



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAF

XIII.

INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI DI ALLARME DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI



Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Rendiconti Anno LIV - 2006



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAF

XIII.

INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI DI ALLARME DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI

SEDUTA PUBBLICA DELL'ACCADEMIA, FIRENZE 10 GIUGNO 2006

Lettura

PHYTOPHAGOUS INSECTS IN A MULTITROPHIC NETWORK

A cura di: JOHAN COERT VAN LENTEREN

SEDUTA PUBBLICA DELL'ACCADEMIA, FIRENZE 24 NOVEMBRE 2006

Giornata culturale su:

**INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI D'ALLARME
DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI**

Coordinatore: FERDINANDO BIN, Accademico

Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Rendiconti Anno LIV - 2006

In copertina Disegno di Ornelio Rosati (2007)

L'Accademia rivolge un sentito ringraziamento per la inimitabile interpretazione del tema entomologico della copertina.

Finito di stampare nell'aprile 2007
Tipografia Coppini - Firenze

PRESENTAZIONE

La Tavola Rotonda, che l'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia intende oggi sviluppare sul tema dell'intricata rete che gli insetti fitofagi multi-trofici costituiscono negli ecosistemi di interesse agrario, affronta un argomento recentemente apparso importantissimo e di grande complessità.

Come lo scorso giugno in questa stessa Accademia van Lenteren, nella lettura che ci ha fatto l'onore di tenere nella nostra aula, osservava che due sono le linee di ricerca che gli entomologi agrari hanno sempre perseguito nel corso della loro storia: lo studio della resistenza che le piante riescono a sviluppare nei confronti dei loro nemici, e lo studio del complesso dei parassitoidi e predatori, che tengono a freno i fitofagi stessi. Le interazioni fra le due correnti di ricerca sono state oggetto negli ultimi decenni di una particolare attenzione da parte dei biologi applicati. Tutto ciò in un contesto, come osservano nelle odierne messe a punto Bin e collaboratori, estremamente complesso, nel quale non c'è pianta senza fitofago, non c'è fitofago senza entomofago e non ci sono organismi deperiti o morti senza i saprofiti che li riciclano. Ora avviene che le piante attaccate dai fitofagi emettano segnali di allarme che attirano i parassitoidi, i quali in certo qual modo accorrono in aiuto delle piante stesse. E in piante geneticamente modificate sono evidenti geni coinvolti nella produzione di sostanze attrattive («sinomoni») per i nemici naturali dei fitofagi (spesso Afidi), ed indotte dalla ovideposizione.

Il gioco si è fatto complicatissimo, e la presente Tavola Rotonda giunge a proposito onde fare il punto sulla intricata situazione.

L'entomologia italiana, soprattutto negli anni più recenti, ha largamente contribuito ad apportare significativi miglioramenti nello stato delle conoscenze del problema. E qui spicca l'attività della Scuola di Perugia e in particolare di Ferdinando Bin. Ma alcuni ulteriori aspetti sono dovuti all'opera della celebre Scuola di Portici, e di quella di Palermo. Tutte Scuole che derivano da un unico ceppo, il quale si formò a Portici all'inizio dello scorso secolo, sotto la guida di Antonio Berlese e di Filippo Silvestri, che così portarono lo studio dei parassitoidi in Italia agli altissimi livelli che la attuale Tavola Rotonda vuol mettere in evidenza.

BACCIO BACCETTI

Presidente dell'Accademia Italiana di Entomologia

INDICE

Lecture

VAN LENTEREN J.C. – *Phytophagous insects in a multitrophic network* Pag. 65

Giornata culturale su:

INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI D'ALLARME DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI

BIN F., CONTI E., SALERNO G. – <i>Interazioni Insetti - Piante: i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi</i>	»	91
GUERRIERI E., SASSO R., DIGILIO M.C., IODICE L. – <i>Meccanismi di difesa indiretta indotti in pianta dall'attacco di Afidi</i>	»	97
COLAZZA S., PERI E. – <i>Meccanismi di difesa indiretta delle piante: il caso dei sinomoni volatili indotti con l'ovideposizione</i>	»	111
CONTI E., SALERNO G., DE SANTIS F., LEOMBRUNI B., BIN F. – <i>Difese indirette delle piante: i sinomoni per contatto indotti da ovideposizione</i>	»	129

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 10 GIUGNO 2006

Lettura

PHYTOPHAGOUS INSECTS IN A MULTITROPHIC NETWORK

A cura di: JOHAN COERT VAN LENTEREN

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 10 GIUGNO 2006

Lettura

PHYTOPHAGOUS INSECTS IN A MULTITROPHIC NETWORK

A cura di: JOHAN COERT VAN LENTEREN

PHYTOPHAGOUS INSECTS IN A MULTITROPHIC NETWORK

1. INTRODUCTION

Although many papers have been published on multitrophic systems recently, our knowledge about the functioning of these systems is still limited. This knowledge is, however, essential for understanding (1) how ecosystems are structured and operate, (2) what measures might be needed to restore and improve damaged ecosystems, and (3) in which ways contributions for sustainable agriculture can be developed and implemented. In this paper, I will limit myself to the importance of understanding multitrophic relationships for designing environmentally friendly forms of arthropod control, particularly biological control.

If one studies the older literature on how plants defend themselves against phytophagous (= herbivorous) arthropods, one will find two main streams of papers. One of these concerns host-plant resistance and the other one involves the activity of natural enemies. For a long time, it was generally accepted that resistance of plants to herbivores leads to increased predation or parasitism, but most research in these two fields has been done independently. One of the first papers that dealt with a review of the combined effects of host-plant resistance and the action of natural enemies showed that the interaction between these two processes was poorly understood (BERGMAN & TINGEY, 1979). Later papers, again reviewing the interaction of host-plant resistance and biological control actually showed that in quite a number of instances the effects were either neutral or even negative (e.g. HARE, 1992; ODE, 2006). It is now understood that breeding for insect resistance not only affects phytophagous insects, but also their natural enemies.

Only through an understanding of the biological processes between the different trophic levels may we manipulate host-plant characteristics to maximize the combined control resulting from plant resistance and natural enemies. During the past decades researchers have aimed at integrating the positive aspects of both approaches in the development of environmentally

(*) Laboratory of Entomology Wageningen University, PO Box 8031, 6700 EH Wageningen, The Netherlands - email: Joop.vanLenteren@wur.nl

Lettura tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 10 giugno 2006.

friendly pest management methods. I will summarize studies that integrate the effects of several trophic levels and provide examples on how the developed insight contributed to old and new pest management approaches. In order to illustrate some of the research we have done at the Laboratory of Entomology of Wageningen University, The Netherlands, I have chosen quite some examples from our own publications.

2. BITROPHIC RELATIONSHIPS

Plant breeders have emphasized mainly the study of, often unknown, *intrinsic defense mechanisms* (sensu PRICE, 1986), i.e. defense produced by the plant alone through production of chemicals such as toxins or digestibility reducers, or through physical defense by trichomes or toughness, or by a combination of the two, as with glandular trichomes or resins. This concerns the bitrophic relationship between the first and second trophic level in figure 1. If, however, we are interested in integrating

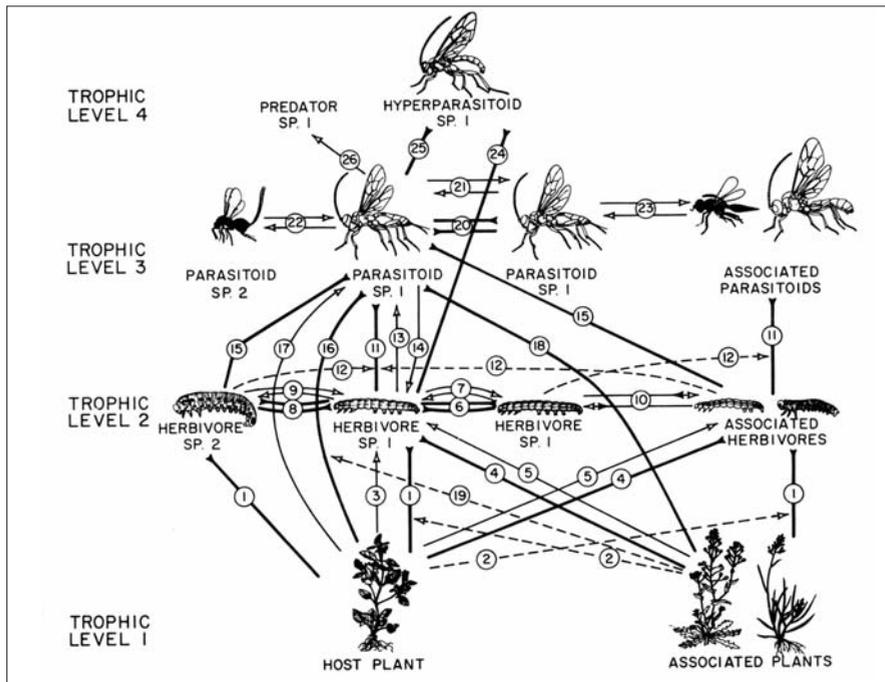


Figure 1

Some of the relationships between a host plant, associated plants, phytophagous insects, parasitoids of the phytophagous insects and hyperparasitoids and predators of the primary parasitoids (PRICE, 1981).

different pest control techniques, like host-plant resistance and biological control, it is essential to have insight in the underlying mechanism of resistance. Further, the effect of changes in the host plant should be evaluated for the natural enemies as well, as these changes may negatively influence biological control (e.g. HARE, 1992).

Those studying biological control have emphasized the need for *extrinsic defense mechanisms* of plants (sensu PRICE, 1986), i.e. situations where the plant benefits from the natural enemies of herbivores. This concerns another bitrophic relationship, i.e. the one between the second and third trophic level in figure 1.

It is now recognized that mechanisms of intrinsic defense of a plant directly or indirectly can influence other trophic levels in a positive or negative way, and that not only understanding of interactions between and within the first, second and third trophic level are important, but that also interactions of still higher trophic levels can be crucial for the understanding of the functioning of pest regulation mechanisms.

In the following sections, I will address the effects of different trophic levels on phytophagous insects and their natural enemies.

3. PLANT EFFECTS ON HIGHER TROPHIC LEVELS: LEAF CHARACTERISTICS, HOST-PLANT RESISTANCE AND BIOLOGICAL CONTROL

3.1 *Leaf characteristics*

In the foreword of their book on «Insects and the plant surface» JUNIPER & SOUTHWOOD (1986) wrote: «For the plant, its surface is not merely the point of first contact with insects, but also its barrier to the external world as a whole. It is a barrier, but it is a permeable, translucent barrier through which both energy and the essential nutrients of a plant, gaseous and liquid, enter and from which emerge, amongst others, signals, inducements and repellent substances. These vulnerable areas are then defended by numerous surface mechanisms. Thus a plant's surface will be fashioned in evolution not only by the interplay of the physical environment with the physiological needs of the plant, but also by the dictates of defence and the opportunities for mutualistic interactions.»

In the first chapter of this book some reference is made to the interaction between plant and natural enemies. SOUTHWOOD (1986) mentions that natural enemies are influenced by hairs (size, density and alignment) and that the degree of effect is related to the size of the insect and its mode of locomotion. JEFFREE (1986) adds that: «The plant surface ... is evidently a functional organ, and presumably the diversity of plant

surface structure is a reflection of the diversity of environmental pressures by plants.» Cuticles are not simple homogeneous structures, like films of varnish, but have a layered structure, representing regions of non-uniform physical properties and chemical composition, and cuticle structures show great variability. A layer of epicuticular wax generally coats the cuticle proper. Wax layers vary in thickness and in structure. A structure analysis with TEM and SEM has only been possible for several decades. Many types of structures were found, varying from amorphous films to substantial crusts. Functions of wax are supposedly water repellency and water proofing. In the frame work of tritrophic relationships it is interesting to know that waxy plant surfaces are able to adsorb and re-release insect sex pheromones. Such adsorption may result in the attraction of males. Further it has been shown that an airborne sex pheromone, released by individual calling *Mamestra brassicae* moths, can be absorbed to cabbage leaves. The adsorbed pheromone affects the behaviour of conspecific male moths as well as that of a natural enemy, the parasitoid *Trichogramma evanescens* (NOLDUS & VAN LENTEREN, 1985a).

There is little clear evidence of the functional differentiation of epicuticular waxes relevant to plant-insect interactions, but this area is not well enough studied (JEFFREE, 1986).

3.2 *Plant hairiness*

Much information is available on the relationship between plant hairs and insects. The range of structural types of trichomes is immense (e.g. JEFFREE, 1986). They can be single celled or multicellular, and both types can be glandular or non-glandular, etc. The functions of hairs are very diverse. They can be used for (1) climbing in other plants, (2) shedding water (3) preventing desiccation and reducing transpiration, (4) providing optical qualities, and (5) for hampering and trapping insects.

Various hair types influence insects differently: stiff downwards pointing hairs form a mechanical protection against crawling insects or molluscs, felted trichome layers form physical barriers. Hooked trichomes entangle insects, and glandular trichomes trap insects through adhesive excretion and kill them with toxic fluids. SOUTHWOOD (1986) mentions the following effects of hairs on insects:

(a) *effects at a distance*: odour, reflectance (i.e. colour to the insect) and shape are three factors that influence behaviour of insects in the proximity of the plant.

(b) *effects when on the surface*:

direct effects: hairs may form a hurdle to attack the surface, the leaf surface may be too smooth, or too hairy for attachment. Hairs have

very different influences, sometimes they create problems, at other times they provide foothold. Hairs may frustrate insect movement through simple impedance, through physical trapping by hooked hairs, or through sticking through the exudates from glandular trichomes. The type of reaction depends on hair properties as length, density and alignment (erect, procumbent etc), and on features of the insects such as size, mode of locomotion and mode of feeding. The effect of a certain hair density and hair type is also a matter of size of the insect. Further, hairs may be repulsive or toxic, or they may attract and/or retain insects.

indirect effects: indirect effects can be manifold, e.g. the target insect can be influenced by the microclimate created by specific leaf characteristics or by other organisms. The other (e.g. non-phytophagous) organisms are often differentially influenced by characteristics of the plant hairs because of other size ratio's. The microclimate – which can have different effects on herbivores and natural enemies – is strongly affected by hair type and density.

Also the influence of the microclimate in the leaf boundary layer on arthropods can be crucial. WILLMER (1986), for example, wrote that: «... plant surfaces thus develop a boundary layer of relatively still air where winds have little effect and where temperature and relative humidity effects can be markedly different from ambient. For insects these gradients, around any surfaces, are especially relevant because the boundary layer may be only millimetres or at best a few centimeters deep, so spanning precisely the zones in which resting insects will be found. Transpiration normally raises the humidity, and may lower temperatures too, especially around lower leaf surfaces; thus gradients can be more favourable to a resting or feeding insect.»

Both, herbivores and natural enemies, may profit from the conditions in the boundary layer. The boundary layer and the upper surface of the leaf can be up to 7°C warmer than the ambient air when exposed to sunlight. During the day the under surface is usually a few degrees cooler than the air temperature. At night the temperature of the under surface is about equal to ambient temperatures, while that of the upper surface may be lower. Due to reflectance, the under surface may be heated by radiation from the soil, and the temperature thus be somewhat higher than ambient. The under surface, especially, provides a cool and moist niche of reasonable constancy throughout the 24-hr cycle (WILLMER, 1986). The dependence to living in the leaf boundary layer can be such that «... larvae that live in favourable microhabitats normally have their water balance

controlled by that habitat, and have to invest much less in other forms of protection such as impermeable cuticle and complex osmoregulatory response» (WILLMER, 1986).

3.3 Leaf morphology and biological control: examples

An evaluation of the scarce literature on host-plant resistance based on leaf hairiness in combination with biological control teaches us that the relationship is not always simply positive and leading to better pest control. For example, an increase in the number of glandular hairs makes potato plants more resistant to aphids, but at the same time it has an adverse effect on the natural enemies of aphids (OBRYCKI, 1986). The natural enemies get covered with or are entrapped by the trichome exudates. OBRYCKI (1986) therefore proposes to breed hybrids with moderate densities of glandular trichomes for use in the development of an IPM program for potatoes. In cotton plants, which are attacked by several species of pest insects, an increase in hairiness may reduce numbers of one species but increase that of other species (MOUND, 1965; POLLARD & SAUNDERS 1956). There are other examples in the literature which illustrate that not only phytophagous insects, but also natural enemies are hampered by dense hair layers. E.g. SCHUSTER & CALDERON (1986) show an inverse relationship between cotton trichome density and parasitization of *Heliothis* by *Trichogramma* and predation by *Chrysopa*. Breeders for plants resistant to herbivores should, therefore, also examine the effect of changes in host-plant characteristics on natural enemies in order to (1) identify potential adverse interactions and to (2) enhance positive interactions. This is clearly stated by OBRYCKI (1986): «It remains for an enlightened plant breeding research group to develop lines which not only defend against pests but also promote natural enemies», and: «The benefits of using these two tactics in compatible and complementary ways to promote both the stability of resistant varieties and effective long-term pest management far outweigh the research costs required during the development of these integrated programs.»

The next example shows a rather different approach and illustrates how a negative effect of plant hairs on natural enemies can be solved by selecting plant lines with lower hair densities. Biological control of greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, is reliable on a number of key greenhouse crops, but it cannot be controlled effectively on all important crops (VAN LENTEREN & WOETS, 1988). Particularly biological control of whitefly on cucumber was difficult. We presumed whitefly control on cucumber to fail because of two reasons. First, cucumber is a

very good host plant for greenhouse whitefly. Secondly, *E. formosa* has difficulties in finding whitefly larvae on the densely haired cucumber leaves: the walking speed on cucumber hybrids is inversely proportional to the hairiness of the leaves. Further, the parasitoids turn more on hairy leaves, which often leads to searching on previously visited parts of the leaf (figure 2). Finally, because honeydew excreted by whitefly larvae is retained much more on hairy than on smooth leaves, the parasitoids run more often into droplets of honeydew, and then either spend hours preening or drown and die in the honeydew. Time used for preening can, of course, not be used for searching hosts. We therefore started to look for cucumber lines with fewer hairs and examined circa 200 cucumber accessions on the degree of hairiness and hair length. Although we found variation in the two characteristics, this work was terminated because two hairless mutants were found in the literature. With these mutants we were able to show that walking speed dramatically increased (3 times faster than on hairy cucumber), that parasitoids walked more straight than on hairy leaves and that the net area searched per unit of time was 3.5 times larger on the hairless cucumber (figure 2).

The problem on these completely smooth leaves was, however, that *E. formosa* ran so fast that they walked over whitefly larvae without noticing them. Thus, a breeding program was set up to select for cucumber lines with a lower number of hairs than the commercial hybrids used at that time. It appeared rather simple to develop hybrids with half the number of hairs. Hair size and -shape remained about equal as hairiness is governed by one dominant gene with intermediary inheritance. We compared the searching efficiency on these «half-haired» hybrids with that on commercial normally haired hybrids in greenhouses and found that parasitoids killed significantly more whitefly on the half-haired hybrids (VAN LENTEREN *et al.*, 1995).

An important aspect to know is whether the hairless, half-haired and normally haired leaves have the same host-plant quality for the greenhouse whitefly and do not cause other injury. Host-plant acceptance, rate of development from egg to adult, mortality during development and fecundity, and damage relationships were the same on the three cucumber lines. The degree of hairiness does not apparently influence performance of *T. vaporariorum* under greenhouse conditions, though it is known that whiteflies in the open field prefer plants with high hair densities in order to profit from the higher leaf area humidity on leaves of these hairy species. I refer to VAN LENTEREN *et al.*, (1995) for a detailed report on this work.

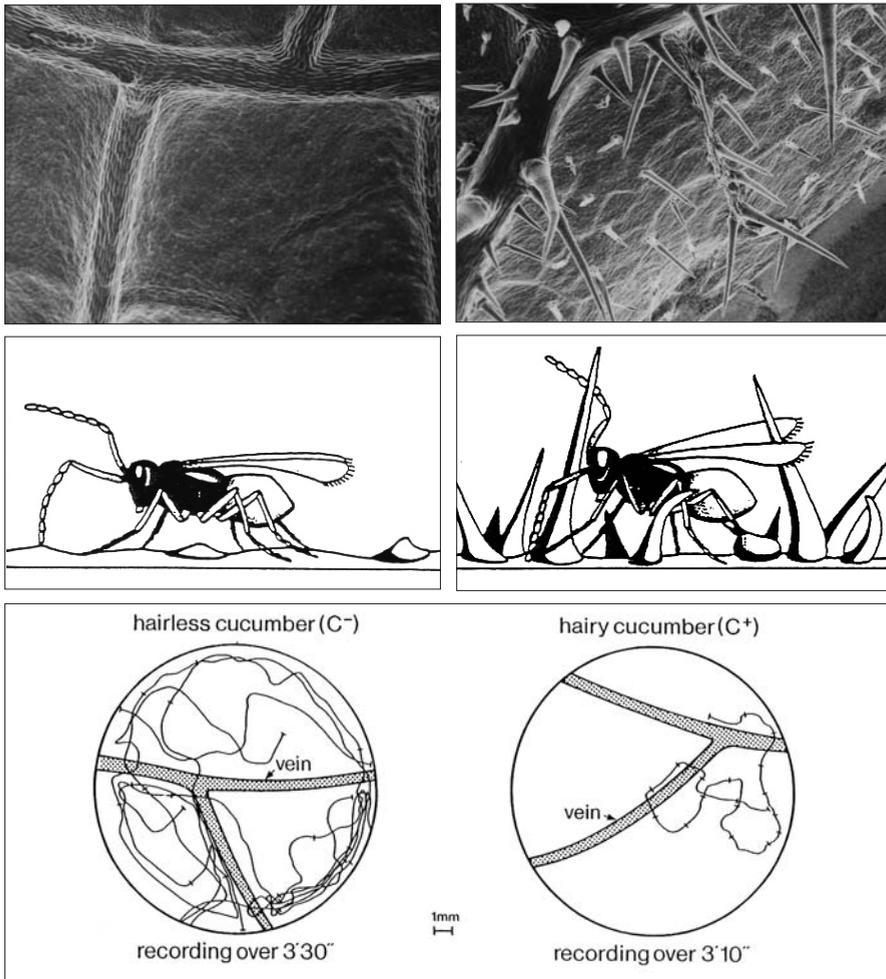


Figure 2

Top: Scanning Electron Micrograph of hairless (left) and haired (right) cucumber lines.
Middle: Drawing of *Encarsia formosa* female walking on a hairless cucumber mutant (left) and on a haired commercial cucumber cultivar (right).
Bottom: Walking patterns of *Encarsia formosa* searching for host on a hairless cucumber mutant (left) and on a haired commercial cultivar (right). The cross bars on the lines delimit 10 seconds intervals. (VAN LENTEREN *et al.*, 1995).

3.4 Effects of plant-produced volatile chemicals on higher trophic levels

Titles of research papers like «Does it pay plants to advertize for bodyguards?» (DICKE & SABELIS 1989) point at plant effects on the third trophic level: the plants are fighting an indirect battle by recruiting natural enemies of herbivores as «bodyguards». This may be accomplished by

attracting natural enemies, offering shelter or offering alternative food in times of herbivore scarcity. Defense mechanisms involve costs (e.g. production, storage, transport and release of compounds) when defense is realized through volatile or contact chemicals, but energetic costs are estimated to be rather low. There may also be costs in the form of «risk of espionage».

For one of the best studied tritrophic systems (host plants, spider mites and predatory mites (figure 3; and summarized in Dicke, 1999a) it has been found that:

- (a) undamaged plants are perceived by spider mites through volatile components (kairomones)
- (b) upon attack by spider mites, plants start to release volatile components which are not produced after artificial damage to the plant,
- (c) those chemicals (synomones) inform predatory mites about quality and quantity of prey present
- (d) spider mites disperse when odour of heavily spider mite infested plants is observed (dispersing pheromone)
- (e) the dispersing pheromone for spider mites shares components with the synomone for the predators
- (f) undamaged plants attract more predatory mites when previously exposed to volatiles from infested conspecific plants.

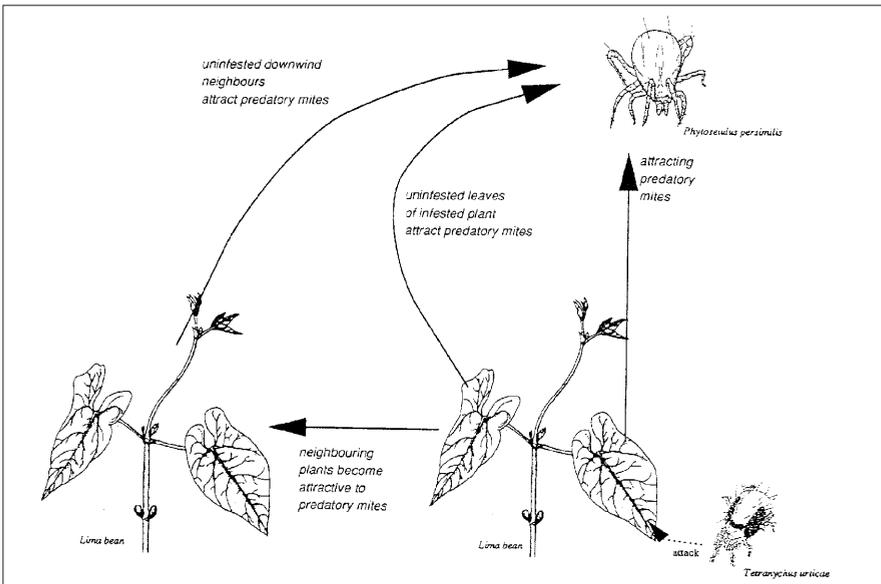


Figure 3
Effects of spider mite (*Tetranychus urticae*) infestation on plants and predatory mites (*Phytoseiulus persimilis*) (DICKE, various sources). See text for explanation

These results combined led to the following question: Do predatory mites «spy» on spider-mite communication or do spider mites leave as soon as the plants «cry for help» gets too loud? It is speculated that the primary function of the plant volatile infochemicals is to attract predatory mites, because detection by spider mites of deteriorating host-plant quality as an effect of mite feeding does not necessarily have to be based on volatiles which have the risk of attracting predators. Decreasing host-plant quality can as well be conveyed by non-volatile components or by contacts between spider mites. The volatile nature of the infochemical is indispensable, however, for rapid predator attraction. The phenomenon of plant-to-plant communication mentioned under (f) is a rather spectacular observation. Circumstantial evidence was already available for pheromone communication in other plants but this is the first example for extrinsic defense. In this case, the reaction of predatory mites to uninfested plants is not simply based on re-released volatiles which were first adsorbed by an uninfested plant. Here, plants receiving information about nearby spider-mite infestations start producing the predatory-mite attracting infochemicals themselves.

The above sketched situation for the spider mites and predatory mites is not exceptional. During the past decades many other examples have been found of herbivore induced production of volatiles by plants that result in attraction of the natural enemies of these herbivores (for a review, see DICKE & VAN LOON, 2000). Plants respond to herbivore feeding damage by producing mixtures of volatiles that not only differ in the quantity of volatiles released per unit of plant biomass but also in the composition of the volatile blend. The change in composition can be quantitative, i.e., changed ratios of the same components, or qualitative, by the release of compounds that do not occur in the blend emitted by the intact plant (e.g., DICKE *et al.*, 1990b; DICKE & VET, 1999). The release of herbivore-induced plant volatiles constitutes in several cases an active response of the plant, because *de novo* production of volatile compounds occurs and these volatiles are not released by intact or mechanically damaged plants (DICKE *et al.*, 1990a, b; TUMLINSON *et al.*, 1999, BOLAND *et al.*, 1999). Moreover, the induced release of volatiles is not limited to the site of damage but can occur systemically (DICKE *et al.*, 1990b; POTTING *et al.*, 1995). In addition, a considerable degree of specificity in blend composition has been documented in several, though not in all, systems studied (for reviews see DICKE, 1999b, c). This specificity refers to consistent differences in volatile blends and/or discrimination by parasitoids and predators between plants of the same species that have been damaged by different herbivore species.

3.5 Bottom-up plant effects summarized

The effects of the various bottom-up plant effects on herbivores and carnivores (usually natural enemies of the herbivores) are summarized in figure 4. Effects are scored as +, - or 0, meaning a positive, negative or neutral effect on the population of herbivorous or carnivorous arthropods.

Best known are the effects of direct plant defenses on herbivores (upper right rectangle), such as effect of plant morphology on the possibility of an insect to land on, eat from or reproduce on a plant. Also well known direct effects of plants on herbivores are those of toxins and digestibility reducers. However, it is also possible that herbivores are using plant produced chemicals to improve their defense against carnivores by the sequestration of toxins, or that they use refuges provided by the plant to escape from parasitism or predation (middle right rectangle). Another effect of plant defense can be that the herbivores show a prolonged development as a result of poorer food, resulting in a higher risk of parasitism or predation.

Another well known group of effects are indirect plant defenses by carnivores (natural enemies) that prey on or parasitize herbivores (upper left rectangle). Although this type of plant defense is a top-down effect, plants may enhance this top-down effect of natural enemies by providing shelter, alternative food and facilitating foraging behaviour. Plants can also hinder or prevent top-down effects by hampering foraging behaviour, as was shown above.

One of the results of these studies is that commercial plant breeding companies now realize the importance of a multitrophic breeding approach: they should, when breeding for improved yields for other characteristics, also regularly check whether the new plant lines did not lose their capability to attract natural enemies.

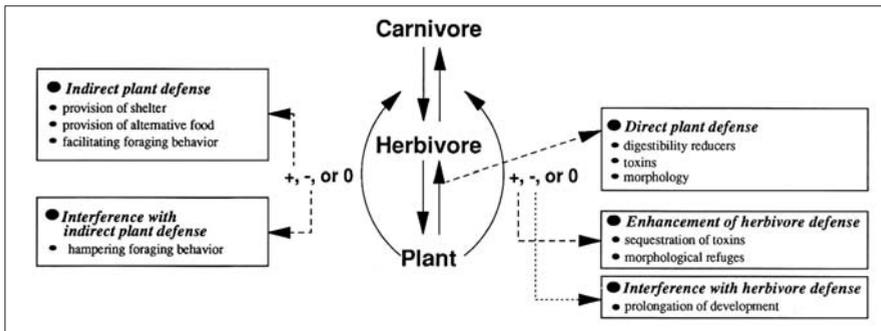


Figure 4

Potential effects of various players in tritrophic relationships. For explanation, see text. (after DICKE, various sources).

4. PARASITOIDS AND PREDATORS REACT TO AND INFLUENCE LOWER TROPHIC LEVELS

Both bottom-up and top-down forces act together on herbivore populations. A well known top-down force is that of predators and parasitoids on phytophagous insects. The widespread use of biological control in agriculture is based on the presumption that insect natural enemies reduce phytophagous insect populations and, as a result, increase plant production. Many studies of arthropod parasitoids and predators have shown evidence of trophic cascades in terrestrial systems.

4.1 Parasitoids and predators react to stimuli produced by the first trophic level

Today it is well known that natural enemy behaviour is influenced by other trophic levels, and chemical cues seem to play a major role (e.g. PRICE 1981; VET and DICKE, 1992; DICKE *et al.*, 2003). The natural environment of predators and parasitoids is composed of relevant constitutive and induced chemicals, as well as irrelevant chemicals, the so-called noise (DICKE, 2000). Composition of infochemicals may vary with genotype of the producer of these chemicals (host plant or host), with biotic, and with abiotic conditions (DICKE & VAN LOON, 2000). The value of a certain infochemical may also depend on the simultaneous presence of other cues (DICKE, 2000). This all stresses the enormous complexity for natural enemies to find their host habitat and the host within this habitat. A question that has only been resolved recently is how these tiny parasitoids and predators are able to find their hosts in this complex chemical world. It is exactly the involvement of third-first trophic level communication that has been used to explain the evolutionary outcome of a reliability-detectability problem faced by predators and parasitoids searching for herbivores (figure 5; VET & DICKE 1992). Whereas cues provided by the herbivore itself are reliable indicators of herbivore presence, their detectability is low due to their small biomass relative to that of the plants they are feeding on. The argument runs *vice versa* for plant-produced cues. Although intact plants constitutively produce volatiles (SCHOONHOVEN *et al.*, 1998), these generally do not provide reliable information to foraging parasitoids and predators. Herbivores are under selection not to convey their presence to enemies through e.g. volatile cues. The discovery of herbivore-induced plant volatiles described above has been central to understanding how foraging parasitoids and predators locate their herbivorous prey or host. There is now ample behavioural evidence that predators and parasitoids selectively exploit herbivore-induced plant volatiles during the location of their herbivorous

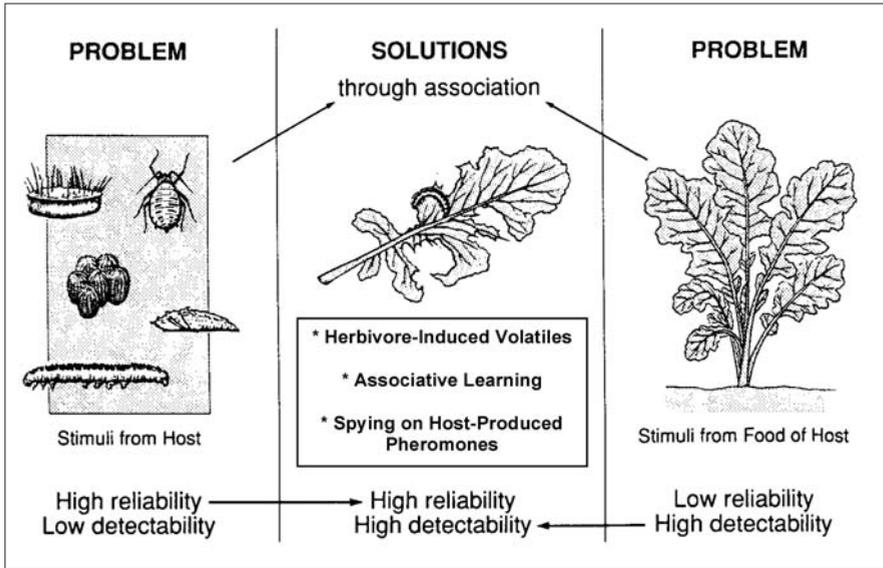


Figure 5

The reliability-detectability dilemma for foraging parasitoids and predators. Plants constitutively produce volatiles that can be detected easily but do not provide reliable information about host presence. Hosts provide highly reliable information, but in such low quantities they are difficult to detect. There are several solutions to this problem, such as (a) reacting to herbivore induced synomones produced by plants after attack, (b) associative learning of certain plant volatiles after having found a host on a specific species of plant, and (c) spying on volatiles like pheromones that are used in the intraspecies host communication system (after DICKE and VET, various sources).

hosts or prey (reviewed by e.g. DICKE & VET, 1999) and this includes field studies (e.g., DRUKKER *et al.*, 1995; DE MORAES *et al.*, 1998).

4.2 Parasitoids and predators react to and learn to associate stimuli produced by the first and second trophic level

Only recently have we begun to appreciate the extent to which parasitoids and predators can learn. Studies have shown that many species of natural enemies are able to acquire by experience an increased preference for and ability to forage in a particular environmental situation. There is evidence that a parasitoid may acquire some modifications in its foraging traits during the immature stage (e.g. VET, 1983; LUCK & UYGUN, 1986). However, the clearest case and those with the greatest effects have thus far been shown to be from the experience of adult parasitoids (VINSON *et al.*, 1977; VET, 1983; VET *et al.*, 1995; STEIDLE & VAN LOON, 2002). The learning process is often associative learning where the parasitoid learns to effectively use a previously weak or neutral cue for host foraging (e.g. a

constitutively produced plant volatile) by associating it with the host or a product of the host (figure 5; for reviews, see LEWIS *et al.*, 2003 and VET *et al.*, 2003). In this case, close range, reliable, and unconditional stimuli can serve as re-enforcers for the longer range and more variable conditional stimuli. This learning process can begin at or just before eclosion based on the host products associated with the parasitoid's cocoon. Thereafter the parasitoid's foraging responses are modified continually according to the foraging circumstances encountered (VET *et al.*, 2003). This finding has important bearings for biological control, and it may both help and frustrate effectivity of natural enemies. It can boost natural enemy effectiveness if they are attuned to the right cues in a learning process, but if the natural enemies are exposed to wrong host and plant cues during rearing, they may not properly react to plant and pest cues in the field.

4.3 Parasitoids and predators react to stimuli produced by the second trophic level

As we know now, a tremendous variety of host or prey location strategies are known, in which chemical cues, i.e. infochemicals, play an important role. Parasitoids and predators may react to herbivore-induced plant volatiles (4.1), to constitutively produced volatile cues before and after associative learning in combination with host stimuli (4.2), or mainly to pure host related stimuli (4.3) (figure 5). This latter situation seems to be rare, but there are several clear examples available (for a review, see Fatouros, 2006). Here, I will limit myself to one example: the host searching behaviour of *Trichogramma* parasitoids. This work is fully reported in NOLDUS (1989), NOLDUS & VAN LENTEREN (1985a), FATOUROS (2006), and FATOUROS *et al.* (2005).

Trichogramma species, parasitoids of lepidopteran eggs, use various chemical cues in their search for hosts. Wind tunnel studies showed that they did not react to plant produced chemicals and this raised the question how these very tiny parasitoids (< 1mm) could locate their hosts. Observation of flying parasitoids in the field appeared too complicated, so we continued to work in olfactometers and wind tunnels in the laboratory. With these set-ups, it was found that *Trichogramma* females are reacting to the pheromone of virgin, calling females of *Mamestra brassicae* (cabbage moth). However, they were not *attracted* by host odour. *Trichogramma* parasitoids showed upwind movement in wind tunnels, independent of odour. To our surprise, they did show landing behaviour and *arrestment* when they encountered moth pheromone. But sex pheromones by these moths are only produced during the night, while *Trichogramma* is searching during the day. A question that could thus not be ignored was: «how can moth sex pheromones function as volatile cues for parasitoids in the field?»

This was studied by exposing a plant leaf to air that had passed over a single calling moth. It appeared that sex pheromone was absorbed to the leaf surface to such an extent that the leaf subsequently elicited behavioural responses in parasitoids up to 24 hours after exposure to the calling moth (NOLDUS, 1989). These results suggest that when *Trichogramma* is flying over plants, it will land on plants where virgin moths have been emitting pheromone. These are not necessarily the plants on which the moths will have laid there eggs, but oviposition usually occurs nearby.

This is not all there is to say about host searching of *Trichogramma*. Fatouros *et al.* (2005) recently showed that these parasitoids hitch a ride on mated female butterflies to the oviposition site and subsequently attack the butterfly eggs after being deposited (figure 6). To detect the mated female butterfly, the egg parasitoids spy on a chemical host cue, a so-called anti-aphrodisiac, transferred during mating by the male to the female (FATOUROS *et al.*, 2005). This hitch-hiking habit of *Trichogramma* for finding host eggs can only be used when the parasitoids are near butterflies, and is an alternative type of host location behaviour for the reaction to the male calling pheromone described above.



Figure 6

Eight *Trichogramma* parasitoids hitching a ride on the body of *Pieris brassicae* (photograph kindly provided by Dr. Nina Fatouros).

Finally, after *Trichogramma* females have landed on plant leaves, they react to cues present in the scales of their hosts which are usually scattered on the leaf where the moths have walked. They also react to a substance present on and around the host eggs that is put on the leaf and eggs by the egg laying moth. Contact with these scales and the substance on and around host eggs leads to area restricted search (the parasitoids turn more often and stay longer than on clean leaves), which results in a high probability to discover host eggs (NOLDUS & VAN LENTEREN, 1985b; GARDNER & VAN LENTEREN, 1986; FATOUROS, 2006).

4.4 Top-down effects summarized

All work reported in section 4 has provided insight in how tiny parasitoids are able to find the small host eggs in a sea of usually uninfested green plants. The result of the top-down effects of natural enemies on herbivores is that the number of herbivores is usually a fraction of what they might be in absence of natural enemies. It is estimated that as a result of both bottom-up (mainly host-plant resistance and attraction of natural enemies) and top-down (mainly predation and parasitism) effects, plant biomass is reduced by only 10% in natural ecosystems (COUPE & CAHILL, 2003; SCHOONHOVEN *et al.*, 2005). In simplified agro-ecosystems with a lack of natural enemies and poor levels of host-plant resistance, the consumption of plant biomass can be in the order of more than 90% when no insect control measures are taken (OERKE & DEHNE, 1997).

5. ARE PHYTOPHAGOUS INSECTS WILL-LESS VICTIMS OF PLANTS AND NATURAL ENEMIES?

The information provided in the earlier sections of this paper might lead to the conclusion that phytophagous insects are will-less victims of their host plants and/or their natural enemies. It is a fact that the numbers of many phytophagous insects are strongly limited by host-plant resistance and parasitoids/predators. But there is also a number of examples that show escape mechanisms for phytophagous insects. For example, herbivores may (a) detoxify plant toxins and even use them for defense against predators (examples in SCHOONHOVEN *et al.*, 2005), (b) use plants as a refuge and, thus, prevent discovery by predators or parasitoids, or (c) select those host plant species that are usually not visited by natural enemies (enemy-free space; see e.g. ODE, 2006). Herbivores may also avoid plants that are contaminated with cues related to parasitoids or predators. For example, PALLINI *et al.* (1997) showed that spider mites prefer volatiles

from plants infested with conspecific spider mites over volatiles from plants on which conspecific spider mites plus their predators are present. This may be caused by an alarm pheromone produced by the spider mites that are exposed to predators (cf. JANSSEN *et al.*, 1997). Also, spider mites avoid non-volatile cues deposited on the plant by carnivorous predators which remain active for at least four days after deposition by the predators (KRIESCH & DICKE, 1997). Other examples are the avoidance of cues from natural enemies by the tephritid fruit fly *Rhagoletis basiola* in response to cues from an egg parasitoid (HOFFMEISTER & ROITBERG, 1997) and the parasitoid *Aphidius uzbekistanicus* in response to cues from the hyperparasitoid *Alloxysta victrix* (HOELLER *et al.*, 1994).

6. CONTRIBUTION OF KNOWLEDGE FROM MULTITROPHIC STUDIES TO BIOLOGICAL CONTROL AND A NEW PEST MANAGEMENT PHILOSOPHY FOR MODERN AGRICULTURE

Almost all alternatives for conventional synthetic chemical pest control have benefitted from the new insights emerging from multitrophic studies. Examples of straightforward and important contributions to the science and application of biological control are: (1) insight in the working mechanisms of classical, augmentative and conservation biological control (e.g. BELLOWS & FISHER, 1999), (2) development of methods to identify and evaluate candidate natural enemies (VAN LENTEREN & MANZAROLI, 1999; LEWIS *et al.*, 2003; VAN LENTEREN, 2003c; VET *et al.*, 2003; BIGLER *et al.*, 2006); (3) design of processes for mass rearing and release of biological control agents (e.g. VAN LENTEREN & TOMMASINI, 2003); (4) creation of quality control systems for the production of high quality natural enemies (VAN LENTEREN, 2003a, b), and (5) outline environmental risk analyses for exotic natural enemies (BIGLER *et al.*, 2006; VAN LENTEREN *et al.*, 2006).

These new insights from multitrophic studies have resulted also in a different philosophy of pest management. Before the large scale application of synthetic chemical pesticides, biological control was one of the main pest management methods embedded in a ‘systems approach’ to pest prevention and reduction. A farmer had to think about pest prevention before designing the next season’s planting scheme and choice of crops. This concept generally made use of three methods of pest management: cultural control, host-plant resistance and biological control. Cultural methods such as crop rotation, cover crops, and manipulation of sowing and harvesting dates were used to prevent the build up of pest numbers (DELUCCHI, 1987). Plants that had a high degree of resistance or

tolerance to pests were another cornerstone of pest prevention, and the third was natural, classical, inundative and conservation biological control.

From around 1950, these methods became redundant as almost all pests could be easily managed by the newly-discovered synthetic chemical pesticides. As a result, pest control research became a highly reductionist activity, and changed from an important decision-making exercise in pest management to a routine but initially successful fire-brigade activity. Another effect was that plants were no longer selected for resistance to pests, but only for the highest production of biomass (food) or cosmetic appearance (flowers), produced under blanket applications of pesticides. This, in turn, has led to the current situation in which crops have become ‘incubator plants’, unable to survive without frequent pesticide applications and agro-ecosystems that have few, if any, natural enemy populations.

However, now that chemical pesticides are no longer seen as the major solution for sustainable pest management, it is not possible to simply return in a year or so to pre-pesticide methods of control: crops are too weak to survive without pesticides, natural enemy faunas are absent, and many farmers remain ‘pesticide-addicted’. The landscape in which agriculture currently takes place is characterized by (1) low species diversity, (2) plants with little architectural complexity, and (3) plants and animals that are short-lived with high fecundity, relatively good dispersal but poor competitive ability (BUKOVINSZKY, 2004). Further, many agro-ecosystems are dominated by weeds, insects and pathogens that are highly adapted for rapid colonization and population increase. Plants with simple architectures have fewer associated species of insects (pests and beneficials) than diverse and architecturally complex plant communities (LANDIS & MARINO, 1999). As a consequence of these low-diversity plant and herbivore communities, agro-ecosystems often have strongly impoverished natural enemy communities when compared with natural ecosystems (LANDIS *et al.*, 2000). However, the areas adjacent to crop fields are usually less disturbed and architecturally more complex, with a richer and more stable natural enemy fauna that can provide source populations of beneficial arthropods to promote pest management. But it should be realized that these extra-field communities may also act as a reservoir for pest species (WINKLER, 2005).

Environmentally friendly and sustainable pest management must, therefore, be based on an appreciation of how the structure of the agricultural landscape can influence the interactions between extra-field and within-field processes. An understanding of the interchange of organisms between areas of the landscape, and the influence of landscape structure on these interchanges, is critical for predicting and managing pest populations in agricultural fields (LEWIS *et al.*, 1997).

7. CONCLUSIONS

During the past five decades, an enormous amount of knowledge has become available about relationships between plants, phytophagous insects and the natural enemies of phytophagous insects. This knowledge has, among others, contributed to important developments in ethological and ecological theory. Also, it has strongly improved insight in the working mechanism of biological control and helped in the successful practical application of this pest management method. Natural (biological) control is the reduction of pest organisms that occurs «for free» since the evolution of the first ecosystem some 500 million years ago. Natural (biological) control is constantly active – also today – in all world ecosystems on 55.5 billion hectares.

In addition to natural forms of biological control, man started to use arthropod biological control around the year 300 by using predators (VAN LENTEREN, 2005). Large scale use of biological control started in 1888 with the release of *Rodolia* ladybird beetles to control a scale insect in citrus in California (VAN LENTEREN & GODFRAY, 2005). Many permanent successes have been obtained since, resulting in annual profits of millions of dollars, and these profits are accumulating continuously as biological control is permanent in contrast with chemical control where resistance against the pesticide develops.

It is estimated that most of the potential arthropod pests (95%, about 100,000 arthropod species) are under natural (biological) control. All other control methods, including conventional chemical control, used today are targeted at the remaining 5,000 arthropod pest species. The ecosystem function of natural (biological) control is estimated to have an annual minimum value of 400 billion US\$ per year (COSTANZA *et al.*, 1997). Classical biological control, where exotic natural enemies are used to control accidentally introduced exotic pests, is applied on 350 million hectares (10% of land under culture), and has a very high benefit-cost ratios of 20-500 : 1. Augmentative, commercial biological control is applied on 0.016 billion hectares (0.05% of land under culture), and has a benefit-cost ratio of 2-5: 1. More than 5,000 introductions of about 2,000 species of exotic arthropod agents for control of arthropod pests in 196 countries or islands have been made during the past 120 years, and more than 150 species of natural enemies (parasitoids, predators and pathogens) are currently commercially available (VAN LENTEREN *et al.*, 2006; BALE *et al.*, 2007).

At the start of the 21st century, the opportunities and need for effective biological control are greater than ever: pest resistance continues

to be a problem, and pesticides are being withdrawn on environmental grounds without replacements. In order to fulfill this need, fundamental research by ecologists and entomologists will be crucial to generate new ideas for environmentally safe and sustainable pest management methods.

SUMMARY

Multitrophic systems have received much attention during the past decades and we are starting to understand the functioning of these systems. Studies of multitrophic systems are not only essential for developing ecological theory, but also for the design of environmentally friendly and sustainable pest management programs. In the current paper, first some developments are sketched by summarizing (a) morphological and chemical plant effects on higher trophic levels, and (b) how parasitoids and predators react to and influence lower trophic levels. Next, the question whether phytophagous insects are will-less victims of plants and natural enemies is shortly addressed. This is followed by a discussion about the contribution of knowledge from multitrophic studies to biological control and, more generally, to pest management philosophy.

RIASSUNTO

GLI INSETTI FITOFAGI IN UN CONTESTO MULTITROFICO

I sistemi multitrofici hanno ricevuto molta attenzione durante le passate decadi e ne stiamo cominciando a capire il funzionamento. Gli studi dei sistemi multitrofici sono essenziali non solo per sviluppare teorie ecologiche ma anche per progettare programmi di gestione degli insetti dannosi in un modo ecologico e sostenibile. Nel presente lavoro alcuni sviluppi sono abbozzati riassumendo (a) gli effetti morfologici e chimici delle piante sui livelli trofici più alti e (b) come i predatori e i parasitoidi reagiscono e influenzano i livelli trofici più bassi. Successivamente, la domanda se gli insetti fitofagi sono vittime inerti delle piante e dei nemici naturali è brevemente discussa. Questo è seguito da una disanima circa il contributo di studi multitrofici alla conoscenza del controllo biologico e, più in generale, della filosofia per la gestione dei fitofagi dannosi.

REFERENCES

- BALE J., LENTEREN J.C. VAN, BIGLER F., 2007 – *Biological control and sustainable food production*. - Philosophical Transactions of the Royal Society, Series B (in press).
- BELLOWS T.S., FISHER T.W. (eds.) 1999 - *Handbook of Biological Control*. Academic Press, San Diego, 1046 pp.
- BERGMAN, J.M., TINGEY W.M., 1979 – *Aspects of interactions between plant genotypes and biological control*. - Bulletin of the Entomological Society of America, 25: 275-279.
- BIGLER F., BABENDREIER D., KUHLMANN U., (eds.), 2006 – *Environmental Impact of Invertebrates for Biological Control of Arthropods: Methods and Risk Assessment*. - CABI Publishing, Wallingford, UK, 299 pp.
- BOLAND W., KOCH T., KRUMM T., PIEL J., JUX A., 1999 – *Induced biosynthesis of insect semiochemicals in plants*. In: Chadwick D.J., Goode J. (eds). *Insect-plant interactions and induced plant defence*. - Wiley, Chichester (Novartis Foundation Symposium 223), pp. 110-126.
- BUKOVINSZKY T., 2004 – *Tailoring complexity: multitrophic interactions in simple and diversified habitats*. - PhD Thesis, Wageningen University, 161 pp.
- COOPE M.D., CAHILL J.F., 2003 – *Effects of insects on primary production in temperate herbaceous communities: a meta-analysis*. - Ecological Entomology 28, 511-521.

- COSTANZA R., 1997 – *The value of the world's ecosystem services and natural capital*. – Nature, 387: 253-260.
- DELUCCHI V., 1997 – *Integrated Pest Management: Quo Vadis? Parasitica*. – Symposium Book, Geneva, Switzerland: 123-166.
- DEMORAES C.M., LEWIS W.J., PARÉ P.W., ALBORN H.T., TUMLINSON J.H., 1998 – *Herbivore-infested plants selectively attract parasitoids*. – Nature, 393: 570-573.
- DICKE M., SABELIS M. W., 1989 – *Does it pay plants to advertize for bodyguards?* In: *Causes and Consequences of Variation in Growth Rate and Productivity of Higher Plants*. – Lambers H. et al. (eds). SPB Academic, The Hague: 341-358.
- DICKE M., BEEK VAN T.A., POSTHUMUS M.A., BEN DOM N., BOKHOVEN VAN H., DE GROOT, A.E., 1990a. – *Isolation and identification of volatile kairomone that affects acarine predator-prey interactions. Involvement of host plant in its production*. – Journal of Chemical Ecology, 16: 381-396.
- DICKE M., SABELIS M.W., TAKABAYASHI J., BRUIN J., POSTHUMUS M.A., 1990b – *Plant strategies of manipulating predator-prey interactions through allelochemicals: prospects for application in pest control*. – Journal of Chemical Ecology, 16: 3091-3118.
- DICKE M., 1999a – *Direct and indirect effects of plants on beneficial organisms*. – In: Ruberson, J.R. (ed.) *Handbook of Pest Management*. Marcel Dekker, New York, USA, pp. 105-153.
- DICKE M., 1999b – *Specificity of herbivore-induced plant defences*. – In: Chadwick D.J., Goode J. (eds.) *Insect-plant interactions and induced plant defence*. Wiley, Chichester (Novartis Foundation Symposium 223), pp. 43–59.
- DICKE M., 1999c – *Are herbivore-induced plant volatiles reliable indicators of herbivore identity to foraging carnivorous arthropods?* – Entomologia Experimentalis et Applicata, 92: 131-142.
- DICKE M., VET L.E.M., 1999 – *Plant-carnivore interactions: evolutionary and ecological consequences for plant, herbivore and carnivore*. – In: OLFF H., BROWN V. K., DRENT R. H. (eds), *Herbivores: between plants and predators*. Blackwell Science, Oxford, UK, pp. 483-520.
- DICKE M., 2000 – *Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective*. – Biochemical Systematics and Ecology, 28: 601-617.
- DICKE M., VAN LOON J.J.A., 2000 – *Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context*. – Entomologia Experimentalis et Applicata, 97: 237-246.
- DICKE M., DE BOER J.G., HÖFTE M., ROCHA-GRANADOS M.C., 2003 – *Mixed blends of herbivore-induced plant volatiles and foraging success of carnivorous arthropods*. Oikos, 101: 38-48.
- DRUKKER B., SCUTAREANU P., SABELIS M.W., 1995 – *Do anthoborid predators respond to synomones from Psylla: infested pear trees under field conditions?* – Entomologia Experimentalis et Applicata, 77: 193-203.
- FATOUROS N.E., HUIGENS M.E., VAN LOON J.J.A, DICKE M., HILKER M., 2005 – *Butterfly anti-aprodisiac lures parasitic wasp*. – Nature, 433: 704.
- FATOUROS N.E., 2006 – *Parasitic wasps on butterfly expedition: foraging strategies of egg and larval parasitoids exploiting infochemicals of brussels sprouts and their Pieris hosts*. – PhD Thesis Free University Berlin, Berlin, 181 pp.
- GARDNER S.M., VAN LENTEREN J.C., 1986 – *Characterisation of the arrestment responses of Trichogramma evanescens*. – Oecologia (Berlin) 68: 265-270.
- HARE J.D., 1992 – *Effects of plant variation on herbivore - natural enemy interactions*. In: *Plant resistance to herbivores and pathogens*. – FRITZ. R.S., SIMMS E.L. (eds). Univ. of Chicago Press: 278-298.
- HOFFMEISTER T. S., ROITBERG B. D., 1997 – *Counterespionage in an insect herbivore-parasitoid system*. – Naturwissenschaften, 84: 117-119.
- HOELLER C., MICHA S.G., SCHULZ S., FRANCKE W., PICKETT J.A, 1994 – *Enemy-induced dispersal in a parasitic wasp*. – Experientia, 50: 182–185.
- JANSSSEN A., BRUIN J., JACOBS G., SCHRAAG R., SABELIS M.W., 1997 – *Predators use volatiles to avoid prey patches with conspecifics*. – Journal of Animal Ecology, 66: 223–232.
- JEFFREE C.E., 1986 – *The cuticle, epicuticular waxes and trichomes of plants, with reference to their structure, functions and evolution*. – In: Juniper B., Southwood R. (eds.), *Insects and the Plant Surface*. Edward Arnold, London: 23-64.
- JUNIPER B., SOUTHWOOD R. (eds.), 1986 – *Insects and the Plant Surface*. – Edward Arnold, London, 360 pp.
- KRIESCH S., DICKE M, 1997 – *Avoidance of predatory mites by the twospotted spider mite*

- Tetranychus urticae: *the role of infochemicals*. - Proceedings of Experimental and Applied Entomology, 8: 121-126.
- LANDIS D.A., MARINO P.C., 1999 – *Landscape structure and extra-field processes: impact on management of pests and beneficials*. - In: Handbook of Pest Management (ed. J. Ruberson) Marcel Dekker Inc., New York: 79-104.
- LANDIS D.A., WRATTEN S.D., GURR G.M., 2000 – *Habitat management to conserve natural enemies of arthropod pests in agriculture*. - Annual Review of Entomology, 45: 175-201.
- LENTEREN J.C. VAN, WOETS J., 1988 – *Biological and integrated pest control in greenhouses*. - Annual Review of Entomology, 33: 239-269.
- LENTEREN J.C. VAN, LI ZHAO HUA, J.W. KAMERMAN, 1995 – *The parasite host relationship between Encarsia formosa (Hymenoptera: Aphelinidae) and Trialeurodes vaporariorum (Homoptera: Aleyrodidae)*. XXVI. *Leaf hairs reduce the capacity of Encarsia to control greenhouse whitefly on cucumber*. - Journal of Applied Entomology, 119: 553-559.
- LENTEREN J.C. VAN, MANZAROLI G., 1999 – *Evaluation and use of predators and parasitoids for biological control of pests in greenhouses*. - In: Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops, R. ALBAJES, M.L. GULLINO, J.C. VAN LENTEREN, ELAD Y. (eds.), Kluwer Publishers, Dordrecht: 183-201.
- LENTEREN J.C. VAN (ed.), 2003a – *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. - CABI Publishing, Wallingford, UK, 327 pp.
- LENTEREN J.C. VAN, 2003b – *Need of quality control of mass-produced biological control agents*. In: Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. LENTEREN J.C. VAN (ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK: 1-18.
- LENTEREN J.C. VAN, 2003c – *Commercial availability of biological control agents*. In: Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. J.C. van Lenteren (ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK: 167-179.
- LENTEREN J.C. VAN, TOMMASINI M.G., 2003 – *Mass production, storage, shipment and release of natural enemies*. - In: Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. J. Lenteren (C. van ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK: 181-189.
- LENTEREN J.C. VAN, 2005 – *Early entomology and the discovery of insect parasitoids*. - Biological Control, 32: 2-7.
- LENTEREN J.C. VAN, GODFRAY H.C.J., 2005 – *European science in the Enlightenment and the discovery of the insect parasitoid life cycle in The Netherlands and Great Britain*. - Biological Control, 32: 12-24.
- LENTEREN J.C. VAN, BALE J., BIGLER F., HOKKANEN H.M.T., LOOMANS A.J.M., 2006 – *Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests*. - Annual Review of Entomology, 51: 609-634. + supplemental material
- LEWIS W.J., LENTEREN VAN J.C., PHATAK S.C., TUMLINSON J.H., 1997 – *A total systems approach to sustainable pest management*. - Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 94: 12243-12248.
- LEWIS W.J., VET L.E.M., TUMLINSON J.H., LENTEREN J.C. VAN, PAPAJ D.R., 2003 – *Variations in natural-enemy foraging behaviour: essential element of a sound biological-control theory*. In: Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures. J.C. van Lenteren (ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK: 41-58.
- LUCK R.F., UYGUN N., 1986 – *Host recognition and selection by Aphytis species: response to California red, oleander, and cactus scale cover extracts*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 40: 129-136.
- MOUND L.A., 1965 – *Effect of leaf hair on cotton whitefly populations in the Sudan Gezira*. Empire Cotton Growing Review, 42: 33-40.
- NOLDUS L.P.J.J., VAN LENTEREN J.C., 1985a – *Kairomones for the egg parasite Trichogramma evanescens Westwood. 1. Effect of volatile substances released by two of its hosts, Pieris brassicae L. and Mamestra brassicae L.* - Journal of Chemical Ecology 11: 781-791.
- NOLDUS L.P.J.J., VAN LENTEREN J.C., 1985b – *Kairomones for the egg parasite Trichogramma evanescens Westwood. 2. Effect of contact chemicals produced by two of its hosts, Pieris brassicae L. and Pieris rapae L.* - Journal of Chemical Ecology, 11: 793-800.
- NOLDUS L.P.J.J., 1989 – *Chemical espionage by parasitic wasps*. - PhD Thesis, Wageningen University, Wageningen, 252 pp.

- OBRZYCKI J.J., 1986 – *The influence of foliar pubescence on entomophagous species*. - In: Boethel D.J., Eikenbary R.D. (eds.), *Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects*. Wiley, New York: 61-83.
- ODE P.J., 2006 – *Plant chemistry and natural enemy fitness: effects on herbivore and natural enemy interactions*. - *Annual Review of Entomology*, 51: 163-185.
- OERKE E.C., DEHNE H.W., 1997. – *Global crop production and the efficacy of crop protection – current situation and future trends*. - *European Journal of Plant Pathology*, 103: 203-215.
- PALLINI A., JANSSEN A., SABELIS M.W., 1997 – *Odour-mediated responses of phytophagous mites to conspecific and heterospecific competitors*. - *Oecologia*, 100: 179–185.
- POLLARD D.G., SAUNDERS J. H., 1956 - *Relations of some cotton pests to jassid resistant sakel*. - *Empire Cotton Growing Review*, 33: 197-202.
- POTTING R.P.J., VET L.E.M., DICKE M., 1995 – *Host microhabitat location by stem-borer parasitoid Cotesia flavipes: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles*. - *Journal of Chemical Ecology*, 21: 525-539.
- PRICE P.W., 1981 – *Semiochemicals in evolutionary time*. - In: *Semiochemicals: Their Role in Pest Control*, NORDLUND D.A., JONES R.L., LEWIS W.J. (eds.). Wiley, New York: 252-279.
- PRICE P.W., 1986 – *Ecological aspects of host plant resistance and biological control: interactions among three trophic levels*. - In: *Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects*. Boethel D.J., Eikenbary R.D. (eds). Wiley, New York: 11-30.
- SCHOONHOVEN L.M., JERMY T, VAN LOON J.J.A., 1998 – *Insect - Plant Biology: from Physiology to Evolution*. - Chapman & Hall, London, 409 pp.
- SCHOONHOVEN L.M., VAN LOON J.J.A., DICKE M., 2005 – *Insect-plant biology*. - Oxford University Press, Oxford, 421 pp.
- SCHUSTER M.F., CALDERON M., 1986 – *Interactions of host plant resistant genotypes and beneficial insects in cotton ecosystems*. - In: BOETHEL D.J., EIKENBARY R.D. (eds.), *Interactions of Plant Resistance and Parasitoids and Predators of Insects*. Wiley, New York: 84-97.
- SILVA I.M.M.S., VAN MEER M.M.M., ROSKAM M.M., HOOGENBOOM A., GORT G., STOUTHAMER R., 2000. – *Biological control potential of Wolbachia-infected versus uninfected wasps: laboratory and greenhouse evaluation of Trichogramma cordubensis and T. deion strains*. - *Biocontrol Science and Technology*, 10: 223-238.
- SOUTHWOOD R., 1986 – *Plant surfaces and insects. - an overview*. - In: JUNIPER B., SOUTHWOOD R.eds, *Insects and the Plant Surface*. Edward Arnold, London: 1-22.
- STEIDLE J.L.M., VAN LOON J.J.A., 2002 – *Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour*. - In: HILKER M., MEINERS T. (eds.). *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition*. Blackwell, Oxford: 291-317 pp.
- TUMLINSON J.H., PARÉ P.W., LEWIS W.J., 1999 – *Plant production of volatile semiochemicals in response to insect-derived elicitors*. - In: CHADWICK D. J., GOODE J. (eds.) *Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence*. Wiley, Chichester (Novartis Foundation Symposium 223): 95-105.
- VET L.E.M., 1983 – *Host-habitat location through olfactory cues by Leptopilina clavipes (Hartig) (Hym.: Eucoilidae), a parasitoid of fungivorous Drosophila. The influence of conditioning*. - *Netherlands Journal of Zoology* 33: 225-248.
- VET L.E.M., DICKE M., 1992 – *Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context*. - *Annual Review of Entomology*, 37: 341-372.
- VET L.E.M., LEWIS W.J., CARDÉ R.T., 1995 – *Parasitoid foraging and learning*. - In: CARDÉ R.T., BELL W.J. (eds.) - *Chemical Ecology of Insects 2*. Chapman & Hall, New York: 65-101.
- VET L.E.M., LEWIS W.J., PAPA J.D.R., VAN LENTEREN J.C., 2003 – *A variable-response model for parasitoid foraging behaviour*. - In: *Quality Control and Production of Biological Control Agents: Theory and Testing Procedures*. VAN LENTEREN J.C. (ed.), CABI Publishing, Wallingford, UK: 25-39.
- VINSON S.B., BARFIELD C.S., HENSON R.D., 1977 – *Oviposition behavior of Bracon mellitor, a parasitoid of the boll weevil (Anthonomus grandis)*. II. *Associative learning*. - *Physiological Entomology*, 2: 157-164.
- WILLMER P., 1986 – *Microclimatic effects on insects at the plant surface*. In: JUNIPER B., SOUTHWOOD R. (eds.), *Insects and the Plant Surface*. Edward Arnold, London: 65-80.
- WINKLER K., 2005 – *Assessing the risks and benefits of flowering field edges: strategic use of nectar sources to boost biological control*. PhD Thesis Wageningen University, 118 pp.

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 24 NOVEMBRE 2006

Giornata culturale su:

INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI D'ALLARME
DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI

Coordinatore: FERDINANDO BIN, Accademico

INTERAZIONI INSETTI - PIANTE: I SEGNALI D'ALLARME DELLE PIANTE E LE RISPOSTE DEI PARASSITOIDI

Le interazioni tra piante ed insetti sono un argomento di considerevole vastità dato l'enorme numero e la grande diversità di specie coinvolte. Infatti, il pianeta è popolato da circa il 22% (~308.000 specie) di piante superiori e il 57% di insetti (ca. 1.800.000 specie), dei quali il 26% (ca. 361.000) sono fitofagi e il 31% (ca. 431.000) sono zoofagi e/o sapro-fagi. Il rimanente 21% (ca. 297.000) comprende altri invertebrati, vertebrati e protozoi (PRICE, 1997). Questi numeri suggeriscono che, ad esempio, non c'è pianta senza fitofago, non c'è fitofago senza entomofago e, ultimi ma indispensabili nella catena trofica, non ci sono organismi deperiti o morti senza i saprofiti che li riciclano sotto forma di materia organica. Quindi ogni specie ha un impatto, diretto o indiretto, su diverse altre specie, e/o lo subisce, formando una rete di interazioni antagonistiche o mutualistiche di straordinaria complessità.

Tra le varie interazioni pianta-insetto, si possono citare alcuni esempi particolari come quelli delle piante insettivore (FELDMAN, 2003), delle piante mirmecofile (JOLIVET, 1998), di quelle che ospitano insetti mimetici (JORON, 2003), delle piante attaccate da insetti galligeni (SCHICK e DAHLSTEN, 2003) e infine di quelle visitate dagli impollinatori (FRANKIE e THORPE, 2003) o dagli entomofagi per il polline e il nettare (WAECKERS *et al.*, 2005). Vi è poi il caso già accennato degli insetti demolitori, che riciclano piante (SCRIBER, 2003) e, caso limite, persino i residui vegetali contenuti negli escrementi dei grossi mammiferi (RIDSILL-SMITH, 2003). Oltre all'interesse naturalistico di queste interazioni, per alcune di esse è stato calcolato il corrispondente «valore economico». Ad esempio, il «servizio ecologico» svolto dagli impollinatori, dagli entomofagi, dagli stercoreari e dagli insetti che fungono da «pabulum» per animali selvatici, senza intervento dell'uomo, è stato stimato per gli Stati Uniti in almeno 57 miliardi di dollari (LOSEY e VAUGHAN, 2006; COSTANZA *et al.*, 1997).

L'interazione più diffusa è comunque la fitofagia, intesa nell'accezio-

(*)Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali, Università di Perugia.
Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Interazioni Insetti-Piante: i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi».

Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 24 novembre 2006.

ne più ampia, non solo come asportazione di tessuti e sottrazione di linfa ma anche come danni dovuti ad ovideposizione, che determina nelle piante una miriade di risposte diverse (WALLING, 2000). Più in generale sono interessanti, anche per le possibili applicazioni, tutte le interazioni dovute a lesioni causate alla pianta da agenti biotici. Tali fenomeni sono alquanto complessi perchè comprendono sia la rete trofica che quella allelochimica (SCRIBER, 2003) e possono coinvolgere precursori di ormoni o di feromoni (AWMACK e LEATHER, 2002). I composti volatili emessi dalle piante, diversi in quelle indenni rispetto a quelle lesionate, hanno un ruolo determinante nei meccanismi olfattivi di ricerca della pianta attaccata da parte dei nemici naturali del fitofago o da parte del fitofago stesso (BERNAYS, 2003; SCHOONOVEN *et al.*, 2005).

La pianta non è quindi passiva, ma è capace di sviluppare meccanismi di difesa che sono rimasti in gran parte insospettati fino a poco più di due decadi or sono. Questa nuova interpretazione è stata possibile grazie all'adozione di una visione tri-trofica (PRICE, 1997), che consente di scomporre la pianta, il fitofago e l'entomofago nelle loro componenti semiochimiche, chimiche e fisiche. Più recentemente tale visione si è inevitabilmente allargata ad un più complesso quadro multi-trofico. Sono state così messe in evidenza nuove relazioni che coinvolgono anche microrganismi, patogeni e non, e la comunicazione intra- ed interspecifica tra piante sane e danneggiate. Le interazioni tritrofiche e multitrofiche sono così diventate conoscenza di base (DICKE, 1991; 2004-2006) per potenziare le difese indotte (NORRIS e MARKOVIC, 2003) ed essere manipolate per il controllo integrato (VERKERK, 2004).

Ecco dunque la seconda parte del titolo, «i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi», che costituisce il tema centrale della tavola rotonda. Questo spazia dalle conoscenze di base a quelle applicative, e mira ad integrare la resistenza delle piante con il controllo biologico fornito dai parassitoidi e da altri nemici naturali dei fitofagi. Per tale ragione l'argomento è stato introdotto da una rassegna bibliografica (vedi J. van Lenteren pp. 65-87). In questa giornata seguiranno tre presentazioni (vedi E. Guerrieri *et al.*, S. Colazza e E. Peri, E. Conti *et al.*) che illustrano in dettaglio i meccanismi di emissione e di risposta dei segnali in sistemi tri-trofici in cui la pianta coltivata è attaccata da fitofagi ad apparato boccale pungente succhiante e ovideponenti con diverse modalità.

L'evidenza scientifica che le piante mandano messaggi d'allarme non solo ai nemici naturali dei fitofagi che le attaccano, ma anche alle piante conspecifiche, apre nuovi orizzonti nel già vasto mondo delle interazioni insetti-piante. Lo dimostrano le numerose pubblicazioni che compaiono su riviste di entomologia ma anche di botanica, fisiologia vegetale, chimica ed ecologia. Trattati sulle difese delle piante mettono a confronto quelle indot-

te dagli insetti con quelle indotte dai patogeni, nel tentativo di studiare le relazioni («cross talks») tra vie metaboliche e le loro possibili applicazioni. Ad esempio il volume «Induced plant defenses against pathogens and herbivores» (AGRAWAL *et al.*, 1999) dimostra come due discipline come l'entomologia e la patologia devono armonizzarsi per raggiungere l'obiettivo comune, cioè la protezione delle piante. L'entusiasmo suscitato da queste scoperte appare evidente anche all'uomo della strada quando legge sulla pagina della scienza dei quotidiani che «Le piante sentono i pericoli e chiedono aiuto» (Corriere della Sera, 13 aprile 2004).

Tutto questo è stato descritto per la parte epigea (fillosfera) di diversi sistemi pianta-insetto, in quanto è la porzione della pianta più facilmente raggiungibile e investigabile (DICKE, 2004-2006). Le interazioni epigee sono quindi quelle più conosciute e ricche di esempi (vedi van Lenteren, pp. 65-87).

Lo scenario della pianta è tuttavia ben più complesso, in quanto comprende anche la parte ipogea (rizosfera), con i relativi simbiotici mutualistici o antagonistici (PRICE, 1997; BLOSSEY e HUNT-JOSHI, 2003) e, nonostante le oggettive difficoltà logistiche, sono stati approfonditi diversi aspetti. Per quanto riguarda le specie radicevive, diverse decine di indagini dimostrano che gli insetti individuano e scelgono le radici per mezzo di composti chimici specifici o generici, a seconda del loro regime dietetico; tuttavia oltre a queste sostanze che agiscono da fagostimolanti vi sono anche quelle deterrenti (JOHNSON e GREGORY, 2006). Mentre questa casistica tratta di sistemi bitrofici ipogei, radice-radicevoro, è noto almeno un chiaro esempio di tritrofismo ipogeo, costituito da radici di mais attaccate dalle larve di un coleottero crisomelide, a loro volta attaccate da nematodi entomopatogeni (RASMANN *et al.*, 2005). Un sistema tri-trofico misto, ipo- ed epigeo, è quello studiato nel pomodoro, in cui la micorrizzazione radicale induce l'emissione di composti volatili attrattivi verso i parassitoidi di un afide epigeo, confermando l'esistenza di interazioni tra la parte ipogea e quella epigea (GUERRIERI *et al.*, 2004). Inoltre è interessante notare che la comunicazione tra piante avviene anche a livello di rizosfera, come mostrato ad esempio per piante di pomodoro attaccate da afidi che trasmettono per via radicale segnali di resistenza a piante sane (GUERRIERI *et al.*, 2002). Infine, un'antica ipotesi (DARWIN, 1880), recentemente ripresa e valutata sperimentalmente (MANCUSO, 2005), suggerirebbe la presenza di aree «neural-simili» negli apici radicali, i quali fungerebbero da centri di comando per l'intera pianta. Se confermata, questa nuova acquisizione offrirebbe importanti prospettive nello studio dei meccanismi di regolazione delle piante e nella comunicazione tra individui conspecifici o eterospecifici.

Le possibilità di applicazione della resistenza vegetale, diretta ed indiretta, integrandola con il controllo biologico per una maggiore e soste-

nibile produttività delle colture, è quindi fondata sulle interazioni tri-trofiche, o multi-trofiche, e sulle loro manipolazioni. Le prime osservazioni sulle interazioni che producono un segnale d'allarme sono state effettuate in sistemi tritrofici non modificati (pianta – fitofago – entomofago, non selezionati), per poi passare a sistemi parzialmente manipolati dall'uomo (pianta selezionata con tecniche tradizionali – fitofago selvatico eventualmente selezionato involontariamente – entomofago selvatico o selezionato). In quasi un ventennio lo scenario è cambiato ancora mediante le biotecnologie vegetali, che hanno determinato profonde trasformazioni nelle piante coltivate, mentre gli altri livelli trofici possono aver subito una selezione da parte dell'uomo, per mezzo degli insetticidi o di altri fattori (pianta transgenica – fitofago selvatico eventualmente selezionato involontariamente – entomofago selvatico o selezionato). Il sistema tritrofico futuro potrebbe almeno in parte presentarsi con un entomofago selezionato o, al limite, anch'esso transgenico (pianta transgenica o selezionata – fitofago diverso dal selvatico – entomofago selezionato o transgenico). Dunque le conoscenze sui sistemi tri-trofici si prestano ad applicazioni, in combinazioni diverse, per ridurre le perdite di produzione ancora dovute all'attività dei fitofagi, nonostante il massiccio uso di mezzi di controllo colturali, biologici, microbiologici e, soprattutto, chimici.

RIASSUNTO

Le piante, gli insetti fitofagi ed i relativi entomofagi sono inquadrati in sistemi tri-trofici interattivi i quali, attraverso una analisi degli aspetti fisici, biochimici e semiochimici, consentono di comprendere i meccanismi antagonistici e mutualistici che permettono di integrare la resistenza delle piante con l'attacco dei parassitoidi. Ne risulta così un potenziamento del controllo biologico attraverso una necessaria visione tri-trofica estendibile a quella multitrofica.

SUMMARY

INSECT-PLANT INTERACTIONS: PLANT ALARM SIGNALS AND PARASITOID RESPONSES

Plants, phytophagous insects and their natural enemies are framed in tri-trophic interactive systems which, by means of physical, biochemical and semiochemical analysis, allows to understand mutualistic and antagonistic mechanisms capable of integrating plant resistance and parasitoid attack. In such a way, biological control can be revitalized in a tri-trophic view expandable to a multi-trophic.

BIBLIOGRAFIA

- AGRAWAL A.A., TUZUN S., BENT E., Eds., 1999 – *Induced plant defences against pathogens and herbivores*. American Phytopathological Society Press. pp. 390.
AWMACK C.S., LEATHER S.R., 2002 – *Host plant quality and fecundity in herbivorous insects*. - *Annu. Rev. Entomol.*, 47: 817-844.

- BERNAYS E.A., 2003 – *Host Seeking, for Plants*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.) *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 529-532.
- BLOSSEY B., HUNT-JOSHI T.R., 2003 – *Belowground herbivory by insects: influence on plants and aboveground herbivores*. - *Annu. Rev. Entomol.*, 48: 521-47.
- COSTANZA R., D'ARGE R., DE GROOT R., FARBER S., GRASSO M., HANNON B., LIMBURG K., NAEEM S., O'NEILL R.V., PARUELO, J., RASKIN R. G., SUTTON P., VAN DEN BELT, 1997 – *The value of the world's ecosystem services and natural capital*. - *Nature*, 387: 253-260.
- DARWIN C., 1880 – *The power of movements in plants*. John Murray, London.
- DICKE M., 1991 – *Tritrophic interactions beyond childhood*. Proceedings 4th European Workshop Insect Parasitoids. - *Redia*, 74, 3, «Appendice», Pp. IV-V.
- DICKE M., 2004-2006 – *Tritrophic interactions*. In: Capinera J.L. (Ed.). *Encyclopedia of Entomology*. Springer. pp. 2337-2345.
- FELDMAN L.J., 2003 – *Insectivorous plants*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.). *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 577-580.
- FRANKIE G.W., THORPE R.W., 2003 – *Pollination and Pollinators*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.). *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 919-926.
- GUERRIERI E., LINGUA G., DIGIGLIO M.C., MASSA N., BERTA G., 2004 – *Do interactions between plant roots and the rhizosphere affect parasitoid behaviour ?*. - *Ecological Entomology*, 29: 753-756.
- GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., RAO R., PENNACCHIO F., 2002 – *Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi**. - *J. Chem. Ecol.*, 28: 1703-1715.
- JOHNSON S.N., GREGORY P.J., 2006 – *Chemically-mediated host-plant location and selection by root-feeding insects*. - *Physiological Entomology*, 31: 1-13.
- JOLIVET P., 1998 – *Interrelationship between insects and plants*. CRC Press. Pp. 309.
- JORON M., 2003 – *Mimicry*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.). *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 714-726.
- LOSEY J.E., VAUGHAN M., 2006 – *The economic value of ecological services provided by insects*. - *BioSciences*, 56: 311-323.
- MANCUSO S., 2005 – *Gli apici radicali come centri di comando della pianta: lo stato «neural-simile» della zona di transizione*. Le radici delle piante coltivate: acquisizioni scientifiche ed innovazioni tecniche. I Georgofili, Quaderni 2005-VIII, Società Editrice Fiorentina. Pp. 23-44.
- NORRIS D.M., MARKOVIC I., 2003 – *Tritrophic interactions: the inducible defenses of plants*. In: Koul O., Dhaliwal G.S. (Eds.). *Predators and parasitoids*. Taylor & Francis. pp. 87-109.
- PRICE P.W., 1997 – *Insect Ecology* (Third Edition). John Wiley & Sons, Inc. Pp. 1-874.
- RASMANN S., KOELLNER T.G., DEGENHARDT J., HILTPOLD I., TOEPFER S., KUHLMANN U., GERSHENZON J., TURLINGS T.C.J., 2005 – *Recruitment of entomopathogenic nematodes by insect-damaged maize roots*. - *Nature*, 434: 732-737.
- RIDS DILL-SMITH J., 2003 - *Dung Beetles*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.) *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 348-351.
- SCHICK K.N., DAHLSTEN D.L., 2003 – *Gallmaking and Insects*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.) *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 464-466.
- SCHOONHOVEN L.M., VAN LOON J.J.A., DICKE M., 2005 – *Insect-Plant Biology*. Oxford University press. Pp. 421.
- SCRIBER J.M., 2003 – *Plant-Insects Interactions*. In: Resh V.H., Cardé R.T. (Eds.) *Encyclopedia of Insects*, Academic Press, pp. 912-915.
- VERKERK R.H.J., 2004 – *Manipulation of tritrophic interactions for IPM*. In: Koul O., Dhaliwal G.S., Cuperus G.W. (Eds.), *Integrated pest management. Potential, Constraints and Challenges*. CABI Publishing. pp. 55-71.
- WAECKERS F.L., VAN RIJN P.C.J., BRUIN J., Eds. 2005 – *Plant-provided food for carnivorous insects. A protective mutualism and its applications*. Cambridge University Press.
- WALLING L.L., 2000 – *The myriad plant responses to herbivores*. - *J. Plant Growth Regulation*, 19: 195-216.

EMILIO GUERRIERI (*) - RAFFAELE SASSO (*)
MARIA CRISTINA DIGILIO (**) - LUIGI IODICE (**)

MECCANISMI DI DIFESA INDIRETTA INDOTTI IN PIANTA DALL'ATTACCO DI AFIDI

INTRODUZIONE

Le piante hanno evoluto sofisticati meccanismi di difesa nei confronti degli insetti che le attaccano. In alcuni casi, tali difese sono sempre attive, indipendentemente dalla presenza del fitofago e pertanto vengono definite «difese costitutive». Queste difese, sebbene garantiscano un elevato grado di protezione, sono però estremamente costose in termini metabolici. Per tale motivo è frequente la presenza di difese che vengono attivate solo in seguito all'attacco dell'insetto fitofago, e che pertanto sono definite «difese indotte» (KARBAN e BALDWIN, 1997; AGRAWAL *et al.*, 1999) (figura 1).

In base all'effetto sull'insetto fitofago, è possibile fare una ulteriore distinzione tra difese dirette e difese indirette. Le prime hanno impatto «diretto» sullo sviluppo e/o sulla riproduzione dell'insetto fitofago; a queste appartengono tutte le barriere fisiche (es. peli, spine, ecc.) o le sostanze chimiche (es. deterrenti, ormonali, antibiotiche, ecc.) che possono o impedire l'attacco o ridurre le prestazioni biologiche di un fitofago, attraverso l'alterazione del funzionamento fisiologico di vari apparati (ad esempio digerente, nervoso, endocrino, riproduttivo, ecc). Vengono invece definite difese indirette tutte quelle il cui effetto di regolazione della popolazione degli insetti fitofagi è raggiunto attraverso l'attività dei rispettivi nemici naturali. Nella maggior parte dei casi, le difese indirette sono di tipo indotto e sono rappresentate dalla produzione di sostanze

(*) Istituto per la Protezione delle Piante CNR Via Università 133 - 80133 Portici (NA)
e-mail: guerrieri@ipp.cnr.it

(**) Dipartimento di Entomologia e Zoologia agraria «Filippo Silvestri», Università degli Studi di Napoli «Federico II», Via Università 100 - 80055 Portici (NA) e-mail: digilio@unina.it

Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Interazioni Insetti-Piante: i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi».

Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 24 novembre 2006.

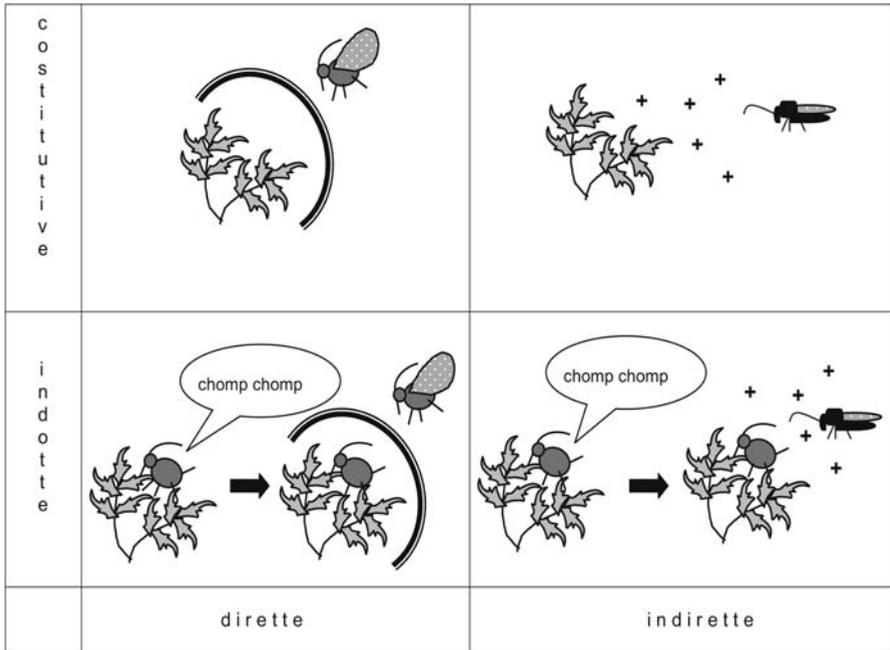


Figura 1
Rappresentazione schematica dei tipi di difesa della pianta dagli insetti fitofagi.

chimiche estremamente volatili, che i predatori e/o i parassitoidi di insetti fitofagi utilizzano per localizzare le loro prede/vittime.

Negli ultimi 20 anni, lo studio di queste complesse interazioni multitrofiche ha fatto passi da gigante, impegnando in tutto il mondo gruppi di ricerca multidisciplinari, con la prospettiva di sfruttare tali conoscenze per incrementare il controllo biologico degli insetti dannosi in agricoltura attraverso un potenziamento dell'attività degli insetti entomofagi.

La gran parte di questi studi è stata compiuta su sistemi multitrofici che includevano nel ruolo di fitofago svariate specie di insetti masticatori (soprattutto lepidotteri), probabilmente a causa degli effetti più marcati che la loro azione provoca sul vegetale rispetto agli insetti succhiatori di linfa, come gli afidi. Ed infatti, da un punto di vista quantitativo, le risposte della pianta attaccata da un bruco, sia in termini di sostanze volatili prodotte che di geni attivati, sono di gran lunga superiori a quelle riscontrabili in una pianta «succhiata»; questo facilita il compito dei ricercatori, che hanno a disposizione un volume maggiore di sostanze da studiare (composti volatili e prodotti genici conseguenti l'induzione). Ciononostante, soprattutto in considerazione della loro enorme dannosità, non

sono mancati studi che hanno caratterizzato la risposta della pianta all'attacco da parte di fitomizi, e tra questi principalmente di afidi ed acari, condotti soprattutto in Italia, Gran Bretagna ed Olanda.

Il fine ultimo di queste ricerche è rappresentato dall'individuazione dei geni vegetali coinvolti nelle risposte indotte indirette per poterli utilizzare in programmi di miglioramento genetico. Più precisamente, si cerca la possibilità di attivare queste difese indotte in presenza di popolazioni del fitomizo anche molto ridotte, come nel caso di attacchi iniziali, o addirittura in assenza, in modo da prevenire il danno.

Così come nel corso del processo di localizzazione della propria vittima un entomofago restringe sempre più il suo campo di ricerca, seguendo stimoli sempre più specifici (VINSON, 1985; BIN, 1988), così per arrivare ai geni coinvolti in queste interazioni, si procede per biosaggi progressivamente più fini, dei quali il primo passo è rappresentato da quelli sul comportamento degli insetti entomofagi.

Nella presente nota, si riportano i principali risultati delle ricerche svolte nell'ambito delle difese indirette indotte dagli afidi, indicando i metodi di indagine e soprattutto le prospettive, sia di ricerca che applicative.

DALL'ETOLOGIA ALLA GENETICA

Indipendentemente dal tipo di fitofagia, le ricerche sulle difese indirette partono da osservazioni di tipo comportamentale, proseguono con la caratterizzazione chimica e terminano con quella genetica.

Il comportamento degli insetti parassitoidi e predatori di afidi è stato studiato utilizzando due diversi strumenti: la galleria del vento e l'olfattometro. Entrambi hanno lo scopo di «dissezionare» le possibili sorgenti di attrazione (la pianta, l'insetto fitofago, l'interazione tra i due), in modo da individuare quali «livelli» nei sistemi multitrofici risultano attrattivi per l'entomofago a grande distanza (galleria del vento, figura 2) o a breve distanza (olfattometro, figura 3). I risultati discordi che in alcuni casi si sono avuti tra le osservazioni condotte in galleria del vento e quelle condotte in olfattometro hanno messo in evidenza il fatto che gli stimoli regolanti l'attrattività «in volo» possono essere diversi da quelli utilizzati dall'entomofago per la ricerca a breve distanza effettuata «a piedi». I «livelli» che in un sistema multitrofico risultano maggiormente attrattivi per l'entomofago sono sottoposti a raccolta delle sostanze volatili, utilizzando uno strumento molto versatile definito «air entrainment» (fig. 4), che può consentire raccolte finanche da una singola foglia.



Figura 2
Galleria del vento per biosaggi comportamentali.

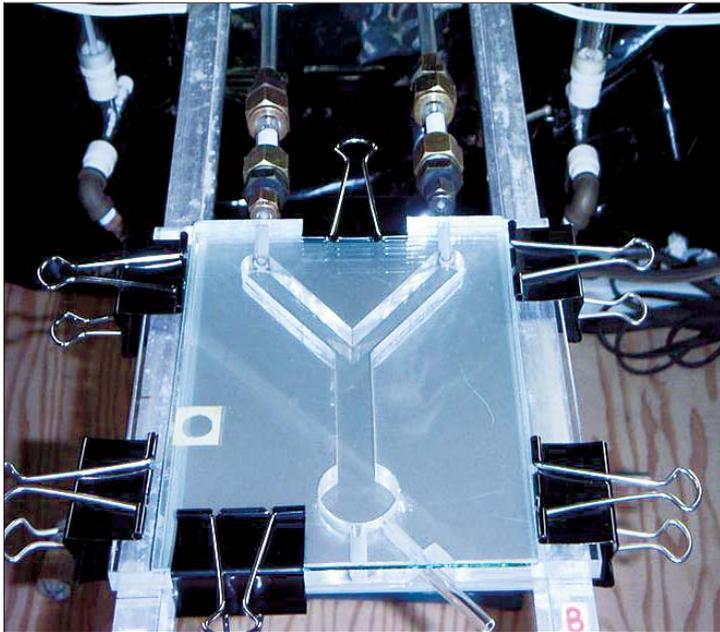


Figura 3
Olfattometro a 2 vie (Y) (Foto S. Colazza).



Figura 4
Air-entrainment per la raccolta delle sostanze volatili dello spazio di testa.

I volatili rilasciati sono intrappolati in adsorbenti chimici (Tenax, Porapaq) e quindi scaricati ed analizzati con gas-cromatografi e spettrometri di massa. Questi strumenti forniscono una rappresentazione grafica delle sostanze raccolte, nella quale emergono picchi corrispondenti a sostanze che si tenta di identificare attraverso il confronto con picchi simili ottenuti da sostanze note e banche dati. La conferma dell'attività biologica delle sostanze corrispondenti ai picchi identificati si ottiene con un ulteriore set di saggi: la risposta del parassitoide verso le sostanze identificate può essere confermata attraverso biosaggi con standard acquistati da ditte chimiche utilizzati a diluizioni note, utilizzando la galleria del vento o elettroantennografi (EAG). Una volta identificate le sostanze maggiormente attive nei confronti del parassitoide si procede all'individuazione dei percorsi metabolici coinvolti nella loro produzione, generalmente appartenenti al metabolismo secondario delle piante. L'individuazione del percorso metabolico da cui hanno origine le sostanze volatili maggiormente responsabili dell'attrattività verso gli insetti entomofagi permette di restringere notevolmente il numero dei geni coinvolti in tali risposte, arrivando alla loro caratterizzazione attraverso l'uso di piante modello (ad esempio la crucifera *Arabidopsis thaliana*) o di piante «silenziate» geneticamente (ad esempio un mutante di pomodoro *def* in cui è silenziato il percorso dell'acido jasmonico).

LO STUDIO DEL COMPORTAMENTO DEI NEMICI NATURALI DEGLI AFIDI

Il primo dato riguardante l'attivazione di difese indirette indotte in pianta dall'attacco degli afidi è stato raccolto su un sistema multitrofico divenuto poi modello per ulteriori approfondimenti (GUERRIERI *et al.*, 1993). In questo studio si riferisce come piantine di fava infestate dall'afide *Acyrtosiphon pisum* sono capaci di attrarre il parassitoide *Aphidius ervi* in modo significativamente maggiore rispetto alle stesse piantine non infestate, ed ancor più dei soli afidi. L'allontanamento degli afidi dalle piantine infestate non risultava in una diminuzione dell'attrattività verso il parassitoide, e pertanto si concludeva che l'infestazione induceva una alterazione significativa delle sostanze volatili rilasciate dalla pianta ed utilizzate da *A. ervi* per localizzare a distanza le sue vittime (GUERRIERI *et al.*, 1993). Questi risultati sono in perfetta sintonia con la teoria della «reliability-detectability», enunciata da VET e DICKE nel 1992, secondo la quale gli stimoli indotti in pianta dagli insetti fitofagi offrono il miglior compromesso tra affidabilità e percettibilità per gli entomofagi nella ricerca delle loro vittime. Infatti l'odore dei fitofagi offre un elevato grado di «reliability» (affidabilità circa la effettiva presenza dell'ospite), mentre il fatto che la pianta sia la sorgente odorosa offre un maggior quantitativo di volatili, e questo aumenta la «detectability». Gli esperimenti condotti da GUERRIERI *et al.* nel 1993, confermati ed ampliati da DU *et al.* (1996) hanno aperto un prolifico settore di investigazione riguardante il comportamento dei parassitoidi degli afidi, nel quale la galleria del vento è divenuto insostituibile strumento investigativo per ulteriori approfondimenti (GUERRIERI *et al.*, 1997, 1999, 2002, 2004; CORRADO *et al.*, 2007; SASSO *et al.*, proposto per la pubblicazione). Da questi studi sono emerse profonde differenze tra le risposte indotte in pianta dai fitofagi masticatori, la cui azione è associata ad una pesante distruzione meccanica dei tessuti vegetali, e quanto succede nei fitomizi floematici, come gli afidi, che producono un danno puntiforme e prolungato.

Una vistosa differenza riguarda i tempi di risposta della pianta e quindi della capacità di richiamare il nemico naturale specifico. Nel caso degli afidi, sono necessari alcuni giorni di infestazione per ottenere un aumento significativo della risposta del parassitoide in galleria del vento (GUERRIERI *et al.*, 1999), mentre sono sufficienti poche ore nei casi di attacco da parte di un fitofago masticatore (TURLINGS *et al.*, 1998). Di contro, è stato dimostrato che i sinomoni responsabili dell'attrattività verso i nemici naturali, indipendentemente dal tipo di fitofagia, sono generalmente prodotti/rilasciati in modo sistemico, e cioè anche dalle

parti vegetali non direttamente interessate dall'attacco (TURLINGS e TURLINSON, 1992; GUERRIERI *et al.*, 1999).

I risultati delle osservazioni condotte sul citato sistema modello fava-*A. pisum*-*A. ervi* sono state successivamente ampliati da studi condotti utilizzando il medesimo parassitoide associato ad un diverso sistema, costituito da piante di pomodoro infestate da *Macrosiphum euphorbiae*, un afide particolarmente dannoso ad un gran numero di colture, anch'esso ospite di *A. ervi* (GUERRIERI *et al.*, 2004; GUERRIERI e COLAZZA, 2005; PASQUARIELLO *et al.*, 2006). In studi recenti (GUERRIERI *et al.*, 2004; GUERRIERI e COLAZZA, 2005; PASQUARIELLO *et al.*, 2006), è stato dimostrato che la risposta di *A. ervi* ai sinomoni indotti dall'attacco afidico risulta indipendente dal sistema pianta-afide sul quale il parassitoide è stato allevato, e ciò ha consentito di ipotizzare la presenza di composti volatili «comuni», rilasciati da piante diverse attaccate da specie differenti di afidi, tutti egualmente ospiti di *A. ervi*, e che il parassitoide utilizza per localizzare le sue vittime.

Si segnala inoltre una serie di studi riguardanti le difese indirette indotte dagli afidi in altri sistemi multitrofici, svolti utilizzando sia parassitoidi (varie specie, WICKREMASINGE e VAN EMDEN, 1992; *Lysiphlebus fabarum*, ZHANG *et al.*, 1998; *Aphelinus asychis*, RAO *et al.*, 1999; *Aphidius colemani*, KALULE e WRIGHT, 2004; *Diaeretiella rapae*, GIRLING *et al.*, 2006; *Aphidius colemani* e *Lysiphlebus testaceipes*, LO PINTO *et al.*, 2004) che predatori (*Coccinella septempunctata*, NINKOVIC e PETERSSON, 2003) e nei quali, oltre alla galleria del vento, sono stati utilizzati diversi tipi di olfattometro, uno strumento che meglio si adatta allo studio dell'attrattività a breve raggio.

I SINOMONI INDOTTI DAGLI AFIDI ED IL LORO RUOLO NELL'ATTRATTIVITÀ VERSO I NEMICI NATURALI

Le ricerche comportamentali hanno evidenziato che le piante svolgono un ruolo fondamentale nel reclutare i nemici naturali degli insetti fitofagi che le attaccano. Questo ha scatenato la fantasia dei ricercatori, che si sono rincorsi l'un l'altro per coniare definizioni ad effetto quali *call for help*, *recruitment of body guards*, ecc., rimandando ai colleghi chimici il compito di raccogliere e caratterizzare le sostanze coinvolte in queste interazioni.

La possibilità di raccogliere le sostanze volatili emesse da una pianta ha subito una notevole evoluzione anche se, in linea di massima, la pianta (o parte di essa) viene generalmente posta in un sistema sotto vuoto (air

entrainment), nel quale entra un flusso d'aria purificata che si carica delle emissioni volatili vegetali e attraversa una trappola costituita da una sostanza altamente adsorbente (tenax, porapaq, ecc.), che trattiene le sostanze volatili. Alla fine della raccolta, che avviene seguendo tempi e flussi diversi a seconda dei sistemi multitrofici considerati, la trappola viene scaricata utilizzando il calore (desorbimento termico) o solventi (desorbimento chimico), ed il prodotto risultante viene inviato ad un gascromatografo associato ad uno spettrometro di massa per la caratterizzazione delle sostanze, che avviene per confronto con standard noti o banche dati. Dal confronto tra i cromatogrammi ottenuti da piante sane e quelli di piante infestate è possibile identificare le differenze qualitative e/o quantitative che si determinano nella produzione di ciascun composto, identificabile o meno, dovute all'induzione da parte del fitofago considerato.

Gli studi riguardanti le emissioni di sostanze volatili indotte dall'attacco degli afidi e che sono coinvolte nell'orientamento dei loro parassitoidi è cominciato un decennio fa sul sistema modello fava-*A. pisum*-*A. ervi* (DU *et al.*, 1997). Sin da questi primi studi è emerso che l'attacco da parte degli afidi determina una variazione nella composizione delle sostanze volatili, soprattutto di tipo quantitativo. In particolare, aumenti significativi sono stati registrati nella produzione di terpeni quali linaloolo e (E)- β farnesene, e del composto 6-metil-5-epten-2-one, risultato «afide-specifico» e tra i più attivi verso il parassitoide *A. ervi*, sia per la risposta in galleria del vento che per quella antennografica (DU *et al.*, 1997). Più recentemente, in un sistema composto da pomodoro-*Macrosiphum euphorbiae*-*Aphidius ervi* si è pervenuti ad un risultato simile, indicando che l'attacco afidico induce differenze solo di natura quantitativa sulla produzione di sostanze volatili coinvolte nell'attrattività verso *A. ervi* (SASSO *et al.*, inviato per la pubblicazione). È questa una delle profonde differenze tra la risposta indotta in pianta da un fitofago succhiatore (afide) e quella indotta da un fitofago masticator (lepidottero). Infatti, in quest'ultimo caso, è stata riportata la sintesi *de-novo* di composti (terpeni) assenti nel blend di volatili emessi dalla pianta non infestata (PARÈ e TURLINSON, 1997).

L'individuazione delle sostanze coinvolte nei meccanismi di difesa indiretta dagli insetti fitofagi ha stimolato studi multidisciplinari che hanno coinvolto soprattutto fisiologi vegetali con approfondite conoscenze del metabolismo secondario delle piante, ossia quell'insieme di percorsi metabolici che regolano i rapporti tra la pianta e l'ambiente esterno, inteso come somma di fattori abiotici e biotici.

In una recente revisione (WALLING, 2000) le risposte indotte in

pianta da organismi sia fitofagi che patogeni sono state schematicamente ricondotte a 2 percorsi metabolici principali, indicati con il nome delle rispettive molecole terminali, e cioè ciclo dell'acido salicilico (SA) e ciclo dell'acido jasmonico (JA). Queste molecole sono poi trasformate nei rispettivi esteri metilici e rilasciate dalla pianta in forma volatile. Gli afidi, insieme agli altri fitomizi floematici ed ai patogeni sono indicati come attivatori del ciclo SA, mentre danno meccanico e fitofagi masticatori attivano il ciclo JA. Ne consegue che quando una pianta viene attaccata da una tipologia di organismo, c'è una riduzione di risposta nei confronti di un invasore che attacca successivamente appartenente all'altra tipologia (STOUT *et al.*, 1997, 1999, THALER *et al.*, 2002). Più recentemente, diversi studi hanno dimostrato che le risposte della pianta sono ben più complesse rispetto alla «semplificazione» qui riportata (LI *et al.*, 2002; AMENT *et al.*, 2004; THALER *et al.*, 2004), ma comunque, indipendentemente dall'organismo invasore, il risultato finale è un'alterazione del profilo delle sostanze volatili rilasciate, e da questo consegue un'interazione con i livelli trofici superiori (STOUT *et al.*, 2006).

MECCANISMI DI INDUZIONE ALLA PRODUZIONE DI SINOMONI ATTRATTIVI PER I NEMICI NATURALI DEGLI AFIDI

Tra le possibili applicazioni pratiche dei risultati degli studi sulle difese indotte indirette vi è il potenziamento dell'azione degli insetti entomofagi, realizzata attraverso un innalzamento del potere attrattivo delle piante, con riduzione dei tempi di induzione. Infatti, rispetto alle difese costitutive, quelle indotte prevedono sempre il verificarsi di un danno, che non sempre può essere tollerato da un punto di vista economico. A differenza di quanto è avvenuto per i fitofagi masticatori, dalla cui saliva si è isolato un composto elicitore responsabile dell'attivazione in pianta delle risposte di difesa indiretta (ALBORN *et al.*, 1997), per i fitomizi, ed in particolare per gli afidi, se ne è solo dimostrata l'esistenza, senza peraltro riuscire a caratterizzare la sostanza (GUERRIERI *et al.*, 2002).

Ciononostante, avendo individuato le sostanze volatili maggiormente rilasciate dalle piante in seguito all'attacco degli afidi, ed anche i percorsi metabolici che presiedono alla loro produzione/rilascio, è stata ipotizzata la possibilità di indurre le piante a produrre tali risposte in modo «artificiale». Ad esempio, la somministrazione esogena (in fase vapore) di un derivato dell'acido jasmonico è risultata in un significativo aumento del β -ocimene, un terpene che è risultato estremamente attrattivo per il

parassitoide *A. ervi* (BIRKETT *et al.*, 2000) e che era già stato individuato come uno dei composti la cui produzione in piantine di fava aumentava con il progredire dell'infestazione (DU *et al.*, 1997).

L'applicazione in campi di luppolo di metilsalicilato (MeSA), derivato volatile dell'acido salicilico che, secondo lo schema più sopra descritto, è tipicamente associato all'attacco di fitomizi, si è dimostrato in grado non solo di attirare nella coltura crisope, sirfidi, coccinellidi ed emitteri predatori, ma anche di favorirne la permanenza in periodi di bassa presenza di popolazione dell'afide *Phorodon humuli* (JAMES *et al.*, 2005). In uno studio successivo, JAMES (2006) ha riportato come MeSA, tra le varie specie di crisope, attrae solo quelle i cui adulti sono carnivori, mostrando come l'emissione di MeSA da parte della pianta, segno della presenza di erbivori, è utilizzata dalle crisope per trovare prede.

Nel percorso metabolico dell'acido jasmonico compaiono sostanze pure importanti, sia per la difesa diretta che indiretta, i cosiddetti volatili C6. Tra questi, (Z)-3-esenil acetato, già noto per attrarre *A. ervi* (DU *et al.*, 1998), è risultato capace di attrarre in campo, in trappole, emitteri predatori (il miride *Orius tristicolor* e l'antocoride *Deraecoris brevis*) (JAMES, 2003). Più recentemente è stato dimostrato che composti volatili legati al ciclo dell'acido jasmonico sono coinvolti nell'attrattività di piante di pomodoro verso *Aphidius ervi* (CORRADO *et al.*, 2007).

L'induzione a produrre sostanze che risultano poi attrattive per i parassitoidi di afidi può avvenire anche a seguito di trattamenti radicali. Ad esempio, il contatto radicale tra piantine di fava infestate e non infestate determina in queste ultime il rilascio di sinomoni attrattivi per il parassitoide *A. ervi* (GUERRIERI *et al.*, 2002). Ancor più sorprendentemente, una simbiosi endomicorrizica radicale in pomodoro è risultata in grado di mimare la presenza degli afidi sulla pianta determinando, in completa assenza dei fitomizi, una risposta di volo di *A. ervi* paragonabile a quella registrata saggiando piante infestate (GUERRIERI *et al.*, 2004). Considerando che i funghi micorrizici comunque «attaccano» le radici della pianta penetrandone i tessuti, si può individuare in questi risultati una conferma della teoria precedentemente enunciata, secondo la quale fitomizi floematici e funghi attivano i medesimi percorsi metabolici di risposta nella pianta. Resta da verificare se le sostanze volatili indotte in questo modo siano poi effettivamente le stesse prodotte dalle piante infestate dagli afidi.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE E RICERCHE FUTURE

Diversamente dalle interazioni tra le piante e gli organismi patogeni, quelle tra la pianta ed i suoi parassiti animali, ed ancor più i floemomizi, quali gli afidi, sono diventate oggetto di studio solo in tempi recenti, ma già si conoscono molti dettagli molecolari, almeno per alcune specie vegetali, della risposta di difesa della pianta. Lo studio delle interazioni pianta-fitofago ha generato i primi tentativi di applicazione della difesa delle colture in campo, quali l'induzione della resistenza attraverso la somministrazione di elicitivi e l'utilizzo di tecniche che sono state definite di «vaccinazione», per analogia con le nostre assunzioni controllate di patogeni ipovirulenti.

Le risposte di difesa indiretta possono essere persino più interessanti della esclusiva difesa diretta, perché il loro utilizzo va nella direzione del controllo integrato; infatti, mentre un eventuale gene legato alla difesa diretta inserito in pianta è destinato alla lunga ad essere superato, l'utilizzo di un approccio integrato, coinvolgente la difesa indiretta (oltre a tutte le tecniche tradizionalmente disponibili), renderebbe la resistenza vegetale più difficile da superare.

I progressi maggiori si stanno ottenendo tra le specie vegetali di cui meglio conosciamo i geni coinvolti nelle risposte di difesa, quali il pomodoro e le piante modello *Arabidopsis thaliana* e *Medicago truncatula*.

Questi studi mirano all'individuazione dei geni coinvolti nella risposta di difesa nelle specie modello, e, per confronto, anche in altre specie vegetali, in modo da poterli utilizzare attraverso tecniche di selezione, oggi più rapide ed efficaci che in passato, grazie all'utilizzo dei marcatori molecolari, che possono rendere persino superfluo, in questi casi, il ricorso all'inserimento di geni eterologhi, evitando i ben noti problemi di accettabilità da parte del pubblico.

RIASSUNTO

Le piante hanno prodotto nel corso dell'evoluzione svariati meccanismi per difendersi dagli organismi fitofagi. Lo studio delle difese indirette, ossia quelle basate sull'attività dei nemici naturali, va affrontato in modo multidisciplinare, ed ha lo scopo di identificare da un lato le sostanze che regolano l'attrattività verso i nemici naturali, e dall'altro i geni che sono alla base di queste interazioni. Gli afidi inducono in pianta risposte che per tempi e modi si avvicinano alla reazione agli organismi fitopatogeni. Conseguentemente, piuttosto allungati sono i tempi di reazione della pianta rispetto a quelli che si registrano per i fitofagi masticatori. Gli studi di queste interazioni partono sempre da osservazioni sul comportamento degli insetti entomofagi, per individuare da quali componenti dei sistemi multitrofici sono emesse le sostanze volatili in grado di attrarli. Dalla caratterizzazione delle sostanze coinvolte nell'attrattività degli entomofagi, affidata ai chimici delle sostanze naturali e che rappresenta di per se un risul-

tato di carattere applicativo, si cerca di individuare i percorsi metabolici coinvolti nelle risposte della pianta ai fitomizi. Questo passaggio si avvale della collaborazione di fisiologi vegetali che, insieme ai genetisti vegetali, sono in ultima analisi in grado di indicare quei geni che potrebbero essere alla base di queste interazioni e che quindi possono essere indicati per programmi di selezione vegetale. Da studi recentissimi è emerso che la composizione dei composti volatili emessi dalle piante attaccate dagli afidi è solo quantitativamente differente da quella emessa dalle piante sane, sottolineando il minimo danno meccanico che questi insetti provocano ai tessuti vegetali. E' anche emerso che questi insetti sono in grado di allertare in pianta sia il percorso dell'acido jasmonico che quello dell'acido salicilico. Grazie all'uso di piante geneticamente modificate è stato possibile evidenziare alcuni dei geni coinvolti nella produzione di sostanze volatili attrattive per i nemici naturali degli afidi. Sempre più si richiede una collaborazione interdisciplinare per affrontare questo tipo di studi, al fine di poter arrivare alla definizione di nuove strategie per il controllo ecosostenibile degli insetti dannosi alle piante agrarie.

SUMMARY

MECHANISMS OF PLANT INDIRECT DEFENCE INDUCED BY APHID ATTACK

Plants have evolved different mechanisms to defend themselves from herbivores. The study of indirect defences, i.e. those defences that are based on the activity of natural enemies, is a multidisciplinary task, and aims at identifying a) the compounds regulating the attraction towards natural enemies and b) the genes involved in these interactions. Plant response to aphid attack resembles the one to phytopathogens. Consequently, the time required for the plant to react towards aphids is clearly longer than that recorded for chewer insects. Observations start with behavioural bioassays, to assess which components of a multitrophic are involved in the production/release of attractive volatiles. Chemists are in charge of identifying these compounds, that could be used as attractants of natural enemies in the field. Plant physiologists and geneticists try to assess which are the metabolic pathways and eventually the genes that regulate the production/release of attractive volatiles. These results can be used in MAS plant breeding. Recently, it has been reported that the blend of volatile emissions released by aphid infested plants is only quantitatively different from that of non infested plants, consistently with the minimal mechanical damage posed by the feeding habit of these herbivores. Moreover, it seems that both salicylic and jasmonic acid metabolic pathways are elicited by aphid attack. Finally, the use of GM plants has led to the identification of some of the genes possibly involved in the plant attractiveness towards natural enemies of aphids. We can only elaborate new integrated strategies for sustainable control of insect pests if we tackle these topics by a multidisciplinary approach.

BIBLIOGRAFIA

- AGRAWAL A.A., TUZUN S., BENT E., 1999 – *Induced plant defenses against pathogens and herbivores*. APS Press, St Paul, Minnesota, 390 pp.
- ALBORN H.T., TURLINGS T.C.J., JONES T.H., STENHAGEN G., LOUGHRIN J.H., TUMLINSON J.H., 1997 – *An elicitor of plant volatiles from Beet army worm oral secretion*. - *Science* 276: 945-949.
- AMENT K., KANT M.R., SABELIS M.W., HARING M.A., SCHUURINK R.C., 2004 – *Jasmonic acid is a key regulator of spider mite-induced volatile terpenoid and methyl salicylate emission in tomato*. - *Plant Physiol.*, 135: 2025-2037.
- BIN F., 1988 – *Imenotteri ooparassitoidi ed oo-larvali, semiochimici e prospettive di controllo biologico*. Atti XV Congr. Naz. It. Entomologia, L'Aquila 1988: 889-909.
- BIRKETT M.A., CAMPBELL C.A. M., CHAMBERLAIN K., GUERRIERI E., HICK A.J., MARTIN J.L., MATTHES M., NAPIER J.A., PETTERSSON J., PICKETT J.A., POPPY, G.M., POW E.M., PYE B.J., SMART L.E., WADHAMS G.H., WADHAMS L.J, WOODCOCK C., 2000 – *New roles for*

- cis-jasmone as an insect semiochemical and in plant defence*. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 97: 9329-9334.
- CORRADO G., SASSO R., PASQUARELLO M., IODICE L., CARRETTA A., CASCONI P., ARIATI L., DIGILIO M.C., GUERRIERI RAO R., 2007 – *Systemin regulates both systemic and volatile signalling in tomato plants*. - Journal of Chemical Ecology, DOI 10.1007/s 10886-007-9254-9
- DU Y.-J., POPPY G.M., POWELL W., 1996 – *Relative importance of semiochemicals from first and second trophic level in host foraging behavior of Aphidius ervi*. - J. Chem. Ecol., 22: 1591-1606.
- DU Y.-J., POPPY G.M., POWELL W., WADHAMS L.J., 1997 – *Chemically mediated associative learning in the host foraging behaviour of the aphid parasitoid Aphidius ervi (Hymenoptera: Braconidae)*. - J. Insect Behav., 10: 509-522.
- DU Y.-J., POPPY G.M., POWELL W., PICKETT J.A., WADHAMS L.J., WOODCOCK C., 1998 – *Identification of semiochemicals released during aphid feeding that attract the parasitoid Aphidius ervi*. - J. Chem. Ecol., 24: 1355-1368.
- GIRLING R.D., HASSALL M., TURNER J.G., POPPY G.M., 2006 – *Behavioural responses of the aphid parasitoid Diaeretiella rapae to volatiles from Arabidopsis thaliana induced by Myzus persicae* - Entomologia Experimentalis et Applicata, 120: 1-10.
- GUERRIERI E., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1993 – *Flight behaviour of the aphid parasitoid Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera: Braconidae) in response to plant and host volatiles*. - Eur. J. Entomol., 90: 415-421.
- GUERRIERI E., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1997 – *Effect of adult experience on in-flight orientation to plant and plant-host complex volatiles in Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera, Braconidae)*. - Biol. Control, 10: 159-165.
- GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1999 – *Induction and systemic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in-flight orientation of Aphidius ervi (Hymenoptera: Braconidae)*. - J. Chem. Ecol., 25: 1247-1261.
- GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., RAO R., PENNACCHIO F., 2002 – *Plant to plant communication mediating in-flight orientation of Aphidius ervi*. - J. Chem. Ecol., 28: 1703-1715.
- GUERRIERI E., LINGUA G., DIGILIO M.C., MASSA N., BERTA G., 2004 – *Do interactions between plant roots and the rhizosphere affect parasitoid behaviour? New Perspectives*. Ecol. Entomology, 29: 753-756.
- GUERRIERI E., COLAZZA S., 2005 – *Plant synomones induced by sap-sucking insects and their effect on parasitoid's behaviour*. Abstract IX European Workshop on Insect Parasitoids, Cardiff 5-9.IX.2005: 12.
- JAMES D.G., 2003 – *Synthetic herbivore-induced plant volatiles as field attractants for beneficial insects*. - Environ. Entomol., 32: 977-982.
- JAMES D.G., 2006 – *Methyl salicylate is a field attractant for the goldeneye lacewing, Chrysopa oculata*. - Biocontrol Science and Technology, 16: 107-110.
- JAMES D.G., CASTLE S.C., GRASSWITZ T., REYNA V., 2005 – *Using synthetic herbivore-induced plant volatiles to enhance conservation in biological control: field experiments in hop and grapes*. – Second Int. Symposium on Biological Control of Arthropods, Davos, Switzerland - September 12-16, 2005: 192-205.
- KALULE T., WRIGHT D.J., 2004 – *The influence of cultivar and cultivar-aphid odours on the olfactory response of the parasitoid Aphidius colemani*. - Journal of Applied Entomology 128, 120-125.
- KARBAN R., BALDWIN, I.T., 1997 – *Induced responses to herbivory*. The University of Chicago Press, Chicago and London 319 pp.
- LI C., WILLIAMS M.M., LOH Y.T., LEE G.I., HOWE G.A., 2002 – *Resistance of Cultivated Tomato to Cell Content-Feeding Herbivores Is Regulated by the Octadecanoid-Signaling Pathway* - Plant Physiol. 130: 494-503.
- LO PINTO M., WAJNBERG E., COLAZZA S., CURTY C., FAUVERGUE X., 2004 – *Olfactory response of two aphid parasitoids, Lysiphlebus testaceipes and Aphidius colemani, to aphid-infested plants from a distance*. - Entomol. exp. appl., 110: 159-164.
- NINKOVIC V., PETTERSSON J., 2003 – *Searching behaviour of the sevenspotted ladybird, Coccinella septempunctata - effects of plant-plant odour interaction*. - Oikos 100: 65-70.

- PARÉ P.W., TUMLINSON J.H., 1997 – *De Novo Biosynthesis of Volatiles Induced by Insect Herbivory in Cotton Plants*. - Plant Physiol.114: 1161-1167.
- PASQUARIELLO M., DIGILIO M.C., CORRADO G., GUERRIERI E., RAO R., 2006 – *Direct and indirect defence to aphids in tomato landraces*. Proceedings of the 50th Italian Society of Agricultural Genetics Annual Congress Ischia, Italy - 10/14 September, 2006, Poster Abstract - C.45
- RAO A., VINSON S.B., GILSTRAP F.E., MICHELS G.J. JR, 1999 – *Response of an aphid parasitoid, Aphelinus asychis to its host, plant, host-plant complex, and to malathion*. - Entomol. exp. appl., 91: 449-457.
- SASSO R., IODICE L., CARRETTA A., DIGILIO M.C., ARIATI L., GUERRIERI E., proposto per la pubblicazione. – *Identification of volatiles from tomato plants eliciting a host-locating response in the parasitoid Aphidius ervi*. - J. Chem. Ecol.
- STOUT M.J., WORKMAN K.V., BOSTOCK M.R., DUFFEY S.S., 1997 – *Specificity of induced resistance in the tomato, Lycopersicon esculentum* - Oecologia, 113: 74-81.
- STOUT M.J., FIDANSTEF S.S., DUFFEY S.S., BOSTOCK S.S., 1999 – *Signal interactions in pathogen and insect attack: systemic plant-mediated interactions between pathogens and herbivores of the tomato, Lycopersicon esculentum* - Physiol. Mol. Plant Pathol., 54: 115-130.
- STOUT M.J., THALER J.S., THOMMA B.P.H.I., 2006 – *Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods*. - Annu. Rev. Entomol., 51: 663-689.
- THALER J.S., KARBAN R., ULLMAN D.E., BOEGE K., BOSTOCK R., 2002 – *Cross-talk between jasmonate and salicylate plant defense pathways: effects on several plant parasites*. - Oecologia, 131: 227-235.
- THALER J., OWEN B., HIGGINS V., 2004 – *The role of the jasmonate response in plant susceptibility to diverse pathogens with a range of lifestyles*. - Plant Physiol., 135: 530-538.
- TURLINGS T.C.J., LENGWILLER U.B., BERNASCONI M., WECHSLER D., 1998 – *Timing of induced volatile emissions in maize seedlings*. - Planta 207: 146-152.
- TURLINGS T.C.J., TUMLINSON J.H., 1992 – *Systemic Release of Chemical Signals by Herbivore-Injured Corn*. - Proceedings of the National Academy of Sciences, 89: 8399-8402.
- VET L.E.M., DICKE M., 1992 – *Ecology of infochemicals use by natural enemies in a tritrophic context*. - Annu. Rev. Entomol. 37: 141-172.
- VINSON S.B., 1985. – *The behavior of parasitoids*. In: Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology, Kerkut G.A. & Gilbert L.I. Ed., Pergamon Press, Oxford. Vol. 9, pp 417-489.
- WALLING L., 2000. – *The myriad plant responses to herbivores*. - J. Plant Growth Regul., 19: 195-216.
- WICKREMASINGE M.G.V., VAN EMDEN H.F., 1992 – *Reactions of adult female parasitoids, particularly Aphidius rhopalosiphii, to volatile chemical cues from the host plants of their aphid prey*. - Physiol.Entomol.,17: 297-304.
- ZHANG Y., GUO B.Q., HOU Z.Y., CHEN X., YAN F.S., 1998 – *Olfactory orientation of the parasitoid wasp Lysiphlebus fabarum to its host food plants*. - Entomologia Sinica, 5: 74-82.

MECCANISMI DI DIFESA INDIRETTA DELLE PIANTE:
IL CASO DEI SINOMONI VOLATILI INDOTTI
CON L'OVIDEPOSIZIONE

1. INTRODUZIONE

In natura le piante sono in grado di opporsi agli attacchi di insetti fitofagi attraverso meccanismi di difesa di tipo costitutivo o indotto. Generalmente, le difese costitutive, dette anche antixenotiche, comprendono adattamenti morfologici e biochimici della pianta che ostacolano l'attività trofica degli insetti fitofagi. Le difese indotte agiscono in risposta alla attività esercitata dal fitofago sulla pianta e possono svolgere nei confronti di questo una azione diretta, influenzandone il comportamento e/o la fisiologia, o una azione indiretta, favorendo l'efficacia degli antagonisti naturali del fitofago (BALDWIN e PRESTON, 1999; BOLAND *et al.*, 1999; DICKE, 2000). In un sistema trofico a tre livelli – pianta, insetto fitofago e insetto parassitoide – le piante incrementano indirettamente la resistenza, producendo sostanze organiche volatili, note con il nome di sinomoni, che influenzano i comportamenti dei parassitoidi (TURLISON *et al.*, 1993; TURLINGS *et al.*, 1990). Le relazioni sinomonali che legano le piante e gli insetti parassitoidi presentano evidenti vantaggi per entrambi, in quanto la pianta richiama gli antagonisti naturali che, verosimilmente, limiteranno la densità del fitofago del quale sta subendo l'attacco, mentre i parassitoidi sono efficacemente orientati nella ricerca dei potenziali ospiti da segnali chimici volatili, particolarmente abbondanti e affidabili (fig. 1) (DICKE e van LOON, 2000; BIN *et al.*, 2003).

Tra il gran numero di parassitoidi che sono in grado di contenere lo sviluppo demografico delle popolazioni di insetti fitofagi, quelli che vivono a spese delle uova, conosciuti con il nome di parassitoidi oofagi, svolgono un ruolo rilevante nel controllo naturale e in quello biologico (BIN, 1988 e 1994). Instaurare relazioni sinomonali con un parassitoide oofago rappre-

(*) Dipartimento di Scienze Entomologiche, Fitopatologiche, Microbiologiche agrarie e Zootecniche (S.En.Fi.Mi.Zo.) – Sezione di Entomologia, Acarologia e Zoologia - Università degli Studi di Palermo, viale delle Scienze 13 - 90128 Palermo. E-mail: colazza@unipa.it

Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Interazioni Insetti-Piante: i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi».

Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 24 novembre 2006.

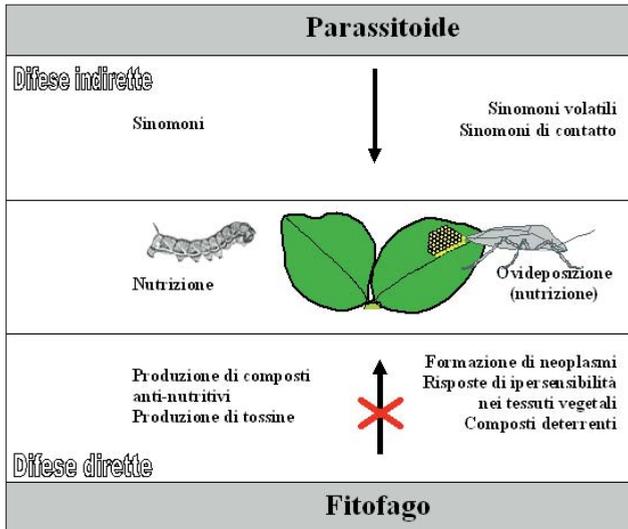


Fig. 1

Difese dirette e indirette delle piante nelle relazioni tritrofiche: pianta, fitofago, parassitoide (per ulteriori dettagli vedere il testo).

senta un ulteriore punto di vantaggio per la pianta, in quanto il fitofago viene colpito prima che l'uovo schiuda, dando vita ad uno stadio dannoso per la pianta (Early Herbivore Alert, *sensu* HILKER e MAINERS, 2006). I contributi scientifici che riguardano specificatamente le difese messe in atto dalle piante come diretta conseguenza della attività di ovideposizione da parte di un insetto fitofago, sono al momento limitati. In una recente rassegna è stato evidenziato come le piante, a seguito di ovideposizione, possono attivare meccanismi di difesa sia diretta che indiretta (fig. 1) (vedi HILKER e MAINERS, 2006). In particolare, per limitare il potenziale pericolo che una ovatura appena deposta rappresenta, le piante sono in grado di attivare meccanismi di difesa indiretta favorendo l'efficacia dei parassitoidi, attraendoli a distanza con sinomoni volatili e/o inducendo loro un comportamento di arresto nelle immediate vicinanze delle ovature con sinomoni che agiscono per contatto (HILKER e MAINERS, 2006). I sinomoni che agiscono per contatto, prodotti dalla pianta a seguito di ovideposizione, sono stati descritti in tre casi e riguardano i sistemi: 1) *Brassica oleracea* L. - *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae) - *Trichogramma brassicae* Bezdeko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (FATOUROS *et al.*, 2005), 2) *Zea mais* L. - *Sesamia nonagrioides* Lef. (Lepidoptera: Noctuidae) - *Telenomus busseolae* Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) (SALERNO *et al.*, 2006), e *Brassica oleracea* - *Murgantia histrionica* (Hahn) (Heteroptera: Pentatomidae) - *Trissolcus*

brochymenae (Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) (CONTI *et al.*, non pubblicato). Gli aspetti riguardanti i sinonimi per contatto sono approfonditi da CONTI *et al.* (2006) in questo stesso volume. In questa rassegna vengono illustrate le basi biologiche e biochimiche dei meccanismi di difesa indiretta delle piante, relativi alla produzione dei sinonimi volatili, e gli effetti nei confronti dei parassitoidi oofagi. Questo fenomeno al momento è stato studiato, in modo approfondito, in tre sistemi tritrofici che, per comodità di esposizione, sono nominati in base alla pianta ospite, «Olmo», «Pino» e «Leguminose» (Tab. 1), così come suggerito da HILKER e MEINERS (2002). A conclusione viene anche fornita una panoramica sul ruolo svolto dai composti organici volatili utilizzati nella difesa indiretta delle piante nelle relazioni multitrofiche e nell'ambiente.

Tabella 1 – Sistemi tritrofici nei quali è stato evidenziato il richiamo dei parassitoidi oofagi da parte di sinonimi volatili prodotti dalle piante in conseguenza della ovideposizione di insetti fitofagi.

Componenti	Sistema		
	Piante perenni		Piante annuali
	«Olmo»	«Pino»	«Leguminose»
Parassitoide oofago	<i>Oomyzus gallerucae</i> (Hymenoptera: Eulophidae)	<i>Chrysonotomyia ruforum</i> (Hymenoptera: Eulophidae)	<i>Trissolcus basalus</i> (Hymenoptera: Scelionidae)
Fitofago	<i>Xanthogaleruca luteola</i> (Coleoptera: Crysomelidae)	<i>Diprion pini</i> (Hymenoptera: Diprionidae)	<i>Nezara viridula</i> (Heteroptera: Pentatomidae)
Pianta	<i>Ulmus minor</i> Ulmaceae	<i>Pinus sylvestris</i> Pinaceae	<i>Vicia faba</i> e <i>Phaseolus vulgaris</i> Leguminosae

2. IL SISTEMA TRITROFICO: PIANTA-FITOFAGO-PARASSITOIDE OOFAGO

Di seguito sono sinteticamente descritti i tre sistemi tritrofici, «Olmo», «Pino» e «Leguminose» nei quali è stata accertata la produzione di sinonimi volatili per la difesa indiretta in conseguenza di ovideposizione del fitofago (Tab. 1).

Sistema «Olmo»: la deposizione delle uova da parte della Galerucella dell'Olmo, *Xanthogaleruca luteola* Muller (Coleoptera: Crysomelidae), induce le foglie di Olmo, *Ulmus minor* Miller, a liberare sostanze volatili che attraggono il parassitoide oofago *Oomyzus gallerucae* (Fonscolombe) (Hymenoptera: Eulophidae) (MEINERS e HILKER, 2000).

Sistema «Pino»: il Lorifo del Pino, *Diprion pini* (L.) (Hymenoptera: Diprionidae), con l’ovideposizione induce la pianta di Pino, *Pinus sylvestris* L., a produrre sostanze attrattive per il parassitoide oofago *Chrysonotomyia ruforum* (Krausse) (Hymenoptera: Eulophidae) (HILKER *et al.*, 2002b).

Sistema «Leguminose»: la Cimice verdastra, *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae), con l’azione combinata di nutrizione e di ovideposizione induce in due leguminose da granella, *Vicia faba* L. e *Phaseolus vulgaris* L., la produzione di sinomoni che sono attrattivi per il parassitoide oofago *Trissolcus basalus* (Wollaston) (Hymenoptera: Scelionidae) (fig. 2) (COLAZZA *et al.*, 2004ab).

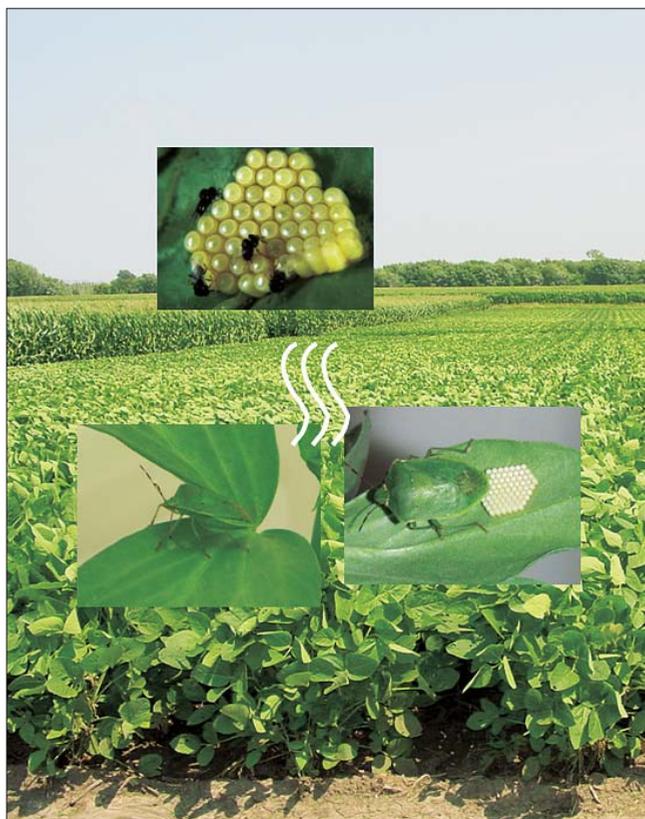


Fig. 2

Visione di insieme del sistema «Leguminose» in cui sono raffigurati: un campo di fagiolino; adulto di Cimice verdastra mentre ovidepone e mentre si nutre, ove è possibile notare l’abbondante saliva che fuoriesce nel punto di inserimento del rostro. In alto femmine del parassitoide oofago *Trissolcus basalus* mentre parasitizzano una ovatura di Cimice verdastra.

Da quanto riportato si evince che il meccanismo della difesa indiretta, basato sulla emissione dei sinomoni indotti da ovideposizione, riguarda piante gimnosperme e piante angiosperme, così come piante arboree perenni e piante erbacee annuali. Pertanto è da ritenere che il fenomeno possa essere, in effetti, più vasto e profondo anche in considerazione del rilevante numero di associazioni tra i parassitoidi oofagi e i loro ospiti sino ad ora conosciuti (BIN, 1994). Recentemente è stata evidenziata la presenza di sinomoni volatili indotti da ovideposizione e/o da nutrizione da parte di altri due fitomizi, *Lygus hesperus* Knight (Heteroptera: Miridae) ed *Euschistus heros* (F.) (Heteroptera: Pentatomidae), nelle piante erbacee annuali, Cotone e Soia. I sinomoni prodotti attraggono i parassitoidi oofagi dei due fitomizi, rispettivamente *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae) e *Telenomus podisi* (Ashmed) (Hymenoptera: Scelionidae) (MANRIQUE *et al.*, 2005; MORAES *et al.*, 2005). Tuttavia, le informazioni riportate finora in questi sistemi sono ancora poco approfondite per essere considerati «casi studio».

3. I MECCANISMI DI DIFESA INDIRETTA DELLE PIANTE IN RISPOSTA ALLA OVIDEPOSIZIONE

I meccanismi alla base della produzione di composti sinomonal volatili da parte delle piante sono regolati da molteplici fattori che vanno dalla biologia dell'insetto sino alla biochimica della pianta. In questa rassegna sono discussi i principali aspetti relativi alla produzione sinomonale per i tre sistemi considerati, mettendone in risalto analogie e differenze.

3.1. *Ruolo delle lesioni prodotte alla pianta a seguito di attività di nutrizione e di ovideposizione*

Durante l'attività di nutrizione e di ovideposizione gli insetti fitofagi possono interagire a diverso grado con il tessuto cellulare della pianta determinando in alcuni casi delle lesioni che innescano specifiche reazioni biochimiche. Nei due sistemi «Olmo» e «Leguminose» le forme giovanili e gli adulti di *Galerucella* dell'Olmo e di *Cimice verdastra* danneggiano i tessuti della pianta durante la nutrizione, mentre nel sistema «Pino» solo gli stadi giovanili di *Lorifo* del Pino possono provocare lesioni alla pianta con l'alimentazione (HILKER e MEINERS, 2002; COLAZZA *et al.*, 2004b). In ogni caso, i volatili della pianta che ne derivano non risultano attrattivi per i parassitoidi oofagi. Infatti, solo a seguito della attività di ovideposizione, alla quale possono anche essere associate delle lesioni, la pianta diventa attrattiva per i parassitoidi oofagi.

Analizzando più dettagliatamente il comportamento di ovideposizione di ciascun fitofago, si possono mettere in evidenza aspetti specifici e alcune importanti similitudini. Ad esempio, in tutti e tre i casi le uova sono deposte in ovature più o meno numerose, ma non sempre in concomitanza della ovideposizione si riscontrano lesioni nel tessuto vegetale (Tab. 2). Vediamo nei dettagli. La femmina di *Galerucella* dell'Olmo prima di deporre le uova, in ovature di circa 10-30 uova, rimuove con l'apparato boccale gli strati più superficiali della foglia (MEINERS e HILKER, 2000). Analogamente, la femmina di *Lorifo* del Pino depone le uova nel tessuto fogliare incidendo con l'ovopositore gli aghi del Pino (HILKER *et al.*, 2002b). Di contro, la femmina di *Cimice verdastra* depone le uova, in ovature di circa 70-90 uova, senza che si abbiano lesioni nel tessuto vegetale (COLAZZA *et al.*, 2004b). Infatti, come evidenziato al microscopio elettro-

Tabella 2 – I meccanismi di difesa indiretta delle piante in risposta alla ovideposizione di insetti fitofagi: confronto tra i sistemi tritrofici «Olmo», «Pino» e «Leguminose».

Parametri	Sistema		
	«Olmo»	«Pino»	«Leguminose»
Lesioni nella pianta associate alla attività di ovideposizione	Presenti	Presenti	Assenti
Fattore di induzione	Ovideposizione	Ovideposizione	Ovideposizione + nutrizione
Origine dell'induttore	Composti secreti dall'ovidutto	Composti secreti dall'ovidutto	Sconosciuta
Natura chimica dell'induttore	Sconosciuta	Proteina/peptide	Sconosciuta
Caratterizzazione chimica della miscela sinomonale	Differenze qualitative (emissione <i>de novo</i> di omoterpenoidi)	Differenze quantitative (incremento in (<i>E</i>)- β -farnesene)	Differenze quantitative (incremento in (<i>E</i>)- β -cariofillene)
Distribuzione nella pianta	Locale e sistemica	Locale e sistemica	Locale e sistemica
Tempo di attivazione e durata del segnale	Prodotto dopo 72h; attivo per 24h	Prodotto dopo 3-5h; attivo per alcune ore	Prodotto dopo poche ore; attivo fino alla schiusura delle uova (72-96h)
Effetti dell'acido giasmonico	Induce attrazione	Non investigati	Non investigati
Specificità del segnale sinomonale	Elevata	Elevata e favorita dall'apprendimento	Bassa

nico, la foglia presenta solamente un lieve avvallamento nella zona dove è stata deposta l'ovatura (COLAZZA e BIN, osservazioni personali). Inoltre, nei sistemi «Olmo» e «Pino» la pianta produce sinomoni volatili a seguito di ovideposizione, seppure accompagnata da lesioni del tessuto vegetale (HILKER *et al.*, 2002a), mentre nel sistema «Leguminose» le piante diventano attrattive solo quando all'attività di ovideposizione è associata anche l'attività di nutrizione (COLAZZA *et al.*, 2004a) (Tab. 2). Infatti piante su cui gli adulti di Cimice verdastra hanno ovideposto senza nutrirsi non risultano attrattive per i parassitoidi (COLAZZA *et al.*, 2004a).

3.2. *L'induttore: origine, meccanismo di induzione e natura chimica*

Nei sistemi «Olmo» e «Pino» è stato accertato che l'emissione dei sinomoni è stimolata da composti induttori che sono presenti nel secreto delle ghiandole associate agli ovidotti della femmina di *Galerucella* dell'Olmo e di *Lorifo* del Pino (Tab. 2). Questo secreto ghiandolare avvolge le uova al momento della fuoriuscita dall'apertura genitale e svolge anche la funzione di favorire la fissazione delle uova al substrato. L'aspetto importante è che, in entrambi i casi, l'induttore per agire deve giungere a contatto con le cellule lesionate del tessuto vegetale, indipendentemente dal fatto che le lesioni siano state causate dall'insetto, al momento della ovideposizione o artificialmente (MEINERS e HILKER, 2000; HILKER *et al.*, 2002b).

I dati disponibili sull'origine dell'induttore e sul meccanismo biochimico di azione nel sistema «Leguminose» sono ancora pochi; tuttavia alcune similitudini con i sistemi «Olmo» e «Pino» consentono di formulare alcune ipotesi. L'induttore potrebbe avere la medesima origine dei due sistemi suddetti dal momento che anche le uova della Cimice verdastra sono ricoperte da un abbondante secreto prodotto dall'epitelio follicolare (BIN *et al.*, 1993). Riguardo al meccanismo, la preferenza della femmina di Cimice verdastra a deporre ovature sulla pagina inferiore delle foglie, che è particolarmente ricca di aperture stomatiche, potrebbe fornire la spiegazione di come l'induttore interferisca con il biochimismo della pianta anche in assenza di lesioni nel tessuto fogliare. Questa ipotesi trova sostegno da recenti osservazioni condotte in due specie di Coleotteri Criocerini: *Lilioceris lili* (L.) e *L. merdigera* (L.) (MULLER e ROSENBERGER, 2006). Gli autori hanno, infatti, dimostrato che il secreto dell'epitelio follicolare, che ricopre le uova dei due Coleotteri e che ne favorisce l'adesione alla foglia, è assorbito dalla cuticola fogliare e/o penetra nel mesofillo attraverso le aperture stomatiche. Infine, è da tenere in considerazione che solo nel sistema «Pino» si può escludere ogni eventuale co-azione svolta dalla saliva degli insetti nell'indurre i sinomoni, co-azione che è, invece, ipotizzabile nei sistemi «Olmo» e soprattutto «Leguminose», sistema in

cui la saliva delle femmine di Cimice verdastra è indispensabile affinché la pianta produca sinomoni (COLAZZA *et al.*, 2004a).

La natura chimica dei composti che svolgono il ruolo di induttore del sinomone è stata in parte accertata nel sistema «Pino». Indagini biochimiche hanno evidenziato la presenza di una frazione proteica nelle secrezioni dell'ovidutto, in grado, se applicata su aghi di pino lesionati, di stimolare la produzione dei sinomoni (HILKER *et al.*, 2005). Nei sistemi «Olmo» e «Leguminose» le informazioni relative alla composizione del secreto delle ghiandole associate agli ovidotti femminili e delle ghiandole salivari sono ancora scarse e frammentarie. Tuttavia, è interessante notare che per entrambi i parassitoidi, *O. gallerucae* e *T. basalis*, il secreto ghiandolare che ricopre le uova svolge anche la funzione di caïromone di contatto per il riconoscimento delle uova ospiti (BIN *et al.*, 1993; MEINERS e HILKER, 1997).

3.3 Caratterizzazione chimica dei sinomoni indotti dall'ovideposizione

Le piante a seguito di attacco di insetti fitofagi, emettono composti volatili organici che si possono inquadrare in due categorie principali (TURLINGS *et al.*, 1990; ARIMURA *et al.*, 2005). Una, denominata «volatili della foglia», tipicamente formata da aldeidi a sei atomi di carbonio, alcoli ed esteri, è poco specifica, in quanto emessa dalla pianta anche a seguito di normali lesioni meccaniche del tessuto vegetale. Una seconda classe, formata da composti terpenoidi, quali monoterpeni, sesquiterpeni e omoterpeni, rappresenta un segnale più specifico. Sono, infatti, sintetizzati *de novo* dalla pianta prevalentemente a seguito di processi metabolici secondari attivati da sostanze induttrici spesso associate alla attività dell'insetto come, ad esempio, la saliva emessa durante la nutrizione o il secreto delle ghiandole associato agli ovidotti della femmina del fitofago, nel caso dei sinomoni indotti dalla ovideposizione.

Confrontando i volatili emessi da piante indenni e da piante su cui è stata deposta una ovatura, si possono notare differenze di tipo qualitativo, quando le piante che hanno subito l'ovideposizione rilasciano composti diversi da quelli delle piante sane, oppure di tipo quantitativo, nei casi in cui a seguito di ovideposizione i composti che sono normalmente prodotti vengono rilasciati in quantità maggiore. In particolare, nel sistema «Olmo» si riscontrano differenze qualitative e quantitative (WEGENER *et al.*, 2001), mentre nei sistemi «Pino» e «Leguminose» si osservano solo differenze quantitative (MUMM *et al.*, 2003; COLAZZA *et al.*, 2004a) (Tab. 2). Più in dettaglio, nel sistema «Olmo» l'ovideposizione induce un incremento nella emissione dei «volatili della foglia» e di quelli di origine terpenoide, e la formazione *de novo* di derivati omoterpenoidi quali (E)-

2,6-dimethyl-6,8-nonadien-4-one, (*E*)-2,6-dimethyl-2,6,8-nonatrien-4-one e (*R,E*)-2,3-epoxy-2,6-dimethyl-6,8-nonadiene (WEGENER e SCHULZ, 2002). Invece nei sistemi «Pino» e «Leguminose», i sinomoni indotti dall'ovideposizione sono caratterizzati dal significativo incremento di uno specifico terpenoide, rispettivamente (*E*)- β -farnesene e (*E*)- β -cariofillene (MUMM *et al.*, 2003; COLAZZA *et al.*, 2004a). In particolare, le femmine di *C. ruforum* sono attratte dal terpenoide (*E*)- β -farnesene solo quando questo è presente in combinazione con il mix dei composti emessi da piante di Pino non danneggiate, mentre il terpenoide non è attrattivo se offerto da solo, anche a concentrazioni elevate (MUMM e HILKER, 2005). In questo modo il parassitoide è in grado di rispondere a variazioni quantitative del terpenoide solo quando queste avvengono in un contesto in cui vi è un adeguato «odore di fondo» (Background Odour, *sensu* MUMM e HILKER, 2005), nello specifico quello di una pineta, habitat in cui il parassitoide ha le maggiori probabilità di ritrovare l'ospite (MUMM e HILKER, 2005). Una situazione simile è ipotizzabile anche nel sistema «Leguminose», ed è quindi possibile che le femmine di *T. basalis* siano attratte dall'aumento di (*E*)- β -cariofillene solo in presenza di un odore di fondo composto dai volatili emessi dalla piante di leguminose indenni. Bisogna comunque ricordare che nel sistema «Leguminose» l'attività di nutrizione concorre attivamente nel definire il segnale sinomonale (COLAZZA *et al.*, 2004b). Infatti, le punture di nutrizione della Cimice verdastra inducono nella piante di fagiolino e di fava una produzione trascurabile dei «volatili della foglia», probabilmente perché le lesioni inflitte con il rostro non sono tali da attivare la via metabolica della lipossigenasi (COLAZZA *et al.*, 2004a). Di contro le piante reagiscono con incrementi rilevanti nella emissione di linalolo, (*E,E*)-4,8,12-trimethyl-1,3,7,11-tridecatetraene e 4,8-dimethyl-1,3(*E*),7-nonatriene (COLAZZA *et al.*, 2004a). Questi due sesquiterpeni sono noti per essere sintetizzati *de novo* dalle piante a seguito di lesioni provocate da insetti ad apparato boccale masticatore e per essere attrattivi nei confronti dei parassitoidi (PARÉ e TUMLINSON, 1997; BALDWIN e PRESTON, 1999). Infine, si deve tenere presente che le leguminose da granella possono produrre sinomoni anche in risposta alla sola attività di nutrizione, senza che a questa sia associata l'attività di ovideposizione. È questo il caso del parassitoide oofago *Te. podisi* le cui femmine sono attratte dalle piante su cui si stanno nutrendo adulti e/o forme giovanili di *E. beros* (MORAES *et al.*, 2005). Le differenti strategie di localizzazione dell'ospite che si sono evolute in *T. basalis* e *Te. podisi* che foraggiano in habitat simili potrebbero essere spiegate dal diverso grado di specificità degli ospiti attaccati.

3.4 Rilascio locale e sistemico dei sinomoni indotti dall'ovideposizione, tempi di attivazione e durata del segnale

I sinomoni indotti da attacco di fitofagi possono essere rilasciati sia dalle foglie colpite, rilascio locale, che dalle foglie indenni ma appartenenti alla stessa pianta, come risultato di una induzione sistemica (DICKE, 2000; ARIMURA *et al.*, 2005). In tutti e tre i sistemi considerati, i sinomoni indotti da ovideposizione vengono rilasciati dalla pianta sia localmente che sistemicamente, e, in particolare, nei sistemi «Olmo» e «Pino», il trasporto sistemico avviene tramite il tessuto floematico della pianta (HILKER *et al.*, 2002a) (Tab. 2). Non ci sono informazioni accurate riguardo la distanza nella pianta a cui può giungere la stimolazione alla produzione di sinomoni dal luogo di ovideposizione, anche se osservazioni condotte nel sistema «Pino» hanno permesso di accertare una induzione attiva fino ad almeno 20 cm dal sito di ovideposizione (HILKER e MEINERS, 2002; HILKER *et al.*, 2002b).

Il tempo necessario alla pianta per produrre i sinomoni indotti dall'attacco del fitofago e la durata del segnale sono molto variabili. In letteratura si usa fare riferimento a «risposte indotte a breve termine» (Short-Term Induced Responses) quando queste hanno effetto direttamente sulla generazione del fitofago che attacca la pianta, e a «risposte indotte a lungo termine» (Long-Term Induced Responses) quando gli effetti si hanno nelle generazioni successive a quella che ha attaccato la pianta. (LARSSON, 2002). Nei tre sistemi considerati le piante reagiscono tutte con «risposte indotte a breve termine», anche se il tempo di azione a carico dei parassitoidi è variabile. Infatti, nel sistema «Pino», i parassitoidi oofagi sono richiamati solo dopo che sono trascorsi tre giorni dall'ovideposizione del fitofago, ma già dal quarto giorno il potere attrattivo del segnale diminuisce significativamente (HILKER *et al.*, 2002b). Nel sistema «Leguminose», i sinomoni sono attivi fin da poche ore dopo l'ovideposizione e il richiamo continua ad agire per alcune ore, per poi ridursi significativamente in concomitanza della schiusa delle uova (COLAZZA *et al.*, 2004b). In questo sistema si è anche osservato che le emissioni dei terpenoidi tendono a diminuire repentinamente già a 24-44 ore dalla ovideposizione con la sola eccezione del (*E*)- β -cariofillene, che continua ad essere rilasciato, in quantità significativamente maggiori, anche dopo 48-68 ore dalla deposizione delle uova (COLAZZA *et al.*, 2004a).

3.5 Il ruolo dell'acido giasmonico

L'acido giasmonico è un ormone derivato dell'acido linolenico che si forma tramite la via metabolica dell'acido ottadecanoico insaturo ed è coinvolto nella regolazione di molte funzioni delle piante, tra le quali quel-

la di attivare le vie metaboliche per la produzione dei composti sinomonalici che richiamano gli antagonisti naturali. È noto che applicazioni di questo ormone a piante indenni inducono l'emissione di composti simili a quelli rilasciati da piante attaccate anche se, in taluni casi, si è osservata la capacità da parte degli insetti antagonisti naturali di discriminare tra i volatili indotti dalla attività di nutrizione degli insetti fitofagi e quelli indotti da applicazioni di acido giasmonico (ARIMURA *et al.*, 2005). Nei sistemi «Olmo» e «Pino», le piante trattate con acido giasmonico sono risultate attrattive per i parassitoidi oofagi (Tab. 2), confermando così che anche nella emissione dei sinomoni indotti dall'ovideposizione sono coinvolti i prodotti della via metabolica dell'acido ottadecanoico (HILKER e MEINERS, 2002; HILKER *et al.*, 2002a). Rimane ancora da verificare se il livello endogeno dell'acido giasmonico varia in funzione della ovideposizione così come analogamente avviene nel caso dei sinomoni indotti con la nutrizione. L'acido giasmonico non lo si ritrova solo nelle piante, ma è presente anche nelle forme giovanili e nelle uova degli insetti, in particolare TOOKER e DE MORAES (2005) hanno evidenziato la presenza di acido giasmonico nel corion delle uova di 9 specie di Lepidotteri con concentrazioni a volte marcatamente superiori a quelle riscontrate normalmente nelle piante. L'acido giasmonico è anche presente nel corion delle uova di *N. viridula* in concentrazioni variabili da 60 ng/g a 0.04 ng/g di corion (TOOKER, comunicazione personale), e pertanto anche per il sistema «Leguminose» si può ipotizzare un ruolo di questo ormone nel favorire il rilascio di composti sinomonalici.

3.6 Specificità dei sinomoni indotti dall'ovideposizione

È noto che il grado di specializzazione del parassitoide nei confronti dell'ospite e dell'ospite nei confronti della pianta possono influenzare il processo spazio-temporale che guida un parassitoide nel localizzare l'ospite (VINSON, 1998). I sistemi «Olmo» e «Pino» sono caratterizzati da relazioni oligofaghe e monofaghe rispettivamente al secondo e terzo livello trofico, mentre il sistema «Leguminose» è caratterizzato da relazioni polifaghe e oligofaghe. Osservazioni condotte nel sistema «Olmo» hanno permesso di stabilire che i sinomoni indotti con l'ovideposizione che attraggono il parassitoide *O. gallerucae* risultano essere specifici sia a livello di pianta che di fitofago. Infatti il parassitoide non è attratto dalle foglie di un'altra specie di Olmo, *U. glabra*, su cui ha ovideposto la Gallerucella dell'Olmo; così come non è attratto dalle foglie di *U. minor* se su queste ha ovideposto *Galeruca tanacetii* L. (Coleoptera: Chrysomelidae), una specie tassonomicamente vicina alla Gallerucella dell'Olmo, ma non ospite del parassitoide (MEINERS *et al.*, 2000). La stessa situazione è stata riscon-

trata nel sistema «Pino», anche esso caratterizzato da relazione di monofagia al livello del fitofago e del parassitoide, sebbene l'attrazione del parassitoide sia risultata essere fortemente condizionata dalla possibilità di fare esperienza con i volatili prodotti dalla pianta (MUMM *et al.*, 2005). Si ritiene, infatti, che i parassitoidi polifagi, a differenza di quelli monofagi, si possono avvalere maggiormente della capacità di apprendimento di un segnale semiochimico nel caso in cui ci sia la possibilità di associarlo positivamente alla presenza dell'ospite. Caso questo che potrebbe riguardare anche il sistema «Leguminose», nel quale il fitofago, la Cimice verdastra, è un fitofago estremamente polifago e il parassitoide, *T. basalis*, è in grado di attaccare un consistente numero di specie ospiti.

4. I COMPOSTI ORGANICI VOLATILI EMESSI DALLE PIANTE E LE RELAZIONI MULTITROFICHE NELL'AMBIENTE

Il ruolo ecologico dei composti organici volatili emessi dalle piante non riguarda solo la comunicazione semiochimica pianta-insetto, ma influenza anche le altre componenti dell'ecosistema, come ad esempio gli agenti patogeni e le piante limitrofe, conspecifiche e/o eterospecifiche, tanto da configurare una interazione multitrofica variabile nel tempo e nello spazio (DICKE e VAN LOON, 2000). In alcune piante è stata rilevata una produzione di sostanze terpeniche fitotossiche ad azione allelochimica in grado di influenzare la strutturazione della comunità vegetale (relazione pianta-pianta) (BALDWIN e PRESTON, 1999). Nei patosistemi, sostanze terpeniche sono sintetizzate dalla pianta in risposta ad attacchi da parte di agenti patogeni, così come alcune piante sono in grado di incrementare le capacità di difesa indiretta contro gli agenti patogeni in seguito a colonizzazione radicale da parte di ceppi non patogenici di *Pseudomonas spp.* (relazioni pianta-patogeno) (DICKE, 2000).

Più recentemente, il ruolo dei composti organici volatili (Volatile Organic Compounds, VOCs) emessi dalle piante è oggetto di studio in termini di possibili relazioni tra i fattori ambientali che controllano la produzione dei composti organici delle piante e le relazioni semiochimiche multitrofiche¹ (D'ALESSANDRO e TURLINGS, 2006). È noto che le sostanze terpeniche prodotte dalle piante svolgono un ruolo primario nella determinazione delle proprietà fisiche e chimiche dell'atmosfera. Le piante liberano nell'atmosfera idrocarburi biogenici, in particolare monoterpeni, sesqui-

¹ Per ulteriori informazioni su questo argomento si consiglia di visitare il sito www.esf.org/vocbas

terpeni e diterpeni che nell'aria reagiscono con le altre sostanze presenti nell'atmosfera influenzando i processi chimici della troposfera. Quando nell'aria sono presenti dei composti antropogenici (NO_x), queste reazioni causano la formazione di smog fotochimico come ad esempio l'ozono. Le similitudini tra i composti biogenici e quelli emessi dalle piante in risposta all'attacco dei fitofagi fanno ipotizzare che in condizioni di elevate concentrazioni di CO_2 e O_3 si possano verificare delle influenze nei sistemi basati sulla comunicazione sinomonale. Ad esempio si è visto che ad elevate concentrazioni di CO_2 nella atmosfera le risposte indotte indirette messe in atto da piante di *B. oleracea* a seguito di attacco del fitofago *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) diventano più deboli con effetti negativi sulla capacità di percepire i sinomoni e quindi di localizzare l'ospite da parte di due antagonisti naturali, il parassitoide *Cotesia plutellae* (Kurdjumov) (Hymenoptera: Braconidae) e il predatore *Podisus maculiventris* (Say) (Heteroptera: Pentatomidae), (VUORINEN *et al.*, 2004a). In piante di fagiolo di Lima elevate concentrazioni di CO_2 inducono la produzione di composti organici volatili simili a quelli prodotti dalla pianta a seguito di attacco di acari fitofagi, ma in questo caso gli acari predatori non sono disorientati, riuscendo comunque a discriminare tra i volatili delle piante attaccate da acari e quelli delle piante sottoposte a stress ambientali (VUORINEN *et al.*, 2004b). La pianta modifica l'attività fotosintetica non solo come conseguenza della attività di nutrizione di un insetto fitofago, ma anche a seguito della attività di ovideposizione. È stato infatti riscontrato in piante di Pino una consistente riduzione di attività fotosintetica in foglie adiacenti a quelle su cui aveva ovideposto *D. pini* (SCHRODER *et al.*, 2005). Sulla base di questi dati è stato ipotizzato che femmine di *C. ruforum* possano utilizzare queste variazioni nella attività fotosintetica per localizzare le uova ospiti, anche se, ad oggi, non ci sono dati che evidenzino una sensibilità alla CO_2 in insetti parassitoidi (SCHRODER *et al.*, 2005).

5. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

I meccanismi di difesa delle piante basati sulle relazioni sinomonali rappresentano un'area di ricerca a forte valenza interdisciplinare poiché coinvolge competenze di fisiologia vegetale, ecologia comportamentale, biologia evolutiva ed ecologia chimica. Le ricerche approfondite di questo ultimo decennio hanno consentito di definire meglio questa rete di comunicazione multitrofica tanto da far intravedere delle possibili applicazioni di pieno campo (CORTESE *et al.*, 2000; TURLINGS e TON, 2006). Sino ad ora i possibili campi di applicazione dei sinomoni per il potenzia-

mento dell'efficacia dei parassitoidi oofagi hanno riguardato principalmente la manipolazione del comportamento dei parassitoidi oofagi nelle condizioni di campo e di allevamento massale (BIN, 1988). Recentemente, in un contesto più marcatamente fitocentrico, prende sempre più consistenza la possibilità di manipolare geneticamente le piante per la produzione mirata dei sinomoni al fine di massimizzare l'azione dei parassitoidi (CORTESERO *et al.*, 2000; TURLINGS e TON, 2006). L'intervento potrebbe assumere una maggiore efficacia nel caso dei parassitoidi oofagi per la loro capacità di sopprimere i fitofagi prima della schiusura delle uova. Tuttavia, è necessaria tutta la cautela possibile prima di intraprendere questa strada valutando gli eventuali effetti collaterali e le possibili integrazioni nell'ecosistema.

RINGRAZIAMENTI

Lavoro eseguito con il finanziamento MIUR-COFIN 2002 «Studio funzionale delle reti trofiche, piante-Rincoti-parassitoidi, e controllo biologico», coordinatore Prof. F. Bin.

RIASSUNTO

Le piante possono limitare i danni derivanti dall'attacco di insetti fitofagi producendo dei composti volatili e/o di contatto (sinomoni) che attraggono i nemici naturali degli insetti fitofagi. Sino ad ora le evidenze scientifiche hanno riguardato essenzialmente i sinomoni prodotti dalle piante a seguito della attività di nutrizione di insetti fitofagi. Recentemente è stata messa in evidenza la possibilità delle piante di reagire anche alla attività di ovideposizione degli insetti fitofagi producendo sinomoni volatili capaci di richiamare i parassitoidi delle uova, antagonisti naturali in grado di contenere la densità del fitofago ancor prima che questo si presenti in uno stadio nocivo alla pianta. Attualmente i sinomoni volatili indotti dalla ovideposizione sono stati evidenziati in tre sistemi tritrofici. Le piante perenni, *Ulmus minor* e *Pinus sylvestris*, rispondono all'ovideposizione dei loro fitofagi, rispettivamente *Xanthogaleruca luteola* e *Diprion pini*, emettendo dei volatili che attraggono gli ooparassitoidi specifici *Oomyzus gallerucae* e *Chrysonotomyia ruforum*. Le piante annuali *Vicia faba* e *Phaseolus vulgaris*, in risposta ad azioni combinate di ovideposizione e nutrizione di *Nezara viridula*, fitofago ad apparato pungente-succhiante, emettono volatili che richiamano l'ooparassitoide *Trissolcus basalus*. In questa rassegna sono presentati e discussi i dati relativi alla attrazione dei parassitoidi oofagi verso i sinomoni volatili indotti con l'ovideposizione evidenziando differenze e similitudini per i sistemi tritrofici sino ad ora studiati.

SUMMARY

INDIRECT PLANT DEFENCE MECHANISMS: SYNOMONES INDUCED BY OVIPOSITION

Several studies have demonstrated that phytophagous insects can induce host plants to produce volatile chemicals (synomones) that attract insect parasitoids which parasitize the herbivores, thus reducing damage to the plants. To date, studies that have investigated

herbivore-induced volatiles have focused primarily on insects that damage plants by chewing. However, volatiles also may be produced in response to insect oviposition, and these volatiles may serve as host-induced synomones for egg parasitoids. Plants that are able to attract egg parasitoids soon after herbivore eggs are laid benefit from increasing the parasitoid's effectiveness and from defending themselves against insect pests before significant damage occurs. Evidence of oviposition-induced synomones has been reported for only three tritrophic systems. In two of these, the woody plants *Ulmus minor* and *Pinus sylvestris* respond to oviposition of their herbivores, *Xanthogaleruca luteola* and *Diprion pini*, by emitting volatiles that attract the parasitoids *Oomyzus gallerucae* and *Chrysonotomyia ruforum* respectively. The third tritrophic system consists of bean plants, *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris*, which under the combined feeding and oviposition activity of a piercing/sucking herbivore, the green stink bug *Nezara viridula*, emit volatiles that attract the egg parasitoid *Trissolcus basalus*. Data on the attraction of these egg parasitoids by oviposition-induced plant volatiles, showing similarities and differences between the three tritrophic systems in which the phenomenon has been demonstrated, are presented.

BIBLIOGRAFIA

- ARIMURA G., KOST C., BOLAND W., 2005 – *Herbivore-induced, indirect plant defences*. - *Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1734: 91-111.
- BALDWIN I.T., PRESTON C.A., 1999 – *The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores*. - *Planta*, 208: 137-145.
- BIN F., 1988 – *Imenotteri ooparassitoidi ed oo-larvali, semiochimici e prospettive di controllo biologico*. - *Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent.*, L'Aquila, 889-909.
- BIN F., 1994 – *Biological control with egg parasitoids other than Tricogramma*. - Pp145-151. In: WAJNBERG E., HASSAN S.A., (eds.) «*Biological Control with Egg Parasitoids*», IOBC, CAB International.
- BIN F., CONTI E., SALERNO G., 2003 – *Interazioni insetto-pianta: i meccanismi di difesa «Indiretta»*. - *Atti della Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti Anno LI: 173-178*.
- BIN F., VINSON S.B., STRAND M.R., COLAZZA S., JONES W.A., 1993 – *Source of an egg kairomone for Trissolcus basalus, a parasitoid of Nezara viridula*. - *Physiological Entomology*, 18: 7-15.
- BOLAND W., KOCH T., KRUMM T., PIEL J., JUX A., 1999 – *Induced biosynthesis of insect semiochemicals in plants*, pp. 110–126, in Chadwick D.J. and Goode J. A. (eds.). *Insect-Plant Interactions and Induced Plant Defence. Novartis Foundation Symposium*. pp. 223. Wiley & Sons, Chichester, England.
- COLAZZA S., MCELFRISH J.S., MILLAR J.G., 2004a – *Identification of volatile synomones, induced by Nezara viridula feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid Trissolcus basalus*. - *J. Chem. Ecol.*, 5: 939-958.
- COLAZZA S., FUCARINO A., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2004b – *Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids*. - *J. Exp. Biol.* - 207: 47-53.
- CONTI E., SALERNO G., DE SANTIS F., LEOMBRUNI B., BIN F., 2006 – *Difese indirette delle piante: i sinomoni di contatto indotti da ovideposizione*. - *Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti Anno LIV: 129-148*.
- CORTESERO A.M., STAPEL J.O., LEWIS W.J., 2000 – *Understanding and manipulating plant attributes to enhance biological control*. - *Biol. Control*, 17: 35-49.
- D'ALESSANDRO M., TURLINGS T.C.J., 2006 – *Advances and challenges in the identification of volatiles that mediate interactions among plants and arthropods*. - *Analist*, 131: 24-32.
- DICKE M., 2000 – *Chemical ecology of host-plant selection by herbivorous arthropods: a multitrophic perspective*. - *Biochem. System. Ecol.*, 28: 601-617.
- DICKE M., VAN LOON J.J.A., 2000 – *Multi-trophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context*. - *Entomol. Exp. Appl.*, 97: 327-249.
- FATOUROS N.E., BUKOVINSZKINE-KISS G., KALKERS L.A., GAMBORENA R.S., DICKE M., HILKER

- M., 2005 – *Oviposition-induced plant cues: do they arrest Trichogramma wasps during host location?* - Entomol. Exp. Appl., 115 (1): 207-215.
- HILKER M., MEINERS T., 2002 – *Induction of plant responses to oviposition and feeding by herbivorous arthropods: a comparison.* - Entomol. Exp. Appl., 104: 181-192.
- HILKER M., MEINERS T., 2006 – *Early herbivore alert: Insect eggs induce plant defense.* - J. Chem. Ecol., 32: 1379-1397.
- HILKER M., ROHFRITSCH O., MEINERS T., 2002a – *The plant's response towards insect egg deposition*, pp. 205-233, in Hilker M., Meiners T. (eds). *Chemoecology of Insect Eggs and Egg Deposition*. Blackwell Publishers, Berlin.
- HILKER M., KOBES C., VARAMA M., SCHRANK K., 2002b – *Insect egg deposition induces Pinus to attract egg parasitoids.* - J. Exp. Biol., 205: 455-461.
- HILKER M., STEIN C., SCHRODER R., VARAMA M., MUMM R., 2005 – *Insect egg deposition induces defence responses in Pinus sylvestris: characterisation of the elicitor.* - J. Exp. Biol., 208: 1849-1854.
- LARSSON S., 2002 – *Resistance in tree to insects – an overview of mechanisms and interactions*, pp 1-29, in: *Mechanisms and Development of Résistance in Tree to Insects.* - Wagner M.R. et al., eds., Kluwer Academic Publisher.
- MANRIQUE V., JONES W.A., WILLIAMS L.H., BERNAL J.S., 2005 – *Olfactory responses of Anaphes iole (Hymenoptera: Mymaridae) to volatile signals derived from host habitats.* - J. Insect Behav., 18: 89-104.
- MEINERS T., HILKER M., 1997 – *Host location in Oomyzus gallerucae (Hymenoptera: Eulophidae), an egg parasitoid of the elm leaf beetle Xanthogaleruca luteola (Coleoptera: Chrysomelidae).* - Oecologia, 112: 87-93.
- MEINERS T., HILKER M., 2000 - *Induction of plant synomones by oviposition of a phytophagous insect.* - J. Chem. Ecol., 26: 221-232.
- MEINERS T., WESTERHAUS C., HILKER M., 2000 – *Specificity of chemical cues by a specialist egg parasitoid during host location.* - Entomol. Exp. Appl., 95: 151-159.
- MORAES M.C.B., LAUMANN R., SUJII E.R., PIRES C., BORGES M., 2005 – *Induced volatiles in soybean and pigeon pea plants artificially infested with the neotropical brown stink bug, Euschistus heros, and their effect on the egg parasitoid, Telenomus podisi.* - Entomol. Exp. Appl., 115: 227-237.
- MUMM R., HILKER M., 2005 - *The significance of background odour for an egg parasitoid to detect plants with host eggs.* - Chemical Senses, 30: 337-343.
- MUMM R., SCHRANK K., WEGENER R., SCHULZ S., HILKER M., 2003 – *Chemical analysis of volatiles emitted by Pinus sylvestris after induction by insect oviposition.* - J. Chem. Ecol., 29: 1235-1252.
- MUMM R., TIEMANN T., VARAMA M., HILKER M., 2005 – *Choosy egg parasitoids: specificity of oviposition-induced pine volatiles exploited by an egg parasitoid of pine sawflies.* - Entomol. Exp. Appl., 115: 217-225.
- MULLER C., ROSEMBERGER C., 2006 – *Different oviposition behaviour in Chrysomelid beetles: Characterisation of the interface between oviposition secretion and the plant surface.* - Arthropod Structure & Development, 35: 197-205.
- PARÉ P.W., TUMLINSON J.H., 1997 – *De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants.* - Plant. Physiol., 114: 1161-1167.
- SALERNO G., DE SANCTIS F., CONTI E., BIN F., 2006 – *Host location by Telenomus busseolae on the plant substrate.* - Abstract of the oral presentation at the 22th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, Barcellona, Spain, pag. 214.
- SCHRODER R., FORSTREUTER M., HILKER M., 2005 – *A plant notices insect egg deposition and changes its rate of photosynthesis.* Plant Physiol., 138: 470-477.
- TOOKER J.F., DE MORAES C.M., 2005 – *Jasmonate in lepidopteran eggs and neonates.* - J. Chem. Ecol., 31: 2753-2759.
- TUMLINSON J.H., TURLINGS T.C.J., LEWIS W.J., 1993 – *Semiochemically mediated foraging behavior in beneficial parasitic insects.* - Arch. Insect. Biochem. Physiol., 22: 385-391.
- TURLINGS T.C.J., TON J., 2006 – *Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odours to enhance the control of agricultural pests.* - Current Opinion in Plant Biology, 9: 421-427.

- TURLINGS T.C.J., TUMLINSON J.H., LEWIS W.J., 1990 – *Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps*. - *Science*, 250: 1251-1253.
- VINSON S.B., 1998 - *The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species*. - *Biol. Control*, 11: 79-96.
- VUORINEN T., NERG A.M., IBRAHIM M.A., REDDY G.V.P., HOLOPAINEN J.K., 2004a – *Emission of Plutella xylostella-induced compounds from cabbages grown at elevated CO₂ and orientation behavior of the natural enemies*. - *Plant Physiol.*, 135: 1984-1992.
- VUORINEN T., NERG A.M., HOLOPAINEN J.K., 2004b – *Ozone exposure triggers the emission of herbivore-induced plant volatiles, but does not disturb tritrophic signaling*. *Environmental Pollution*, 131: 305-311.
- WEGENER R., SCHULZ S., 2002 – *Identification and synthesis of homoterpenoids emitted from elm leaves after elicitation by beetle eggs*. - *Tetrahedron*, 58: 315-319.
- WEGENER R., SCHULZ S., MEINERS T., HADWICH K., HILKER M., 2001 – *Analysis of volatiles induced by oviposition of elm leaf beetle Xanthogaleruca luteola on Ulmus minor*. - *J. Chem. Ecol.*, 27: 499-515.

ERIC CONTI (*) - GIANANDREA SALERNO (*) - FEDERICA DE SANTIS (*)
BENEDETTA LEOMBRUNI (*) - FERDINANDO BIN (*)

DIFESE INDIRECTE DELLE PIANTE: I SINOMONI PER CONTATTO INDOTTI DA OVIDEPOSIZIONE

INTRODUZIONE

I sinomoni delle piante indotti da artropodi fitofagi rappresentano, in numerosi sistemi tri-trofici, una componente importante del complesso di stimoli chimici che guidano gli insetti parassitoidi e predatori durante la ricerca dell'ospite o della preda (VINSON, 1985, 1991, 1998; VET e DICKE, 1992; DICKE e VAN LOON, 2000; STEIDLE e VAN LOON, 2002; DICKE *et al.*, 2003). Essendo emessi in conseguenza all'attacco, questi sinomoni agiscono quindi come difese indirette delle piante contro i loro fitofagi (BIN *et al.*, 2003).

Sebbene la maggioranza degli studi sia stata focalizzata sui sinomoni indotti da attività trofica (DICKE e VAN LOON, 2000; TURLINGS e WAEKERS, 2004), esistono altri fattori di induzione, che sono stati studiati in sistemi sia tri-trofici che multi-trofici (BIN *et al.*, 2003; DICKE e HILKER, 2003; DICKE *et al.*, 2003). Particolarmente importanti per la resistenza delle piante in un contesto tri-trofico sono le difese indotte dall'ovideposizione, da sola o in combinazione con l'attività trofica, perché in questo caso, agendo positivamente sul comportamento di ricerca di parassitoidi oofagi, la pianta si difende dal fitofago prima che questo possa iniziare a provocare danni (HILKER e MEINERS, 2006; COLAZZA e PERI, 2006). Gli ooparassitoidi risponderebbero quindi a stimoli affidabili, perché indicatori della presenza dell'ospite nello stadio idoneo alla parassitizzazione, e facilmente individuabili, perché prodotti in quantità rilevante dalla pianta, che ha una biomassa ovviamente molto superiore a quella dell'ovatura ospite.

Trattandosi di una tematica di ricerca alquanto recente, i sinomoni

(*) Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Perugia. Corrispondenza: econti@unipg.it

Sintesi della lettura tenuta durante la Tavola Rotonda su: Interazioni insetti-piante - i segnali d'allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi.

Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 24 novembre 2006.

indotti da ovideposizione erano finora noti con certezza solo per tre sistemi tri-trofici. Dal punto di vista chimico, sono dei composti, o miscele di composti, volatili e quindi percepiti a livello olfattivo, che attirano il parassitoide verso le piante con uova ospiti idonee (HILKER *et al.*, 2002; COLAZZA *et al.*, 2004a, 2004b; HILKER e MEINERS, 2006) (fig. 2.A). Tuttavia, recenti ricerche indicano per altri tre sistemi tri-trofici la presenza di sinomoni che agiscono per contatto dopo che il parassitoide si è posato su una pianta con uova ospiti, determinando un comportamento di arresto con incremento dei tempi di permanenza (FATOUROS *et al.*, 2005a; SALERNO *et al.*, 2006; CONTI *et al.*, dati non pubblicati) (fig. 2.B).

L'induzione di sinomoni volatili in piante con ovideposizioni di fitofagi è trattata nel presente volume da COLAZZA e PERI (2006). In questo lavoro vengono invece illustrate le nuove acquisizioni, in gran parte non pubblicate, sull'induzione da ovideposizione di sinomoni per contatto, peraltro ancora in fase di studio.

I SISTEMI TRI-TROFICI INDAGATI

I sistemi tri-trofici per i quali è stata mostrata, in seguito ad ovideposizione del fitofago, l'induzione di sinomoni che agiscono per contatto, sono sintetizzati in figura 1.

Sistema Crucifera – Pieride – Trichogrammatide

Trichogramma brassicae Bedzeka (= *Trichogramma maidis* Pintureau & Voegelé) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) è un importante ooparassitoide utilizzato per il controllo biologico di lepidotteri dannosi, soprattutto *Mamestra brassicae* (L.) (Lepidoptera: Noctuidae), *Pieris* spp. (Lepidoptera: Pieride) e *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) (LI, 1994). Le ricerche sui sinomoni indotti per *T. brassicae* sono state condotte utilizzando *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera: Pieridae) e giovani piante di cavolo di Bruxelles, *Brassica oleracea* L. var. *gemmifera* (Cruciferae) (FATOUROS *et al.*, 2005a). *Pieris brassicae* è una specie associata al cavolo e altre crucifere, ma può attaccare anche piante appartenenti ad altre famiglie. Le uova sono deposte sulla pagina inferiore delle foglie, riunite in ovature di dimensione variabile, lievemente distanziate tra loro e incollate sulla superficie fogliare mediante il secreto adesivo delle ghiandole accessorie (HILKER e MEINERS, 2006) (fig. 1.A, Tab. 1).

Sistema Graminacea – Nottuide – Scelionide

Telenomus busseolae Gahan (Hymenoptera: Scelionidae) è il più importante ooparassitoide associato a nottuidi minatori del culmo di graminacee coltivate, quali mais, sorgo e canna da zucchero, nel Bacino del Mediterraneo e in altri Paesi di Africa, Europa ed Asia (CONTI e BIN, 2000). L'efficacia dimostrata da *T. busseolae*, confrontata al limitatissimo impatto di *Trichogramma* spp., è dovuta almeno in parte alla caratteristica modificazione morfo-funzionale (corpo appiattito dorso-ventralmente) dello scelionide, che lo rende particolarmente adatto a raggiungere le uova ospiti, protette sotto le guaine fogliari (CONTI e BIN, 2000). Altre caratteristiche importanti di *T. busseolae* sono la sua superiore intensità di risposta ai cairomoni dell'ospite rispetto a *Trichogramma turkestanica* Meyer (Hymenoptera: Trichogrammatidae) (SALERNO *et al.*, 2002) e l'adattamento ad ecosistemi caratterizzati da elevate fluttuazioni stagionali (CHABI OLAYE *et al.*, 1997). Gli esperimenti sui sinonimi indotti sono stati condotti utilizzando *Sesamia nonagrioides* (Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae) e piantine di mais, *Zea mays* L. (Gramineae), allevate in vaso in condizioni controllate (SALERNO *et al.*, 2006). Le uova di *S. nonagrioides*, anch'esse protette sotto la guaina fogliare, sono disposte in ovature formate da 1-5 file, incollate tra di loro e al substrato mediante il secreto adesivo delle ghiandole colleteriche (CONTI e BIN, 2000). Quest'ultimo è composto principalmente da glicoconiugati neutri e acidi (DE SANTIS *et al.*, inviato a rivista) (fig. 1.B, Tab. 1).

Sistema Crucifera – Pentatomide – Scelionide

Trissolcus brochymenae (Ashmead) (= *Trissolcus murgantiae* Ashmead) (Hymenoptera: Scelionidae) è stato segnalato su uova di almeno 11 specie di pentatomidi, tra cui *Murgantia histrionica* (Hahn) (Heteroptera: Pentatomidae), sulla quale ha mostrato un buon livello di specializzazione semiochimica rispetto ad altri pentatomidi (CONTI *et al.*, 2003; 2004). *Murgantia histrionica* è una specie associata a crucifere e cappari-dacee in Messico e America settentrionale, ma è dannosa soprattutto al cavolo e ad altre brassicacee, *Brassica* spp. (MCPHERSON, 1982). Le uova del pentatomide sono incollate, mediante un secreto adesivo prodotto dalle cellule follicolari, sulle diverse parti delle piante, con preferenza per la pagina inferiore delle foglie, e sono raggruppate in ovature formate da 12 elementi disposti su due file parallele. In questa rassegna saranno trattati i risultati, recentissimi e in corso di pubblicazione, degli esperimenti condotti con piante di *B. oleracea* allevate in vaso in condizioni controllate (fig. 1.C, Tab. 1).

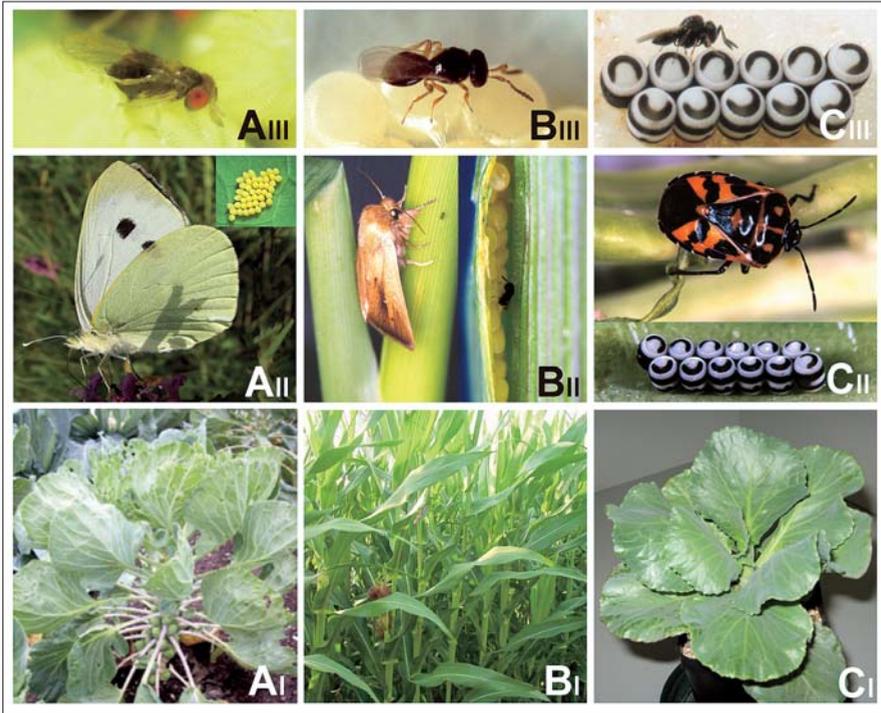


Fig. 1

Sistemi tri-trofici per i quali è stata mostrata, in seguito all'ovideposizione del fitofago sulla pianta, induzione di sinomoni che agiscono per contatto. A.I) *Brassica oleracea* var. *gemmifera*; A.II) *Pieris brassicae*; A.III) *Trichogramma brassicae* (FATOUROS *et al.*, 2005a). B.I) *Zea mays*; B.II) *Sesamia nonagrioides*; B.III) *Telenomus busseolae* (SALERNO *et al.*, 2006). C.I) *Brassica oleracea*; C.II) *Murgantia histrionica*; C.III) *Trissolcus brochymenae* (CONTI *et al.*, dati non pubblicati).

Sistemi non considerati

Un altro sistema in cui è stata osservata la presenza di meccanismi apparentemente simili, almeno in parte, a quelli trattati in questo lavoro, riguarda l'ooparassitoide *Anaphes iole* Girault (Hymenoptera: Mymaridae), che risponde a substrati con ovideposizioni endofitiche e punture di nutrizione di *Lygus hesperus* (Knight), guidato da stimoli percepiti sia per contatto (CONTI *et al.*, 1996; 1997; dati non pubblicati) che a livello olfattivo (MANRIQUE *et al.*, 2005). Tuttavia, questo sistema non viene trattato qui perché i dati disponibili non permettono di attribuire con sicurezza l'origine degli stimoli all'attività di ovideposizione rispetto a quella trofica.

Tabella 1 – Modalità di ovideposizione dei fitofagi e meccanismi di induzione dei sinomoni che agiscono per contatto nei tre sistemi tri-trofici studiati.

	<i>T. brassicae</i> <i>P. brassicae</i> <i>B. oleracea</i>	<i>T. busseolae</i> <i>S. nonagrioides</i> <i>Z. mays</i>	<i>T. brochymenae</i> <i>M. histrionica</i> <i>B. oleracea</i>
Tipo e luogo ovideposizione	esposta, foglie (pagina inferiore)	protetta, sotto guaina fogliare	esposta, foglie (pagina inferiore)
N. uova / ovatura	20-50	20-160	12
Lesioni fisiche da ovideposizione	assenti	assenti	assenti
Lesioni da alimentazione	assenti	assenti	presenti
Fattore di induzione	ovideposizione	ovideposizione	ovideposizione (+ alimentazione)
Fonte dell'induttore	uova e/o secreto	uova	uova e/o secreto
Distribuzione del sinomone sulla pianta	locale	sistemica (anche locale?)	locale e sistemica
Volatilità del sinomone (distanza percezione)	contatto	contatto	contatto e breve raggio
Tempo di attivazione	72 ore	~24 ore	~18 ore
Durata del segnale	>96 ore	non indagato	<100 ore
Risposta del parassitoide	arresto	arresto	arresto
Esperienza del parassitoide verso l'ospite	esperto	inesperto	inesperto
Livello specializzazione parassitoide (n. specie ospiti)	>25	6	11

Similarità e differenze nei sistemi tri-trofici considerati

Nonostante la novità delle difese indirette qui trattate, e di conseguenza i pochissimi sistemi trofici ad oggi studiati per questi meccanismi, è già possibile osservare una interessante diversità. Infatti, i tre sistemi riguardano, al I livello trofico, piante erbacee appartenenti a due diverse Classi, dicotiledoni e monocotiledoni, al II livello fitofagi appartenenti a due Ordini e, al III livello, ooparassitoidi di due importanti Famiglie (fig. 1). Sebbene in tutti i casi le uova vengano incollate sulla superficie della pianta senza provocare lesioni fisiche visibili durante l'ovideposizione, esistono alcune differenze nelle modalità di ovideposizione dei tre fitofagi coinvolti, in termini di protezione delle uova e dimensione delle ovature, e soprattutto nella loro capacità di danneggiare le piante (Tab. 1). Infatti le femmine di *M. histrionica* sia prima che dopo l'ovideposizione si alimentano normalmente a carico della pianta ospite, danneggiandola con le punture trofiche, mentre ovviamente ciò non può avvenire nel caso dei lepidotteri (Tab. 1).

RISPOSTA DEI PARASSITOIDI A SINOMONI PERCEPITI
DOPO IL CONTATTO CON LA PIANTA

Comportamento di ricerca

Nei sistemi qui studiati, la presenza di sinomoni è stata valutata mediante biosaggi comportamentali condotti in arene che, pur presentando struttura diversa, permettevano tutto il contatto diretto tra i parassitoidi e le porzioni di foglia da saggiare. Per limitare o escludere eventuali stimoli provenienti direttamente dalle uova deposte, prima dei biosaggi queste venivano rimosse dal substrato vegetale (FATOUROS *et al.*, 2005a; SALERNO *et al.*, 2006; CONTI *et al.*, dati non pubblicati). Nel caso particolare di *M. histrionica* su cavolo, solamente la pagina superiore delle foglie era biosaggiata con il parassitoide mentre l'esposizione all'ospite avveniva limitatamente alla pagina inferiore. Invece, nel caso di *S. nonagrioides* su mais, erano biosaggiate porzioni apicali delle terze foglie, mentre le uova erano deposte sotto la guaina fogliare della prima o della seconda foglia.

Nel complesso, i parassitoidi hanno risposto alla presenza di stimoli sinomoni per contatto mostrando un comportamento di arresto, che come già accennato è caratterizzato da un incremento del tempo di permanenza associato ad un aumento dell'intensità della di ricerca, quest'ultimo indicato da una riduzione della velocità lineare e un incremento della velocità angolare (BELL, 1990) (Tab. 1). Comportamenti simili, ma in risposta ai sinomoni per contatto provenienti dall'ospite, sono stati già descritti per *T. busseolae* (COLAZZA e ROSI, 2001), *T. basalis* (COLAZZA *et al.*, 1999), *T. brochymenae* (CONTI *et al.*, 2003) e per diverse specie di *Trichogramma* (per una rassegna cfr. NOLDUS, 1989, e VINSON, 1991; SALERNO, CONTI, BAYRAM e BIN, in preparazione).

Effetto dell'esperienza

L'esperienza (intesa come apprendimento associativo) acquisita precedentemente, è un importante fattore che può modificare la risposta comportamentale di femmine di parassitoidi a stimoli associati all'ospite, soprattutto se si tratta di parassitoidi tendenzialmente polifagi (*generalist*) e di stimoli sinomoni (VET e DICKE, 1992; VET *et al.*, 1995; STEIDLE e VAN LOON, 2002).

Nei sistemi qui indagati, *T. brassicae* è una specie piuttosto polifaga che attacca almeno 25 specie di lepidotteri appartenenti a diverse famiglie, su piante molto diverse (ORR *et al.*, 2000; BABENDREIER *et al.*, 2003). Come per altri *Trichogramma* spp. (NORDLUND, 1994), anche per questo parassitoide si può quindi prevedere un importante ruolo dell'esperienza.

A conferma di quanto detto, le femmine di *T. brassicae* hanno risposto ai sinomoni per contatto solo dopo essere state esposte a piante con uova dell'ospite e averle parassitizzate; di conseguenza per gli esperimenti gli autori hanno utilizzato solamente femmine esperte (FATOUROS *et al.*, 2005a) (Tab. 1). Nel caso di *T. busseolae* e *T. brochymenae*, invece, le femmine inesperte rispondevano in maniera soddisfacente e non è stato necessario ricorrere all'apprendimento associativo (Tab. 1).

MECCANISMI D'INDUZIONE

Ovideposizione vs. punture trofiche

Nel sistema fava (o fagiolino) (Leguminosae) – *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae) – *Trissolcus basalis* Woll. (Hymenoptera: Scelionidae), perché avvenga l'induzione di sinomoni volatili è necessario che il pentatomide, oltre ad ovideporre, si alimenti a carico delle stesse piante (COLAZZA *et al.*, 2004a). Tuttavia, nel caso di *M. histrionica* su cavolo, il parassitoide ha risposto non solo a stimoli di contatto provenienti da foglie con ovideposizioni e punture trofiche, ma anche a foglie con sole ovideposizioni o con sole punture. D'altronde, in un confronto diretto tra una foglia con ovideposizione e punture trofiche e una con sole punture, il parassitoide ha mostrato una preferenza significativa per le prime (CONTI *et al.*, dati non pubblicati). In base ai dati disponibili ad oggi, quindi, anche nel caso di *M. histrionica* l'induzione potrebbe essere il risultato dell'azione combinata dell'ovideposizione e delle punture trofiche, ma ulteriori indagini sono necessarie per valutare se gli effetti delle due componenti sono additivi o sinergici.

Eventuali lesioni da ovideposizione

Un altro aspetto da considerare riguarda la presenza di eventuali lesioni dei tessuti vegetali associate con l'ovideposizione, in quanto si è visto in alcuni sistemi che le ferite possono influire sui meccanismi d'induzione (HILKER e MEINERS, 2006). Come già accennato, *P. brassicae*, *S. nonagrioides* e *M. histrionica* non provocano lesioni fisiche visibili al momento dell'ovideposizione. Tuttavia, allo stato attuale non è possibile escludere dai meccanismi d'induzione l'effetto di eventuali microlesioni e/o danni biochimici.

In particolare, forse in seguito alla chiusura degli stomi o ad una reazione di ipersensibilità, foglie di cavolo con uova di *P. brassicae* possono presentare aree lievemente imbrunite per il contatto con il secreto colaterale (HILKER e MEINERS, 2006). Similmente in *Brassica nigra* Koch

con ovideposizioni di *Pieris rapae* (L.) o *Pieris napi* (L.) sono state osservate necrosi del tessuto vegetale in corrispondenza dell'ovatura (SHAPIRO e DE VAY, 1987). Inoltre, foglie di cavolo di Bruxelles con ovideposizioni di *P. brassicae* possono presentare occasionalmente piccoli graffi superficiali di origine sconosciuta (HILKER e MEINERS, 2006).

In considerazione della particolare modalità di ovideposizione di *S. nonagrioides*, che solleva con l'ovopositore la guaina fogliare del mais per infilarvi le uova (CONTI e BIN, 2000), sarà quindi necessario verificare, anche in questo caso, l'eventuale presenza di microlesioni. Non si sono osservati invece imbrunimenti o altre variazioni cromatiche attribuibili al secreto colleterico.

Fonte dell'induttore

Da quanto detto precedentemente, in tutti e tre i casi studiati l'induttore è verosimilmente associato all'uovo deposto e/o al secreto utilizzato per incollarlo al substrato.

Nel caso di *M. histrionica* su cavolo, l'adesivo viene prodotto dalle cellule follicolari e ricopre le uova ovariche già durante il loro sviluppo, rendendo particolarmente difficoltosa, se non impossibile, la separazione tra le due possibili fonti. Uova ovariche appoggiate artificialmente sulle foglie hanno comunque provocato induzione nelle piante di cavolo (CONTI *et al.*, dati non pubblicati) (Tab. 1).

Nel caso dei lepidotteri, invece, il secreto è prodotto dalle ghiandole colleteriche che sboccano nell'ovidutto comune, rendendo facilmente realizzabile la separazione delle due possibili fonti dell'induttore. In biosaggi condotti con piante di mais con uova ovariche di *S. nonagrioides*, quindi prive del secreto colleterico, e piante con il solo secreto colleterico, entrambi applicati artificialmente sotto la guaina fogliare, *T. busseolae* ha risposto solamente alle piante con uova ovariche (SALERNO *et al.*, dati non pubblicati). L'induttore sarebbe quindi localizzato nelle uova o sulla superficie del corion, e il secreto, quando ancora fresco, potrebbe agevolare il trasferimento sulla foglia (Tab. 1).

In un recente lavoro è stata mostrata la presenza di acido giasmonico nelle uova di diversi lepidotteri, inclusi alcuni nottuidi, il che fornirebbe una possibile spiegazione dei meccanismi di resistenza vegetale, diretta e indiretta, indotta da ovideposizione (TOOKER e DE MORAES, 2005). Sarebbe quindi utile valutare la presenza di acido giasmonico anche nelle uova dei due lepidotteri *S. nonagrioides* e *P. brassicae* e persino del pentatomide *M. histrionica*.

DISTRIBUZIONE DEL SINOMONE SULLA PIANTA

Il significato evolutivo dei sinomoni indotti, come accennato, può essere spiegato in termini di un'elevata affidabilità del segnale in combinazione con la possibilità di essere facilmente individuato dagli entomofagi, grazie alla superiore biomassa dell'organismo emittente, cioè la pianta, rispetto a quella del fitofago (VET e DICKE, 1992; VAN LENTEREN, 2006). L'ampiezza della superficie di rilascio del sinomone appare quindi importante, in quanto ne determinerebbe almeno in parte la quantità emessa. A conferma di ciò, va osservato che l'emissione di sinomoni volatili avviene in maniera sistemica, cioè oltre che da parte della foglia attaccata anche da foglie non interessate dall'ovideposizione (COLAZZA *et al.*, 2004a; HILKER e MEINERS, 2006).

Per ciò che riguarda i sinomoni che agiscono per contatto, la loro distribuzione sull'intera superficie della pianta fornirebbe immediatamente, ai parassitoidi che si posassero su un punto qualsiasi di essa, un'informazione affidabile sulla presenza delle uova ospiti. Di fatto, l'esistenza di un loro rilascio sistemico è stata dimostrata per *S. nonagrioides* su mais (SALERNO *et al.*, 2006) e *M. histrionica* su cavolo (CONTI *et al.*, dati non pubblicati), ma non per *P. brassicae* su cavolo (FATOUROS *et al.*, 2005a) (Tab. 1). In figura 2 sono schematizzate le risposte dei parassitoidi ai sinomoni per contatto indotti da ovideposizione, localmente e sistemicamente, rispetto ai sinomoni volatili (cfr. anche paragrafo seguente).

In particolare *T. busseolae*, rilasciato sull'apice della terza foglia, ha risposto significativamente a piante con uova deposte sotto la guaina della prima foglia, mostrando un comportamento di arresto e un'intensificazione del comportamento di ricerca, con riduzione del tempo necessario a raggiungere il culmo (SALERNO *et al.*, 2006). Similmente, su una pianta molto diversa come il cavolo, *T. brochymenae* ha risposto, con un incremento significativo del tempo di permanenza rispetto al controllo, a foglie prelevate sull'internodo superiore o inferiore rispetto alla foglia interessata da ovideposizione e alimentazione ad opera di *M. histrionica*. Sempre su cavolo, invece, la mancanza di un'induzione sistemica quando le uova sono deposte da *P. brassicae*, farebbe pensare a meccanismi differenti, sia nell'interazione pianta-fitofago che nel comportamento dei rispettivi parassitoidi. D'altro canto in questo sistema *T. brassicae* risponde significativamente a porzioni fogliari prelevate a breve/media distanza da un'ovatura, ma che non erano mai state in contatto con l'ospite, indicando che l'induzione si distribuisce sulla foglia (FATOUROS *et al.*, 2005a). L'informazione sulla presenza dell'ospite verrebbe acquisita quindi solo al contatto con la foglia direttamente interessata dall'ovideposizione.

Un'induzione locale a breve distanza, sulla stessa foglia, è stata osservata anche per *T. brochymenae* in combinazione con l'effetto sistemico (CONTI *et al.*, dati non pubblicati), mentre non è stata indagata nel caso di *T. busseolae*.

EVENTUALE VOLATILITÀ DEI SINOMONI INDOTTI

Un'eventuale risposta olfattiva dei parassitoidi, nei tre sistemi tritrofici indagati, indicherebbe una parziale volatilità dei sinomoni percepiti per contatto o, in alternativa, la presenza di composti volatili in aggiunta a quelli scarsamente volatili. Sono state quindi condotte delle prove utilizzando olfattometri a Y, con flusso d'aria, per valutare la presenza di sostanze volatili a medio-lungo raggio, e olfattometri statici, cioè senza flusso, per sostanze volatili a breve raggio.

In olfattometro a Y, nessuno dei parassitoidi ha mostrato preferenza verso piante con ovideposizioni rispetto a piante indenni (FATOUROS *et al.*, 2005a; SALERNO *et al.*, 2006; CONTI *et al.*, dati non pubblicati), suggerendo l'assenza di sinomoni indotti volatili, o in alternativa una loro presenza non valutabile mediante la strumentazione utilizzata. Ulteriori prove sono in corso per verificare eventuali risposte di *T. busseolae* e *T. brochymenae* a sinomoni volatili.

In olfattometro statico, *T. brochymenae* ha risposto a porzioni di foglie direttamente interessate dall'ovideposizione di *M. histrionica*, ma dalle quali le uova erano state rimosse (CONTI *et al.*, dati non pubblicati). In un olfattometro statico con struttura diversa, invece, *T. brassicae* non ha risposto a piante con ovideposizioni di *P. brassicae* (FATOUROS *et al.*, 2005a), mentre questo aspetto non è stato indagato nel caso di *T. busseolae*.

Possiamo quindi affermare che in almeno uno dei sistemi studiati esiste, oltre ad una risposta per contatto, anche una risposta olfattiva a breve, o brevissimo, raggio, il cui eventuale significato evolutivo nell'ambito della sequenza di stimoli che portano alla localizzazione dell'ospite deve essere ancora indagato (Tab. 1, fig. 2.B).

EVOLUZIONE TEMPORALE DELL'INDUZIONE

Tempi di attivazione

I tempi di attivazione delle difese indirette indotte da ovideposizione, intesi qui come il periodo trascorso dall'inizio dell'esposizione della pianta al fitofago ospite al momento in cui il parassitoide mostra una

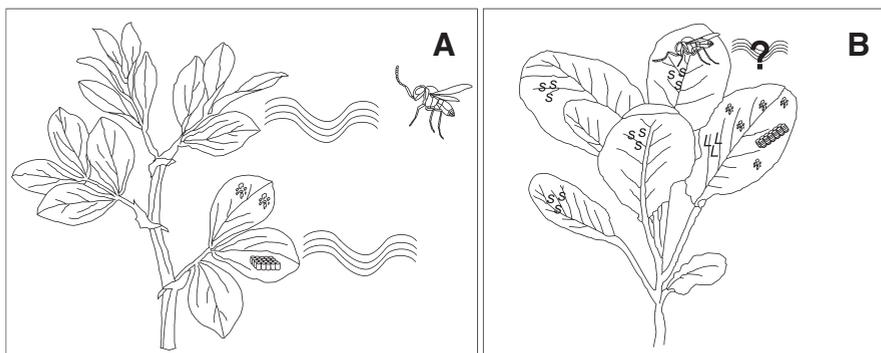


Fig. 2

Confronto tra le risposte di Imenotteri ooparassitoidi a sinomoni indotti. A) sinomoni volatili rilasciati sistemicamente. B) sinomoni che agiscono per contatto, eventualmente in combinazione con attività volatile a breve o brevissimo raggio, rilasciati sistemicamente (S) o localmente dalla sola foglia con le uova ospiti (L).

risposta significativa, variano nei diversi sistemi, come già osservato nel caso di induzione di sinomoni volatili (HILKER e MEINERS, 2006; COLAZZA e PERI, 2006). Nel caso dei sinomoni per contatto, i tempi di attivazione vanno da circa 18 ore per il sistema crucifera – pentatomide – scelionide, sia per l’induzione locale che per quella sistemica, a 24 ore per il sistema graminacea – noctuidae – scelionide, e a 72 ore nel caso di crucifera – pieride – tricogrammatide (FATOUROS *et al.*, 2005a; SALERNO *et al.*, 2006; CONTI *et al.*, dati non pubblicati) (Tab. 1). Nel complesso, i tempi di attivazione potrebbero dipendere dalla fisiologia della pianta e dai meccanismi biochimici che portano all’induzione, per ora del tutto sconosciuti, mentre dal punto di vista della co-evoluzione è utile considerare che le uova di *S. nonagrioides* e *M. histrionica* sono idonei alla parassitizzazione fin da poche ore dopo l’ovideposizione (osservazioni personali), mentre le uova di *P. brassicae* presentano il massimo dell’idoneità dopo 72 ore. Questi dati mostrerebbero interessanti correlazioni tra i tempi di induzione dei sinomoni e l’idoneità delle uova alla parassitizzazione.

Durata del segnale

Anche la durata del segnale sinomonale appare almeno in parte correlata alla durata dell’idoneità delle uova del fitofago per la parassitizzazione, come è stato osservato sia per i sinomoni volatili indotti da ovideposizione (COLAZZA *et al.*, 2004a) che per i sinomoni per contatto. In particolare, con riferimento a questi ultimi, *T. brochymenae* non risponde più a piante di cavolo con ovatura ospite se sono trascorse più di 100 ore

dall'ovideposizione, quando le uova sono ormai schiuse (CONTI *et al.*, dati non pubblicati). D'altro canto, *T. brassicae* prosegue a mostrare preferenza, anche se con minore intensità, per piante con uova dell'ospite anche dopo 96 ore, quando sono ormai scarsamente idonee (FATOUROS *et al.*, 2005a) (Tab. 1).

INDUZIONE DI SINOMONI O ALTRI MECCANISMI?

Sebbene i risultati mostrati fin qui forniscono indicazioni credibili sull'esistenza, nei tre sistemi tri-trofici studiati, di meccanismi d'induzione di sinomoni che agiscono per contatto, è ora necessario considerare anche l'eventualità che intervengano meccanismi diversi dall'induzione.

Una prima possibile alternativa all'induzione, peraltro ampiamente considerata negli studi condotti, riguarda la presenza sulla superficie delle piante di contaminanti provenienti dalle femmine dell'ospite, come le squame dei lepidotteri (LAING, 1937; VINSON, 1991; 1998; COLAZZA e ROSI, 2001; SALERNO *et al.*, 2002) e le impronte chimiche di *M. histrionica* (CONTI *et al.*, 2003), o dalle uova stesse, come i feromoni deterrenti l'ovideposizione di conspecifici nel caso di *P. brassicae* (ANDERSON, 2002), o in genere qualunque altro stimolo cairomonale proveniente dall'ospite (es. secreto adesivo ed escrementi). Tuttavia, mediante esperimenti appositamente disegnati, è stato possibile separare gli stimoli cairomonali da quelli sinomoni.

In particolare, nei sistemi graminacea – nottuide – scelionide e crucifera – pentatomide – scelionide, tale risultato è stato ottenuto, come già descritto (cfr. «Meccanismi d'induzione - Fonte dell'induttore»), collocando artificialmente le uova ospiti sulle piante che, perciò, non erano state a contatto con le rispettive femmine ospiti; queste piante erano risultate comunque attive nei confronti di *T. busseolae* e *T. brochymenae* (SALERNO *et al.*, CONTI *et al.*, dati non pubblicati).

Nel sistema crucifera – pieride – tricogrammatide, invece, è stato possibile escludere l'attività cairomonale mediante biosaggi condotti a intervalli di tempo crescenti dall'esposizione; è stato così mostrato un affievolirsi degli stimoli cairomonali, che sono spariti dopo 48 ore, e la comparsa dopo 72 ore di nuovi stimoli, attribuiti ad induzione (FATOUROS *et al.*, 2005a). A rafforzare questa interpretazione interviene, in piante di cavolo con ovature di *P. brassicae*, un meccanismo di deterrenza all'ovideposizione nei confronti di conspecifici, che dipenderebbe, come suggerito dagli autori, da una modificazione chimica nella pianta anziché da stimoli provenienti dalle femmine o dalle uova (BLAAKMEER *et al.*, 1994).

Una seconda possibile spiegazione alternativa all'induzione riguarda la possibilità che odori provenienti dall'ospite siano adsorbiti dalle cere cuticolari delle piante, come dimostrato per *Mamestra brassicae*, il cui feromone sessuale, adsorbito dalle foglie di cavolo durante la notte, viene utilizzato durante il giorno da *Trichogramma evanescens* (NOLDUS, 1989). Ma anche in questo caso, gli esperimenti già descritti per i sistemi crucifera – pentatomide – scilionide e graminacea – nottuide – scilionide, in cui è stato possibile escludere la presenza delle femmine ovideponenti (CONTI *et al.*, SALERNO *et al.*, dati non pubblicati), e per il sistema crucifera – pieride – tricogrammatide, in cui è stata ottenuta una separazione temporale tra cairomoni e sinomoni (FATOUROS *et al.*, 2005a), permettono di confutare l'effetto di eventuali adsorbimenti cuticolari. Un'ulteriore conferma, per *T. brochymenae*, proviene dal fatto che piante di cavolo senza uova o punture trofiche, pur essendo state in contatto con il fitofago per lo stesso periodo di tempo, non hanno determinato nei parassitoidi alcuna riposta (CONTI *et al.*, dati non pubblicati).

Un terza possibile spiegazione alternativa all'induzione riguarderebbe la possibilità che composti presenti sulle uova si diffondano nella pianta, a livello fogliare o sistemico, venendo poi rilasciati sulla superficie. L'eventualità di una traslocazione o diffusione fogliare dovrebbe essere valutata attentamente soprattutto nel caso di *P. brassicae* su cavolo, perché *T. brassicae* risponde solamente a stimoli presenti sulla foglia dove era avvenuta l'ovideposizione (FATOUROS *et al.*, 2005a). Tuttavia, nel caso di *S. nonagrioides* su mais e *M. histrionica* su cavolo, in cui i rispettivi parassitoidi, *T. busseolae* e *T. brochymenae*, rispondono alla pianta intera suggerendo un'induzione sistemica, appare improbabile che, data la limitatissima biomassa del sistema uovo-secreto, quantitativi così ridotti di materiale possano distribuirsi nella pianta per poi trasudare esternamente mantenendo alti livelli di attività. Occorre inoltre considerare che l'induzione di sinomoni da ovideposizione, sia pur volatili, è stata già dimostrata per un sistema simile (COLAZZA *et al.*, 2004a, 2004b).

D'altro canto, un'ulteriore informazione che deporrebbe a favore dei sinomoni per contatto indotti da ovideposizione riguarda le risposte di ipersensibilità, mostrate da piante appartenenti a diverse specie, nei confronti di ovideposizioni da parte di fitofagi (HILKER *et al.*, 2002; HILKER e MEINERS, 2006). In particolare, abbiamo già detto (cfr. «Meccanismi d'induzione - Eventuali lesioni da ovideposizione») che risposte di ipersensibilità sono state osservate in *Brassica nigra* in seguito ad ovideposizione da parte di *P. rapae* e *P. napi*, con necrosi del tessuto vegetale in corrispondenza dell'ovatura dopo 24 ore, e conseguente disseccamento dell'ovatura nell'arco di tre giorni (SHAPIRO e DE VAY, 1987). Questa

informazione, insieme agli imbrunimenti osservati intorno alle ovature di *P. brassicae* su cavolo (HILKER e MEINERS, 2006), rafforzerebbe l'ipotesi della risposta vegetale rispetto a quella della diffusione di caïromoni dell'ospite.

Possiamo dunque affermare che, allo stato attuale delle conoscenze, la spiegazione dell'induzione di sinomoni appare la più probabile nei tre sistemi indagati, anche se alcune spiegazioni alternative non potranno essere escluse con assoluta certezza finché non saranno identificati i sinomoni e gli induttori coinvolti.

RUOLO DEI SINOMONI PER CONTATTO INDOTTI DA OVIDEPOSIZIONE NEL PROCESSO DI LOCALIZZAZIONE DELL'OSPITE

Alla luce delle nuove acquisizioni sui sinomoni indotti che agiscono per contatto, è possibile riconsiderare la funzione dei diversi stimoli che mediano la ricerca dell'ovatura ospite da parte dei parassitoidi nei tre sistemi indagati. Ciò avviene nell'ambito di sequenze gerarchiche, o alternative, di stimoli che seguirebbero un ordine tendenzialmente decrescente per la possibilità di essere individuati e crescente per affidabilità (fig. 3).

Trichogramma brassicae, così come d'altro canto altri *Trichogramma* spp., risponde a sinomoni volatili costitutivi e al feromone sessuale della femmina ospite, ma a causa delle sue dimensioni piccolissime probabilmente, sulle lunghe distanze, non è in grado di orientarsi verso fonti di volatili e i suoi spostamenti dipenderebbero soprattutto dalle correnti aeree (NORDLUND, 1994). Recentemente è stato mostrato che *T. brassicae* presenta un comportamento foretico nei confronti di *P. brassicae*, per cui si avvale della femmina dell'ospite come vettore per avvicinarsi alla zona dove avverrà l'ovideposizione, utilizzando come stimolo il feromone anti-afrodisiaco trasferito dal maschio alla femmina dell'ospite dopo l'accoppiamento (FATOUROS *et al.*, 2005b). I sinomoni indotti che agiscono per contatto, emessi dalla foglia che porta le uova, rappresenterebbero quindi lo stimolo successivo che, inducendo un comportamento di arresto, faciliterebbe la localizzazione finale dell'ospite. Effetto simile potrebbero avere le squame della femmina ospite, ma data la loro durata limitata e non correlata all'età di massima idoneità delle uova (cfr. «Evoluzione temporale dell'induzione»), il loro ruolo caïromonale deve essere tuttora chiarito (fig. 3.A).

Telenomus busseolae è attirato in olfattometro dal feromone sessuale emesso dalla femmina di *S. nonagrioides* (COLAZZA *et al.*, 1997). Questo stimolo, che è facilmente individuabile perché prodotto in grandi quan-

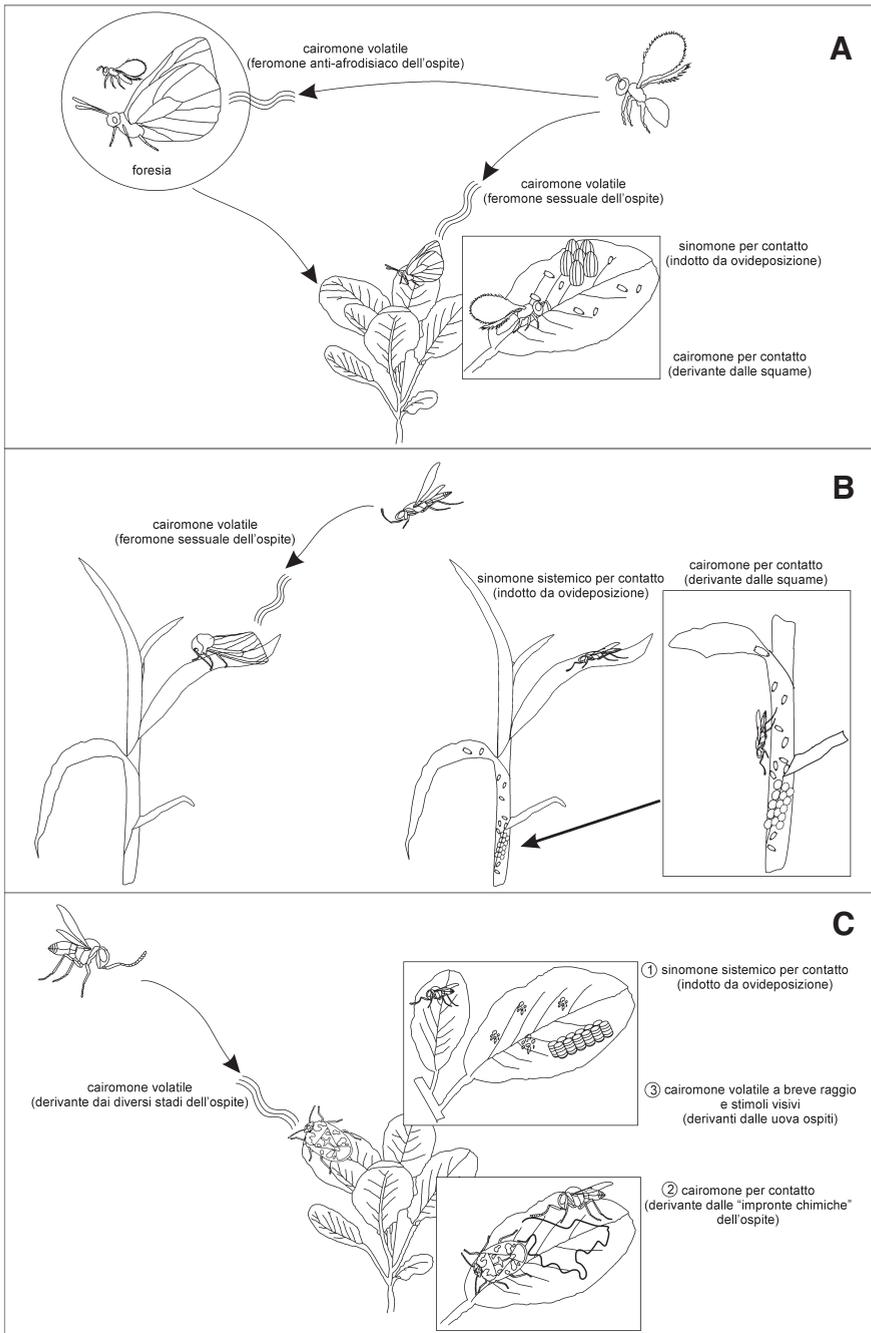


Fig. 3

Tipo e origine degli stimoli semiochimici (caiomoni e sinomoni indotti) utilizzati nei tre sistemi trofici: A) crucifera-pieride-tricogrammatide; B) graminacea-nottuide-sclionide; C) crucifera-pentatomide-sclionide.

tità, ma poco affidabile in quanto non fornisce informazioni precise sulla presenza delle uova ospiti, sarebbe utilizzato per localizzare la comunità dell'ospite. Successivamente, raggiunto il contatto con una pianta, i sinomoni indotti da ovideposizione, sistemici, fornirebbero un'informazione affidabile sull'eventuale presenza dell'ovatura ospite su quella pianta, determinando una risposta di arresto e un'intensificazione della ricerca. Infine, le squame della femmina ospite (COLAZZA e ROSI, 2001), concentrate soprattutto vicino alla zona di ovideposizione, determinerebbero un ulteriore arresto nell'area con le uova, aumentando la probabilità di una loro localizzazione (fig. 3.B).

Trissolcus brochymenae risponde, in olfattometro, a composti volatili provenienti dai vari stadi dell'ospite, incluse le uova, mostrando una preferenza per le femmine gravide (CONTI *et al.*, 2003). Come *T. busseolae*, *T. brochymenae* utilizzerebbe questi stimoli cairomonali per raggiungere la comunità dell'ospite. Successivamente i sinomoni per contatto, sistemici, determinerebbero in questo parassitoide un comportamento di arresto sulla pianta contenente uova ospiti. Nelle fasi seguenti del processo di localizzazione dell'ospite, possono intervenire le tracce (impronte) chimiche lasciate da diversi stadi dell'ospite sul substrato, stimoli volatili a breve raggio provenienti dalle uova ospiti e, infine, stimoli visivi dalle stesse (CONTI *et al.*, 2003) (fig. 3.C).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Tra i diversi stimoli utilizzati dagli ooparassitoidi per localizzare le uova ospiti, i sinomoni indotti da ovideposizione appaiono particolarmente utili a causa della loro elevata affidabilità e possibilità di essere individuati. Nei differenti sistemi, questi stimoli possono essere utilizzati in fasi diverse del processo di selezione dell'ospite, nell'ambito di sequenze gerarchiche o in alternativa a stimoli cairomonali e fisici. In particolare, i sinomoni volatili interverrebbero nella fase di localizzazione a distanza, mentre i sinomoni per contatto interverrebbero nella fase di ricerca sulla pianta, o sulla singola foglia.

Occorre tuttavia considerare che, mentre nel caso di induzione di sinomoni volatili da ovideposizione le ricerche sono iniziate da circa un decennio, le indagini sui sinomoni percepiti per contatto sono recentissime e i meccanismi biochimici in questo caso sono del tutto sconosciuti. Anche le modalità di distribuzione di questi sinomoni sulla superficie delle piante e la loro eventuale natura di essudati fogliari devono essere ancora indagati.

Le prossime ricerche dovranno anzitutto focalizzare l'attenzione sulla composizione chimica di questi sinomoni e sugli induttori. Solo così sarà in seguito possibile definire con esattezza il ruolo ecologico di questa nuova tipologia di sinomoni, nell'ambito del complesso di caratteristiche chimiche e fisiche che definiscono l'«unità ospite» (CONTI *et al.*, 2002; 2004) per i parassitoidi oofagi.

RINGRAZIAMENTI

Lavoro finanziato dai seguenti progetti di ricerca: PRIN 2004 «Difese indirette e dirette delle crucifere nei confronti di Eterotteri: attività e caratterizzazione di sinomoni indotti e di inibitori delle poligalatturonasi», PRIN 2005 «Studio dei meccanismi di localizzazione e riconoscimento dell'ospite da parte di *Telenomus busseolae* per il potenziamento del controllo biologico», e FISR «Sistemi e metodi di agricoltura per il miglioramento della qualità delle produzioni vegetali e dell'ambiente SIMBIO-VEG».

Si ringrazia il Prof. Stefano Colazza, Università degli Studi di Palermo, per gli utili suggerimenti.

RIASSUNTO

I sinomoni indotti da ovideposizione che agiscono per contatto sono ad oggi conosciuti per i seguenti sistemi tri-trofici: 1) *Brassica oleracea* var. *gemmifera* (Cruciferae) – *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) – *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae); 2) *Zea mays* (Gramineae) – *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) – *Telenomus busseolae* (Hymenoptera: Scelionidae); 3) *Brassica oleracea* – *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae) – *Trissolcus brochymenae* (Hymenoptera: Scelionidae). Nei tre sistemi le uova sono incollate al substrato mediante secreti adesivi, senza lesioni fisiche visibili. La fonte dell'induzione è rappresentata dalle uova del nottuide nel caso del mais, mentre non si conosce attualmente il ruolo delle uova rispetto a quello del secreto adesivo del pieride e del pentatomide nel caso delle piante di cavolo. Per queste ultime esisterebbe inoltre un effetto, additivo o sinergico, dovuto alle punture di alimentazione del pentatomide. L'induzione è sistemica su mais ed è locale su cavolo con uova del pieride, mentre è sia locale che sistemica su cavolo attaccato dal pentatomide. La percezione di questi sinomoni da parte dei parassitoidi avverrebbe solo per contatto, ad eccezione dell'attività volatile a breve o brevissimo raggio rilevata nel sistema crucifera – pentatomide – scelionide. I tempi di induzione dei sinomoni e, in un caso, la durata del segnale, appaiono correlati con il periodo di idoneità delle uova ospiti. Nel complesso, i sinomoni per contatto indotti da ovideposizione sembrano svolgere un ruolo importante nel processo di localizzazione dell'ospite, dopo l'atterraggio del parassitoide sulla pianta. La loro attività si inserisce nella sequenza gerarchica dei diversi stimoli cainomali e sinomoni, volatili e per contatto, dei tre sistemi studiati. Ricerche in corso o in programmazione permetteranno di approfondire il ruolo ecologico di tali semiochimici e chiarirne la natura chimica e le vie metaboliche che determinano l'induzione.

SUMMARY

INDIRECT PLANT DEFENSES: OVIPOSITION-INDUCED CONTACT SYNONOMES

The contact synomones induced by herbivore oviposition are currently known for three tri-trophic systems: 1) *Brassica oleracea* var. *gemmifera* (Cruciferae) – *Pieris brassicae* (Lepidoptera: Pieridae) – *Trichogramma brassicae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae); 2) *Zea mays* (Gramineae) – *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae) – *Telenomus busseolae* (Hymenoptera: Scelionidae); 3) *Brassica oleracea* – *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae) – *Trissolcus brochymenae* (Hymenoptera: Scelionidae). In all these systems, eggs are glued on the substrate using adhesive secretions from the host female, without apparent physical lesions. In the case of maize, the source of the elicitor is the host egg, whereas regarding *P. brassicae* on Brussels sprouts and *M. histrionica* on cabbage plants, the role of the eggs versus the adhesive secretions is unknown. In addition, an additive or synergistic effect due to *M. histrionica* feeding punctures may occur. The induction is systemic on maize, whereas it is local on Brussels sprouts and both local and systemic on cabbage plants. These synomones are perceived after the parasitoid has contacted the plant, except for the short-range activity found in the system cabbage – bug – scelionid. Induction time and, in a single case, signal duration, are apparently related to the period of suitability of the host eggs. In general, oviposition-induced contact synomones seem to have an important role in the host location process after parasitoids' landing on the plant. These synomones apparently act as components of the hierarchic sequences of volatile and contact cues (synomones and kairomones) involved in the systems studied here. Research is in progress, or has been planned, to elucidate the ecological role of the oviposition-induced contact synomones and to identify their chemical composition as well as the biochemical pathways involved in their induction.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERSON P., 2002 – *Oviposition pheromones in herbivorous and carnivorous insects*. In: Hilker M., Meiners T. (Eds.), *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*. Blackwell, Berlin. pp. 235-263.
- BABENDREIER D., KUSKE S., BIGLER F., 2003 – *Non-target host acceptance and parasitism by Trichogramma brassicae Bezdenko (Hymenoptera: Trichogrammatidae) in the laboratory*. - *Biol. Control*, 26: 128-138.
- BELL W.J., 1990 – *Searching behaviour: the behavioural ecology of finding resources*. Chapman & Hall, London.
- BIN F., CONTI E., SALERNO G., 2003 – *Interazioni insetto-pianta: i meccanismi di difesa «indiretta»*. - *Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia. Rendiconti Anno LI*: 173-178.
- BLAAKMEER A., HAGENBEEK D., VAN BEEK T.A., DE GROOT A.E., SCHOONHOVEN L.M., VAN LOON J.J.A., 1994 – *Plant response to eggs vs. host marking pheromone as factors inhibiting oviposition by Pieris brassicae*. - *J. Chem. Ecol.*, 20: 1657-1665.
- CHABI-OLAYE A., SCHULTHESS F., SHANOWER T.G., BOSQUE-PEREZ N.A., 1997 – *Factors influencing the developmental rates and reproductive potentials of Telenomus busseolae (Gahan) (Hym. Scelionidae), an egg parasitoid of Sesamia calamistis Hampson (Lep. Noctuidae)*. - *Biol. Control*, 8: 15-21.
- COLAZZA S., FUCARINO A., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2004a – *Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids*. - *J. Exp. Biol.* 207: 47-53.
- COLAZZA S., McELFRESH J.S., MILLAR J.G., 2004b – *Identification of volatile synomones, induced by Nezara viridula feeding and oviposition on bean spp., that attract the egg parasitoid Trissolcus basalus*. - *J. Chem. Ecol.*, 30: 945-964.
- COLAZZA S., PERI E., 2006 – *Meccanismi di difesa indiretta delle piante: il caso dei sinomoni volatili indotti con l'ovideposizione*. - *Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti Anno LIV*: 111-127.

- COLAZZA S., ROSI M.C., 2001 – *Differences in the searching behaviour of two strains of the egg parasitoid Telenomus busseolae (Hymenoptera: Scelionidae)*. - Europ. J. Entomol., 98: 47-52.
- COLAZZA S., ROSI M.C., CLEMENTE A., 1997 – *Response of egg parasitoid Telenomus busseolae to sex pheromone of Sesamia nonagrioides*. - J. Chem. Ecol., 11: 2437-2444.
- COLAZZA S., SALERNO G., WAJNBERG E., 1999 – *Volatile and contact chemicals released by Nezara viridula (Heteroptera: Pentatomidae) have a kairomonal effect on the egg parasitoid Trissolcus basalis (Hymenoptera: Scelionidae)*. - Biol. Control, 16: 310-317.
- CONTI E., BIN F., 2000 – *Parasitoids of concealed Noctuid eggs and their potential in biological control of gramineae stemborers*. - Redia, LXXXIII: 87-104.
- CONTI E., JONES W.A., BIN F., VINSON S.B., 1996 – *Physical and chemical factors involved in host recognition behavior of Anaphes iole Girault, an egg parasitoid of Lygus hesperus (Knight) (Hym.: Mymaridae; Het.: Miridae)*. - Biol. Control, 7: 10-16.
- CONTI E., JONES W.A., BIN F., VINSON S.B., 1997 – *Oviposition behavior of Anaphes iole Girault, an egg parasitoid of Lygus hesperus (Hymenoptera: Mymaridae; Heteroptera: Miridae)*. - Ann. Entomol. Soc. Am., 90: 91-101.
- CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S.B., 2002 – *L'«Unità ospite» quale mezzo per la valutazione della specificità nei parassitoidi*. - XIX Congresso nazionale Italiano di Entomologia, 10-15 giugno 2002, Catania, Italy, p. 111.
- CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S.B., 2004 – *The role of host semiochemicals in parasitoid specificity: a case study with Trissolcus brochymenae and Trissolcus simoni on pentatomid bugs*. - Biological Control, 29: 435-444.
- CONTI E., SALERNO G., BIN F., WILLIAMS H. J., VINSON S.B., 2003. – *Chemical cues from Murgantia histrionica eliciting host location and recognition in the egg parasitoid Trissolcus brochymenae*. - J. Chem. Ecol., 29: 115-130.
- DE SANTIS F., CONTI E., ROMANI R., SALERNO G., PARILLO F., BIN F. – *Colleterial glands of Sesamia nonagrioides as a source of the host recognition kairomone for the egg parasitoid Telenomus busseolae*. - Physiol. Entomol. (inviato alla rivista).
- DICKE M., HILKER M., 2003 – *Induced plant defences: from molecular biology to evolutionary ecology*. - Basic Appl. Ecol., 4: 3-14.
- DICKE M., VAN LOON J.J.A., 2000 – *Multi-trophic effects of herbivore plant volatiles in a evolutionary context*. - Entomol. Exp. Appl., 97: 237-249.
- DICKE M., VAN POECKE R.M.P., DE BOER J.G., 2003 – *Inducible indirect defence of plants: from mechanism to ecological functions*. - Basic Appl. Ecol., 4: 27-42.
- FATOUROS N.E., BUKOVINSKINE-KISS G., KALKERS L.A., GAMBARENA R.S., DICKE M., HILKER M., 2005a – *Oviposition-induced plant cues: do they arrest Trichogramma wasps during host location?* - Entomol. Exp. Appl., 115: 207-215.
- FATOUROS N.E., HUIGENS M.E., VAN LOON J.J.A., DICKE M., HILKER M., 2005b – *Butterfly anti-aprodisiac lures parasitic wasp*. - Nature, 433: 704.
- HILKER M., MEINERS T., 2006 – *Early herbivore alert: insect eggs induce plant defence*. - J. Chem. Ecol., 32: 1379-1397.
- HILKER M., ROHFRIETSCH O., MEINERS T., 2002 – *The plant's response towards insect egg deposition*. In: Hilker M., Meiners T. (Eds.), Chemoecology of insect eggs and egg deposition. Blackwell, Berlin. pp. 205-233.
- LAING J., 1937 – *Host finding by insect parasites I. Observations on the finding of host by Alysia manducator, Mormoniella vitripennis, and Trichogramma evanescens*. - J. Animal. Ecol., 6: 298-317.
- LI LI-YING, 1994 – *Worldwide use of Trichogramma for biological control on different crops: a survey*. In: Wajnberg E., Hassan S.A. (Eds.), Biological control with egg parasitoids, CAB International, pp. 37-53.
- MANRIQUE V., JONES W.A., WILLIAMS III L.H., BERNAL J., 2005 – *Olfactory responses of Anaphes iole (Hymenoptera: Mymaridae) to volatile signals derived from host habitat*. - J. Insect Behav., 18: 89-104.
- MCPHERSON J.E., 1982 – *The Pentatomoidea (Hemiptera) of Northeastern North America with emphasis on the fauna of Illinois*. Southern Illinois University Press, Carbondale, Illinois, 240 pp.
- NOLDUS L.P.J.J., 1989 – *Semiochemicals, foraging behavior and quality of entomophagous insects for biological control*. - J. Appl. Entomol., 108: 425-451.

- NORDLUND D.A., 1994 – *Habitat location by Trichogramma*. In: Wajnberg E., Hassan S.A. (Eds.), *Biological control with egg parasitoids*, CAB International, pp. 155-163.
- ORR D.B., GARCIA-SALAZAR C., LANDIS D.A., 2000 – *Trichogramma nontarget impacts: A method for biological control risk assessment*. In: Follett P.A., Duan J.J. (Eds.), *Nontarget Effects of Biological Control*. Kluwer Academic Publishers, Norwell/USA, pp. 111-125.
- SALERNO G., CONTI E., BAYRAM A., BIN F., 2002 – *Chemical cues from Sesamia nonagrioides inducing behavioural response in Telenomus busseolae and Trichogramma turkestanica*. IOBC-OILB, Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Production, Working Group Meeting, - Sicily, 22-27 Settembre 2002 pp. 94.
- SALERNO G., DE SANTIS F., CONTI E., BIN F., 2006 – *Host location by Telenomus busseolae on the plant substrate*. 22° ISCE annual Meeting, Barcellona 15-19 July 2006 p. 214.
- SHAPIRO A.M., DEVAY J.E., 1987 – *Hypersensitivity reaction of Brassicae nigra L. (Cruciferae) kills eggs of Pieris butterflies (Lepidoptera: Pieridae)*. - *Oecologia* 71: 631-632.
- STEIDLE J.L.S., VAN LOON J.J.A., 2002 – *Chemoecology of parasitoid and predator oviposition behaviour*. In: Hilker M., Meiners T. (Eds.), *Chemoecology of insect eggs and egg deposition*. Blackwell, Berlin, pp. 291-317.
- TOOKER J.F., DE MORAES C.M., 2005 – *Jasmonate in lepidopteran eggs and neonates*. - *J. Chem. Ecol.*, 31: 2753-2759.
- TURLINGS T.C.J., WACKERS F., 2004 – *Recruitment of predators and parasitoids by herbivore injured plants*. In: Cardé R.T., Millar J.G. (Eds.), *Advances in insect chemical ecology*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 21-75.
- VAN LENTEREN J.C., 2006 – *Phytophagous insects in a multitrophic network*. - *Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti Anno LIV*: 65-87.
- VET L.E.M., DICKE M., 1992 – *Ecology of infochemicals use by natural enemies in tritrophic context*. - *Ann. Rev. Entomol.*, 37: 141-172.
- VET L.E.M., LEWIS W.J., CARDÉ R.T., 1995 – *Parasitoid foraging and learning*. In: Cardé R.T., Bell W.J. (Eds.), *Chemical Ecology of Insects 2*. Chapman & Hall, New York, pp. 65-101.
- VINSON S.B., 1985 – *The behaviour of parasitoids*. In: Kerkut G.A., Gilbert L.I. (Eds.), *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Vol. 9, Pergamon Press, Elmsford, New York, pp 417-469.
- VINSON S.B., 1991 – *Chemical signals used by parasitoids*. In: F. Bin (Ed.), *Insect parasitoids*, 4th European Workshop, Perugia, 3-5 April 1991. Redia, LXXIV, Appendice: 15-42.
- VINSON S.B., 1998 – *The general host selection behavior of parasitoid Hymenoptera and a comparison of initial strategies utilized by larvaphagous and oophagous species*. - *Biol. Control* 11: 79-96.