

***Alma Mater Studiorum – Università di Bologna***

**DOTTORATO DI RICERCA IN ENTOMOLOGIA AGRARIA**

**CICLO XXV**

**Settore Concorsuale di afferenza: 07/D1 – Patologia vegetale ed entomologia**

**Settore Scientifico disciplinare: AGR/11 – Entomologia generale e applicata**

**CAPACITA' DI SVILUPPO DI *DIABROTICA VIRGIFERA VIRGIFERA*  
LECONTE SU OSPITI ALTERNATIVI AL MAIS**

Presentata da: **COSTANZA JUCKER**

**Coordinatore Dottorato**

**Dott.ssa Maria Luisa Dindo**

**Relatore**

**Prof. Ivo Rigamonti**

---

Esame finale anno 2013



---

## INDICE

<b>OBIETTIVI</b> .....	1
------------------------	---

### **1. INTRODUZIONE**

<i>1.1 Inquadramento sistematico</i> .....	3
<i>1.2 Origine e distribuzione geografica</i> .....	5
<i>1.3 Modalità di introduzione e dispersione</i> .....	8
<i>1.4 Caratteristiche morfologiche</i> .....	9
<i>1.5 Biologia e danni</i> .....	13
<i>1.6 Piante ospiti</i> .....	15
<i>1.7 Controllo</i> .....	19

### **PARTE SPERIMENTALE**

### **2 PROVE IN VASO CON INFESTAZIONE ARTIFICIALE**

<b>2.1 MATERIALI E METODI</b> .....	23
<i>2.1.1 Semina delle piante ospiti</i> .....	23
<i>2.1.2 Conservazione e incubazione delle uova</i> .....	25
<i>2.1.3 Infestazione delle piante</i> .....	25
<i>2.1.4 Monitoraggio degli stadi giovanili</i> .....	26
<i>2.1.5 Monitoraggio degli adulti</i> .....	27
<i>2.1.6 Elaborazione dei dati</i> .....	27
<b>2.2 RISULTATI</b> .....	29
<i>2.1.6 Monitoraggio degli stadi preimmaginali</i> .....	29
<i>2.1.7 Performance biologiche</i> .....	37

---

2.1.8	<i>Monitoraggio degli adulti</i> .....	43
2.1.9	<i>Indice di sviluppo</i> .....	47
<b>3.</b>	<b>PROVE CON INFESTAZIONE NATURALE</b>	
<b>3.1</b>	<b>MATERIALI E METODI</b> .....	49
3.1.1	<i>Scelta delle specie da esaminare</i> .....	49
3.1.2	<i>Semina delle piante ospiti</i> .....	52
3.1.3	<i>Monitoraggio degli stadi giovanili</i> .....	53
3.1.4	<i>Monitoraggio degli adulti</i> .....	57
<b>3.2</b>	<b>RISULTATI</b> .....	59
3.2.1	<i>Monitoraggio degli stadi giovanili</i> .....	59
3.2.1	<i>Monitoraggio degli adulti</i> .....	65
	<b><u>CONSIDERAZIONI FINALI</u></b> .....	67
	<b><u>BIBLIOGRAFIA</u></b> .....	71

## **OBIETTIVI**

*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte è un Coleottero Crisomelide originario del Centro America e, in seguito alla sua diffusione in quel Paese, oggi rappresenta la principale avversità del mais. I danni economici dovuti sia alle perdite di produzione che ai costi per le misure di controllo sono stimati, annualmente, attorno a 1 miliardo di dollari solo negli Stati Uniti.

Introdotta in Europa agli inizi degli anni '90, e in Italia nel 1998, è divenuto un importante fitofago del mais anche nell'area di nuova colonizzazione, dove rappresenta una specie invasiva e una nuova minaccia per la coltura del mais.

È specie univoltina e sverna come uovo nel terreno; le larve a primavera si nutrono delle radici, interferendo con l'assimilazione di acqua e nutrienti, favorendo l'ingresso di patogeni e riducendo le capacità meccaniche delle radici con conseguente allettamento della pianta. Poiché il mais risulta l'ospite prioritario delle larve di *Diabrotica*, attualmente il principale metodo di contenimento dell'insetto consiste nella rotazione con una coltura non ospite. Tuttavia l'aumento della resistenza da parte di *Diabrotica* nei confronti sia degli insetticidi che della rotazione colturale negli Stati Uniti, ha portato ad un incremento dell'interesse nei confronti delle ricerche sulle interazioni tra pianta ospite e fitofago. La conoscenza in particolare delle piante ospiti risulta fondamentale per la gestione dei metodi di controllo ed eradicazione, soprattutto in Europa dove vi è una maggior diversità colturale rispetto agli Stati Uniti.

Le prime osservazioni sulla capacità delle larve del crisomelide di svilupparsi su piante diverse dal mais risalgono al 1967 negli Stati Uniti. Branson e Ortman osservarono per la prima volta la sopravvivenza di larve di *Diabrotica* fino alla seconda età su 18 specie di Poaceae di 44 testate e l'emergenza di adulti da 12 di esse. Successivamente altri studi hanno permesso di osservare la sopravvivenza di

larve e lo sfarfallamento di adulti su altre Poaceae, infestanti o da prato. Moeser e Vidal nel 2004 hanno per la prima volta riportato informazioni sulla performance delle larve nella conversione della biomassa di piante ospiti alternative, scelte tra le infestanti più comuni in Ungheria. Il quadro è tuttavia ancora largamente incompleto, soprattutto se riferito alla realtà europea.

La presenza di infestanti o di Poaceae coltivate potrebbe quindi fungere da serbatoio di piante ospiti quando non è disponibile il mais, incrementando la sopravvivenza di *D. v. virgifera* in nuove aree di colonizzazione e riducendo l'efficacia delle misure di controllo.

L'obiettivo di questo lavoro è stato quello di indagare le piante ospiti alternative al mais nel nostro ambiente, accertando il ruolo che possono avere le erbe infestanti o altre Poaceae coltivate nella biologia di Diabrotica. La scelta delle specie da testare è stata fatta sulla base della bibliografia disponibile, privilegiando quelle piante mai precedentemente sottoposte a sperimentazione o quelle già oggetto di indagini sperimentali, ma su cui si sono ottenuti esiti discordi o non soddisfacenti. Sono state tenute in considerazione le graminacee maggiormente utilizzate nel nostro Paese come foraggiere o cereali. Inoltre si è deciso di indagare anche alcune infestanti comunemente presenti nel mais che potrebbero risultare ospiti di Diabrotica.

## 1. INTRODUZIONE

### 1.1 Inquadramento sistematico

*Diabrotica virgifera virgifera* LeConte è un Coleottero appartenente alla Superfamiglia dei Crisomeloidei, Famiglia dei Crisomelidi, Sottofamiglia Galerucinae, Tribù Luperini, Sottotribù Diabroticina (Tab. 1).

Il genere *Diabrotica* è proprio del continente americano e il maggior numero delle specie è presente nell'area tropicale. Le specie dannose si trovano invece prevalentemente a partire dal nord del Messico. Il genere è molto ampio, comprendendo 338 specie (Wilcox, 1972), numerose delle quali sono nocive. Le specie sono divise in tre gruppi, *virgifera*, *fucata* e *signifera*, ma solo nei primi due sono presenti specie di interesse agrario. In particolare le specie del gruppo *virgifera* si nutrono di Poacee, mentre quelle del gruppo *fucata* hanno un regime dietetico polifago (Cucurbitaceae, Leguminosae, Poaceae e Compositae) (Krysan e Smith, 1987). Le specie del gruppo *fucata* inoltre presentano più generazioni all'anno e svernano come adulti, mentre le specie del gruppo *virgifera* sono solitamente univoltine e svernano nel terreno allo stadio di uovo. La presenza della diapausa nelle uova sembra essersi evoluta nel Paese di origine come adattamento per sopravvivere alle particolari condizioni climatiche presenti, caratterizzate da una stagione secca, durante la quale non è presente la pianta ospite, e un stagione piovosa (Krysan *et al.*, 1977). Si pensa che tale diapausa abbia poi permesso a *D. v. virgifera* di colonizzare zone temperate con temperature invernali anche molto basse (Krysan, 1982). Inoltre essendo le specie del gruppo *virgifera* monofaghe, al contrario di quelle del gruppo *fucata*, si sarebbero adattate a sopravvivere sulle radici di specie vegetali presenti solo in alcuni periodi dell'anno adeguandosi al loro ciclo vitale. Il risultato quindi sarebbe

la presenza di un'unica generazione all'anno. Nel caso invece delle specie del gruppo *fucata*, essendo queste polifaghe, possono essere sfruttati ospiti differenti durante i diversi periodi dell'anno. Relativamente al mais, le specie ritenute più dannose sono *Diabrotica longicornis barberi* Smith e Lawrence (Northern Corn Rootworm), *Diabrotica undecimpunctata howardi* Barber (Southern Corn Rootworm) e *Diabrotica virgifera*, che include le due sottospecie *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Western Corn Rootworm) e *Diabrotica virgifera zea* Krysan e Smith (Mexican Corn Rootworm).

Altre specie di *Diabrotica* che rappresentano un problema a livello economico sono *D. viridula* Fabricius, compresa nel gruppo *virgifera*, nonché *D. undecimpunctata undecimpunctata* Mannerheim, *D. balteata* LeConte e *D. speciosa* Germar, tutte appartenenti al gruppo *fucata*.

Tabella 1. Inquadramento sistematico di *Diabrotica virgifera virgifera*.

Classe	Insecta
Ordine	Coleoptera
Superfamiglia	Chrysomeloidea
Famiglia	Chrysomelidae
Sottofamiglia	Galerucinae
Tribù	Luperini
Sottotribù	Diabroticina
Genere	<i>Diabrotica</i>
Specie	<i>virgifera</i>
Sottospecie	<i>virgifera</i>



## 1.2 Origine e distribuzione geografica

*D. v. virgifera* è originaria del Centro America, probabilmente del Guatemala. La specie venne raccolta per la prima volta negli Stati Uniti nel 1867 su una cucurbitacea spontanea, *Cucurbita foetidissima* Kunth, nei pressi di Fort Wallace in Kansas (LeConte, 1868) e riconosciuta come avversità nel 1909 in Colorado, quando, tra il 1909 e il 1911, furono osservati i primi danni radicali su mais (Gillette, 1912). Coevolatasi per migliaia di anni con il mais nel Paese di origine, si stima che probabilmente sia divenuta economicamente dannosa solo in seguito all'introduzione della monocoltura negli Stati Uniti; la continua coltivazione del mais avrebbe infatti facilitato la diffusione dell'insetto e permesso un notevole incremento delle sue popolazioni (Smith & Lawrence, 1967). Inizialmente presente con densità di popolazione estremamente contenute, tanto che le segnalazioni della sua presenza erano scarse e poco frequenti, successivamente il coleottero espanse la sua diffusione verso est e danni furono rilevati in Nebraska attorno al 1930. Tra gli anni '40 e gli anni '80 Diabrotica è riuscita poi ad occupare tutta l'area di produzione del mais fino alla Virginia, arrivando addirittura alla costa est degli Stati Uniti (Chiang, 1973; Youngman e Day, 1993). In pratica tutta la zona del Corn Belt è oggi interessata dalla presenza del Crisomelide (Fig. 1). In America settentrionale, oltre agli Stati Uniti, è presente anche in Canada e in Messico, mentre nell'America centrale e meridionale è stata individuata in Costa Rica, Guatemala e Nicaragua (Krysan e Smith, 1987).

In Europa *D. v. virgifera* è stata segnalata per la prima volta nel 1992 in un campo di mais in Serbia nei pressi dell'aeroporto di Belgrado (Baca, 1994). A causa della pericolosità dell'insetto, in seguito a questo primo ritrovamento è stata resa obbligatoria nei Paesi dell'Unione Europea e confinanti una fitta rete di

monitoraggio della specie, al fine di individuare prontamente eventuali ulteriori introduzioni.

Il fitofago ha successivamente espanso la propria presenza in numerosi Paesi del Centro-Sud Europa, dapprima occupando l'intera Serbia, e successivamente gli Stati limitrofi. Nel 1995 è stata segnalata in Ungheria e in Croazia, nel 1996 in Romania e un anno dopo in Bosnia-Erzegovina. Ungheria, Serbia e Montenegro e Romania sono i Paesi con la più vasta superficie con presenza dall'insetto, rispettivamente con 93000 km<sup>2</sup>, 73000 km<sup>2</sup> e 65000 km<sup>2</sup> infestati. In Italia la specie è stata segnalata per la prima volta nel 1998 in Veneto nei dintorni dell'aeroporto Marco Polo di Venezia (Furlan *et al.*, 1998). Negli altri Stati europei è stata ritrovata in Bulgaria (1998), Slovacchia (2000), Svizzera (2000), Ucraina (2001), Austria (2002), Francia (vicino a Parigi, 2002), Repubblica Ceca (2002), Regno Unito (2003), Olanda (2003), Belgio (2003), est della Francia (2003), Slovenia (2003), Polonia (2005), Germania (2007), Bielorussia (2009), Grecia (2009), Albania (2010) e Russia (2011) (EPPO, 2012) (Fig. 2).

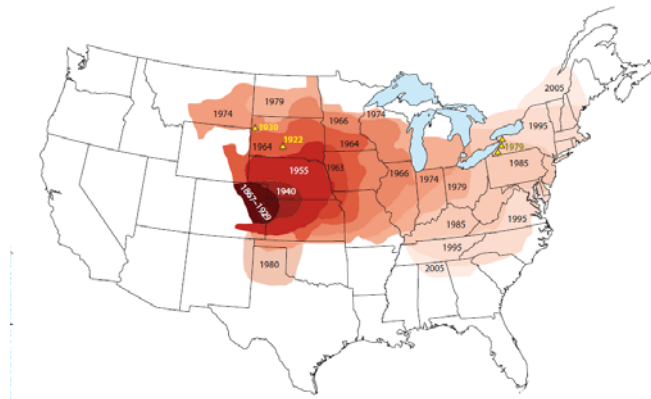


Figura 1. Espansione di *Diabrotica v. virgifera* nel Nord America dal 1867 al 2005 (da Gray *et al.*, 2009).

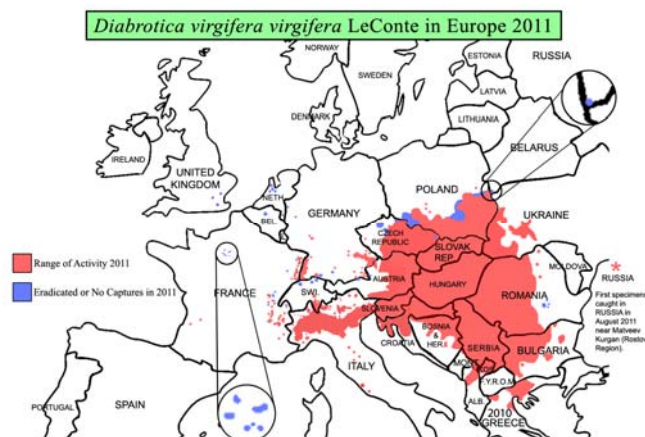


Figura 2. Presenza di *Diabrotica v. virgifera* in Europa al 2011 (da EPPO, 2012).

Relativamente alla sua presenza in Italia, in seguito alla prima cattura in Veneto nel 1998, nelle aree circostanti sono state adottate misure di contenimento che hanno portato, almeno in un primo momento, all'eradicazione del fitofago. Due anni dopo, nel 2000, *Diabrotica* è stata nuovamente segnalata, questa volta in Lombardia a Somma Lombardo e Vizzola Ticino (VA), nei pressi dell'aeroporto di Malpensa, da cui si è diffusa anche nel vicino Piemonte. Nel 2002 un focolaio è apparso nuovamente nel nord Italia e precisamente vicino all'aeroporto militare di Aviano in Friuli Venezia Giulia. Nel 2003 sono stati catturati esemplari in Emilia-Romagna, nelle Province di Piacenza e Parma, e in Trentino. L'Italia centrale ha visto la presenza del coleottero a partire dal 2008 quando alcuni esemplari sono stati ritrovati nel Lazio, nelle vicinanze dell'aeroporto internazionale di Fiumicino a Roma. Nel 2010 *Diabrotica* è comparsa in Valle d'Aosta, mentre in Toscana è stata rilevata nelle province di Firenze e di Arezzo, rispettivamente nel 2010 e nel 2011. Nel 2011 un nuovo focolaio è stato individuato ancora nel Lazio nella provincia di Latina (AA. VV., 2009; AA.VV., 2011). La zona infestata comprende oggi circa 1.140.453 ha, pari all'87,65% dell'intera superficie coltivata a mais (AA.VV., 2012).

### **1.3 Modalità di introduzione e dispersione**

Nessuna certezza vi è sulla modalità di introduzione nel continente europeo, ma la frequenza dei voli internazionali dagli Stati Uniti, da aree di produzione maidicola, verso l'Europa, suggerisce la possibilità di trasporto accidentale di adulti proprio all'interno degli aeromobili. Miller *et al.* (2005) hanno dimostrato come la presenza di Diabrotica in Europa sia ascrivibile a tre distinte introduzioni indipendenti dal Nord America, che avrebbero interessato, rispettivamente: l'area del centro-sud-est europeo, l'Italia del nord-ovest e il ritrovamento nei pressi di Parigi. Successivamente Ciosi *et al.* (2008), hanno individuato cinque vie d'introduzione indipendenti dal Nord America: alle prime tre infatti si aggiungerebbero l'introduzione nel Regno Unito, poi eradicata, e una quinta in Alsazia (est della Francia) (Fig. 3). L'esistenza di molteplici introduzioni di Diabrotica in Europa sottolinea ancora una volta la facilità con cui specie fitofaghe possono essere trasferite tra continenti e come tali fenomeni accadano frequentemente.

Il volo degli adulti e il trasporto passivo sembrano essere poi responsabili della diffusione dell'insetto all'interno del continente europeo. Ciò è avvenuto per esempio nel caso della presenza di Diabrotica nell'Italia del nord-est, attribuibile ad una espansione del fitofago dall'est Europa, o nel caso delle popolazioni presenti in Svizzera e nel nord-ovest dell'Italia, risalenti ad un'unica introduzione.

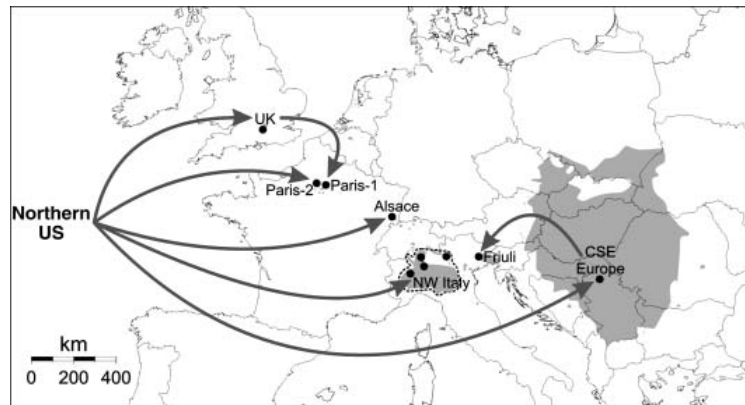


Figura 3. Possibili vie di introduzione di *D. v. virgifera* in Europa (da Ciosi *et al.*, 2008).

### 1.4 Caratteristiche morfologiche

#### ▪ Uovo (Fig. 4a)

Le uova sono ovoidali, di colore variabile dal bianco crema al giallo pallido e misurano circa 0,5 mm; presentano della microsculture esagonali sulla superficie esterna, facilmente osservabili allo stereomicroscopio. Tali sculture risultano essere differenti tra le specie di *Diabrotica* maggiormente dannose negli Stati Uniti e possono quindi essere utilizzate per una loro eventuale distinzione specifica (Krysan, 1986).

#### ▪ Larva (Fig. 4b)

La larva è di colore da bianco a giallo e misura, a maturità, da 10 a 18 mm. E' oligopoda, con 3 paia di zampe toraciche. Presenta la capsula cefalica e la placca sulla parte tergale dell'ultimo urite addominale entrambe di colore bruno scuro.

Nel caso delle larve una distinzione su basi morfologiche è possibile solo nel caso dei gruppi *fucata* e *virgifera* (Krysan, 1986).

La Diabrotica nel suo sviluppo presenta tre età larvali che sono distinguibili, oltre che per il loro comportamento, per la diversa larghezza della capsula cefalica. Hammack *et al.* (2003) hanno infatti dimostrato l'affidabilità della larghezza delle capsule cefaliche come indicatore dell'età larvale. Dalle loro osservazioni risulta quindi possibile attribuire l'età larvale ai singoli individui secondo i seguenti parametri:

- 1<sup>a</sup> età: 200-260 µm
- 2<sup>a</sup> età: 300-400 µm
- 3<sup>a</sup> età: 440-560 µm

In Italia, però, Agosti *et al.* (2009) hanno trovato, su individui provenienti da colture in irriguo, dimensioni leggermente maggiori.

▪ Pupa (Fig. 4c)

Lunga circa 6 mm, inizialmente si presenta di colore bianco per poi diventare più scura. La pupa di Diabrotica è aedeica, exarata ed anoica ed è protetta da una cella pupale terrosa.

▪ Adulto (Fig. 4d)

Gli adulti misurano 5-6 mm. Il capo è brillante con il vertice di color ambra o cannella che può portare una linea centrale e delle aree laterali color pece; il colore della fronte varia da giallo paglia a bruno fulvo, il clipeo e il *labrum* sono color pece.

Le antenne, castane, con i primi 3 segmenti più pallidi, misurano circa 4,2 mm. Nei maschi, le antenne hanno una lunghezza pari, o maggiore, a quella del corpo dell'insetto, mentre nelle femmine raggiungono circa i  $\frac{3}{4}$  della lunghezza del corpo. Inoltre nei maschi il III° segmento è lungo quanto il II° ed ha una forma

leggermente diversa, mentre nelle femmine il III° segmento è più lungo del II° ed ha una forma simile a questo (Krysan, 1986).

Il pronoto è brillante, liscio, giallo, minutamente punteggiato in modo sparso, sub quadrato (Krysan & Smith, 1987). Le elitre sono giallo paglierino; presentano una striscia omerale ed una suturale color pece, di ampiezza variabile e talvolta confluenti, che terminano vicino all'apice. In alcuni esemplari, poi, la maggior parte dell'elitra può presentare una colorazione scura, tranne i margini laterali ed apicali ed un'area triangolare alla sommità. I maschi possono presentare elitre più scure rispetto alle femmine, nelle quali si notano strisce color pece più regolari. Dato che esiste una certa variabilità, questa caratteristica non può essere determinante per discriminare il sesso (Kuhar *et al.*, 1995).

Le zampe, da giallo a bruno fulvo, sono spesso segnate di color pece, in particolare le tibie e il bordo esterno dei femori, e, a volte, le coxae, mentre i tarsi possono variare da color cannella a pece.

I maschi di *D. v. virgifera* (Fig. 5) possiedono uno sclerite aggiuntivo all'estremità dell'addome; ciò conferisce all'addome maschile un aspetto più arrotondato rispetto a quello femminile (Fig. 6), che appare più appuntito (White, 1977).

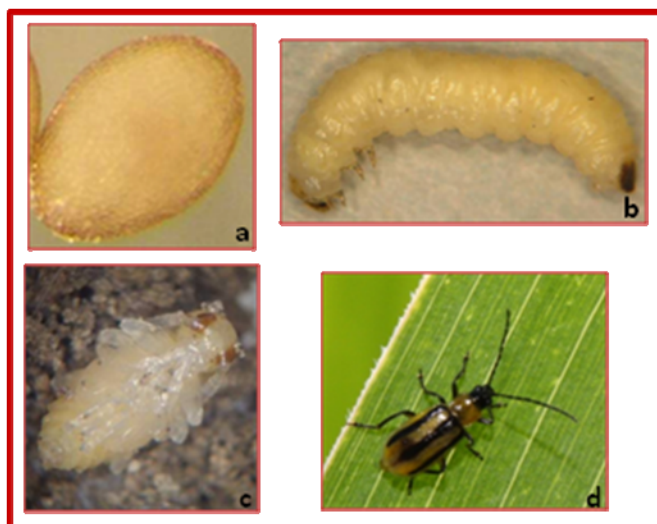


Figura 4. Stadi di sviluppo di *D. v. virgifera*.



Figura 5. Ultimi uriti addominali di *D. v. virgifera* maschio.



Figura 6. Ultimi uriti addominali di *D. v. virgifera* femmina.



### **1.5 Biologia e danni**

*D. v. virgifera* presenta una generazione all'anno e sverna come uovo nel terreno. La sopravvivenza delle uova dipende da diversi fattori, tra cui la profondità di ovideposizione (generalmente tra i 20 e i 30 cm), le lavorazioni, ma soprattutto il livello di umidità del terreno. La schiusura delle uova inizia in primavera, alle nostre latitudini nel mese di maggio, e continua poi nel mese di giugno e occasionalmente in luglio.

Le larve neonate sono in grado di muoversi negli interstizi del suolo alla ricerca delle radici di mais di cui si alimentano e la distanza percorsa varia in funzione della struttura del terreno e del grado di umidità. Ricerche effettuate in merito, hanno dimostrato come una larva, dal momento della schiusura dell'uovo all'emergenza dell'adulto, sia in grado di muoversi tra i 60 e i 100 cm (Suttle *et al.*, 1967; Hibbard *et al.*, 2004). Le larve di prima e seconda età si nutrono sulla superficie esterna della radice e delle radichette laterali più fini, ma sono anche in grado di penetrarvi scavando delle gallerie. Quelle di terza ed ultima età solitamente si nutrono della radice dall'esterno e rappresentano lo stadio in grado di determinare il maggior danno alle piante di mais. Le larve di terza età abbandonano poi le radici per andare ad impuparsi nel terreno in prossimità dell'apparato radicale all'interno di una cella pupale. Lo stadio larvale dura circa 30-40 giorni, mentre quello di pupa da 5 a 10 giorni (Fisher, 1986; Levine e Oloumi-Sadeghi, 1991).

Gli adulti, prima i maschi e circa una settimana dopo le femmine, emergono dal terreno a partire da metà giugno e possono sopravvivere anche per oltre due mesi. Poiché lo sfarfallamento prosegue per circa un mese, è possibile trovare adulti in campo anche fino ad ottobre, a seconda delle condizioni meteorologiche. Diversi modelli basati sull'accumulo dei gradi giorno sono stati sviluppati al fine di

prevedere il momento della schiusura delle uova, oltre che della comparsa dei vari stadi preimmaginali e dello sfarfallamento degli adulti in condizioni naturali (Bergman e Turpin, 1984; Fisher *et al.*, 1990). Attualmente il modello che sembra adattarsi meglio nel nostro ambiente è quello di Davis *et al.* (1996).

Una volta sfarfallati gli adulti si accoppiano e le femmine sono in grado di deporre le uova nel terreno circa 14 giorni dopo l'emergenza e possono proseguire fino a 60 giorni (Fisher *et al.*, 1991). L'ovideposizione ha quindi luogo da fine giugno a fine settembre, a seconda delle condizioni climatiche. È stato osservato che le femmine in campo sono in grado di deporre circa 350 uova, mentre in condizioni controllate anche fino a 1000 (Hill, 1975; Toepfer e Kuhlmann, 2006).

Gli adulti si nutrono preferibilmente delle sete fresche, del polline, e delle cariossidi ancora tenere. Un'elevata densità di adulti (in genere cinque per pianta) che si alimentano sulle sete fiorali, può compromettere l'impollinazione (fenomeno del "silk-clipping") (Levine e Oloumi-Sadeghi, 1991). Sulle foglie del mais effettuano delle scarificature longitudinali; tale danno risulta tuttavia trascurabile, a meno che la popolazione non sia estremamente numerosa.

L'attività trofica larvale è in grado di annullare la funzionalità dell'apparato radicale delle piante di mais, riducendo così l'assorbimento di acqua e nutrienti dal terreno, necessari per la crescita e lo sviluppo della piante che quindi ridurranno la produzione di biomassa e di granella (Levine e Oloumi-Sadeghi, 1991). Inoltre le ferite radicali causate dalle larve possono aprire la strada per l'instaurarsi di funghi o batteri in grado di danneggiare ulteriormente la pianta. Danni estesi portano in un primo momento alla ginocchiatura delle piante (visibile nel cosiddetto sintomo a "collo d'oca") e in seguito all'allettamento delle stesse, soprattutto nel caso di condizioni atmosferiche particolarmente avverse. Ciò comporta infine problemi durante la fase di raccolta delle piante con una minor resa areica.

Al fine di valutare i danni radicali provocati dalle larve di Diabrotica, in passato sono state proposte diverse metodologie (Hills e Peter, 1971; Musick e Suttle, 1972). Quella al momento utilizzata a livello internazionale è la “Node Injury Scale”, proposta da Oleson *et al.* nel 2005. Tale scala assegna dei valori compresi tra 0,00 e 3,00, in proporzione ai nodi radicali danneggiati completamente. Rispetto alle scale utilizzate in precedenza per l’attribuzione della classe di danno, ha il vantaggio di esprimere una relazione lineare tra il valore numerico della scala e il danno radicale. Mentre infatti le metodologie precedenti classificavano il danno qualitativamente, in questo caso la scala è quantitativa. Ciò consente una maggior precisione ed accuratezza nella valutazione del danno radicale (Oleson *et al.*, 2005).

### **1.6 Piante ospiti**

*D. v. virgifera* è sempre stato considerato un fitofago specializzato esclusivamente su *Zea mays* L., il mais (Chiang, 1973). Nonostante gli adulti fossero già stati osservati ad alimentarsi e a deporre le uova anche su colture diverse dal mais (Dicke, 1955), si riteneva che le larve fossero invece monofaghe su radici di mais. Le prime osservazioni sulla capacità di sviluppo delle larve del fitofago su piante ospiti alternative al mais risalgono al 1967 (Branson e Ortman). Su ventidue graminacee testate, nove specie hanno supportato lo sviluppo di larve di Diabrotica fino alla seconda età, mentre su sei specie l’insetto si è sviluppato fino allo stadio di adulto. Ulteriori approfondimenti nel 1970 (Branson e Ortman) hanno portato all’individuazione di altre specie di graminacee in grado di supportare la crescita delle larve e/o il completamento del ciclo dell’insetto fino allo sfarfallamento di adulti che si sono mostrati fertili. Queste prime osservazioni hanno portato alla conclusione che numerose graminacee sono in grado di

supportare lo sviluppo di *Diabrotica*, anche se il numero di adulti ottenuti sui diversi ospiti è sempre inferiore a quello del mais, che rimane quindi l'ospite d'elezione. In seguito a tali osservazioni le larve sono state definite oligofaghe e non più monofaghe su mais come si pensava in precedenza. Studi successivi sono stati svolti da Clark e Hibbard (2004) che hanno osservato la sopravvivenza delle larve fino a 24 giorni su 23 delle 28 specie sottoposte alle prove e lo sfarfallamento di adulti da 5 specie. Inoltre hanno valutato la capacità di crescita e i parametri morfologici del fitofago su specie erbacee infestanti, da foraggio, da prato e colture estensive. Nonostante alcuni dati siano discordanti con quanto osservato in precedenza da Branson e Ortman, anche in questo caso è stata osservata la capacità di sopravvivenza e di crescita di *Diabrotica* su numerose specie erbacee. Oyediran *et al.* (2004) hanno anch'essi verificato lo sfarfallamento di adulti da 14 delle 21 specie di graminacee sperimentate e la sopravvivenza delle larve per almeno 10 giorni su 20 di esse.

La conoscenza della performance di larve e adulti su piante ospiti alternative è tuttavia ancora abbastanza limitata e poco si sa anche sulla regolazione chimica delle preferenze alimentari delle larve. Si ritiene che alcuni composti intervengano in diverse fasi (pre o post ingestione) e con differenti ruoli (repellenza, attrattività, antibiosi, carenze alimentari) (Moeser e Vidal, 2004a). E' noto che le larve sono attratte dalla CO<sub>2</sub> prodotta dalle radici del mais (Bernklau e Bjostad, 1998) e non sono in grado di discriminare tra radici di specie differenti prima del contatto (Strnad e Dunn, 1990). In relazione ai composti che potrebbero inibire l'attività larvale, sono state effettuate ricerche su mais con particolare attenzione verso il contenuto di acidi idrossamici (DIMBOA e prodotti derivati) (Xie *et al.*, 1990), individuando una correlazione inversa tra il contenuto nelle radici della pianta di mais e la performance delle larve di *D. virgifera virgifera* (effetto fagodeterrente e tossico). E' stata poi osservata l'esistenza di fagostimolanti emessi dalle radici del

mais (Bernklau e Bjostad, 2008). Sono stati saggiati composti sintetici contenenti i principali componenti estratti dalle radici del mais: aminoacidi, zuccheri e acidi grassi liberi (acido oleico e linoleico). Gli zuccheri addizionati con acido oleico e/o linoleico hanno permesso lo sviluppo del maggior numero di larve, mentre gli aminoacidi non si sono mostrati elementi essenziali; gli acidi grassi liberi inoltre sembrano essere coinvolti nella localizzazione dell'ospite da parte delle larve di *Diabrotica* (Hibbard *et al.*, 1994).

Vi sono scarse notizie in relazione alla presenza di composti che impediscano l'attacco o inibiscano lo sviluppo di larve su piante diverse dal mais (Branson *et al.*, 1969; Moeser and Vidal, 2004b). Moeser e Vidal (2004a, b) hanno investigato le conoscenze sulle performance delle larve di *Diabrotica* su piante ospiti alternative al mais, determinando l'efficienza nella conversione dell'alimento in biomassa corporea. I parametri presi in considerazione sono stati il contenuto in azoto e la quantità di fitosteroli presenti nelle piante sottoposte a sperimentazione. Anche in questo caso è stata osservata la capacità delle larve di *D. virgifera virgifera* di sopravvivere ed accrescersi su numerose graminacee, anche infestanti. Il rapporto carbonio/azoto sembra essere correlato positivamente con la quantità di cibo assunta dalla larva, ma non con l'incremento di peso della larva stessa. Similmente, le larve si sono nutrite maggiormente sulle piante con il più alto contenuto di fitosteroli, ma a questo non è seguito un pari incremento di peso.

Da questi studi si intuisce come infestanti o altre colture potrebbero divenire un serbatoio per *Diabrotica* quando non è disponibile il mais, riducendo così l'efficacia delle tecniche di controllo e/o di eradicazione che si basano principalmente sulla rotazione del mais.

Relativamente all'attività trofica degli adulti, negli Stati Uniti questi sono stati osservati alimentarsi su numerose specie vegetali, quali soia (*Glicine max* (L.) Merr.), erba medica (*Medicago sativa* L.), trifoglio violetto (*Trifolium pratense* L.) e

sull'infiorescenza di girasole (*Helianthus annuus* L.), nonché su altre *Poaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae* e *Cucurbitaceae* (Levine *et al.*, 2002).

Ricerche condotte in Europa, hanno permesso di osservare come gli adulti di *Diabrotica* siano in grado di alimentarsi del polline di numerose specie infestanti o di altre colture (Moeser, 2003). Analizzando il contenuto intestinale sono infatti stati riconosciuti pollini appartenenti a circa una ventina di specie vegetali.

I principali fattori che sembrano influenzare l'ecologia nutrizionale di *Diabrotica*, sembrano essere: la fenologia del mais, l'habitat e l'abbondanza di fonti alternative di polline e il sesso dell'insetto (le femmine utilizzano maggiormente fonti alternative di polline rispetto ai maschi) (Moeser, 2003). Dal momento che l'alimentazione degli adulti è in grado di influenzare l'ovideposizione, la longevità, l'attività di volo e la migrazione (Naranjo, 1991), l'utilizzo di pollini alternativi potrebbe incrementare il periodo di tempo a disposizione per le femmine per l'ovideposizione, la fecondità e la longevità, anche laddove il mais sia già stato raccolto, facilitando così la dispersione in aree prive di mais. Ciò è da tenere in considerazione soprattutto in Europa dove gli agro-ecosistemi risultano più diversificati rispetto alla situazione statunitense (Moeser e Hibbard, 2005).

### 1.7 Controllo

Vista la dannosità di Diabrotica su mais, numerose strategie sono state sviluppate al fine di contenere le popolazioni dell'insetto.

La rotazione del mais con un'altra coltura rimane attualmente il più efficace dei mezzi di controllo di *D. v. virgifera*. Tradizionalmente negli Stati Uniti il mais viene ruotato con la soia (*Glycine max* L.); in questo modo viene interrotto il ciclo biologico dell'insetto che non è in grado di deporre le uova all'esterno dei campi di mais e le larve neonate non sono in grado di sopravvivere sulle radici di soia. Tuttavia in alcune zone degli Stati Uniti (in particolare in Illinois), a partire dagli anni '90 è stata osservata una variante di Diabrotica in grado di deporre le uova nella soia, eliminando così la possibilità di utilizzare tale coltura nella rotazione con il mais (Gray *et al.*, 1998; Levine *et al.*, 2002). Già nel caso di *Diabrotica barberi* era stato osservato un adattamento a questo avvicendamento, attribuibile però alla selezione di uova in grado di andare incontro ad una diapausa prolungata (Chiang, 1965; Krysan *et al.*, 1984, 1986; Levine *et al.*, 1992). Parte delle uova infatti riusciva a superare due inverni prima della schiusura; in tal modo le nuove larve infestavano il mais seminato dopo la rotazione con altre colture. Nel caso di *D. v. virgifera* questa capacità è stata osservata solo su una percentuale di uova inferiori all'1% e quindi non sembra, per ora, essere responsabile della capacità di adattamento alla rotazione (Levine *et al.*, 1992).

Attualmente in Europa non è ancora stata osservata la presenza di tale variante di Diabrotica, ma le numerose introduzioni del fitofago dal nord America certamente incrementano la possibilità che tale variante possa presentarsi anche nel vecchio continente, riducendo l'efficacia della rotazione per l'eradicazione o il contenimento.

Relativamente ai metodi di controllo di tipo chimico, l'applicazione di larvicidi (geodisinfestanti e concianti) si dimostra quello maggiormente diffuso. Il principale limite nella lotta alle larve consiste nella distanza di tempo che intercorre tra la distribuzione nel terreno dei principi attivi e la presenza delle larve, che si manifesta dopo alcune settimane. Per quanto riguarda i geodisinfestanti, questi vengono applicati al momento della semina interrando lungo la fila su cui è seminato il mais. L'efficacia dipende dalla loro interazione con le caratteristiche ambientali (tipo di terreno, temperatura, precipitazioni, pH), le caratteristiche dell'insetticida (formulazione, dose, solubilità, tossicità, degradabilità), i fattori biologici (momento della schiusura delle uova, livello di infestazione), i fattori colturali (epoca di semina e lavorazioni al terreno) e le modalità di distribuzione del prodotto stesso (Levine e Oloumi-Sadeghi, 1991). L'applicazione di geodisinfestanti tuttavia in alcuni casi si è dimostrata di efficacia relativa, e, soprattutto là dove applicata in maniera continua per più anni come in una parte del Corn Belt, la Diabrotica è stata in grado di sviluppare resistenza ad alcuni insetticidi (Ball e Weekman, 1962; Siegfried e Mullin, 1989).

L'impiego di seme conciato al fine di proteggere le radici dall'attacco larvale è consigliabile solo nel caso di basse-medie infestazioni, dal momento che ha fornito risultati non sempre soddisfacenti, soprattutto nel caso di elevata pressione del fitofago (Furlan *et al.*, 2006; Van Rozen e Ester, 2007).

Per quanto concerne invece il contenimento degli adulti, l'utilizzo di insetticidi può avere un duplice scopo. In alcuni casi infatti possono essere impiegati per il controllo degli individui che, mediante il 'silk clipping' minacciano la fecondazione delle piante portando alla produzione di un numero ridotto di cariossidi. Più frequentemente hanno invece lo scopo di proteggere la coltura del mais dall'attacco delle larve nell'anno successivo, mediante la riduzione delle femmine ovideponenti. Gli adulticidi, piretroidi o fosfororganici, vengono generalmente



applicati su aree contigue di notevoli dimensioni affinché siano efficaci; ai principi attivi utilizzati possono essere associati fagostimolanti, come le cucurbitacine (Boriani *et al.*, 2006). Tuttavia l'applicazione di adulticidi necessita una particolare attenzione per l'impatto che può avere sull'ambiente. Inoltre è necessario che il trattamento sia tempestivo, ovvero deve essere eseguito quando in campo sono presenti il 10% di femmine con uova mature, altrimenti può ridurre in modo significativo l'effetto sulle ovideposizioni. Anche per quanto riguarda gli adulticidi, a partire dalla fine degli anni '90 sono stati osservati i primi fenomeni di resistenza ai principi attivi utilizzati (Meinke *et al.*, 1998).

In ultimo, negli Stati Uniti già da alcuni anni sono stati sviluppati ibridi di mais contenenti geni che codificano per la produzione di proteine insetticide di *Bacillus thuringiensis*, attive nei confronti delle larve neonate di diverse specie di Diabrotica. Oltre a *D. v. virgifera*, sono attive per *D. barberi*, *D. v. zea* e *D. undecimpunctata howardi* (Moellenbeck *et al.*, 2001; Ellis *et al.*, 2002). Dal 2003 al 2009 la diffusione di ibridi geneticamente modificati è incrementata fino ad interessare circa il 45% della produzione maidicola statunitense. Tuttavia ben presto si è manifestata la presenza di resistenza da parte delle larve di Diabrotica con la presenza di danni in campi con mais transgenico e lo sfarfallamento di numerosi adulti, tanto da mettere in questione l'ulteriore utilizzo di tali ibridi (Gassmann *et al.*, 2011; Gray *et al.*, 2009).



## **PARTE SPERIMENTALE**

### **2. PROVE IN VASO CON INFESTAZIONE ARTIFICIALE**

Per valutare la capacità di Diabrotica di crescere e svilupparsi su piante ospiti diverse dal mais, nel 2011 e nel 2012 si è proceduto all'infestazione artificiale di piante in vaso coltivate in serra. Le graminacee sono state selezionate sulla base della bibliografia disponibile, privilegiando quelle maggiormente coltivate nei nostri ambienti come foraggere o cereali e quelle per le quali si avevano minori informazioni.

#### **2.1 MATERIALI E METODI**

##### ***2.1.1 Semina delle piante ospiti***

La prova è stata condotta presso la serra sperimentale della Fondazione Minoprio, a Vertemate con Minoprio (CO), in condizioni di umidità e temperatura controllate (T media 24,4 C°±6°C, UR media 49,4% nel 2011; T media 25,5 C°±6°C, UR media 54,2% nel 2012). Per valutare la suscettibilità all'attacco di larve di Diabrotica sono state utilizzate diverse specie di graminacee (cereali e foraggere) e il mais come confronto (Tab. 2). *Agrostis tenuis*, *Alopecurus pratensis*, *Arrhenatherum elatius* e *Festuca pratensis* non erano mai state testate in precedenza.

Le singole specie sono state seminate utilizzando vasi in plastica dal diametro di 18 cm contenuti 2,6 l di ammendante torboso composto della Vitaflor che comprendeva terra e sabbia. I fori di drenaggio dei vasi sono stati chiusi con una rete in modo da permettere il passaggio dell'acqua ma non l'eventuale fuoriuscita delle larve di Diabrotica.

Le piante sono poi state bagnate secondo necessità e si è provveduto alla loro fertilizzazione.

Tabella 2. Elenco delle specie utilizzate per la prova con infestazione artificiale nel 2011 e nel 2012.

SPECIE	2011	2012
<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>		x
<i>Agrostis tenuis</i>	x	x
<i>Alopecurus pratensis</i>	x	x
<i>Arrhenatherum elatius</i>	x	
<i>Festuca arundinacea</i>	x	x
<i>Festuca pratensis</i>	x	x
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	x	x
<i>Lolium perenne</i>	x	x
<i>Miscanthus giganteus</i>		x
<i>Panicum miliaceum</i>	x	x
<i>Setaria viridis</i>		x
<i>Trisetum flavescens</i>	x	
<i>Triticum spelta</i>	x	x
<i>Zea mays</i>	x	x

**2011** – Sono state confrontate 10 specie di graminacee (2 cereali e 8 foraggere) e il mais come testimone.

**2012** - Sono state testate 11 specie di graminacee, oltre al mais, usato come confronto. Le graminacee comprendevano 2 cereali, 7 foraggere, *Miscanthus giganteus*, pianta utilizzata prevalentemente per la produzione di biomassa e *Setaria viridis*, infestante del mais.

### **2.1.2 Conservazione e incubazione delle uova**

Dal momento del loro ricevimento dal CABI Europe, le uova di Diabrotica sono state mantenute in frigorifero ad una temperatura di circa 7°C. Periodicamente si è provveduto ad osservare il loro stato di conservazione soprattutto in merito all'umidità.

Quando le piante oggetto della prova erano state seminate da 2 settimane, le uova sono state trasferite su capsule Petri e posizionate in cella a circa 25°C per l'incubazione. Le prime larve sono state osservate dopo 15 giorni.

### **2.1.3 Infestazione delle piante**

Quattro settimane dopo la semina, le piante sono state infestate con larve neonate di Diabrotica, trasferendole direttamente dalla capsula Petri con un pennellino. Nel terriccio di ogni vaso è stato praticato un foro di circa 1 cm di diametro e 5 cm di profondità per inserirvi le larve. Il foro stesso è stato poi richiuso con della terra.

**2011** - L'infestazione è stata effettuata in un'unica data e in ogni vaso sono state posizionate 20 larve. Per ogni specie di graminacea seminata sono stati allestiti 20 vasi. Cinque vasi di ogni specie sono stati posizionati su 4 bancali. Ciò ha permesso di avere 4 ripetizioni, costituite ciascuna dalle piante poste su un bancale. Nel momento dell'estrazione delle larve veniva prelevata una pianta per bancale per specie.

**2012** - Per ogni specie sono state effettuate 2 infestazioni con un intervallo di 3 giorni, in modo da permettere di avere, alla stessa data di campionamento degli stadi preimmaginali, individui ad un diverso numero di giorni di crescita. Per ogni specie testata sono stati allestiti 36 vasi, ognuno infestato con 15 larve. Ad ogni

campionamento venivano prelevati 3 vasi per specie, per un totale di 9 campionamenti. I rimanenti vasi sono stati mantenuti per osservare l'eventuale sfarfallamento di adulti.

A partire dal ventesimo giorno dall'infestazione su ogni vaso sono state posizionate delle reti in alluminio per impedire agli adulti eventualmente sfarfallati di evadere e poter procedere alla loro raccolta.

#### **2.1.4 Monitoraggio degli stadi giovanili**

Per il campionamento degli stadi giovanili, il contenuto di ogni vaso (terra e apparati radicali) è stato posizionato in apposite bacinelle in polietilene (53x40x15 cm) e quindi aggiunta acqua fino a ricoprire la terra stessa. La terra è stata disgregata e gli stadi giovanili eventualmente presenti venivano a galla e potevano essere raccolti. Le radici delle piante ospiti sono poi state inserite in imbuto di Berlese per l'estrazione di eventuali larve endofaghe. Gli individui trovati sono stati conservati in alcol al 90% e in seguito è stata misurata allo stereomicroscopio la capsula cefalica di ogni larva per attribuirne l'età, secondo le indicazioni di Hammack *et al.* (2003). Ogni individuo raccolto è poi stato essiccato in stufa (80°C per 48 h) per valutare il peso secco utilizzando una bilancia analitica SARTORIUS MICRO XM 1000 P.

**2011** – I rilievi per l'estrazione degli stadi preimmaginali sono stati effettuati a 7, 14, 22 e 28 giorni dall'infestazione.

**2012** – Nel secondo anno i campionamenti sono stati eseguiti a 3, 6, 10, 14, 17, 21, 24, 27 e 30 giorni dall'infestazione.

### **2.1.5 Monitoraggio degli adulti**

A partire dal 25° giorno, ogni due giorni venivano controllati i vasi, precedentemente coperti con una rete, per verificare l'eventuale sfarfallamento degli adulti. Gli individui sfarfallati sono stati conservati in alcol al 90% e ne è stato osservato il sesso e misurata la larghezza della capsula cefalica nel punto di massima larghezza. Quindi sono stati essiccati in stufa (80°C per 48 h) per valutarne il peso secco.

### **2.1.6 Elaborazione dei dati**

Per valutare l'appetibilità delle specie ospiti alternative al mais nei confronti di *Diabrotica* e le performance degli individui, sono state prese in considerazione le seguenti variabili: il numero degli individui recuperati (percentuale di recupero), la larghezza della capsula cefalica delle larve e il suo incremento nel tempo, il peso secco delle larve e il relativo incremento.

Per valutare l'incremento medio della larghezza della capsula cefalica, è stata sottratta la larghezza media della capsula cefalica, rilevata in un sottocampione di larve neonate, dai valori delle singole larve recuperate. Similmente si è proceduto per l'incremento del peso secco, ovvero sottraendo il peso secco medio di un sottocampione di larve neonate al peso secco di ogni larva.

Anche per quanto riguarda gli adulti, i parametri considerati sono stati il numero di individui sfarfallati, la larghezza della capsula cefalica e il peso secco.

I dati sono stati elaborati con SPSS Statistics mediante analisi della varianza, per rilevare eventuali differenze statistiche significative tra le tesi (test di Duncan per  $P < 0,05$ ).

Al fine di comparare il tasso di sviluppo (Developmental Index) di *Diabrotica* sulle diverse specie vegetali, è stato calcolato l'Indice di Sviluppo, già utilizzato da Bird

e Hodkinson (2005) e da Chuche e Thiéry (2011). Ad ogni stadio di sviluppo è stato attribuito un peso compreso tra 1 e 5, e, quindi, calcolato l'Indice secondo la seguente formula:

$$ID = \sum_{i=1}^5 (n_i) / T$$

dove T = numero totale di individui di *D. v. virgifera*, i = valore attribuito allo stadio (1= larva di prima età, 2= larva di seconda età... 4=pupa, 5= adulto),  $n_i$  = numero di individui nello stadio i.



## 2.2 RISULTATI

### 2.2.1 Monitoraggio degli stadi preimmaginali

#### 2011

Le larve sono sopravvissute su 8 delle 11 specie vegetali osservate. Sui tre ospiti *A. elatius*, *L. perenne* e *T. flavescens* non sono mai stati osservati stadi giovanili di *Diabrotica*.

La maggior parte degli stadi giovanili sono stati trovati nel mais (tasso di recupero del 44,7%) (Tab. 3). Rispetto a quest'ultimo, le specie che hanno mostrato il tasso di recupero più alto sono stati i due cereali *P. miliaceum* (49,7%) e *T. spelta* (48,3%). Gli altri ospiti hanno mostrato valori molto inferiori, compresi tra un minimo di 2,8% (*A. pratensis*) e un massimo di 16,1% (*A. tenuis*). Il maggior numero di esemplari è stato recuperato a 7 e 14 giorni. Nel terzo campionamento (22 giorni) il numero delle larve è diminuito e sono iniziate a comparire le pupe. Sulle specie risultate positive, le larve sono state osservate in tutti e 4 i campionamenti (fino al 28° giorno dall'infestazione), tranne su *A. pratensis*, dove sono state osservate solo nei primi due.

I dati analizzati mediante l'analisi della varianza, mostrano come i due cereali siano sempre risultati statisticamente simili tra di loro in tutti i campionamenti effettuati e, in alcuni casi, anche simili al mais (Tab. 4). Le altre specie ospiti presentano un numero inferiore di stadi preimmaginali sopravvissuti, a volte anche scostandosi significativamente dai cereali (campionamento a 22 giorni) e sempre dal mais. All'ultimo rilievo (28 giorni) solo il testimone si è distinto dagli altri ospiti, a causa del numero elevato di pupe rinvenute. Complessivamente si può osservare una differenza significativa sul numero di individui recuperati tra il mais, i cereali e le altre foraggere.

Le larve si trovavano prevalentemente nel terreno attorno all'apparato radicale; all'interno delle radici sono state trovate nelle seguenti specie: *F. pratensis*, *L. multiflorum italicum*, *P. miliaceum*, *T. spelta* e *Z. mays*.

Relativamente alla fase fenologica, larve di terza età sono state individuate su tutte le specie eccetto *A. pratensis*, dove non stati più osservati individui a partire dal terzo campionamento (Tab. 5). Le 3 specie con la più elevata percentuale di sopravvivenza larvale (mais, panico e spelta) hanno permesso di rilevare la presenza di larve di terza età già dalla seconda estrazione (14 giorni), mentre nelle altre sono comparse a partire dal 22° giorno. La presenza di pupe è stata osservata su mais e, in numero più contenuto, su *T. spelta* (% relativa 14,6) e *P. miliaceum* (% relativa 12,5). Su mais e *T. spelta* le pupe sono comparse dal terzo campionamento (22 giorni), mentre su *P. miliaceum* sono state osservate al rilievo successivo (28 giorni).

Tabella 3. Numero di individui recuperati dalle diverse specie nel 2011. Tra parentesi è riportata la percentuale di sopravvivenza su ogni specie rispetto a quella del mais.

Specie	Giorni dall'infestazione							
	7	14	22		28		TOTALE	
	Larve	Larve	Larve	Pupe	Larve	Pupe	Larve	Pupe
<i>Alopecurus pratensis</i>	3 (7,7)	1 (2,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (4,2)	0 (0,0)
<i>Agrostis tenuis</i>	8 (20,5)	9 (19,1)	3 (37,5)	0 (0,0)	3 (300,0)	0 (0,0)	23 (24,2)	0 (0,0)
<i>Festuca arundinacea</i>	15 (38,5)	2 (4,3)	3 (37,5)	0 (0,0)	2 (200,0)	0 (0,0)	22 (23,2)	0 (0,0)
<i>Festuca pratensis</i>	13 (33,3)	1 (2,1)	3 (37,5)	0 (0,0)	2 (200,0)	0 (0,0)	19 (20,0)	0 (0,0)
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	11 (28,2)	3 (6,4)	3 (37,5)	0 (0,0)	2 (200,0)	0 (0,0)	19 (20,0)	0 (0,0)
<i>Panicum miliaceum</i>	30 (76,9)	13 (27,7)	20 (250,0)	0 (0,0)	2 (200,0)	6 (18,8)	65 (68,4)	6 (12,5)
<i>Triticum spelta</i>	21 (53,8)	21 (44,7)	18 (225)	2 (12,5)	2 (200)	5 (15,6)	62 (65,3)	7 (14,6)
<i>Zea mays</i>	39 (100,0)	47 (100,0)	8 (100,0)	16 (100,0)	1 (100,0)	32 (100,0)	95 (100,0)	48 (100,0)

Tabella 4. Numero di stadi preimmaginali recuperati dalle diverse specie (media  $\pm$  ES) nel 2011. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	Giorni dall'infestazione				
	7 gg	14 gg	22 gg	28 gg	TOTALE
<i>Agrostis tenuis</i>	2,00 $\pm$ 1,16ab	2,25 $\pm$ 1,32ab	0,75 $\pm$ 0,75a	0,75 $\pm$ 0,48ab	1,44 $\pm$ 0,40a
<i>Alopecurus pratensis</i>	0,75 $\pm$ 0,48a	0,25 $\pm$ 0,25a	0,00 a	0,00 a	0,25 $\pm$ 0,18a
<i>Arrhenatherum elatius</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
<i>Festuca arundinacea</i>	3,75 $\pm$ 1,18ab	0,50 $\pm$ 0,29a	0,75 $\pm$ 0,48a	0,50 $\pm$ 0,50ab	1,38 $\pm$ 0,79a
<i>Festuca pratensis</i>	3,25 $\pm$ 1,38ab	0,25 $\pm$ 0,25a	0,75 $\pm$ 0,48a	0,50 $\pm$ 0,29ab	1,19 $\pm$ 0,70a
<i>Lolium m.italicum</i>	2,75 $\pm$ 0,85ab	0,75 $\pm$ 0,48a	0,75 $\pm$ 0,25a	0,50 $\pm$ 0,5ab	1,19 $\pm$ 0,52a
<i>Lolium perenne</i>	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
<i>Panicum miliaceum</i>	7,50 $\pm$ 1,66cd	3,25 $\pm$ 1,49ab	5,00 $\pm$ 3,54b	2,00 $\pm$ 0,91b	4,44 $\pm$ 1,19b
<i>Trisetum flavescens</i>	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a
<i>Triticum spelta</i>	5,00 $\pm$ 2,27bc	5,25 $\pm$ 2,50b	5,00 $\pm$ 1,41b	1,75 $\pm$ 0,85b	4,25 $\pm$ 0,84b
<i>Zea mays</i>	9,75 $\pm$ 1,44d	11,75 $\pm$ 1,03c	6,00 $\pm$ 1,58b	8,00 $\pm$ 0,41c	8,88 $\pm$ 1,23c

Tabella 5. Tempi di comparsa (numero di giorni dall'inoculazione al campionamento) delle diverse età larvali e delle pupe sulle diverse specie ospiti nel 2011.

Specie	I ETA'	II ETA'	III^ ETA'	PUPE
<i>Agrostis tenuis</i>	7	7	22	-
<i>Alopecurus pratensis</i>	7	7	-	-
<i>Festuca arundinacea</i>	7	14	22	-
<i>Festuca pratensis</i>	7	7	22	-
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	7	7	22	-
<i>Panicum miliaceum</i>	7	7	14	28
<i>Triticum spelta</i>	7	7	14	22
<i>Zea mays</i>	7	7	14	22

**2012**

Il maggior numero di stadi preimmaginali è stato trovato su mais, dove si è potuto registrare un tasso di recupero del 45,4%. Le larve sono sopravvissute su 7 specie di 11 testate, oltre al testimone (Tab. 6). *F. arundinacea*, *F. pratensis*, *L. perenne* e *S. viridis* non hanno fornito alcun risultato positivo. In generale nella prova si sono registrati bassi valori di recupero, anche comparati a quelli trovati nel 2011. Considerando la sopravvivenza larvale relativa, rispetto a quella osservata su mais, la specie su cui si sono registrati i valori più elevati è stata *A. stolonifera gigantea* con solo il 10,87%, seguita da *M. giganteus* (7,61%). *P. miliaceum* e *T. spelta*, che nel 2011 avevano fatto registrare una sopravvivenza relativa degli stadi preimmaginali di oltre il 48%, hanno invece fornito valori di recupero molto bassi, solo del 6,16% rispetto al mais. Inoltre il ritrovamento delle larve su alcune specie è avvenuto solo in occasione di un campionamento (*A. pratensis*, *L. multiflorum italicum*) o due (*A. tenuis*), a volte anche a distanza di numerosi giorni dal momento dell'infestazione. La maggior parte degli esemplari sono stati trovati tra il 6° e il 17° giorno, quindi il loro numero è diminuito. Nel mais le larve sono state osservate fino al 21° giorno, dopo questo momento sono comparse le pupe, mentre sulle altre specie sono sopravvissute fino al 27° (*A. stolonifera gigantea* e *T. spelta*). Le larve sono state trovate quasi esclusivamente nel terreno, mentre nelle radici solo nel caso del mais e del *M. giganteus*.

Considerando i singoli campionamenti, il testimone si è statisticamente differenziato dalle altre specie in tutti le date, eccetto a 21 giorni quando è risultato simile, rispettivamente, ad *A. stolonifera gigantea* e a 27 giorni a *T. spelta* (Tab. 7). Complessivamente il mais è l'unica tesi che si è differenziata significativamente dalle altre, risultate invece tutte uguali tra di loro.

Relativamente alla fase fenologica, su tutte le specie che hanno permesso uno sviluppo delle larve di Diabrotica sono stati ritrovati esemplari di terza età, tranne

che su *A. tenuis* e *A. pratensis* (Tab. 8). Anche in questo caso la comparsa degli individui di seconda e terza età è avvenuta tardivamente rispetto a quanto osservato nel mais, da 3 fino a 11 giorni dopo. Solo su *M. giganteus* la comparsa degli individui di ultima età è avvenuta nello stesso numero di giorni del mais.

Le pupe sono state osservate, oltre che sul mais, anche su *M. giganteus* e *P. miliaceum*, specie su cui erano state individuate anche le larve. Il loro numero tuttavia è stato molto contenuto, con un valore medio di sopravvivenza di 0,49% nel caso di *M. giganteus* e 0,25% nel *P. miliaceum*. Nel mais invece la percentuale di recupero per le pupe è stata del 9,38. Considerando poi il momento della comparsa delle pupe, mentre nel mais esse compaiono già al 21° giorno, nelle altre due specie sono state osservate solo al 27°, con un ritardo quindi di circa una settimana. Sulle altre specie non è stato mai possibile reperire le pupe.

Tabella 6. Numero di individui recuperati dalle diverse specie nel 2012. Tra parentesi è riportata la percentuale di sopravvivenza su ogni specie rispetto a quella del mais.

Specie	Giorni dall'infestazione											TOTALE	
	3	6	10	14	17	21	24	27	30			Larve	Pupe
	Larve	Larve	Larve	Larve	Larve	Larve	Pupe	Pupe	Larve	Pupe	Pupe		
<i>Agrostis s. gigantea</i>	0 (0,0)	3 (8,8)	0 (0,0)	7 (21,9)	0 (0,0)	9 (180)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)	20 (14,1)	0 (0,0)
<i>Agrostis tenuis</i>	3 (30,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (4,9)	0 (0,0)
<i>Alopecurus pratensis</i>	0 (0,0)	3 (8,8)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (2,1)	0 (0,0)
<i>Lolium m. talicum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (3,1)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,7)	0 (0,0)
<i>Miscanthus giganteus</i>	0 (0,0)	4 (11,8)	3 (10,3)	3 (9,4)	2 (6,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (25,0)	0 (0,0)	12 (8,5)	2 (5,3)
<i>Panicum miliaceum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (7,9)	3 (9,4)	4 (12,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)	9 (6,3)	1 (2,6)
<i>Triticum spelta</i>	1 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2(6,23)	0 (0,0)	2 (40,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	4 (400)	0 (0,0)	0 (0,0)	9 (6,3)	0 (0,0)
<i>Zea mays</i>	10 (100)	34 (100)	29 (100)	32 (100)	32 (100)	5 (100)	8 (100)	18 (100)	0 (0,0)	8 (100)	4 (100)	142 (100)	38 (100)

Tabella 7. Numero di stadi giovanili recuperati dalle diverse specie (media  $\pm$  ES) nel 2012. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	Giorni dall'infestazione									TOTALE
	3 gg	6 gg	10 gg	14 gg	17 gg	21 gg	24 gg	27 gg	30 gg	
<i>Agrostis s. gigantea</i>	0,00a	1,00 $\pm$ 1,00a	0,00a	2,33 $\pm$ 0,67a	0,00a	3,00 $\pm$ 1,16ab	0,00a	0,33 $\pm$ 0,33a	0,00a	0,83 $\pm$ 0,42a
<i>Agrostis tenuis</i>	1,00 $\pm$ 1,00a	0,00a	0,00a	1,33 $\pm$ 0,88a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,29 $\pm$ 0,19a
<i>Alopecurus pratensis</i>	0,00a	1,00 $\pm$ 1,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,13 $\pm$ 0,13a
<i>Festuca arundinacea</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
<i>Festuca pratensis</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
<i>Lolium m. italicum</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,33 $\pm$ 0,33a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,04 $\pm$ 0,04a
<i>Lolium perenne</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
<i>Miscanthus giganteus</i>	0,00a	1,33 $\pm$ 1,33a	1,00 $\pm$ 0,58a	1,00 $\pm$ 0,58a	0,67 $\pm$ 0,67a	0,00a	0,00a	0,67 $\pm$ 0,67a	0,00a	0,58 $\pm$ 0,20a
<i>Panicum miliaceum</i>	0,00a	0,00a	0,67 $\pm$ 0,67a	1,00 $\pm$ 1,00a	1,33 $\pm$ 0,88a	0,00a	0,00a	0,33 $\pm$ 0,33a	0,00a	0,42 $\pm$ 0,19a
<i>Setaria viridis</i>	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a	0,00a
<i>Triticum spelta</i>	0,33 $\pm$ 0,38a	0,00a	0,00a	0,67 $\pm$ 0,67a	0,00a	0,67 $\pm$ 0,67a	0,00a	1,33 $\pm$ 0,88ab	0,00a	0,38 $\pm$ 0,17a
<i>Zea mays</i>	3,33 $\pm$ 0,33b	11,33 $\pm$ 2,40b	9,67 $\pm$ 0,88b	10,67 $\pm$ 2,60b	10,67 $\pm$ 2,03b	4,33 $\pm$ 2,85b	6,00 $\pm$ 2,31b	2,67 $\pm$ 1,20b	1,33 $\pm$ 0,88b	7,33 $\pm$ 1,28b



Tabella 8. Tempi di comparsa (numero di giorni dall'inoculazione al campionamento) delle età larvali e delle pupe sulle diverse specie ospiti nel 2012.

Specie	I <sup>^</sup> ETA'	II <sup>^</sup> ETA'	III <sup>^</sup> ETA'	PUPE
<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>	-	14	21	-
<i>Agrostis tenuis</i>	3	14	-	-
<i>Alopecurus pratensis</i>	6	6	-	-
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	-	-	15	-
<i>Miscanthus giganteus</i>	6	6	10	27
<i>Panicum miliaceum</i>	10	10	17	27
<i>Triticum spelta</i>	3	14	21	-
<i>Zea mays</i>	3	3	10	21

### 2.2.2 Performance biologiche

#### 2011

In Tabella 9 sono riportati i risultati dell'ANOVA sulla media della larghezza della capsula cefalica delle larve rinvenute sulle diverse specie nel 2011. I dati sono stati suddivisi per età larvale, attribuita ai singoli individui sulla base di quanto riportato da Hammack *et al.* (2003) relativamente alle larve provenienti da mais. Non è stato possibile evidenziare particolari differenze significative tra individui sviluppati su piante ospiti e su mais. Come già visto prima, su tutte le specie tranne *A. pratensis*, *Diabrotica* è stata in grado di svilupparsi almeno fino alla terza età larvale e la larghezza della capsula cefalica ha mostrato, negli intervalli di misura considerati, valori vicini a quanto osservato su larve provenienti da mais, a volte anche numericamente superiori.

Per quanto riguarda invece l'incremento della larghezza delle capsule cefaliche, il sottocampione di larve neonate aveva una media della larghezza della capsula cefalica di 0,213 mm. Tale valore è stato sottratto a quello misurato sulle singole

larve per valutare la crescita degli individui (Tab. 10). Si è potuto osservare un incremento della misura nel tempo su tutte le piante ospiti, a conferma dell'incremento dell'età larvale. Gli individui raccolti dal testimone hanno sempre mostrato i valori più elevati in tutti i singoli campionamenti, senza tuttavia differenziarsi statisticamente dai cereali *P. miliaceum* e *T. spelta*. Le larve provenienti da altre specie invece hanno fatto rilevare dei valori significativamente inferiori rispetto al testimone, ad eccezione di *F. pratensis* nell'ultimo campionamento, dove è risultata simile al mais e agli altri cereali. Le differenze di incremento nei diversi campionamenti confermano la diversa velocità di crescita di *Diabrotica* sulle specie sperimentate. Considerando i dati complessivi, le larve estratte da *T. spelta* sono quelle che hanno mostrato la massima larghezza della capsula cefalica, senza tuttavia differenziarsi da *Z. mays* e *P. miliaceum*. Queste ultime due specie non si sono significativamente distinte da *A. tenuis*, *F. pratensis* e *L. multiflorum italicum*.

Anche per quanto riguarda il peso secco delle larve sono stati considerati sia i dati del peso secco medio per età, sia l'incremento (in questo caso è stato sottratto al valore di ogni larva il peso secco medio di 8,89 µg, ottenuto dal sottocampione di larve neonate). Nel primo caso sono state osservate differenze solo nella prima e nella terza età larvale (Tab. 11). Gli individui di prima età provenienti da mais hanno mostrato un peso secco medio significativamente maggiore rispetto agli individui di tutte le altre specie. Tale differenza non è invece più osservabile negli individui di seconda età. Nel caso infine della terza età, le larve più pesanti sono state osservate su *A. tenuis*, statisticamente simile al mais. Quest'ultimo si è differenziato significativamente solo da *F. pratensis*, mentre è risultato simile a tutte le altre specie.

Differente è invece il quadro considerando l'incremento del peso secco nei campionamenti successivi (Tab. 12). Infatti è stato possibile osservare un aumento

del peso nel tempo per tutte le specie fino al 22° giorno, ma quelle provenienti da mais sono risultate significativamente più pesanti di quelle ottenute dalle altre specie ospiti, differenziandosi da tutte nei primi due campionamenti a 7 e 14 giorni; nell'estrazione a 22 giorni invece le larve provenienti da mais sono risultate statisticamente simili a quelle provenienti da *P. miliaceum*. Da un'osservazione complessiva dell'incremento del peso secco, gli individui provenienti da mais sono risultati simili a quelli degli altri cereali e di *A. tenuis*.

Tabella 9. Media della larghezza delle capsule cefaliche delle larve (mm) (media ± ES) per età nel 2011. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per P < 0,05.

Specie	I^ ETA'	II^ ETA'	III^ ETA'
<i>Agrostis tenuis</i>	0,23±0,00b	0,31±0,00a	0,50±0,01ab
<i>Alopecurus pratensis</i>	0,23±0,01b	0,35±0,01a	-
<i>Festuca arundinacea</i>	0,19±0,01a	0,32±0,01a	0,50±0,00ab
<i>Festuca pratensis</i>	0,21±0,01ab	0,36±0,03a	0,51±0,00b
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	0,22±0,01ab	0,35±0,03a	0,49±0,00a
<i>Panicum miliaceum</i>	0,24±0,01b	0,33±0,00a	0,51±0,00b
<i>Triticum spelta</i>	0,24±0,01b	0,33±0,00a	0,50±0,01ab
<i>Zea mays</i>	0,24±0,00b	0,33±0,01a	0,50±0,01ab

Tabella 10. Media dell'incremento della larghezza della capsule cefaliche delle larve (mm) (media ± ES) nel 2011. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per P < 0,05.

Specie	Giorni dall'infestazione			
	7 gg	14 gg	22 gg	TOTALE
<i>Agrostis tenuis</i>	0,03±0,02 bc	0,13±0,012a	-	0,16±0,05abc
<i>Alopecurus pratensis</i>	0,04±0,020 bcd	-	-	0,06±0,02a
<i>Festuca arundinacea</i>	-0,03±0,01a	0,11±0,01a	-	0,06±0,04a
<i>Festuca pratensis</i>	0,03±0,17bc	-	0,29±0,00b	0,10±0,05ab
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	0,01±0,01 ab	0,11±0,01a	0,20±0,04a	0,10±0,03ab
<i>Panicum miliaceum</i>	0,08±0,13cde	0,26±0,02b	0,29±0,00b	0,17±0,04abc
<i>Triticum spelta</i>	0,10±0,09e	0,19±0,06ab	0,28±0,00b	0,22±0,02c
<i>Zea mays</i>	0,09±0,19de	0,28±0,04b	0,30±0,01b	0,20±0,01bc

Tabella 11. Media del peso secco delle larve ( $\mu\text{g}$ ) (media  $\pm$  ES) per età nel 2011. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	I <sup>^</sup> ETA'	II <sup>^</sup> ETA'	III <sup>^</sup> ETA'
<i>Agrostis tenuis</i>	52,00 $\pm$ 0,00a	167,50 $\pm$ 0,02a	1718,00 $\pm$ 0,06c
<i>Alopecurus pratensis</i>	66,17 $\pm$ 0,01a	145,43 $\pm$ 0,02a	-
<i>Festuca arundinacea</i>	55,31 $\pm$ 0,01a	202,50 $\pm$ 0,05a	513,00 $\pm$ 0,02a
<i>Festuca pratensis</i>	45,63 $\pm$ 0,01a	296,67 $\pm$ 0,12a	844,50 $\pm$ 0,08ab
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	43,45 $\pm$ 0,01a	303,22 $\pm$ 0,15a	608,00 $\pm$ 0,09b
<i>Panicum miliaceum</i>	37,36 $\pm$ 0,01a	142,18 $\pm$ 0,04a	845,18 $\pm$ 0,26ab
<i>Triticum spelta</i>	64,33 $\pm$ 0,02a	160,41 $\pm$ 0,05a	812,09 $\pm$ 0,19ab
<i>Zea mays</i>	138,13 $\pm$ 0,04b	284,69 $\pm$ 0,09a	1266,00 $\pm$ 0,06bc

Tabella 12. Media dell'incremento del peso secco delle larve ( $\mu\text{g}$ ) (media  $\pm$  ES) nel 2011. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	Giorni dall'infestazione			
	7 gg	14 gg	22 gg	TOTALE
<i>Agrostis tenuis</i>	58,49 $\pm$ 8,38ab	160,26 $\pm$ 5,35a		658,55 $\pm$ 374,19bc
<i>Alopecurus pratensis</i>	66,86 $\pm$ 27,75ab			102,94 $\pm$ 39,48a
<i>Festuca arundinacea</i>	46,42 $\pm$ 5,86a	193,61 $\pm$ 47,5a		165,30 $\pm$ 61,04ab
<i>Festuca pratensis</i>	34,95 $\pm$ 6,16a		835,61 $\pm$ 78,50ab	226,49 $\pm$ 141,26ab
<i>Lolium m. italicum</i>	35,56 $\pm$ 7,53a	172,36 $\pm$ 37,25a	472,11 $\pm$ 170,45a	208,87 $\pm$ 62,11ab
<i>Panicum miliaceum</i>	60,77 $\pm$ 14,62ab	370,23 $\pm$ 61,94a	1577,28 $\pm$ 755,43bc	461,30 $\pm$ 137,50abc
<i>Triticum spelta</i>	113,31 $\pm$ 41,90b	214,65 $\pm$ 48,29a	1035,62 $\pm$ 157,86ab	560,12 $\pm$ 105,15abc
<i>Zea mays</i>	185,80 $\pm$ 18,46c	1096,06 $\pm$ 97,35b	2053,53 $\pm$ 27,11c	825,08 $\pm$ 61,02c

**2012**

In Tabella 13 e 14 sono riportati i risultati sulle misurazioni delle capsule cefaliche e sul peso secco delle larve rinvenute sulle specie ospiti, suddivise per età. A causa della scarsità dei dati non è stato possibile eseguire l'analisi statistica per tutte e tre le età, ma solo nel caso della seconda e della terza, così come non sono stati elaborati i dati relativi ai singoli campionamenti, sempre per lo stesso motivo. Relativamente al primo parametro, non è stata rilevata alcuna differenza tra le diverse specie per quanto riguarda gli individui di terza età. Nel caso della seconda età invece l'unica specie che si è distinta dal mais e da *A. stolonifera gigantea* è stata *A. tenuis*.

Per quanto concerne il peso secco, nessuna differenza significativa è stata osservata sia per le larve di seconda età che per quelle di terza.

Tabella 13. Media della larghezza delle capsule cefaliche delle larve (mm) (media ± ES) per età nel 2012. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	I <sup>^</sup> ETA'	II <sup>^</sup> ETA'	III <sup>^</sup> ETA'
<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>	-	0,35±0,02b	0,49±0,01a
<i>Agrostis tenuis</i>	-	0,30±0,00a	
<i>Miscanthus giganteus</i>	-	0,33±0,00ab	0,54±0,05a
<i>Panicum miliaceum</i>	-	0,32±0,00ab	0,52±0,07a
<i>Triticum spelta</i>	-		0,51±0,01a
<i>Zea mays</i>	-	0,34±0,01b	0,53±0,01a

Tabella 14. Media del peso secco delle larve ( $\mu\text{g}$ ) (media  $\pm$  ES) per età nel 2012. I dati sono stati analizzati con l'ANOVA e comparati utilizzando il test di Duncan; a lettere diverse corrispondono differenze significative per  $P < 0,05$ .

Specie	I ETA'	II ETA'	III ETA'
<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>	-	154,67 $\pm$ 79,38a	614,08 $\pm$ 89,46a
<i>Agrostis tenuis</i>	-	116,44 $\pm$ 62,15a	
<i>Miscanthus giganteus</i>	-	115,00 $\pm$ 71,64a	1100,17 $\pm$ 584,11a
<i>Panicum miliaceum</i>	-	696,25 $\pm$ 549,6a	1328,00 $\pm$ 689,22a
<i>Triticum spelta</i>	-	82,17 $\pm$ 82,17a	1164,56 $\pm$ 582,73a
<i>Zea mays</i>	-	232,49 $\pm$ 25,40a	1593,08 $\pm$ 81,45a

### 2.2.3 Monitoraggio degli adulti

#### 2011

Il tasso di recupero degli adulti è stato del 23,75% su mais, mentre nelle altre specie è stato molto ridotto, con una percentuale relativa rispetto al mais del 21,1 nel *T. spelta*, e 5,3 in *A. pratensis*, *L. perenne* e *P. miliaceum*. Da mais sono sfarfallati 19 individui (6 maschi e 12 femmine, 1 non determinato in quanto andato perso), 4 da *T. spelta* (3 maschi e 1 femmina) e 1 adulto da *A. pratensis*, *L. perenne* e *P. miliaceum* (tutte femmine) (Tab. 15). In nessun caso è stato possibile formare coppie e quindi ottenere ovideposizioni. È interessante far rilevare come da *L. perenne* non siano mai stati raccolti stadi preimmaginali di Diabrotica, ma si sia verificato uno sfarfallamento. Sulle altre specie non sono mai stati osservati adulti.

La misurazione della larghezza della capsula cefalica nel caso delle femmine è variata da un minimo di 0,98 mm nel *T. spelta* e nel *P. miliaceum* ad un massimo di 1,25 mm nel mais; nel caso dei maschi da 1,01 *T. spelta* a 1,21 mm in *Z. mays*

(Tab. 16). In generale i valori sia della larghezza della capsula cefalica che del peso secco sono risultati maggiori nel caso degli individui recuperati da mais rispetto a quelli sfarfallati da altre specie (ad eccezione della capsula cefalica della femmina da *A. pratensis*), e più elevati nel caso delle femmine rispetto ai maschi. Tuttavia i dati sono molto limitati e quindi non significativi per evidenziare eventuali differenze significative tra le diverse specie.

Tabella 15. Numero di adulti sfarfallati dalle diverse specie nel 2011. Tra parentesi è riportata la percentuale di sopravvivenza su ogni specie rispetto a quella del mais.

SPECIE	Giorni dall'infestazione					TOTALE
	28	34	37	41	42	
<i>Arrhenatherum elatius</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Alopecurus pratensis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (5,3)
<i>Agrostis tenuis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Festuca arundinacea</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Festuca pratensis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Lolium perenne</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (5,3)
<i>Panicum miliaceum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (33,3)	0 (0,0)	1 (5,3)
<i>Trisetum flavescens</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Triticum spelta</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	3 (42,9)	1 (33,3)	0 (0,0)	4 (21,1)
<i>Zea mays</i>	4 (100)	4 (100)	7 (100)	3 (100)	1 (100)	19 (100)



Tabella 16. Dati relativi agli adulti catturati nelle diverse specie nel 2011: n°, sesso, larghezza media pronoto±DS, peso secco medio±DS.

Specie	Femmine			Maschi			
	Tot.	N°	Largh. capsula cef. (mm)	Peso secco (mg)	N°	Largh. capsula cef. (mm)	Peso secco (mg)
<i>Alopecurus pratensis</i>	1	1	1,21	1,69	0	-	-
<i>Lolium perenne</i>	1	1	1,05	1,63	0	-	-
<i>Panicum miliaceum</i>	1	1	0,98	1,51	0	-	-
<i>Triticum spelta</i>	4	1	0,98	2,31	3	1,08±0,02	1,95±0,12
<i>Zea mays</i>	19	12	1,16±0,07	2,59±0,051	6	1,13±0,06	2,39±0,31

## 2012

Il mais ha mostrato un tasso di recupero del 24,4% con 33 individui raccolti, di cui 13 femmine e 20 maschi. Per quanto riguarda invece le altre specie, il recupero degli adulti è stato possibile solo nel caso di *A. pratensis* (2 maschi), che aveva fatto osservare la presenza di un basso numero di larve e solo in occasione del campionamento a 6 giorni (Tab. 17). Anche l'anno precedente da questa specie era sfarfallato un adulto. In Tabella 18 sono riportati i dati relativi agli adulti. Anche in questa prova, per quanto riguarda gli individui raccolti su mais, le femmine hanno mostrato una maggior larghezza della capsula cefalica rispetto a quanto misurato nei maschi, e un maggior peso secco. Dal confronto tra i maschi catturati su mais e su *A. pratensis*, si è osservata una minor larghezza della capsula cefalica e un minor peso secco degli individui provenienti da *A. pratensis*. A causa della limitatezza dei dati raccolti, non è stato possibile effettuare alcuna analisi statistica.

Tabella 17. Numero di adulti sfarfallati dalle diverse specie nel 2012. Tra parentesi è riportata la percentuale di sopravvivenza su ogni specie rispetto a quella del mais.

Specie	Giorni dall'infestazione					TOTALE
	27	30	35	42	46	
<i>Agrostis s. gigantea</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Agrostis tenuis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Alopecurus pratensis</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (14,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (6,1)
<i>Lolium m. talicum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Miscanthus giganteus</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Panicum miliaceum</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Triticum spelta</i>	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Zea mays</i>	2 (100,0)	13 (13,0)	14 (100,0)	2 (100,0)	2 (100,0)	33 (100,0)

Tabella 18. Dati relativi agli adulti catturati nelle diverse specie nel 2012: n°, sesso, larghezza media pronoto±DS, peso secco medio±DS.

Specie	Femmine			Maschi			
	Tot.	N°	Largh. capsula cef. (mm)	Peso secco (mg)	N°	Largh. capsula cef. (mm)	Peso secco (mg)
<i>Alopecurus pratensis</i>	2	0	-	-	2	1,05±0,00	2,03±0,56
<i>Zea mays</i>	33	13	1,16±0,09	2,6±0,75	20	1,13±0,05	2,38±0,31

### 2.2.4 Indice di sviluppo

Nei grafici sottostanti è riportato l'indice di sviluppo di Diabrotica sulle specie ospiti alternative nel 2011 (Fig. 7) e nel 2012 (Fig. 8). Questo è stato calcolato attribuendo a ciascuno stadio di sviluppo, dalla larva di prima età fino all'adulto, un valore compreso tra 1 e 5. Dai grafici si può osservare la diversa idoneità delle specie vegetali all'attacco da parte di Diabrotica. Infatti si nota come su alcune specie il fitofago sia stato in grado di svilupparsi, a volte fino allo sfarfallamento dell'adulto, mentre su altre il suo sviluppo si sia interrotto, anche dopo pochi giorni. Inoltre la diversa pendenza indica una differente velocità di crescita di Diabrotica sugli ospiti alternativi, soprattutto rispetto al mais.

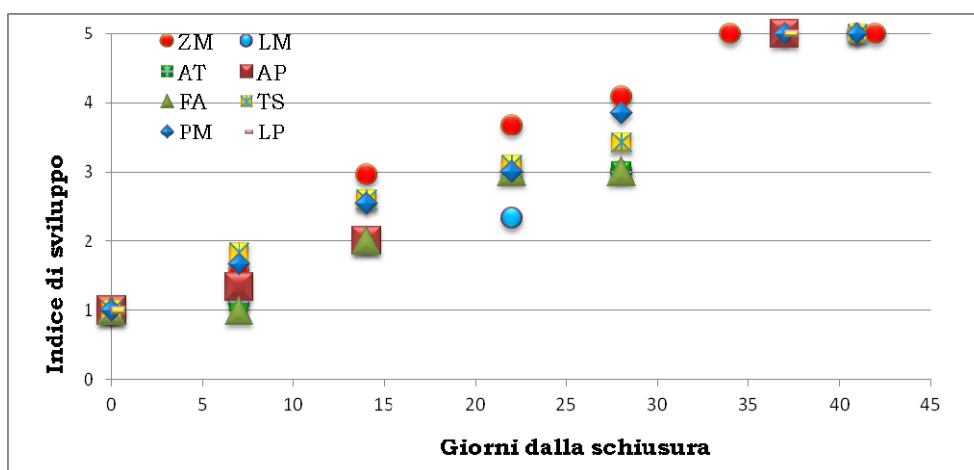


Figura 7. Indice di sviluppo di Diabrotica sulle diverse specie ospiti nel 2011.

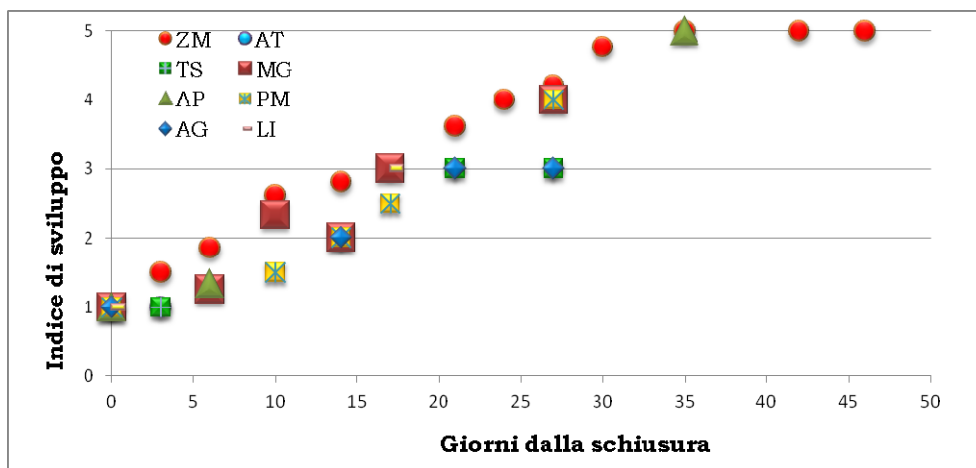


Figura 8. Indice di sviluppo di Diabrotica sulle diverse specie ospiti nel 2012.

### 3. PROVE IN CAMPO CON INFESTAZIONE NATURALE

Al fine di valutare la capacità di *D. v. virgifera* di svilupparsi su ospiti alternativi al mais in condizioni naturali, nel corso dei 3 anni sono state svolte prove sperimentali in campi di mais precedentemente infestati dal fitofago.

#### 3.1 MATERIALI E METODI

##### 3.1.1 Scelta delle specie da esaminare

La scelta delle specie da testare è stata fatta sulla base della bibliografia disponibile, privilegiando quelle piante mai precedentemente sottoposte a sperimentazione o quelle già oggetto di indagini sperimentali, ma su cui si erano ottenuti esiti discordi o non soddisfacenti. Sono state tenute in considerazione le graminacee maggiormente utilizzate nel nostro Paese come foraggiere o cereali. Inoltre si è deciso di indagare anche alcune infestanti comunemente presenti nel mais che potrebbero risultare ospiti di Diabrotica.

Nella Tabella 19 sono elencate le diverse specie seminate nel corso dei tre anni di sperimentazione. Nel primo anno sono state selezionate 21 Poaceae, di cui 4 cereali, oltre ad alcune colture in rotazione al mais. *Agrostis tenuis*, *Alopecurus pratensis*, *Arrhenatherum elatius* e *Festuca pratensis* non erano mai state poste a sperimentazione. La semente è stata in parte acquistata presso la ditta Biasion di Bolzano e il Consorzio agrario di Milano e Lodi (CAIMILO), e in parte messa a disposizione dall'Istituto Sperimentale per le Colture Foraggiere di Lodi (CRA).

Sulla base dei risultati di campo del primo anno e di quelli ottenuti nelle prove in ambiente controllato con infestazione artificiale, durante il secondo anno la scelta è stata ristretta a 11 specie, comprendenti 8 graminacee foraggiere, 2 cereali e un'infestante (*Setaria viridis*). L'ultimo anno sono state seminate le stesse specie

del secondo anno, ad eccezione di *Arrhenatherum elatius*, che non aveva mai fornito risultati positivi né in campo né in serra. In aggiunta è stato deciso di mettere a dimora dei rizomi di *Miscanthus giganteus*, graminacea ampiamente coltivata nel nord Europa per la produzione di biomassa a fini energetici. Campionamenti sono anche stati effettuati su *Sorghum halepense*, infestante molto comune del mais.

Tabella 19. Elenco delle specie ospiti esaminate nei tre anni e dose di seme utilizzata.

	SPECIE	NOME COMUNE	DOSE (kg/ha)	2010	2011	2012
GRAMINACEE FORAGGERE	<i>Agrostis stolonifera gigantea</i> Roth	Cappellini maggiori	30	x	x	x
	<i>Agrostis tenuis</i> Sibth.	Cappellini delle praterie	20	x	x	x
	<i>Alopecurus pratensis</i> L.	Coda di volpe	30	x	x	x
	<i>Anthoxanthum odoratum</i> L.	Paleino odoroso	7	x		
	<i>Arrhenatherum elatius</i> (L.) Presl	Avena altissima	50	x	x	
	<i>Cynodon dactylon</i> (L.) Pers.	Gramigna	20	x		
	<i>Dactylis glomerata</i> L.	Erba mazzolina	20	x		
	<i>Deschampsia caespitosa</i> (L.) Beauv.	Desciampsia cespitosa	6	x		
	<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.	Festuca arundinacea	40	x	x	x
	<i>Festuca pratensis</i> Huds	Festuca dei prati	50	x	x	x
	<i>Lolium multiflorum italicum</i> (L.) Lam.	Loiessa	45	x	x	x
	<i>Lolium perenne</i> L.	Loietto	30	x	x	x
	<i>Phleum pratense</i> L.	Fleolo, Coda di topo	20	x		
	<i>Poa nemoralis</i> L.	Fienarola dei boschi	40	x		
	<i>Poa pratensis</i> L.	Fienarola dei prati	20	x		
	<i>Poa trivialis</i> L.	Fienarola comune	12	x		
	<i>Trisetum flavescens</i> (L.) Beauv.	Avena bionda	10	x		
	CEREALI	<i>Avena sativa</i> L.	Avena	120	x	
<i>Panicum miliaceum</i> L.		Miglio	6	x	x	x
<i>Sorghum bicolor</i> (L.) Moench.		Sorgo	15	x		
<i>Triticum spelta</i> L.		Farro, spelta	120	x	x	x
INF.	<i>Setaria viridis</i>	Pabbio comune			x	x
	<i>Sorghum halepense</i>	Sorghetta	15			
	<i>Miscanthusxgiganteus</i>	Miscanto	2 rizomi/m <sup>2</sup>			x

### **3.1.2 Semina delle piante ospiti**

Le piante ospiti nel triennio sono state seminate in appezzamenti dove nel corso dell'anno precedente era stata osservata la presenza di Diabrotica e non erano stati eseguiti trattamenti insetticidi contro le larve e/o gli adulti né contro la Piralide. Per ogni specie sono state create delle parcelle, una per specie, di circa 20 m<sup>2</sup> il primo anno e 50 m<sup>2</sup> gli anni successivi, disposte contigue una all'altra; queste sono state create al margine di campi di mais dove il nostro gruppo di ricerca ha parallelamente svolto altre osservazioni su Diabrotica. Tali osservazioni sono state utilizzate anche per definire i momenti in cui campionare le piante ospiti alternative, oltre a permetterci di avere la certezza sulla presenza del fitofago. In questo modo inoltre è stato possibile seguire la biologia dell'insetto anche sull'ospite preferito, cioè *Zea mays*.

I primi due anni sono stati seminati due campi, rispettivamente, nel 2010 a Sant'Angelo Lodigiano (LO) (45°16'10"N, 9°24'14"E) e Binago (CO) (45°46'38"N, 8°54'60"E), e nel 2011 a Limido Comasco (CO) (45°40'51"N, 8°58'84" E) e ancora a Binago (CO). L'ultimo anno è stato scelto solo l'appezzamento a Binago (CO).

Le dosi utilizzate per la semina sono riportate nella Tabella 19. Prima della semina si è provveduto a preparare il terreno mediante una aratura, seguita da una fresatura e una leggera erpicatura. Le diverse specie sono quindi state seminate a mano a spaglio.

Il primo anno a causa di un ritardo della consegna delle sementi e dell'andamento meteorologico particolarmente piovoso della prima metà di maggio, è stato possibile effettuare la semina solo a fine maggio, per la precisione a Binago (CO) il 21 maggio 2010 e a Sant'Angelo Lodigiano (LO) il 24 maggio 2010. Questo ha comportato una ridotta germinazione di alcune delle specie seminate, tanto da impedire in diversi casi l'effettuazione dei campionamenti previsti dal piano di lavoro.



Il secondo anno invece la semina è stata effettuata l'8 aprile a Limido e il 14 aprile a Binago. Nel campo di Limido, a causa della mancanza di pioggia nel periodo dopo la semina, non è stato possibile condurre la prova, poiché la germinazione è stata estremamente ridotta e irregolare.

Nella prova del terzo anno le piante sono state seminate il 28 marzo 2012 e, data la scarsità di precipitazioni, si è poi provveduto ad effettuare un'irrigazione di soccorso.

### **3.1.3 Monitoraggio degli stadi giovanili**

I campionamenti sono stati effettuati mediante appositi carotatori di circa 10 cm di diametro avendo cura di estirpare le radici delle piante e il panetto di terra che le circondava, per una profondità di circa 20 cm (Fig. 9).

Una volta prelevati i campioni, la terra è stata separata dalle radici e posizionata in bacinelle in polietilene delle dimensioni 53x40x15 cm. Successivamente è stata aggiunta acqua fino a ricoprire la terra stessa. Il tutto è stato mantenuto in flottazione per circa 30 minuti; in questo modo gli stadi giovanili eventualmente presenti venivano a galla e potevano essere recuperati (Fig. 10).

Per l'estrazione delle larve endofaghe, le radici sono state posizionate in estrattori di Berlese. Questi sono costituiti da due contenitori tronco conici di polietilene sovrapposti di circa 12 cm di altezza e diametri sommitale e basale di 12 e 10 cm rispettivamente; al vaso superiore viene asportato il fondo. Una rete a maglia 10 mm è interposta tra i due contenitori. Nella base viene messa dell'acqua, mentre le radici vengono sospese sulla rete. A mano a mano che le radici disseccano, le larve eventualmente presenti fuoriescono dalle radici e cadono nell'acqua da dove successivamente vengono prelevate (Fig. 11). L'estrazione si protrae per almeno 7 giorni, fino al completo disseccamento dell'apparato radicale.

Gli esemplari raccolti sono stati conservati in provette con alcol al 90%. In laboratorio si è poi provveduto alla misurazione della capsula cefalica allo stereo microscopio con ingrandimento 50X per attribuirne l'età, secondo quanto riportato da Hammack *et al.* (2003).



Figura 9. Carotatore utilizzato per i campionamenti.



Figura 10. Bacinelle per la flottazione.



Figura 11. Estrattore per le larve.

## 2010

Per ogni specie sono stati eseguiti 4 prelievi ad ogni campionamento. Poiché come riportato in precedenza non tutte le specie seminate erano germinate a sufficienza, i prelievi sono stati effettuati solo sulle specie riportate in Tabella 20.

Il rilievo per l'osservazione degli stadi giovanili su mais è stato eseguito il 23 giugno a Sant'Angelo Lodigiano e il 30 a Binago, mentre sugli ospiti alternativi sono stati eseguiti campionamenti settimanali durante il mese di luglio. I monitoraggi sono stati eseguiti nelle seguenti date:

- Binago: 9/7; 16/7; 23/7.
- Sant'Angelo Lodigiano: 2/7; 9/7; 16/7; 26/7.

Tabella 20. Elenco delle specie campionate nel 2010 nelle due località.

<b>BINAGO (CO)</b>	<b>SANT'ANGELO LOD. (LO)</b>
<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>	<i>Agrostis stolonifera gigantea</i>
<i>Agrostis tenuis</i>	<i>Avena sativa</i>
<i>Alopecurus pratensis</i>	<i>Dactylis glomerata</i>
<i>Arrhenatherum elatius</i>	<i>Festuca pratensis</i>
<i>Avena sativa</i>	<i>Lolium italicum</i>
<i>Cynodon dactylon</i>	<i>Lolium perenne</i>
<i>Dactylis glomerata</i>	<i>Panicum miliaceum</i>
<i>Festuca arundinacea</i>	<i>Sorghum bicolor</i>
<i>Festuca pratensis</i>	<i>Triticum spelta</i>
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	
<i>Lolium perenne</i>	
<i>Panicum miliaceum</i>	
<i>Phleum pratense</i>	
<i>Sorghum bicolor</i>	
<i>Trisetum flavescens</i>	
<i>Triticum spelta</i>	

Oltre a queste specie appositamente seminate, sono stati svolti campionamenti anche in campi di colza (*Brassica napus* L.), soia (*Glycine max* (L.) Merr.) sorgo da foraggio (*Sorghum vulgare* Pers.) e triticale (X *Triticosecale* Wittmack), coltivati in appezzamenti dove l'anno precedente era presente mais fortemente infestato da Diabrotica. I campi si trovavano nella provincia di Como nelle seguenti località:

- Mozzate (CO) (45°40'22"N, 8°58'38"E): colza
- Limido Comasco (CO) (45°41'53"N, 8°58'63"E): soia
- Cascina Restelli (CO) (45°40'26"N, 8°59'32"E): sorgo da foraggio
- Cascina Restelli (CO) (45°40'95"N, 8°59'38"E): triticale

## **2011**

Ad ogni rilievo si è proceduto alla raccolta di 5 campioni per parcella. I rilievi per la verifica degli stadi giovanili sono stati effettuati da metà giugno a metà luglio con cadenza settimanale, per un totale di 5 campionamenti (16/6; 21/6; 29/6; 6/7; 14/7). Il rilievo su mais è stato effettuato in un'unica data, il 13 giugno.

## **2012**

Anche il terzo anno sono stati raccolti 5 campioni per parcella nelle piante ospiti e 4 nel mais, utilizzato come testimone. I prelievi sono stati effettuati da inizio giugno a inizio luglio per un totale di 4 campionamenti, fino a quando non è più stato possibile rinvenire individui sugli ospiti alternativi (5/06; 15/06; 22/06; 29/06).

### ***3.1.4 Monitoraggio degli adulti***

Al fine di rilevare lo sfarfallamento di adulti dalle piante ospiti, sono state posizionate delle trappole ad emersione appositamente costruite. Nel corso dei primi due anni queste erano costituite da un vaso in plastica di diametro 30 cm, cui era stato asportato il fondo e che veniva ancorato al suolo e in seguito ricalzato con della terra. Sul bordo superiore è stata poi incollata una rete in plastica a maglia fine (di dimensione tale da non permettere la fuoriuscita di adulti) chiusa ermeticamente in cima. Eventuali adulti sfarfallati rimanevano intrappolati all'interno della trappola (Fig. 12) e potevano essere raccolti. All'interno di ogni parcella ne sono state posizionate 4 dal momento dello sfarfallamento di Diabrotica su mais rilevato con trappole cromotropiche Phecon AM.

Il terzo anno si è deciso di ampliare la zona da campionare e quindi sono state utilizzate trappole diversamente costruite. Tali trappole, della dimensione di

100X50X60 cm, erano costituite da un'impalcatura in legno ricoperta da una rete a maglie sottili (Fig. 13). Ad ogni campionamento (due volte a settimana nel periodo di sfarfallamento degli adulti) si è provveduto ad aspirare gli eventuali adulti all'interno delle singole trappole con un aspiratore a motore. Gli individui aspirati venivano raccolti in un barattolo.

Parallelamente, per seguire l'andamento della popolazione di Diabrotica nel mais sono state installate 3 trappole cromotropiche gialle (Pherocon AM) in ciascuno dei campi di mais adiacenti, secondo il protocollo del monitoraggio sviluppato dalla Regione Lombardia.

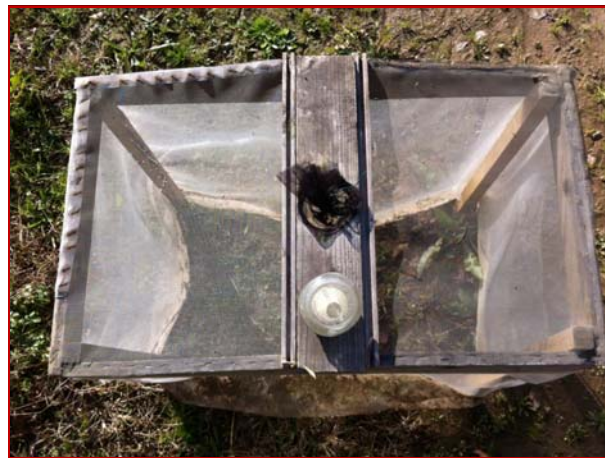


Figure 12-13. Trappole ad emersione utilizzate nel 2010-2011 (sin.) e nel 2012 (destra).

## 3.2 RISULTATI

### 3.2.1 Monitoraggio degli stadi giovanili

#### 2010

Nel corso del primo anno di sperimentazione i reperimenti di stadi giovanili sulle piante ospiti alternative sono stati molto esigui. Infatti è stato possibile rinvenire, nei due campi campionati nel periodo utile, solo 5 larve a Sant'Angelo Lodigiano e 1 pupa nel campo di Binago (Tab. 21). Il basso numero di individui reperiti potrebbe essere ascrivibile sia al ritardo delle semine, che non ha permesso un'ottimale germinazione di tutti gli ospiti alternativi, ma soprattutto alle condizioni meteorologiche. Infatti le intense piogge a inizio maggio possono aver contribuito ad aumentare la mortalità larvale riducendone quindi l'infestazione in campo. Anche nel caso del mais, ospite preferito, le infestazioni larvali non sono state particolarmente elevate, considerando le abbondanti popolazioni del fitofago del 2009. Nel monitoraggio eseguito su mais il 22 giugno il numero medio di larve per pianta è stato infatti solo di 1,58.

La misurazione della larghezza delle capsule cefaliche ha fornito i risultati riportati in Tabella 21; in particolare, le larve rinvenute nei diversi campionamenti erano non solo di prima età, ma anche di seconda e terza. Nel caso poi del *L. perenne* è stata osservata anche la presenza di una pupa. E' da notare che su quest'ultima specie, già studiata da altri Autori in condizioni controllate, non era mai stato possibile rinvenire alcun individuo.

I campionamenti eseguiti nei campi di colza, soia, sorgo da foraggio e triticale in successione a mais non hanno permesso di individuare stadi preimmaginali di *Diabrotica*.

Tabella 21. Numero di stadi giovanili rinvenuti nel 2010 ed età larvale rilevata (tra parentesi).

SANT'ANGELO LODIGIANO				BINAGO		
SPECIE	DATA				DATA	
	02/07		09/07		23/07	
	LARVA	PUPA	LARVA	PUPA	LARVA	PUPA
<i>Lolium multiflorum italicum</i>	1 (II <sup>^</sup> )	-	-	-	-	-
<i>Lolium perenne</i>	-	-	2 (I <sup>^</sup> ; II <sup>^</sup> )	--	-	2
<i>Panicum miliaceum</i>	1 (III <sup>^</sup> )	-	-	-	--	-
<i>Triticum spelta</i>	-	-	1 (II <sup>^</sup> )	-	--	-

## 2011

Delle 11 specie seminate, 8 hanno fornito risultati positivi con il ritrovamento di stadi preimmaginali di *Diabrotica* (Tab. 22). Nella maggior parte dei casi si è trattato di larve e il maggior numero di individui è stato osservato nel corso primo campionamento, poi il loro numero è andato riducendosi. Le specie su cui i ritrovamenti sono stati più abbondanti sono state, nell'ordine, *A. stolonifera gigantea*, *P. miliaceum*, *T. spelta* e *F. arundinacea*. Pupe sono state reperite sulle seguenti specie: *A. stolonifera gigantea*, *A. tenuis*, *L. perenne*, *P. miliaceum* e *T. spelta*. Su *L. perenne* sono state osservate solo pupe. Solo su 3 delle specie campionate (*A. pratensis*, *A. elatius* e *L. multiflorum italicum*) non sono mai stati osservati stadi giovanili.

Le larve erano presenti esclusivamente nel terreno attorno alle radici, mentre non sono mai state ritrovate all'interno delle radici.

Nel mais è stato eseguito un unico campionamento il 13 giugno che ha fatto rilevare una presenza media di larve per pianta di 3,92.

Larve di prima età sono state osservate solo su tre specie (*A. stolonifera*, *A. tenuis* e *T. spelta*) (Tab. 22). La maggior parte è risultata invece essere di terza età.



Stadi preimmaginali sono stati individuati su piante già testate ma su cui non era mai stato individuato alcuno sviluppo (*L. perenne*), o su piante mai testate precedentemente, come *A. tenuis* e *F. pratensis*.

## 2012

Nei campionamenti effettuati nel 2012 è stato riscontrato un maggior numero di stadi giovanili su piante ospiti alternative rispetto agli anni precedenti (Tab. 23). Stadi giovanili di Diabrotica sono stati ritrovati a partire dal 5 giugno fino al 22 giugno, con un picco di presenza a metà giugno, poi il loro numero è andato riducendosi; sul mais invece la loro presenza è stata rilevata anche nel campionamento successivo (29/6).

I campionamenti su mais hanno permesso di rilevare il più alto numero di larve, con una media per pianta di 5,4. Rispetto al mais, *P. miliaceum* è stata la specie con il più elevato numero di larve ritrovate nel terreno. Solo su *S. viridis* non sono mai stati osservati stadi giovanili del fitofago. Per la prima volta sono state trovate larve su *A. pratensis* (anche in numero abbastanza elevato), seminato anche negli anni precedenti ma su cui non era stato possibile individuare individui del fitofago. Su *M. giganteum* sono state trovate 2 larve. Larve sono anche state individuate su sorghetta (*S. halepense*).

Dalle radici posizionate negli appostiti imbuti, è stato possibile rinvenire solo una larva su *P. miliaceum*, ed alcune larve su mais.

A differenza degli anni precedenti, in nessun caso sono state trovate pupe sugli ospiti alternativi, ma solo su mais.

Sugli ospiti alternativi sono state trovate larve di tutte e tre le età, con prevalenza di quelle di prima, a differenza degli anni precedenti dove praticamente era stata osservata la situazione opposta, con una predominanza di quelle di seconda e

terza età. Solo su *L. multiflorum italicum* e *F. arundinacea* non sono state rilevate larve di prima età. Sul mais invece sono state osservate prevalentemente larve di seconda e terza età.

Tabella 22. Numero di stadi giovanili rinvenuti dalle piante ospiti nel 2011 ed età larvale.

Specie	16 giugno 2011				21 giugno 2011				29 giugno 2011				6 luglio 2011				14 luglio 2011				TOTALE
	Larve			Pupe	Larve			Pupe	Larve			Pupe	Larve			Pupe	Larve			Pupe	
	I	II	III		I	II	III		I	II	III		I	II	III		I	II	III		
<i>Agrostis s. gigantea</i>	-	-	6	1	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	10
<i>Agrostis tenuis</i>	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Alopecurus pratensis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Arrhenatherum elatius</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Festuca arundinacea</i>	-	-	2	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Festuca pratensis</i>	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Lolium m. italicum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Lolium perenne</i>	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Panicum miliaceum</i>	-	-	1	1	-	-	-	1	-	-	1	-	-	-	-	2	-	-	-	-	6
<i>Setaria viridis</i>	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Triticum spelta</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5

Tabella 23. Numero di stadi giovanili rinvenuti dalle piante ospiti nel 2012 ed età larvale.

Specie	05 giugno 2012				15 giugno 2012				22 giugno 2012				29 giugno 2012				TOTALE
	Larve			Pupe	Larve			Pupe	Larve			Pupe	Larve			Pupe	
	I	II	III		I	II	III		I	II	III		I	II	III		
<i>Agrostis s. gigantea</i>	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
<i>Agrostis tenuis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Alopecurus pratensis</i>	-	-	-	-	8	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
<i>Festuca arundinacea</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Festuca pratensis</i>	1	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5
<i>Lolium m. italicum</i>	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
<i>Lolium perenne</i>	3	1	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
<i>Miscanthus giganteus</i>	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
<i>Panicum miliaceum</i>	-	2	-	-	9	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14
<i>Setaria viridis</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
<i>Sorghum halepense</i>	-	-	-	-	5	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
<i>Triticum spelta</i>	-	1	-	-	-	1	-	-	1	1	-	-	-	-	-	-	4
<i>Zea mays</i>	-	-	-	-	6	19	14	-	2	3	-	-	3	18	-	-	73

### **3.2.2. Monitoraggio degli adulti**

Nel corso dei tre anni di sperimentazione non è mai stato possibile catturare adulti di *Diabrotica* nelle trappole ad emersione collocate sulle piante ospiti alternative.



## **CONSIDERAZIONI FINALI**

Le prove effettuate nel corso dei tre anni di dottorato hanno permesso di ottenere risultati interessanti sulla capacità di sopravvivenza e sviluppo di *Diabrotica* su graminacee alternative al mais, in particolare sulle piante ospiti del fitofago comunemente presenti nella realtà europea.

I dati ottenuti con l'infestazione artificiale e con quella naturale sostanzialmente concordano e confermano la capacità di sviluppo degli stadi preimmaginali su numerose piante ospiti differenti.

Le specie vegetali risultate più idonee per la sopravvivenza e la crescita di *Diabrotica* sono stati i cereali *Triticum spelta* e *Panicum miliaceum*. Infatti su questi è stata registrata la maggior percentuale di recupero rispetto al mais (anche se statisticamente differente dal mais), e i ritrovamenti sono sempre risultati positivi sia in infestazione artificiale che in condizioni naturali. Ciò è vero soprattutto nel 2011; infatti nel 2012 la maggior sopravvivenza degli stadi preimmaginali, oltre che sul testimone, è stata osservata su *A. stolonifera gigantea*, seguita poi da *M. giganteus* e solo successivamente dai cereali. Tuttavia in questa seconda prova la mortalità è stata molto alta, nonostante la sopravvivenza osservata sul testimone fosse simile quella osservata nel 2011. Entrambi gli anni sulle altre specie ospiti la mortalità è stata molto più elevata.

L'incremento della larghezza della capsula cefalica e del peso secco delle larve osservato nei campionamenti successivi, ha permesso di rilevare come le larve siano state in grado di accrescersi e cambiare età su tutte le specie dove si è registrata sopravvivenza degli stadi preimmaginali (larve di terza età sono state osservate nel 2011 su tutte le specie positive, tranne *A. pratensis*, che non si era più sviluppata dopo il secondo campionamento; nel 2012 non sono state osservate solo in due casi, ovvero su *A. tenuis* e *A. pratensis*; anche in condizioni di

infestazione naturale sono state riscontrate larve di seconda o terza età su quasi tutte le specie, tranne *A. tenuis*). Le differenze sull'incremento della larghezza della capsula cefalica e del peso secco delle larve osservato nei campionamenti a cadenze successive in condizioni di infestazione artificiale, hanno mostrato la diversa velocità di sviluppo sulle specie ospiti, come pure confermato dalla determinazione dell'indice di sviluppo. Anche in questo caso i cereali hanno mostrato i valori più vicini a quelli del mais. Nel mais e nei cereali infatti nel 2011 larve di terza età sono state osservate già dopo 14 giorni dal momento dell'inoculazione delle uova, mentre sulle altre piante ospiti sono state reperite solo al campionamento successivo, a 22 giorni. Analogamente è avvenuto anche nel 2012, con ritardi nella comparsa delle diverse età che andavano da 3 a 11 giorni. Lo stesso vale per le pupe, comparse nel 2011 su mais e su *T. spelta* a 22 giorni e a 28 su *P. miliaceum*, mentre nel 2012 a 21 giorni sul testimone e a 27 su *M. giganteus* e *P. miliaceum*. In generale, solo su poche specie Diabrotica è stata in grado di impuparsi, nonostante le larve fossero presenti per numerosi giorni e di ultima età.

L'idoneità delle specie per il completamento del ciclo di sviluppo, quindi con lo sfarfallamento degli adulti, è stato verificato solo in pochi casi in condizioni di infestazione artificiale. In particolare, individui di Diabrotica sono stati raccolti solo su *A. pratensis* (2011 e 2012), *L. perenne* (2011), *P. miliaceum* (2011) e *T. spelta* (2011), oltre al testimone. È interessante far rilevare come da *L. perenne* non siano mai stati raccolti stadi preimmaginali di Diabrotica nell'infestazione artificiale, ma si sia verificato uno sfarfallamento; inoltre da questa specie, già sperimentata da altri Autori in condizioni controllate, non era mai stato possibile rinvenire alcun individuo. Stadi preimmaginali di Diabrotica sono anche stati osservati su *L. perenne* nelle condizioni naturali in campo. Come già osservato per gli stadi preimmaginali, anche per quanto riguarda gli sfarfallamenti è stato notato



un ritardo rispetto a quanto verificato sull'ospite preferito. Dalle misure effettuate sugli adulti raccolti, in generale si sono evidenziati valori maggiori per la larghezza della capsula cefalica e il peso secco nel caso degli adulti provenienti da mais rispetto agli altri, e in generale maggiori per le femmine rispetto ai maschi, ma purtroppo il numero limitato di adulti raccolti non ha permesso di evidenziare differenze morfometriche significative tra individui sfarfallati da mais e quelli sfarfallati da altre specie. Inoltre non è stato possibile formare coppie di adulti sfarfallati dagli ospiti alternativi al fine di poter valutare la fitness di tali individui e la performance della progenie. In campo con infestazione naturale non sono mai stati catturati adulti sfarfallati dagli ospiti alternativi, ma non è da escludersi che ciò possa verificarsi, dal momento che tale capacità è stata verificata in condizioni di infestazione artificiale e anche in campo sono state trovate larve mature e pupe di Diabrotica.

Le informazioni acquisite risultano molto importanti in quanto oggi il principale metodo di contenimento dell'insetto consiste nella rotazione con una coltura non ospite e quindi si potrebbe ipotizzare che alcune delle specie vegetali testate possano fungere da serbatoio quando non è presente il mais riducendo quindi l'efficacia dell'avvicendamento. Tuttavia è da considerare anche l'importanza della sincronizzazione della fenologia della pianta con quella dell'insetto. Con riferimento ai cereali, risultati maggiormente idonei alla sopravvivenza e al completamento del ciclo di sviluppo di Diabrotica, si deve tener presente che per esempio nel nostro ambiente sono prevalentemente seminati in autunno e quindi al momento della comparsa delle prime larve in primavera le radici sono senescenti e pertanto poco appetibili per l'insetto. Altri cereali invece a semina primaverile potrebbero risultare idonei per essere sfruttati dal fitofago per la sopravvivenza anche in assenza del mais. infine non è da sottovalutare

l'importanza delle infestanti, e in particolare della sorghetta (*S. halepense*), dove l'insetto è stato in grado di svilupparsi.

**BIBLIOGRAFIA**

AA. VV., 2009 - Diabrotica: risultati 2008 della presenza in Italia. Inf.tore agrario, 65 (5): 47-49.

AA. VV., 2011 - Il 2010 della diabrotica: danni e diffusione contenuti. Inf.tore agrario, 67 (5): 49-51.

AA. VV., 2012 - Nel 2011 la diabrotica colpisce senza fare danni. Inf.tore agrario, 68 (4): 43-45.

AGOSTI M., MICHELON L., EDWARDS C.R., 2009 – *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte larval size may be influenced by environmental conditions in irrigated maize fields in northwestern Italy. Entomol. Croat., 13 (2): 61-68.

BACA F., 1994 - New member of the harmful entomofauna of Yugoslavia *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae). Zast. Bilja, 45: 125–31.

BALL H. J., WEEKMAN G. T, 1962 - Insecticide resistance in the adult western corn rootworm in Nebraska. J. Econ. Entomol., 55: 439-441.

BERGMAN M. K., TURPIN F. T., 1984 - Impact of corn planting date on population dynamics of corn rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). Environ. Entomol., 13 (3): 898-901.

BERNKLAU E. J., BJOSTAD L. B., 1998 - Behavioral responses of first-instar western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) to carbon dioxide in a glass bead bioassay. J. Econ. Entomol., 91 (2): 444-456.

BERNKLAU E. J., BJOSTAD L. B., 2008 - Identification of feeding stimulants in corn roots for western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larvae. J. Econ. Entomol., 101 (2): 341-351.

BIRD J. M., HODKINSON I. D., 2005 - What limits the altitudinal distribution of *Craspedolepta* species (Sternorrhyncha: Psylloidea) on fireweed? Ecol. Entomol., 30 (5): 510–520.

BORIANI M., AGOSTI M., EDWARDS C.R., 2006 – Sustainable management of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte (Coleoptera: Chrysomelidae), in infested areas: experiences in Italy, Hungary and the USA. EPPO Bull., 36 (3): 531–537.

BRANSON T.F., ORTMAN E.E., 1967 - Host range of larvae of the western corn rootworm. J. Econ. Entomol., 60: 201-203.

BRANSON T.F., GUSS P.L., ORTMAN E.E., 1969 - Toxicity of sorghum roots to larvae of the western corn rootworm. J. Econ. Entomol. 62: 1375–1378.

BRANSON T.F., ORTMAN E.E., 1970 - The host range of larvae of the western corn rootworm: further studies. J. Econ. Entomol., 63: 800-803.

CHIANG H. C., 1965 - Survival of northern corn root - worm eggs through one and two winters. J. Econ. Entomol., 58: 470–472.

CHIANG HC., 1973 - Bionomics of the northern and western corn rootworms. Annu. Rev. Entomol., 18: 47–72.

CHUCHE J., THIÉRY D., 2011 - Egg incubation temperature differently affects female and male hatching dynamics and larval fitness in a leafhopper. *Ecol Evol.*, 2(4): 732–739.

CIOSI M., MILLER N. J., KIM K. S., GIORDANO R, ESTOUP A., GUILLEMAUD T., 2008 - Invasion of Europe by the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera*: multiple transatlantic introductions with various reductions of genetic diversity. *Mol. Ecol.*, 17 (16): 3614–3627.

CLARK T.L., HIBBARD B.E., 2004 - Comparison of nonmaize hosts to support western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) larval biology. *Environ. Entomol.*, 33 (3): 681–689.

DAVIS P. M., BRENES N., ALLEE L. L., 1996 - Temperature dependent models to predict regional differences in corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) phenology. *Environ. Entomol.*, 25 (4): 767-775.

DICKE F. F., 1955 - The most important com insects: 537-612. *In*: G. F. Sprague [ed.], *Corn and Corn Improvement*. Academic Press Inc., New York.

ELLIS R. T., STOCHOFF B. A., STAMP L., SCHNEPF H. E., SCHWAB G. E., NNUTH M., RUSSELL J., CARDINEAU G. A., NARVA K. F., 2002 - Novel *Bacillus thuringiensis* binary insecticidal crystal proteins active on western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68 (3): 1137-1145.

EPPO, 2012  
[http://www.eppo.int/QUARANTINE/special\\_topics/Diabrotica\\_virgifera/diabrotica\\_virgifera.htm](http://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Diabrotica_virgifera/diabrotica_virgifera.htm) (ultimo accesso 18/12/2012).

FISHER J.R., BERGMAN M.K, 1986 - Field sampling of larvae and pupae. *In: Methods for the Study of Pest Diabrotica* (ed. by J. L. Krysan and T. A. Miller ): 101 – 121. Springer-Verlag , New York, 260 pp.

FISHER J.R., SUTTER G.R., BRANSON T.F ., 1991 - Influence of corn planting date on the survival and on some reproductive parameters of *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Environ. Entomol.*, 20 (1), 185 – 189.

FURLAN L., VETTORAZZO M., ORTEZ A., FRAUSIN C., 1998 - *Diabrotica virgifera virgifera* è già arrivata in Italia. *Inf.ore fitopatol.*, 48 (12): 43-44.

FURLAN L., CANZI S., DI BERNARDO A., EDWARDS CR., 2006 - The ineffectiveness of insecticide seed coatings and plantingtime soil insecticides as *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte population suppressors. *J. Appl. Entomol.*, 130 (9-10): 485–490.

GASSMANN A.J., PETZOLD-MAXWELL J.L., KEWESHAN R.S., DUNBAR M.W., 2011 - Field-evolved resistance to Bt maize by Western Corn Rootworm. *PLoS ONE*, 6(7): e22629.

GILLETTE CP., 1912 - *Diabrotica virgifera* Leconte. A corn rootworm. *J. Econ. Entomol.*, 5: 364–66.

GRAY M. E., LEVINE E., OLOUMI-SADEGHI H., 1998 - Adaptation to crop rotation: western and northern rootworms respond uniquely to a cultural practice. *Rec. Res. Dev. Entomol.*, 2: 19-31.

GRAY M.E., SAPPINGTON T.W., MILLER N.J., MOESER J., BOHN M.O., 2009 - Adaptation and invasiveness of western corn rootworm: intensifying research on a worsening pest. *Annu. Rev. Entomol.*, 54: 303-321.

HAMMACK L., ELLSBURY M.M., ROEHRDANZ R.L., PIKUL J.L. JR, 2003 - Larval sampling and instar determination in field populations of northern and western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol., 96 (4): 1153-1159.

HIBBARD B. E., BERNKLAU E. J., BJOSTAD L. B., 1994 - Long-chain free fatty acids: semiochemicals for host location by western corn rootworm larvae. J. Chem. Ecol., 20 (12): 3335-3344.

HIBBARD B.E., HIGDON M.L., DURAN D.P., SCHWEIKERT Y.M., ELLERSIECK M.R, 2004 - Role of egg density on establishment and plant-to-plant movement by western corn rootworm larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ.Entomol., 97 (3): 871 – 882.

HILL R.E, 1975 - Mating, oviposition patterns, fecundity and longevity of the western corn rootworm . J. Econ.Entomol., 68 (3): 311 – 315.

HILLS T. M., PETER D. C., 1971 – A method of evaluating postplanting insecticides treatments for control of western cornrootworm. J. Econ. Entomol., 64: 764-765.

KRYSAN J.L., BRANSON T.F., DIAZ C., 1977 – Diapause in *Diabrotica virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae): a comparison of eggs from temperate and subtropical climates. Entoml. Exp. Appl., 22: 81-89.

KRYSAN J.L., 1982 - Diapause in the nearctic species of the virgifera group of *Diabrotica*: evidence for tropical origin and temperate adaptations. Annals Entomol. Soc. of America , 75: 136 – 142.

KRYSAN J. L., JACKSON J. J., LEW A. C., 1984 - Field termination of egg diapause in *Diabrotica* with new evidence of extended diapause in *D. barberi* (Coleoptera: Chrysomelidae). Environ. Entomol., 13 (5): 1237–1240.

KRYSAN J.L., 1986 - Introduction: biology, distribution, and identification of pest *Diabrotica*. *In*: Methods for the Study of Pest *Diabrotica*, (ed. by J.L. Krysan & T.A. Miller): 25–47. New York: Springer, 260 pp..

KRYSAN J.L., Smith R.F., 1987 - Systematics of the *virgifera* species group of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae: Galerucinae). *Entomography*, 5: 560 pp..

KUHAR T. P., YOUNGMAN R. R., 1995 - Sex ratio and sexual dimorphism in western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) adults on yellow sticky traps in corn. *Environ. Entomol.*, 24 (6): 1408-1413.

LECONTE J.L., 1868 - New Coleoptera collected on the survey for the extension of the Union Pacific Railway, E.D. from Kansas to Fort Craig, New Mexico. *Transactions of the American Entomological Society*, 2: 49 – 59.

LEVINE E., OLOUMI-SADEGHI H., 1991 - Management of diabroticite rootworms in corn. *Annu. Rev. Entomol.*, 36: 229-255.

LEVINE E., OLOUMI-SADEGHI H., FISHER J. R., 1992a - Discovery of multiyear diapause in Illinois and South Dakota northern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs and incidence of the prolonged diapause trait in Illinois. *J. Econ. Entomol.*, 85 (1): 262– 267.

LEVINE E, OLOUMI-SADEGHI H, ELLIS CR. 1992b - Thermal requirements, hatching patterns, and prolonged diapause in western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) eggs. *J. Econ. Entomol.*, 85 (6):2425-2432.

LEVINE E., SPENCER J.L., ISARD S.A., ONSTAD D.W., GRAY M.E., 2002 - Adaptation of the Western Corn Rootworm to Crop Rotation: Evolution of a New Strain in Response to a Management Practice. *American Entomol.*, 48 (2): 94-107.



MEINKE L.J., SIEGFRIED B.D., WRIGHT R.J., CHANDLER L.D., 1998 - Adult susceptibility of Nebraska western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae) populations to selected insecticides. *J. Econ. Entomol.*, 91 (3): 594–600.

MILLER N., ESTOUP A., TOEPFER S., BOURGUET D., LAPCHIN L., *et al.*, 2005 - Multiple transatlantic introductions of the western corn rootworm. *Science*, 310 (5750): 992.

MOELLENBECK D. J., PETERS M. L., BING J. W., ROUSE J. R., HIGGINS L. S., SIMS L., NEVSHMAL T., MARSHALL L., ELLIS R. T., BYSTRAK P. G., *ET AL.*, 2001 - Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* protect corn from corn rootworms. *Nat. Biotechnol.*, 19 (7): 668-672.

MOESER J., 2003 - Nutritional ecology of the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte in Europe. PhD dissertation. <http://webdoc.sub.gwdg.de/diss/2003/moeser/>.

MOESER J., HIBBARD B.E., 2005 - A synopsis of the nutritional ecology of larvae and adults of *Diabrotica virgifera virgifera* (Le Conte) in the New and Old World— nouvelle cuisine for the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* in Europe?: 41-65. *In*: Vidal S., Kuhlmann U., Edwards C. R. (ed.), *Western corn rootworm—ecology and management*. CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.

MOESER J., VIDAL S., 2004a - Do alternative host plants enhance the invasion of the maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae, Galerucinae) in Europe? *J. Environ. Entomol.*, 33 (5): 1169-1177.

MOESER J., VIDAL, S., 2004b - Response of larvae of invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* (Coleoptera: Chrysomelidae) to carbon/nitrogen ratio and

phytosterol content of European maize varieties. J. Econ. Entomol., 97 (4): 1335-1341.

MUSICK G. J., SUTTLE P. J., 1972 – Ohio northern corn rootworm research, part I: chemical control. Annual Report. Ohio Agricultural Research and Development Center, Wooster, OH.

NARANJO S.E., 1991: Movement of corn rootworm beetles, *Diabrotica spp.* (Coleoptera: Chrysomelidae), at cornfield boundaries in relation to sex, reproductive status, and crop phenology. J. Environ. Entomol., 20 (1): 230–240.

OLESON J.D., PARK Y.L., NOWATZKI T.M., TOLLEFSON J.J., 2005 - Node-Injury Scale to Evaluate Root Injury by Corn Rootworms (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Econ. Entomol., 98 (1): 1-8.

OYEDIRAN I. O., FRENCH B. W., CLARK T. L., DASHIELL K. E., HIBBARD B. E., 2004 - Prairie grasses as hosts of the northern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). J. Environ. Entomol., 33 (3): 740-747.

SHORT D.E., LUEDTKE R.J., 1970 - Larval migration of the western corn rootworm. J. Econ. Entomol, 63: 325 – 326.

SIEGFRIED B. D., MULLIN C. A., 1989 - Influence of alternative host plant feeding on aldrin susceptibility and detoxification in western and northern corn rootworms. Pestic. Biochem. Physiol., 35 (2): 155-164.

SMITH RF., LAWRENCE JF., 1967 - Clarification of the status of the type specimens of diabroticites. Univ. Calif. Publ. Entomol., 45: 174.

STRNAD S. P., DUNN P. E., 1990 - Host search behaviour of neonate western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*). J. Insect Physiol., 36 (3): 201-205.

SUTTLE P.J., MUSICK G.J., FAIRCHILD M.L., 1967 - Study of larval migration of the western corn rootworm. J. Econ. Entomol., 60: 1226 – 1228.

TOEPFER S., KUHLMANN U., 2006 - Constructing life-tables for the invasive maize pest *Diabrotica virgifera virgifera* (Col.; Chrysomelidae) in Europe. J. Appl. Entomol., 130 (4): 193 – 205.

VAN ROZEN K., ESTER A., 2007 - Chemical control against *Diabrotica v. Virgifera* LeConte: a review of the historical and current pest control strategies. IOBC/IWGO Newsletter 28: 7–11.

WHITE R., 1977 - Sexual characters of Species of *Diabrotica* (Chrysomelidae: Coleoptera). Ann. Entomol. Soc. Am., 70 (2): 168.

WILCOX J.A., 1972 - A Synopsis of the North American Galerucinae (Coleoptera: Chrysomelidae). Bull. New York State Museum and Science Service, n° 400, Albany (US).

XIE Y. S., ARNASON J. T., PHILOGENE B. J. R., LAMBERT J. D. H., ATKINSON J., MORAND P., 1990 – Role of 2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one (DIMBOA) in the resistance of maize to western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* (LeConte) (Coleoptera: Chrysomelidae). Can. Entomol., 122 (6): 1177-1186.

YOUNGMAN R.R., DAY ER., 1993 - Incidence of western corn rootworm beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) on corn in Virginia from 1987 to 1992. J. Entomol. Sci., 28: 136–141.