezione delle colture.

I risultati di tali sforzi innovativi diventano evidenti quando si considera la straordinaria evoluzione che ha interessato le macchine preposte alla distribuzione dei fitofarmaci in campo. Nel corso di questi anni, infatti, i costruttori hanno dotato irroratrici e atomizzatori con dispositivi in grado di garantire l'omogeneità di distribuzione della dose desiderata di miscela fitoterapica; con ugelli e dispositivi idraulici e pneumatici che migliorano il raggiungimento della coltura e la pene-

* *Dipartimento di Ingegneria Agraria, Università degli Studi di Milano*

trazione della coltre fogliare, minimizzando la deriva del getto nebulizzato; con sensori e sistemi di controllo automatici che, senza rallentare lo svolgimento del lavoro, permettono un'immediata e continua regolazione dei parametri operativi o di mantenere la perfetta sovrapposizione delle passate in campo; fino a giungere ai più recenti sistemi in grado di modulare automaticamente il fitofarmaco impiegato e la dose distribuita secondo i dati contenuti in mappe prescrittive, preventivamente elaborate in funzione dei fabbisogni specifici delle colture nelle diverse zone degli appezzamenti. Seguendo, cioè, i principi cardine dell'agricoltura di precisione: distribuire *dove*, *quando* e, nei casi possibili, *quanto* necessario.

Indubbiamente, il maggiore impulso a questa evoluzione è venuto dagli enormi sviluppi che elettronica e informatica hanno avuto in questo stesso arco di tempo, permettendo applicazioni sempre più sofisticate e affidabili, a fronte di costi via via più sostenibili per il settore meccanico-agrario.

Il grado di sviluppo raggiunto oggi, permette a queste stesse tecnologie elettroniche e informatiche di potere contribuire in modo decisivo allo sviluppo e ottimizzazione di metodi di difesa non convenzionali, quali quelli basati sui *semiochimici*, ampiamente trattati nella precedente comunicazione. Si tratta, come visto, di tecniche complementari alla distribuzione di fitofarmaci, specie nella lotta contro i fitofagi, che impiegando prodotti di sintesi per interferire con il naturale comportamento degli insetti, si prospettano come promettenti sistemi di difesa, capaci di ridurre fortemente le dosi di principi attivi usualmente impiegate nei trattamenti insetticidi su colture arboree od orticole.

Sebbene l'impiego di semiochimici rappresenti una notevolissima opportunità di innovazione nelle strategie di difesa dai fitofagi – e che, in casi specifici, abbia già trovato applicazioni pratiche –, vi è un generale accordo sul fatto che siano tuttora necessarie maggiori conoscenze sui dettagli dell'interazione semiochimico-insetto, specie riguardo ai fattori che in condizioni reali –ossia di campo aperto– interferiscono con questi meccanismi. Esiste, cioè, la necessità di disporre di strumenti e metodi di analisi che consentano un più accurato e costante monitoraggio delle risposte dell'insetto bersaglio agli stimoli semiochimici, al fine di migliorarne formulati, protocolli di uso e tecnologie di distribuzione, rimuovendo i fattori che nelle applicazioni pratiche ne limitano l'efficacia fitoprotettiva.

MONITORAGGIO COMPORTAMENTALE E MONITORAGGIO DELLE POPOLAZIONI DI INSETTI

Fino dagli albori degli studi entomologici, e in particolare delle loro applicazioni agrarie, l'osservazione e l'analisi delle risposte degli insetti agli stimoli

ambientali, chimici e fisici, ha costituito la base di conoscenza fondamentale per la messa a punto di pratiche di difesa delle colture dai fitofagi.

Relativamente a questo ambito scientifico, il termine monitoraggio si può sostanzialmente riferire all'acquisizione di due distinte tipologie di dati riferite, da un lato, ai comportamenti individuali degli insetti studiati e, dall'altro, alla dinamica temporale delle loro popolazioni.

Le informazioni raccolte nei due ambiti sono, ovviamente, complementari e concorrono insieme a fornire gli elementi necessari per lo sviluppo e l'ottimizzazione di mezzi di difesa efficaci. Tuttavia, il *monitoraggio comportamentale* risulta più strettamente connesso alle fasi di messa a punto di tali mezzi, mirando a identificare: le modalità di contaminazione con un formulato insetticida o la probabilità di contagio e disseminazione fra individui; la capacità di attrazione di un semiochimico e la definizione delle dosi ottimali o delle modalità di distribuzione; l'intensità con cui un formulato interferisce con comportamenti dannosi per le colture ecc.

Al *monitoraggio delle popolazioni* è, invece, affidato un compito di verifica dell'efficacia della strategia di difesa adottata che permette di identificarne punti deboli e di intraprendere opportune azioni correttive. Tale tipo di osservazioni trova, inoltre, diffusissime applicazioni gestionali nelle aziende agricole, costituendo un metodo ormai routinario per riconoscere precocemente l'insorgere di infestazioni di fitofagi e per programmare in modo tempestivo i trattamenti fitoprotettivi.

Tradizionalmente, le attività di monitoraggio vengono condotte con la tecnica più ovvia e semplice, ossia mediante osservazioni visuali. Si tratta di un'attività evidentemente onerosa e faticosa, che richiede personale adeguatamente preparato e che presenta forti limiti di durata dei rilievi e di garanzia nella ripetibilità dei dati acquisiti.

In genere, i rilievi comportamentali vengono condotti in laboratorio, all'interno di un'arena sperimentale di dimensioni limitate nella quale si simula al meglio l'ambiente di campo corrispondente alle condizioni operative che interessano – ad esempio, in presenza di una determinata sorgente di semiochimici –. Durante le osservazioni, l'operatore registra i comportamenti dell'insetto, codificandoli opportunamente, e dall'analisi dei dati ottenuti identifica e quantifica eventuali risposte che appaiano significative.

Risultano del tutto evidenti le enormi difficoltà a svolgere questo tipo di osservazioni in parcelle sperimentali poste in campo aperto e, ancor più, quando risulti necessario considerare le ore crepuscolari, o addirittura notturne, che numerose specie di fitofagi prediligono per la loro attività.

Il monitoraggio della dinamica delle popolazioni si basa invece sull'ispe-

zione, più o meno frequente, di dispositivi adesivi di cattura o conformati in modo da intrappolare l'insetto una volta che sia entrato, spesso associati a sorgenti attrattive di tipo semiochimico o alimentare o, più semplicemente, cromatico. All'operatore, in questo caso, è richiesto di contare gli esemplari catturati dalla trappola, stimando così l'evoluzione temporale della popolazione fitofaga nel sito di monitoraggio. Anche qui risultano evidenti i limiti operativi che insorgono quando si perseguano obiettivi non meramente indicativi: la risoluzione temporale dei dati rilevati, ossia la frequenza delle osservazioni, e la loro risoluzione spaziale, ossia il numero di dispositivi di cattura per unità di superficie monitorata, definiscono in modo fattoriale la quantità di osservazioni richieste agli operatori.

Queste importanti limitazioni applicative hanno spinto la ricerca di soluzioni tecnologiche in grado di agevolare le attività di monitoraggio sia in ambito comportamentale, sia di dinamica delle popolazioni.

TECNOLOGIE PER IL MONITORAGGIO COMPORTAMENTALE DEGLI INSETTI

L'applicazione di sensori e di sistemi di acquisizione di dati in esperimenti di monitoraggio comportamentale degli insetti risale al termine degli anni '70 del secolo scorso e hanno avuto come obiettivo generale quello di registrare la traiettoria dei movimenti all'interno di un'arena sperimentale di laboratorio. Nel caso di insetti atteri –ossia *camminatori*– sono state proposte soluzioni diversificate, tra cui: la misura di variazioni delle proprietà elettriche della base dell'arena sperimentale dovute, appunto, “all'impronta” dell'insetto studiato, quali a esempio la capacità (Chabora e Shukis, 1979) o la resistenza (Wheater, 1988), oppure il rilievo di vibrazioni trasmesse alle pareti dell'arena stessa (Leppla et al., 1979; Racette et al., 1990).

Ovviamente più complesso è il problema di rilevare le traiettorie di volo e per la sua soluzione sono stati sviluppati sistemi assai sofisticati e brillanti dal punto di vista fisico, come la misura della variazione nell'intensità di onde ultrasoniche stazionarie (Luff et al., 1979; Johnson et al., 1986) o l'interruzione di fasci luminosi proiettati all'interno nel volume studiato (Eaton, 1980; Kaneko et al., 1995).

È, tuttavia, l'introduzione di sistemi di videoregistrazione a imprimere un impulso decisivo alle tecniche di monitoraggio comportamentale. Dapprima utilizzate a supporto di osservazioni visuali per evidenziare particolari dettagli o per ripetere l'analisi delle scene registrate, dalla metà degli '80 le immagini cominciano a essere digitalizzate – ossia, convertite in formato numerico da

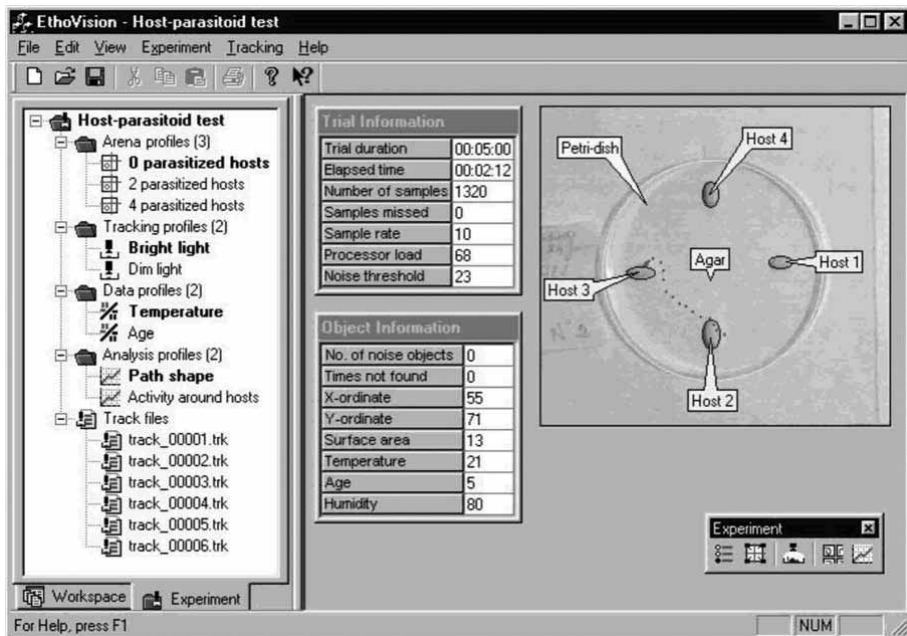


Fig. 1 Oggi il mercato offre diversi modelli di sistemi di imaging che permettono l'acquisizione e l'analisi automatica delle traiettorie degli insetti in studi comportamentali condotti in laboratorio

circuiti elettronici specializzati – così da potere essere analizzate da computer e fornire automaticamente dati relativi alla traiettorie dell'insetto. Ai lavori pionieristici condotti nel Regno Unito e Stati Uniti (Godden e Graham, 1983; David et al., 1983; Hoy et al., 1983) segue una rapida diffusione di tali sistemi nei laboratori entomologici e, da qualche anno, se ne dispongono diversi modelli commerciali (fig. 1).

La possibilità di ampliare il volume monitorato, sempre in condizioni di laboratorio, è stato affrontato da Fry e al. (2000) che hanno introdotto un sistema robotizzato per seguire le traiettorie tridimensionali di volo, agendo direttamente sui movimenti della telecamera e sulla focale dell'ottica. Questo tipo di approccio, ancora oggetto di ricerche finalizzate alla sua ottimizzazione, fornendo immagini ad alta risoluzione durante l'intera durata del volo, consente di monitorare specifici atteggiamenti comportamentali (sessuali, sociali, di alimentazione ecc.) identificabili dalla posizione assunta dalle diverse parti del corpo dell'insetto.

In termini generali, la caratteristica più notevole di questi sistemi di ac-

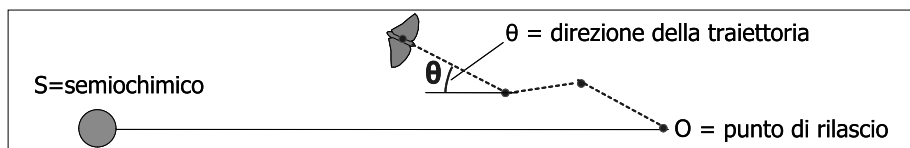


Fig. 2 La risposta di un insetto a uno stimolo proveniente da una sorgente semiochimica può essere studiata caratterizzando i suoi movimenti mediante la successione degli angoli θ di direzione della traiettoria

quisizione e analisi di immagini, spesso indicati come sistemi di *imaging*, è la possibilità di ottenere indici numerici descrittivi delle traiettorie dell'insetto (quali direzione, velocità, massima prossimità al bersaglio ecc.) mantenute nel corso di misure che possono avere una durata virtualmente illimitata. Tali indici, infatti, permettono non solo di caratterizzare qualitativamente un determinato comportamento, ma anche di quantificare l'intensità con cui esso si manifesta e, quindi, di confrontare le risposte ottenute nelle diverse condizioni sperimentate.

A differenza dei rilievi visuali che possono essere significativamente influenzati da fattori soggettivi, quali sensibilità e competenza dell'osservatore, stanchezza ecc., si viene, così, a disporre di un *sistema di misura* capace di acquisire dati ripetibili e confrontabili anche a distanza di tempo.

La risposta a una sorgente semiochimica attrattiva può essere caratterizzata quantitativamente analizzando, a esempio, l'orientamento della traiettoria mantenuta da diversi individui in una serie di ripetizioni sperimentali. Un parametro utile a questo scopo, e facilmente ottenibile mediante un'analisi numerica delle traiettorie, è la distribuzione statistica della direzione di volo, definita come l'angolo sotteso da ciascun segmento che compone la traiettoria e la congiungente tra il punto di rilascio O e la posizione del semiochimico S (fig. 2).

In base a queste definizioni, una risposta indifferente all'attrattivo, corrispondente a un volo non orientato, non mostrerà alcuna direzione preferenziale nella distribuzione statistica di tale parametro (fig. 3A). Al contrario, nel caso di una risposta positiva al semiochimico, la distribuzione statistica delle direzioni della traiettoria mostrerà un massimo attorno alla congiungente O-S, ossia attorno all'angolo $\theta=0$ (fig. 3C). Tali caratteristiche delle curve di distribuzione possono essere espresse univocamente da indici numerici che, dunque, rappresentano una vera e propria misura del comportamento rilevato.

Nonostante la vasta diffusione che i sistemi di *imaging* hanno avuto in laboratorio, le loro applicazioni in campo aperto sono state davvero episodiche.

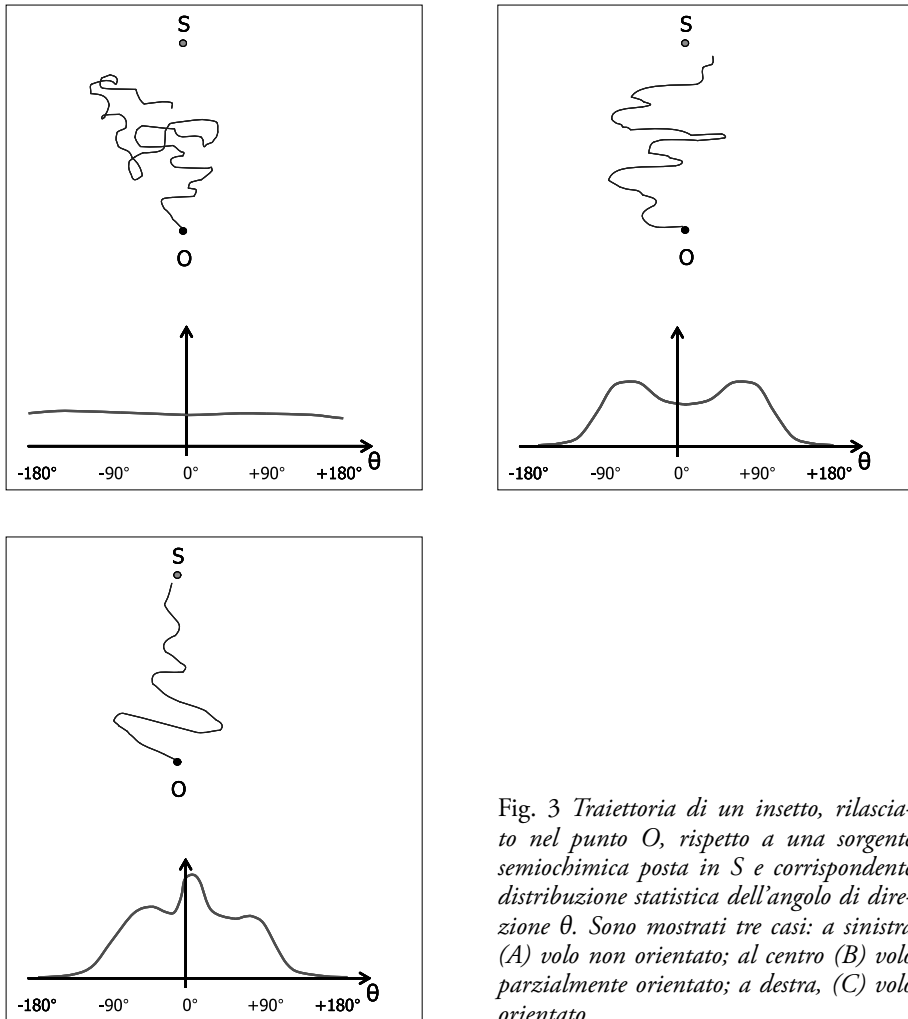


Fig. 3 *Traiettoria di un insetto, rilasciato nel punto O, rispetto a una sorgente semiochimica posta in S e corrispondente distribuzione statistica dell'angolo di direzione θ . Sono mostrati tre casi: a sinistra (A) volo non orientato; al centro (B) volo parzialmente orientato; a destra, (C) volo orientato.*

Ciò è essenzialmente dovuto a una serie di limiti intrinseci a questa tecnica, fra i quali: la limitata risoluzione spaziale delle immagini che pregiudica la possibilità di riconoscere il comportamento degli insetti quando si desidera disporre di un ampio campo di visione; la difficoltà di identificare l'insetto su uno sfondo naturale; la necessità di illuminare la scena sperimentale nel caso di monitoraggio di insetti ad attività crepuscolare o notturna.

Risultano, perciò, di particolare valore scientifico le applicazioni pioneristiche di Voss e Ziel (1995) e di Vickers e Becker (1997). I primi autori hanno sviluppato un complesso sistema di identificazione automatica applicato allo



Fig. 4 *L'uso di transponder RFID miniaturizzati permette di seguire contemporaneamente le traiettorie di più individui in campo*

studio del volo di vespe e api in prossimità del nido che, comunque, richiedeva un intervento manuale dell'operatore per classificare i frequenti casi di scene non univocamente interpretate dal sistema. Vickers e Becker hanno invece condotto rilievi in pieno campo su *Heliotis virescens* –non a caso un fitofago di dimensioni relativamente grandi– montando una telecamera su una pedana soprelevata e illuminando artificialmente un'area di 3 m x 3 m. Lo studio mirava ad analizzare il comportamento dell'insetto durante l'avvicinamento a sorgenti feromoniche caricate con differenti dosaggi e le traiettorie sono state ricostruite riproducendo su uno schermo ciascun fotogramma videoregistrato e riportando manualmente (!) le posizioni dell'insetto su fogli trasparenti sovrapposti all'immagine proiettata.

A causa delle limitazioni incontrate dai metodi di *imaging* nell'identificare gli insetti bersaglio in condizioni di campo, si è fatto ricorso anche a tecniche di marcatura. A questi fini sono stati impiegati coloranti fluorescenti o piccoli dispositivi riflettenti (Zanen e Cardé, 1999) applicati al corpo degli individui rilasciati durante i rilievi.

Recentemente, sono state introdotte a tali fini anche “etichette elettroniche” che, applicate al corpo degli insetti, possono essere rilevate da apposite antenne ricetrasmittenti. Si tratta, in generale, di circuiti passivi – che, cioè,

non richiedono alimentazione elettrica – i quali, ricevendo un impulso elettromagnetico dall'antenna scanner, si caricano per induzione e riemettono, a loro volta, un impulso corrispondente a un codice identificativo univoco rilevato dallo scanner stesso, quando l'insetto si trova nel raggio di azione. L'uso di questi *transponder* (transmitting-responder) RFID (radio frequency identification) in studi di monitoraggio comportamentale di insetti è reso possibile dall'estremo livello di miniaturizzazione raggiunto in tale settore e, oggi, sono disponibili *transponder* con masse dell'ordine di decine di milligrammi, compatibili con le capacità di volo di insetti di medie dimensioni (fig. 4). Sebbene essi consentano, in linea di principio, di seguire contemporaneamente le traiettorie di un numero anche elevato di individui, si deve considerare che il raggio di azione di questi sistemi è limitato a poche decine di centimetri e che, quindi, la parcella sperimentale deve essere coperta da una fitta rete di antenne scanner. Nel caso di utilizzo di tecniche radar, che richiedono strumentazioni con ordini di costo enormemente superiori, il raggio di azione di tali *transponder* può fino salire a centinaia di metri (Riley e Smith, 2002).

TECNOLOGIE PER IL MONITORAGGIO DELLE POPOLAZIONI DI INSETTI

Le prime attività sistematiche di monitoraggio dell'evoluzione delle popolazioni di insetti furono condotte in circoscritti ambiti territoriali fin dalla seconda metà del XIX secolo, utilizzando dispositivi di cattura – progenitori delle attuali trappole – che permettevano di conteggiare un campione di individui, assunto come rappresentativo della popolazione di insetti residente nei dintorni del sito di cattura.

I primi risultati ottenuti evidenziarono presto come per comprendere le dinamiche registrate localmente nelle diverse stagioni, fosse necessario allargare la scala spaziale dei rilievi. Questo concetto di *rete di monitoraggio* si sviluppò soprattutto nel Regno Unito, dove a Rothamsted venne installato nel 1933 il primo nucleo costitutivo di una rete nazionale di trappole luminose (fig. 5A) per la cattura e il monitoraggio di diverse popolazioni entomologiche (Harrington e Woiwod, 2007). Su questo modello, durante gli anni '60 del secolo scorso, venne istituita una rete di trappole ad aspirazione per il monitoraggio delle popolazioni di insetti che si spostano nei primissimi strati dell'atmosfera, a quote di 10-20 m dal terreno (fig. 5B).

I dati raccolti con questo tipo di torri a suzione si sono dimostrati di notevole utilità fitoprotettiva, soprattutto nelle strategie di lotta contro gli afidi,



Fig. 5 *Trappola luminosa (sinistra) e torre di aspirazione (destra) installate presso il centro di ricerche di Rothamsted (Harpenden, GB). Entrambi i dispositivi sono parte di una rete europea di monitoraggio delle popolazioni di insetti*

tanto che la UE negli anni scorsi ha supportato con il progetto EXAMINE (EXploitation of Aphid Monitoring systems IN Europe) la costituzione di una rete europea, oggi diffusasi in sedici Paesi. Il centro di coordinamento di tali stazioni dirama settimanalmente un bollettino entomologico sulla cui base numerosi osservatori fitopatologici europei determinano i calendari dei trattamenti aficidi.

È importante rilevare che nei due esempi citati la valutazione delle entità delle diverse popolazioni catturate è basata sull'osservazione visuale dei campioni raccolti, condotta secondo protocolli definiti. Il contributo dato dalle tecnologie innovative, qui, consiste soprattutto nel ruolo fondamentale che sistemi informatici e di comunicazione giocano nella trasmissione, gestione e analisi della enorme mole di dati che tali reti di monitoraggio producono. Senza addentrarsi nei dettagli tecnici legati a tali applicazioni delle cosiddette ICT (*information and communication technologies*), si vuole comunque sottolineare come esse costituiscano l'ossatura fondamentale – la cui funzione, spesso, è data per scontata – di ogni sistema distribuito di misura e di elaborazione di dati.

Non mancano, tuttavia, esempi di applicazioni tecnologiche più propriamente dirette al rilevamento e alla quantificazione degli insetti che popolano una determinata area. Il caso più notevole e classico è certamente quello dei sistemi radar che, da ormai un cinquantennio, costituiscono il solo strumento in grado di monitorare la presenza di sciame di insetti negli strati bassi

dell'atmosfera, a quote di centinaia di metri dal terreno. I successi ottenuti con questa tecnica hanno dato vita a una vera e propria branca specialistica di studio: l'*entomologia radar*.

Alla base delle tecniche radar (*radio detection and ranging*) è l'uso di antenne ricetrasmittenti che emettono un sottile fascio elettromagnetico in forma di impulsi radio che, grazie a un meccanismo rotante su cui l'antenna è montata, scandaglia lo spazio circostante. Gli insetti, con dimensioni superiori a una determinata soglia, che vengono intercettati dal fascio riflettono parte delle onde verso l'antenna che può, così, rilevarne la presenza e la posizione. Nelle versioni più moderne, e più specificamente progettate per osservazioni entomologiche, l'antenna rimane fissa, mentre vengono fatte variare in modo controllato le caratteristiche elettromagnetiche delle onde emesse. Con queste configurazioni, analizzando le proprietà dei segnali di eco, è possibile stimare le dimensioni, la densità spaziale e la velocità degli insetti presenti nel raggio di circa 1 km dalla stazione di rilevamento (Riley, 1989; Drake et al., 2002).

Per applicazioni simili, è stato anche considerato l'impiego di fasci di onde sonore per rilevare sciami di insetti mediante sistemi sodar (*sound detection and ranging*), ma con risultati di gran lunga inferiori a quelli ottenuti dall'entomologia radar. Molto più promettente appare l'utilizzo di tecniche acustiche per rilevare la presenza di insetti, sia identificandone la specie di appartenenza, sia quantificandone l'infestazione, mediante lo studio delle proprietà fisiche dei suoni emessi dalla loro attività. Tuttavia, le applicazioni di queste tecniche in campo aperto pongono una serie di problemi tecnici che attualmente precludono il raggiungimento dei risultati conseguiti in ambienti confinati (Mankin et al., 2000; Chesmore e Ohya, 2004; Baker et al., 2005; Mankin et al., 2008).

Sebbene costituiscano uno strumento di formidabile valore per applicazioni entomologiche, è evidente come i sistemi radar, per costo e complessità di gestione, risultano adatti a soli ambiti di monitoraggio su ampia scala spaziale come, a esempio, nel caso delle migrazioni. L'introduzione su scala diffusa di sistemi automatici per il monitoraggio delle popolazioni di fitofagi pone, infatti, stringenti vincoli di costo alle tecnologie che devono essere impiegate. Sono queste le ragioni che hanno indirizzato le più recenti ricerche del settore verso l'impiego di sistemi *optoelettronici*, ossia di sensori ottici integrati con circuiti elettronici dotati di capacità logica o computazionale.

Si tratta di sistemi che, ancora, incontrano le limitazioni applicative precedentemente citate, la principale delle quali è costituita dal volume limitato entro cui possono rilevare la presenza di un insetto. Per questo motivo fonda-

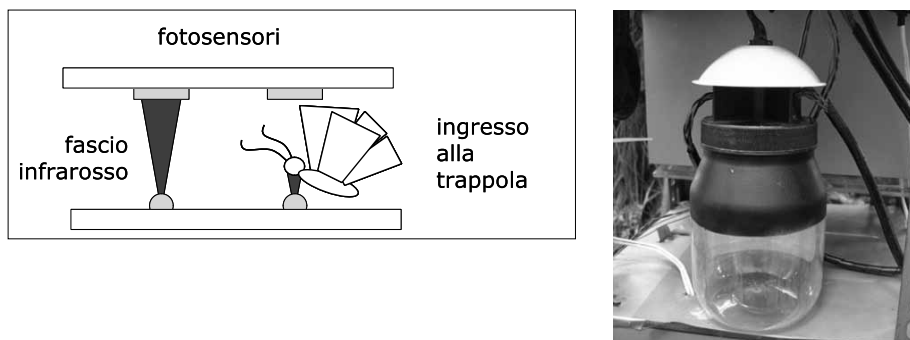


Fig. 6 Sistema optoelettronico per il conteggio automatico degli ingressi in una trappola a cattura contenente un semiochimico attrattivo per il fitofago bersaglio; a destra, il sistema installato in campo per il monitoraggio di popolazioni di *Bactrocera dorsalis* (Jiang et al., 2008)

mentale le soluzioni sviluppate sulla base di queste tecnologie risultano associate a sorgenti semiochimiche o ad altri attrattivi che favoriscano il passaggio di individui della specie oggetto nelle limitate regioni di spazio monitorate.

Ne sono un esempio le unità automatiche di monitoraggio recentemente presentate dalla NASA (Vann et al., 2005) e dall'Università di Taiwan (Jiang et al., 2008). Il primo sistema, che riprende e sviluppa una precedente idea (Moore et al., 1986), si basa sull'attrazione feromonica degli insetti in un contenitore sferico con una superficie interna altamente riflettente, dentro il quale è proiettata in maniera omogenea una luce infrarossa. In corrispondenza di un ingresso, il battito delle ali interferisce con la distribuzione isotropica di luce. Tali alterazioni della radiazione luminosa di fondo vengono registrate da sensori fotoelettrici e analizzate in tempo reale che, determinandone le frequenze caratteristiche, permettono di riconoscere le specie di appartenenza dell'insetto catturato.

Anche il secondo sistema impiega un sensore ottico che, in questo caso, è posto all'ingresso di una classica trappola a cattura contenente una soluzione attrattiva per il fitofago bersaglio (fig. 6). L'accesso alla trappola è conformato in modo tale che, entrando, l'insetto interrompa un fascio di luce infrarossa emesso da LED e rilevato da una coppia di fotodiodi. L'utilizzo di un doppio sensore consente di distinguere gli ingressi effettivi da eventuali avvicinamenti o fughe dalla trappola, grazie all'ordine temporale con cui i fasci vengono interrotti. Un semplice microcontrollore provvede al conteggio progressivo degli eventi rilevati dai sensori e un modem, collegato alla rete telefonica mobile GSM, permette l'interrogazione remota del sistema e la ricezione dei dati registrati dall'unità. La selettività della misura, ossia il fatto di conteggiare individui della sola specie bersaglio, è qui correlata alla specificità attrattiva del semiochimico utilizzato.

Si può notare come entrambe le soluzioni proposte non costituiscano un'innovazione in sé: strumenti simili, già citati nei paragrafi precedenti, sono stati proposti negli anni scorsi per applicazioni di laboratorio. In questo caso – oltre alle ovvie miglierie di prestazioni e ai costi incomparabilmente più bassi che in passato – è il contesto tecnologico a offrire nuove opportunità applicative: la connettività remota, grazie all'impiego di tecnologie di comunicazione come la rete GSM, ne prefigura le potenzialità di un impiego diffuso, a formare reti di monitoraggio distribuite a presidio di comprensori aziendali o territoriali.

Considerazioni analoghe possono essere fatte anche in relazione ad applicazioni di tecniche di *imaging* per la valutazione automatica delle catture. Le prime sperimentazioni condotte (Lukáš e Stejskal, 2003; Cho et al., 2007), che in verità hanno fornito risultati di interesse applicativo assai limitato, hanno mirato a definire opportuni algoritmi di analisi di immagine per l'identificazione e il conteggio automatico degli insetti catturati da una trappola adesiva.

Sebbene il lavoro di queste ricerche, incentrato su aspetti metodologici di analisi dei dati, non affronti il problema tecnico di acquisire automaticamente le immagini dalle trappole in campo, esso apre scenari indubbiamente interessanti. Si possono, infatti, prefigurare sistemi di acquisizione di immagini collegati alla rete telefonica mobile e derivati dalla tecnologia dei cosiddetti videofonini attuali, che vengono impiegati per monitorare la superficie adesiva delle trappole a cattura distribuite negli appezzamenti. Ciascuna di queste unità può essere interrogata remotamente da un computer centrale e inviare, a intervalli predefiniti, un'immagine dello stato di ciascuna trappola monitorata. Il software che analizza le immagini ricevute, residente nel computer centrale, può dunque fornire una quadro di insieme della dinamica delle popolazioni fitofaghe monitorate dalla rete di unità nell'intera area interessata.

UN CASO DI STUDIO: UNITÀ AUTOMATICHE DI CAMPO PER IL MONITORAGGIO DI STAZIONI AD ATTRAZIONE FEROMONICA

In questo quadro generale, il Dipartimento di Ingegneria Agraria di Milano ha avviato alcuni anni fa un lavoro di ricerca volto a studiare la fattibilità di una rete di monitoraggio per fitofagi di particolare rilievo nazionale, lavorando direttamente allo sviluppo di unità automatiche di campo associate a stazioni di attrazione feromonica.



Fig. 7 Prototipo dell'unità di monitoraggio automatica installata in meeto per prove di attrazione su *Cydia pomonella* e, a destra, dettaglio del sistema di acquisizione e di illuminazione a infrarossi

La ricerca ha inteso indagare, in primo luogo, la possibilità di sviluppare a costi sostenibili dei sistemi automatici e autonomi – cioè, capaci di operare in un appezzamento agricolo qualunque, senza necessità di supervisione o infrastrutture particolari –, in grado di acquisire e trasmettere a distanza dati relativi a:

- i) l'entità e l'evoluzione temporale della frequentazione delle stazioni di attrazione feromonica da parte degli insetti;
- ii) le modalità comportamentali di frequentazione delle stazioni (tempo di permanenza, traiettorie tipiche, probabilità di entrare in contatto con eventuali erogatori di insetticidi o biocidi ecc.);
- iii) l'esistenza di eventuali condizioni o fattori di repellenza che limitano l'efficacia di attrazione o contaminazione.

La funzionalità in campo di un tale sistema pone, naturalmente, stringenti vincoli operativi alle possibili soluzioni tecnologiche individuate, fra i quali: non interferire con i meccanismi di attrazione e di eventuale contaminazione degli insetti; operare anche durante le ore notturne, dato che molti fitofagi prediligono condizioni di oscurità; consentire l'interrogazione, la trasmissione dei dati e la configurazione del sistema a distanza, senza cioè richiedere di recarsi in campo; funzionare in modo completamente automatico, con un'autonomia nell'ordine della durata di un'intera stagione colturale; avere un'alimentazione elettrica autonoma.

Il principio di funzionamento delle unità realizzate si basa sull'acquisizione e l'analisi in tempo reale di immagini infrarosse della stazione di attrazione e del volume circostante. L'uso della banda ottica del vicino in-

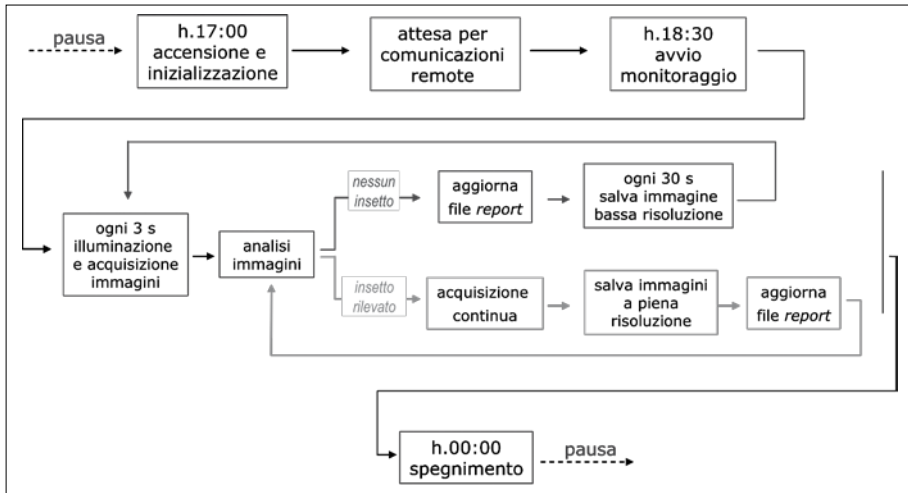


Fig. 8 *Diagramma di funzionamento dell'unità di acquisizione nel caso di monitoraggio di un insetto a volo crepuscolare*

frarosso, regione spettrale invisibile agli insetti, permette di illuminare il volume monitorato senza generare stimoli luminosi o termici che possano interferire coi meccanismi attrattivi del semiochimico. Inoltre, questa banda spettrale risulta compatibile con l'impiego di comuni telecamere digitali basate su sensori al silicio, senza dovere ricorrere a strumenti più sofisticati e costosi.

Il sistema (fig. 7) è costituito da telecamere monocromatiche digitali e illuminatori LED ed è gestito da un computer embedded – ossia un piccolo computer dotato di hardware semplificato e specializzato per operazioni di automazione –, dotato di modem GSM e installato in un contenitore a tenuta stagna. Il sistema è alimentato da un pannello fotovoltaico e da una batteria di accumulo.

Ciascuna unità è dotata di due telecamere che inquadrano due diverse regioni della stazione di attrazione: una provvede ad acquisire immagini a elevata risoluzione dell'intorno dell'erogatore di semiochimico, mentre una seconda telecamera tiene monitorata la regione di avvicinamento alla stazione di attrazione, fornendo immagini a risoluzione più moderata delle zone di accesso alla stazione stessa.

I requisiti di autonomia di funzionamento a lungo termine, impongono una gestione dell'unità da parte del computer che ottimizzi l'uso della memoria, dove vengono registrati i dati, e soprattutto dell'energia assorbita. Pertanto, il sistema resta normalmente inattivo e si avvia automaticamente

solamente durante le ore programmate per il monitoraggio, in dipendenza dalle abitudini delle specie fitofaghe considerate.

Il diagramma in figura 8 riassume schematicamente il principio di funzionamento dell'unità, riferendosi al caso esemplificativo di applicazione a un insetto con volo crepuscolare: dopo l'avvio all'ora programmata, il computer resta in attesa di eventuali connessioni telefoniche da parte di un PC remoto, durante le quali un operatore può modificare i parametri operativi o scaricare a distanza i dati precedentemente acquisiti dal sistema. Con l'attivazione della modalità di monitoraggio vera propria, l'unità acquisisce ogni tre secondi le immagini delle regioni inquadrare che vengono illuminate da un impulso luminoso emesso dai LED infrarossi.

Ogni immagine acquisita viene immediatamente analizzata per rilevare l'eventuale presenza di insetti nelle regioni di interesse. Qualora il software non identifichi alcuna presenza, l'unità trascrive il risultato in un file di *report* insieme ad alcuni parametri operativi che permettono di verificarne il corretto funzionamento. Nel caso, invece, venga rilevata la presenza di un insetto, l'unità registra l'evento nel file di report e avvia l'acquisizione continua delle immagini che vengono memorizzate a piena risoluzione. Ciò, fino al termine della visita, quando il sistema torna nella modalità di monitoraggio con l'acquisizione di immagini alla frequenza di campionamento. Al termine del periodo di funzionamento programmato, l'unità si spegne automaticamente.

L'individuazione automatica della presenza di un insetto si basa su un algoritmo piuttosto semplice (fig. 9) che ha rivelato una notevole affidabilità di funzionamento (Oberti et al., 2008). Esso prevede la costruzione di immagini di sfondo, corrispondenti alla regione monitorata sgombra da ogni visita, che sono ottenute come media mobile delle ultime 200 immagini acquisite. Tali immagini, dunque, si aggiornano continuamente, adattandosi alle variazioni di illuminazione, come avviene durante le ore crepuscolari, o a modificazioni dello sfondo stesso, a esempio a causa di corpi estranei che si depositano dentro la stazione stessa, dato che ogni variazione non temporanea della scena viene inglobata nell'immagine di sfondo nel giro di qualche minuto.

A ogni immagine acquisita dalle telecamere viene sottratto lo sfondo corrispondente e il risultato ottenuto è, poi, sottoposto ad alcune semplici operazioni di soglia dimensionale e di intensità. Gli eventuali oggetti che, al termine di tali operazioni, permangono nell'immagine finale sono assunti corrispondere a uno o più insetti presenti nelle regioni monitorate.

I limiti di velocità nella trasmissione dati, intrinseci alla rete telefonica

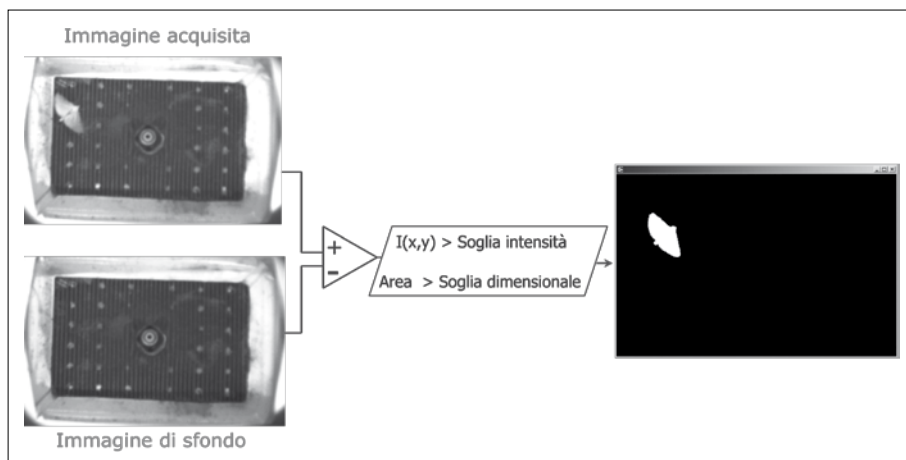


Fig. 9 L'algoritmo di individuazione automatica della presenza di insetti nelle immagini acquisite è basato sulla sottrazione dello sfondo e su semplici operatori di soglia

mobile GSM, non permettono di scaricare direttamente le immagini acquisite in campo, ma è tuttavia possibile accedere tramite un computer remoto ai file di *report* generati quotidianamente dall'unità stessa. I dati contenuti in questi file riassumono i risultati registrati dal sistema e permettono di ottenere informazioni tempestive riguardo il numero di visite rilevate e la loro durata, oltre a consentire di verificare il corretto funzionamento del sistema in campo, così da limitare i sopralluoghi di verifica al sito di monitoraggio al solo caso di avarie o malfunzionamenti.

Le unità sviluppate sono state sperimentate in diverse prove di campo condotte su alcuni fitofagi di primaria importanza per le colture orto-frutticole italiane, quali *Cydia pomonella*, *Lobesia botrana* e *Spodoptera littoralis*, utilizzando attrattori feromonici specifici per queste specie.

Oggetto specifico di queste prove, è stato il monitoraggio di stazioni di attrazione e contaminazione, funzionanti secondo un approccio innovativo di difesa definito *auto-disseminazione*. Questo prevede che il fitofago, richiamato dal semiochimico, si contaminerà con un insetticida a lenta azione, provvedendo a disseminarlo attraverso la popolazione per contatti successivi, soprattutto nelle fasi di accoppiamento, oppure depositandolo in micro-habitat difficilmente raggiungibili dai classici trattamenti a nebulizzazione, quali a esempio i siti di ovodeposizione.

L'utilizzo delle unità automatiche ha, dunque, avuto un duplice scopo: da un lato, monitorare la popolazione fitofaga, registrando la dinamica temporale delle visite, e, dall'altro, stimare la probabilità di contaminazione con

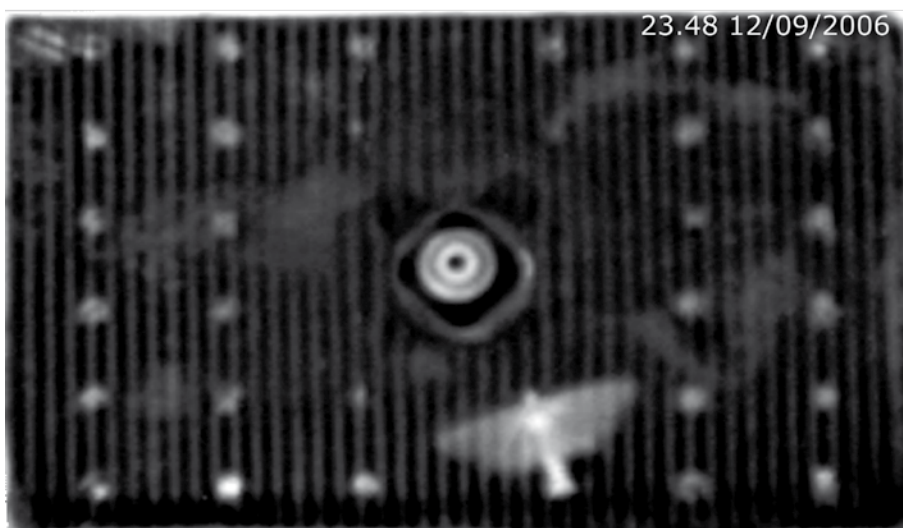


Fig. 10 *Registrazione di un ingresso notturno di Spodoptera in una stazione di attrazione durante una prova su cavolo. Nel centro dell'immagine infrarossa si nota l'erogatore di feromone, mentre lo sfondo è costituito dalla polvere insetticida*

l'insetticida, registrando il comportamento dell'insetto una volta entrato nella stazione.

La figura 10 mostra, a titolo di esempio, un'acquisizione ottenuta in corrispondenza di un ingresso notturno di un esemplare di *Spodoptera* in una delle stazioni di attrazione monitorate. Lo sfondo dell'immagine infrarossa mostrata è costituito dal vassoio contenente la polvere insetticida adesiva, mentre nel centro si può notare l'erogatore di semiochimico.

La figura 11 mostra, invece, due grafici relativi all'andamento della dinamica delle visite registrate e ottenuti in tempo reale durante lo svolgimento delle prove, grazie ai dati quotidianamente ricevuti dalle unità di campo mediante connessione remota. Il grafico di sinistra si riferisce a prove su *Spodoptera* e rappresenta uno dei primi esempi di risultati operativi ottenuti in campo con l'unità qui presentata. Da tali dati, a esempio, è stato possibile evincere una forte correlazione tra l'interazione fitofago/semiochimico e le condizioni meteorologiche del sito, in particolare con livello di precipitazioni.

Assai interessante da un punto di vista applicativo è il grafico a destra di figura 11, riferito a prove su *Lobesia* condotte utilizzando due diverse formulazioni che sono state alternate nel corso della prova: la formulazione A consi-

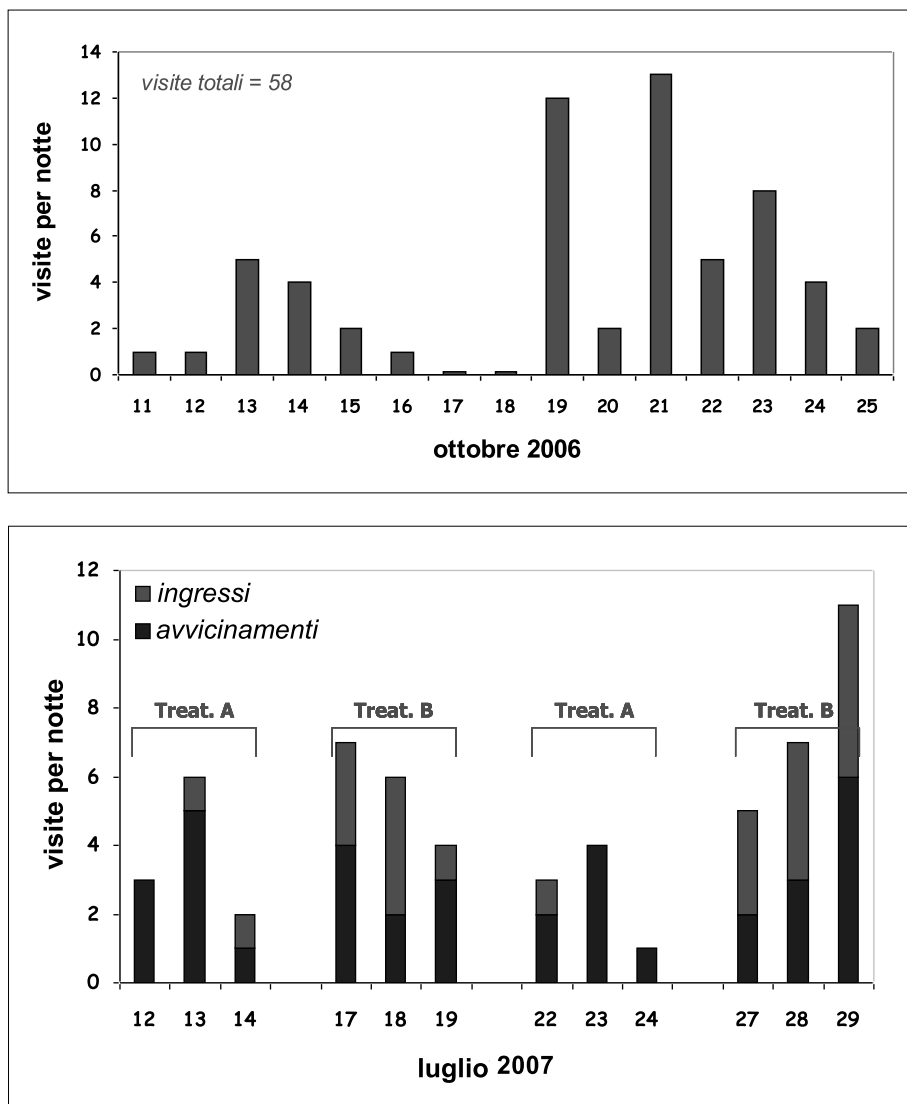


Fig. 11 *A sinistra, dinamica temporale degli ingressi di Spodoptera registrati in una stazione di attrazione durante una prova autunnale. A destra, registrazioni di avvicinamenti e ingressi di Lobesia in una stazione di attrazione ottenuti con l'impiego di due diverse formulazioni di semiochimico e insetticida*

steva in un vassoio contenente insetticida miscelato al semiochimico, mentre nella formulazione B l'erogatore del medesimo semiochimico era mantenuto separato dal vassoio insetticida. Sebbene di carattere soltanto preliminare, i

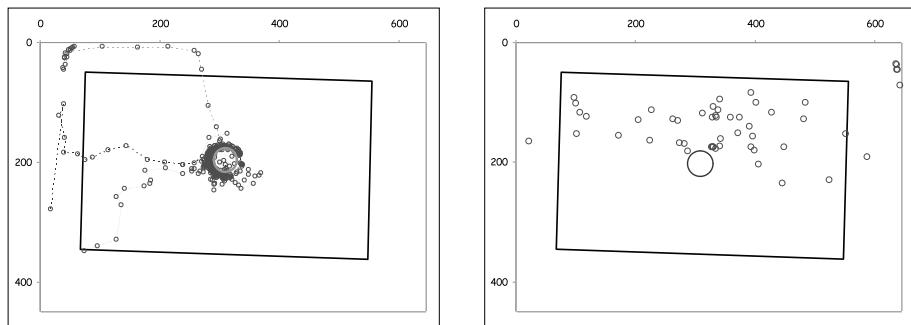


Fig. 12 Dall'analisi delle sequenze di immagini corrispondenti a una singola visita è possibile ricostruire la traiettoria dell'insetto nell'intorno dell'attrattivo. Nei due grafici le coordinate sugli assi sono espresse in punti immagine (pixel); il rettangolo nero rappresenta il vassoio contenente l'insetticida; il cerchio centrale rappresenta l'erogatore di feromone

dati registrati indicano come le due formulazioni mostrino una simile capacità attrattiva nei confronti dell'insetto (dati in blu, relativi al numero di avvicinamenti). Tuttavia, quando si considerano gli ingressi nella stazione di contaminazione (dati in rosso) si evidenzia come la formulazione A manifesti una qualche azione repellente che, relativamente al trattamento B, ne riduce la potenziale efficacia fitoprotettiva.

Sebbene necessitino di ulteriori conferme, questi dati rappresentano un risultato di primaria importanza della ricerca condotta e prefigurano le potenzialità offerte dalle unità di monitoraggio sviluppate in termini di comprensione dell'efficacia di attrazione dei semiochimici in campo e della interazione fra fitofago e insetticida ai fini dello sviluppo di tecniche di auto-disseminazione.

Una volta scaricate le immagini dalle unità è, poi, possibile analizzare le sequenze corrispondenti a ciascuna visita registrata, al fine di ricostruire la traiettoria mantenuta dall'insetto in prossimità e all'interno della stazione di attrazione. La figura 12 mostra due esempi dei risultati che si ottengono in questo modo, per i quali si possono riconoscere: in un caso (fig. 12, a sinistra) una permanenza insistita dell'insetto sull'erogatore di feromone e sul bordo del vassoio, il che implica forti limitazioni nella probabilità di contaminazione con il principio attivo contenuto nel vassoio; nel secondo caso (fig. 12, a destra) si manifesta un comportamento più indifferente rispetto all'attrattivo, con movimenti lungo l'intero tappeto contaminante.

Dall'analisi di questo tipo di dati è emerso, a esempio, come semplici modifiche all'architettura delle stazioni (quali l'ampliamento del vassoio con-

tenente l'insetticida fino a coprire l'intera superficie calpestabile, oppure la riduzione dell'altezza dell'erogatore di semiochimico) possano rivelarsi utili per massimizzare la probabilità di contaminazione dell'insetto.

Anche in questo senso, cioè nell'ottimizzare le tecnologie o i sistemi di erogazione, si evidenzia come tali unità di monitoraggio possano contribuire fattivamente a migliorare l'efficacia di strategie innovative di difesa basate sui semiochimici.

CONCLUSIONI

Le acquisizioni ottenute da recenti ricerche mostrano la possibilità di estendere l'applicazione di tecnologie automatiche di monitoraggio dal laboratorio, dove si utilizzano già da alcuni decenni, alle condizioni di campo aperto. In tal senso, i sistemi basati su tecnologie optoelettroniche emergono come soluzioni di primario interesse quando vengono associati all'impiego di semiochimici. Ciò, grazie alla possibilità di disporre, a costi relativamente contenuti, di strumenti in grado di rilevare otticamente il passaggio o la presenza di insetti in volumi confinati, una volta che vi vengano attratti da semiochimici specie-specifici.

I risultati ottenuti con strumenti più complessi, basati su tecnologie di *imaging*, mostrano come tali sistemi possano contribuire in maniera decisiva allo sviluppo di nuove strategie di difesa dai fitofagi basate su semiochimici. Per altro, le esperienze condotte prefigurano la possibilità di sviluppare sistemi di *imaging* semplificati e di costo contenuto, finalizzati a un loro utilizzo all'interno di reti di monitoraggio remoto: è possibile, infatti, pensare a unità di monitoraggio delle popolazioni fitofaghe distribuite sul territorio e collegate a un server centrale mediante, a esempio, la rete telefonica mobile. Il computer centrale elaborando in tempo reale i dati provenienti da ogni unità e integrandoli con informazioni complementari – relative alle condizioni micro-meteorologiche, alla distribuzione e al tipo di colture in atto, a modellizzazioni epidemiologiche ecc. –, può fornire un supporto fondamentale per prendere decisioni tempestive e mirate a difesa delle colture (fig. 13).

Appare del tutto evidente il ruolo cruciale che le tecnologie dell'informazione e della comunicazione giocano nelle possibilità di sviluppo di un tale approccio innovativo, fornendo, a costi sostenibili, sistemi affidabili capaci di trasmettere a distanza ed elaborare sinteticamente i dati di campo.

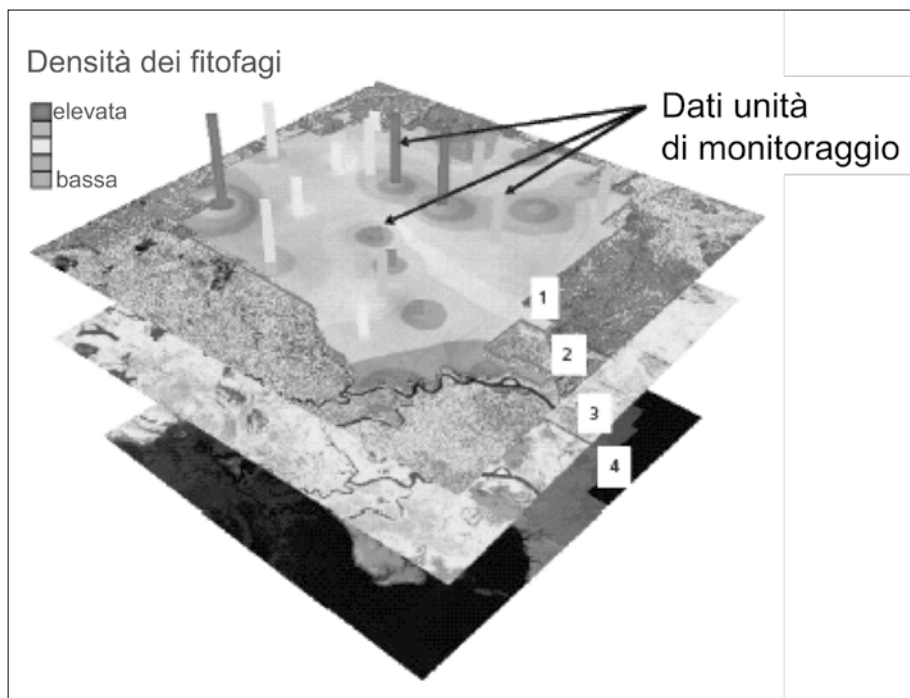


Fig. 13 *L'elaborazione di dati acquisiti in tempo reale da unità automatiche di campo, integrati con informazioni complementari relative al territorio monitorato, può fornire un supporto fondamentale per prendere decisioni tempestive e mirate a difesa delle colture*

E in modo altrettanto evidente, infine, si manifesta come prerequisito essenziale per il raggiungimento di risultati così ambiziosi e per ogni loro futuro trasferimento applicativo, l'integrazione multidisciplinare di competenze tecnologiche, biologiche, chimiche e ambientali

RIASSUNTO

L'osservazione e l'analisi delle risposte degli insetti agli stimoli ambientali, chimici e fisici, costituisce da sempre la base di conoscenza fondamentale per la messa a punto di efficaci pratiche di difesa delle colture dai fitofagi. Sebbene da qualche decennio siano stati sviluppati strumenti di misura a supporto delle ricerche entomologiche di laboratorio, in campo aperto il monitoraggio dei fitofagi viene tuttora condotto mediante osservazioni visuali.

Gli sviluppi delle ricerche in questo settore hanno recentemente portato a dimostrare la fattibilità di unità automatiche di campo dedicate a questo scopo. Associati all'impiego di semiochimici, questi sistemi possono contribuire in maniera decisiva a migliorare le

nostre conoscenze riguardo i meccanismi di interazione tra attrattivo e insetto e preconizzano lo sviluppo di nuove strategie di difesa dai fitofagi basate su semiochimici e gestite mediante reti di monitoraggio distribuite sul territorio.

ABSTRACT

The observation and analysis of responses of insects to environmental, chemical and physical stimuli has always represented the fundamental basis of knowledge to develop effective crop protection practices from pests insects. Although measurements technologies have been introduced in entomological laboratories since a few decades, field monitoring of pests is still conducted through visual observations.

The recent research progresses in this area has recently demonstrated the feasibility of automatic field units dedicated to this purpose. The use of these systems associated with semiochemicals may provide a fundamental contribution to improve our knowledge about the mechanisms of interaction between attractant and insect and to disclose the implementation of new semiochemical-based crop protection strategies, managed by field monitoring networks.

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

- BAKER R., CANNON R., BARTLETT P., BARKER I. (2005): *Novel strategies for assessing and managing the risks posed by invasive alien species to global crop production and biodiversity*, «Annals of Applied Biology», 146, pp. 177-191.
- CHABORA P.C., SHUKIS A.A. (1979): *The automated recording of insect activity: the house fly*, «Ann. Entomol. Soc. Am.», 72, pp. 287-290.
- CHESMORE E.D., OHYA E. (2004): *Automated identification of field-recorded songs of four British grasshoppers using bioacoustic signal recognition*, «Bulletin of Entomological Research», 94, pp. 319-330.
- CHO J., CHOI J., QIAO M., JI C., KIM H., UHM K., CHON T. (2007): *Automatic identification of whiteflies, aphids and thrips in greenhouse based on image analysis*, «Int. Jour. Math. Comp. Simulat.», 1, pp. 46-53.
- DAVID C.T., KENNEDY J.S., LUDLOW A.R. (1983): *Finding of a sex pheromone source by gypsy moths in the field*, «Nature», 303, pp. 804-806.
- DRAKE V.A., HARMAN I.T., WANG H.K. (2002): *Insect monitoring radar: stationary-beam operating mode*, «Comput. Electron. Agric.», 35, pp. 111-137.
- EATON J.L. (1980): *An infrared LED-based electronic actograph for monitoring insect flight activity*, «Ann. Entomol. Soc. Am.», 73, pp. 744-746.
- FRY S.N., BICHSEL M., MULLER P., ROBERT D. (2000): *Tracking of flying insects using pan-tilt cameras*, «Journ. Neuroscience Methods», 101, pp. 59-67.
- GODDEN D.H. e GRAHAM D. (1983): *Instant analysis of movement*, «Journ. Exp. Biol.», 107, pp. 505-508.
- HARRINGTON R., WOIWOD I. (2007): *Foresight from hindsight: The Rothamsted Insect Survey*, «Outlooks on pest management», 18, pp. 9-14.

- HOY J.B., GLOBUS P.A., NORMAN K.D. (1983): *Electronic tracking and recording system for biological observation with application to toxicology and pheromone assay*, «Journ.Econ. Entomol.», 76, pp. 678-680.
- JIANG J., TSENG C., LU F., YANG E., WU Z., CHEN C., LIN S., LIN K., LIAO C. (2008): *A GSM-based remote wireless automatic monitoring system for field information: A case study for ecological monitoring of the oriental fruit fly, Bactrocera dorsalis (Hendel)*, «Comput. Electron. Agric.», 62, pp. 243-259.
- JOHNSON M., TOSCANO N., JONES C., BAILEY J. (1986): *Modified ultrasonic actograph for monitoring activity of lepidopterous larvae*, «Proc. Hawaiian Entomol. Soc.», 27, pp. 141-146.
- KANEKO S., INO M., TAKAMIZAWA Y. (1995): *Three sensitive actographs for cockroaches*, «Jpn. J. Appl. Entomol. Zool.», 1995, 3, pp. 65-73.
- LEPPLA N., HAMILTON E., GUY R., LEE F. (1979): *Circadian rhythms of locomotion in six noctuid species*, «Ann. Entomol. Soc. Am.», 72, pp. 209-215.
- LUFF M., MOLYNEUX L., BALL S. (1979): *An ultrasonic insect movement detector*, «Physiol. Entomol.», 4, pp. 147-153.
- LUKÁŠ J., STEJSKAL V. (2003): *Computer-based image analysis to estimate the area of a sticky trap occupied or contaminated by pests*, «Plant Protect. Sci.», 39, pp. 52-60.
- MANKIN R.W., BRANDHORST-HUBBARD J., FLANDERS K.L., ZHANG M., CROCKER R.L., LAPOINTE S.L., MCCOY C.W., FISHER J.R., WEAVER D.K. (2000): *Eavesdropping on insects hidden in soil and interior structures of plants*, «Jour. Econ. Entom.», 93, pp. 1173-1182.
- MANKIN R.W., SMITH M.T., TROPP J.M., ATKINSON E.B., JONG D.Y. (2008): *Detection of Anoplophora glabripennis (Coleoptera: Cerambycidae) larvae in different host trees and tissues by automated analyses of sound-impulse frequency and temporal patterns*, «Jour. Econ. Entom.», 101, pp. 837-849.
- MOORE A., MILLER J. R., TABASHNIK B. E., GAGE S. H. (1986): *Automated identification of flying insects by analysis of wingbeat frequencies*, «J. Econ. Entomol.», 79, pp. 1703-1706.
- OBERTI R., NALDI E., BODRIA L. (2008): *Automatic remote monitoring of attractant-based insecticide delivering systems*, Proc. of AgEng2008, Paper OP-1800, Ed. AgEng, International Conference on Agricultural Engineering, Crete June 2008.
- RACETTE G., HILL S., VINCENT C. (1990): *Actographs for recording daily activity of plum Curculio (Coleoptera: Curculionidae)*, «Journ. Econ. Entomol.», 83, pp. 2385-2392.
- RILEY J.R., SMITH A.D. (2002): *Design considerations for an harmonic radar to investigate the flight of insects at low altitutte*, «Comput. Electron. Agric.», 35, pp. 151-169.
- RILEY J.R. (1989): *Remote sensing in entomology*, «Ann. Rev. Entomol.», 34, pp. 247-71.
- VANN T., ANDREWS J.C., HOWELL D., RYAN R. (2005): *An Automated Flying-Insect-Detection System*, http://ntrs.nasa.gov/archive/nasa/casi.ntrs.nasa.gov/20050203857_2005201775.pdf
- VICKERS N.J., BAKER T.C. (1997): *Flight of Heliothis virescens males in the field in response to sex pheromone*, «Physiol. Entomol.», 22, pp. 277-285.
- VOSS R. and ZEIL J. (1995): *Automatic tracking of complex objects under natural conditions*, «Biol. Cybern.», 73, pp. 415-423.
- WHEATER C.P. (1988): *Measurement of the activity of mesofauna using an actograph-micro-computer system*, «Pedobiologia», 31, pp. 219-222.
- ZANEN P.O., CARDÉ R.T. (1999): *Directional control by male gypsy moths of upwind flight along a pheromone plume in three wind speeds*, «Journ. Comp. Physiol.», A 184, pp. 21-35.