



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA  
Dipartimento Territorio e sistemi Agro-Forestali  
Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente

Corso di laurea in Tecnologie Forestali e Ambientali

Monitoraggio di *Monochamus galloprovincialis*  
(Coleoptera Cerambycidae) e del nematode associato  
*Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda Aphelenchoi-  
didae) in pinete alpine del Veneto

Relatore

Prof. Massimo Faccoli

Correlatore

Dott. Mauro Simonato

Dott. Edoardo Petrucco Toffolo

Laureando

Tobia Duca

Matricola n. 1029662

ANNO ACCADEMICO 2013/2014



# INDICE

<b>RIASSUNTO</b>	<b>4</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>5</b>
<b>1 INTRODUZIONE</b>	<b>6</b>
1.1 <i>Le invasioni biologiche</i>	6
1.2 <i>Il monitoraggio delle specie esotiche</i>	8
1.3 <i>Monochamus galloprovincialis e Bursaphelenchus xylophilus</i>	<b>10</b>
1.3.1 <i>Monochamus galloprovincialis (Coleoptera; Cerambycidae)</i>	10
1.3.2 <i>Bursaphelenchus xylophilus (Nematoda; Aphelenchoididae)</i>	13
1.3.3 <i>Il deperimento del pino: sintomatologia e danni.</i>	15
1.3.4 <i>Strategie di controllo</i>	17
1.4 <i>Obiettivi della tesi</i>	<b>18</b>
<b>2 MATERIALI E METODI</b>	<b>19</b>
2.1 <i>La pianta ospite: il pino silvestre</i>	<b>19</b>
2.1.1 <i>Nozioni di botanica della specie e inquadramento geografico</i>	19
2.1.2 <i>Inquadramento tipologico ed ecologico</i>	20
2.2 <i>Aree di studio</i>	<b>23</b>
2.3 <i>Monitoraggio delle popolazioni con trappole e feromoni</i>	<b>25</b>
2.3.1 <i>Tipi di trappole</i>	25
2.3.2 <i>Attrattivi</i>	26
2.3.3 <i>Installazione delle trappole e loro svuotamento</i>	27
2.4 <i>Analisi molecolare</i>	<b>28</b>
2.5 <i>Analisi statistica</i>	<b>30</b>
<b>3 RISULTATI</b>	<b>31</b>
3.1 <i>Monitoraggio con trappole: catture di Monochamus galloprovincialis</i>	<b>31</b>
3.1.1 <i>Confronto fra aree di studio</i>	31
3.1.2 <i>Analisi della fenologia e del voltinismo di M. galloprovincialis</i>	32
3.1.3 <i>Attrattivi</i>	34
3.2 <i>Presenza di Bursaphelenchus xylophilus</i>	<b>35</b>
<b>4 DISCUSSIONE</b>	<b>36</b>
<b>5 BIBLIOGRAFIA</b>	<b>39</b>

## RIASSUNTO

Il coleottero cerambicide *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Coleoptera, Cerambycidae) sta diventando sempre più importante in Europa dopo l'introduzione in Portogallo, nel 1999, del nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhrer) (Nematoda, Aphelenchoididae), specie esotica originaria del Nord America e agente del deperimento del pino. Il nematode viene trasmesso alla pianta ospite dai cerambicidi adulti, sia durante la maturazione sessuale su giovani rami del genere *Pinus*, sia durante l'ovideposizione sulla corteccia di piante deperenti. Emerge quindi la necessità di affinare i protocolli di monitoraggio delle popolazioni del *Monochamus* come strumento di prevenzione e di difesa dalla diffusione dell'infestazione nelle pinete italiane ed europee. Questo studio è stato condotto in due aree delle Dolomiti bellunesi: San Vito di Cadore e La Muda, località percorsa da un incendio nel 2011. In entrambi i siti sono state montate trappole modello *multi-funnel*: a San Vito innescate con due diversi attrattivi, un'esca cairomonale generica e una miscela commerciale specifica per il cerambicide, a la Muda, invece, solo con quest'ultima. A parità di attrattivo i risultati hanno mostrato una differenza significativa di catture tra i due siti, con catture maggiori a La Muda, confermando la preferenza di *Monochamus* verso habitat disturbati dal fuoco o altri fattori debilitanti. I due diversi attrattivi usati nelle trappole a San Vito non hanno invece determinato differenze significative nelle catture; questo è probabilmente anche dovuto alla bassa densità di colonizzazione dell'area da parte della specie. Un campione di insetti proveniente da ciascuna località è stato infine sottoposto ad analisi molecolare che non ha trovato esemplari infettati dal nematode. In relazione anche ai cambiamenti climatici in corso, si suggerisce un'attenta e costante attività di monitoraggio delle due specie in previsione dei danni che possono causare alle foreste.

## ABSTRACT

The pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) (Coleoptera, Cerambycidae) has been playing an important role in Europe after the introduction in Portugal of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner) (Nematoda, Aphelenchoiidae), a species native to North America, and agent of pine wilt disease. Pines are infected with the nematode by the adult beetles during both maturation feeding on healthy trees and oviposition on recently dead or dying trees. To prevent the spread of the disease in Europe, effective methods of monitoring of the pine sawyer beetle population are needed. This study was carried out in two pine stands in the Dolomites: San Vito di Cadore and La Muda, a recently burned stand. In both the stands multi-funnel traps were installed and in San Vito baited with two attractive blends, a kairomonal lure and a commercial kit specific for *M. galloprovincialis*, while in La Muda baited only with the commercial kit. The results showed that the traps baited with the specific commercial kit captured more beetles in the burned stand than in healthy stands, proving the beetles' preference for disturbed and dying forests.

The two attractive blends used in San Vito did not show significant difference of captures, probably because of the low population density occurring in the stand. The molecular analysis of beetles sampled in both the stands did not detect *Monochamus* infected by the nematode. In conclusion, as a treat and a pest for the European forests, we suggest an accurate and constant monitoring of the two species.

# 1 INTRODUZIONE

## 1.1 Le invasioni biologiche

Un'invasione biologica può verificarsi quando organismi, e. g. animali, piante, funghi, sono trasportati in nuovi ambienti, spesso distanti, dove i loro discendenti proliferano, si diffondono e persistono (Mack et al., 2000). I termini "esotico", "alieno", "non-indigeno" hanno lo stesso significato e si riferiscono a specie la cui distribuzione nativa risiede al di fuori del continente europeo, il nostro punto di riferimento. Il termine "invasivo" si riferisce a specie aliene che si sono sviluppate in popolazioni autosufficienti, sia in habitat naturali sia in habitat condizionati dall'uomo. "Introdotta" è usato per quelle specie diffuse accidentalmente o deliberatamente dall'uomo. Il termine "immigrante" è sinonimo di "avventizio", mentre "naturalizzato" si riferisce alle specie esotiche con popolazioni stabili, indipendenti e autosufficienti (Kirkendall & Faccoli, 2010).

Il fenomeno dell'introduzione di organismi alieni è un processo che avviene ormai da secoli ed è considerato a tutti gli effetti come una minaccia a livello globale. Intorno al 1500, con la scoperta dell'America gli europei iniziarono a trasportare specie del vecchio continente nelle nuove colonie dell'emisfero occidentale e altrove. Con l'avvento dell'Età delle grandi scoperte geografiche e successivamente, dal XVII secolo, con il colonialismo, il commercio globale è cresciuto esponenzialmente, fornendo un potente vettore di dispersione per le specie in tutto il mondo. Per questo il fenomeno dell'invasione biologica può essere definito come un evento prevalentemente post-Colombo (Mack et al., 2000). Questo ha determinato la rottura di quelle barriere fisiche che in milioni di anni di evoluzione hanno diversificato e reso indipendenti i biomi del mondo (Holmes et al. 2009).

Il movimento di organismi, deliberato e accidentale, causato dall'uomo negli ultimi 200-500 anni ha relegato in un angolo, dal punto di vista di frequenza, di impatto e di portata, il movimento di organismi causato da forze naturali nello stesso lasso di tempo.

Le specie aliene possono infliggere gravi danni alla biodiversità e ai processi ecologici: le invasioni di specie esotiche hanno un effetto impattante sulle popolazioni native (la moria di *Castanea dentata* in USA a causa dell'introduzione di *Endothia parasitica*, mentre in Europa *Castanea sativa* è interessato dagli attacchi dell'imenottero Cinipide *Dryocosmus kuriphilus*, originario della Cina), modificano le reti trofiche dell'ecosistema esistente, competono con le

specie native per le risorse (lo scoiattolo grigio nordamericano, *Sciurus carolinensis*, dove introdotto, sta entrando in competizione con lo scoiattolo rosso europeo, *Sciurus vulgaris*, per l'efficienza nella predazione di risorse), nei casi più gravi portano all'estinzione di specie endemiche (in Nuova Zelanda i gatti domestici sono responsabili dell'estinzione di almeno sei specie di uccelli endemici (King, 1985)) e causano l'alterazione di interi ecosistemi. La trasformazione dell'ecosistema provocata dalle specie esotiche è stata, in certi casi, così completa che anche il paesaggio è stato profondamente alterato. Un esempio è l'attuale invasione di Poacee africane (*Melinis minutiflora*, *Hyparrhenia rufa*, *Panicum* spp., e *Rhynchelytrum repens*) nel bacino dell'Amazzonia. In Brasile la conversione di ettari di foresta a terreno per coltura e pascolo, con l'utilizzo del fuoco, permette l'entrata e la diffusione di Poacee africane. Queste specie vanno a formare una fitocenosi simile a prateria-savana che impedisce la ricolonizzazione e la successione da parte delle specie native (fig 7 in Mack et al., 2000). Questo processo, iniziato nel 1991, oggi interessa più di 426 000 km<sup>2</sup> e più di 4 x 10<sup>6</sup> km<sup>2</sup> sono a rischio (Fearnside 1993). La conversione a prateria della foresta amazzonica ha ripercussioni non solo a livello di ecosistema locale ma anche su scala mondiale: la nuova fitocenosi erbacea fissa meno carbonio con effetti sulla quantità di CO<sub>2</sub> nell'atmosfera e quindi sul clima; inoltre il tasso di evapotraspirazione è minore con conseguenze sull'umidità dell'aria e sulle precipitazioni.

Il fenomeno dell'invasione biologica e le specie esotiche causano anche ingenti danni all'economia globale con principalmente due tipi di impatti economici: (1) una perdita del potenziale *output* economico, ad es, della produzione agricola e forestale; (2) i costi sostenuti per combattere il fenomeno attraverso forme di quarantena, controllo ed eradicazione. Per questo sono necessarie approfondite analisi costi-benefici per stimare i danni effettivi sull'economia globale da parte delle specie esotiche. Un grande controsenso del settore agricolo è da una parte promuovere l'importazione e l'uso di specie aliene, dall'altro cercare di contenere la conseguente diffusione di parassiti, insetti ed erbe infestanti.

Oltre alla globalizzazione dei mercati anche i cambiamenti climatici degli ultimi 10 anni hanno favorito e stanno favorendo la diffusione di numerose specie esotiche. Fra le specie esotiche preminente è il numero degli insetti che, per le loro caratteristiche biologiche ed etologiche, sono in grado di modificare il loro areale di distribuzione in rapporto alle variazioni termigrometriche nonché alla disponibilità di substrati alimentari e riproduttivi. Alcune specie differenziano biotipi dotati di ampia valenza ecologica e di un potenziale biotico più elevato rispetto al resto delle popolazioni originarie e quindi sono in grado di dar luogo a esplosioni demografiche invasive nei nuovi ambienti, anche per l'assenza di efficaci limitatori naturali e

con conseguenti alterazioni degli equilibri biologici degli ambienti colonizzati (Longo 2009). Questo ha gravi ripercussioni negli ecosistemi forestali. Infatti la componente biotica di disturbo degli ecosistemi forestali è fortemente condizionata dai cambiamenti climatici, per due motivi: (1) le foreste sono sottoposte a forti quanto episodici eventi parassitari, anche in assenza di particolari modificazioni climatiche, e (2) gli insetti possono rispondere in modo diretto e veloce ai cambiamenti climatici grazie ai rapidi cicli di sviluppo, all'alto potenziale riproduttivo, alla elevata capacità di adattamento fisiologico alle mutate condizioni ambientali (Battisti e Faccoli, 2007).

Secondo i dati del DAISIE 2008 (*Delivering Alien Invasive Species Inventories for Europe*) in Europa sono state registrate oltre 10 000 specie aliene tra le quali i gruppi tassonomici più numerosi sono rappresentati da piante e insetti. In Italia sono presenti oltre 500 specie di insetti alieni, la stragrande maggioranza dei quali è stata accidentalmente introdotta negli ultimi 30 anni. Il ritmo attuale di "arrivo" delle specie fitofaghe è calcolato in circa 8 unità/anno (in massima parte provenienti dalle Americhe e dall'Asia).

## 1.2 Il monitoraggio delle specie esotiche

Per arginare la diffusione di specie aliene, nei 181 Paesi aderenti all'*International Plant Protection Convention* (IPPC), vengono attuate misure di quarantena fitosanitaria in forza di un trattato internazionale del 1995, più volte rivisto, gestito dalla FAO con l'obiettivo di assicurare una comune ed efficace azione di prevenzione contro l'introduzione e la diffusione di parassiti dei vegetali e dei loro prodotti, nonché di promuovere appropriate misure di controllo degli stessi. Gli strumenti operativi dell'IPPC sono i Servizi Fitosanitari Nazionali (*National Plant Protection Organizations* (NPPOs)), che fungono da organismi di coordinamento e indirizzo a livello macroregionale. Per l'Europa e per l'area Mediterranea l'organizzazione intergovernativa di riferimento è l'EPPO (*European and Mediterranean Plant Protection Organization*) cui aderiscono 50 nazioni.

Per rallentare il flusso di accidentale introduzione di nuove specie aliene a livello comunitario e nazionale la normativa attuale è orientata verso l'effettuazione di più rigorosi controlli fitosanitari sia nei punti di arrivo che di partenza delle merci sensibili oggetto di trasferimento (porti e aeroporti), facendo riferimento a delle liste (A1, A2 e di «Allerta») tenute costantemente aggiornate dall'EPPO. La lista A1 raggruppa organismi di quarantena non ancora ufficialmente presenti nell'area dell'EPPO mentre la lista A2 comprende quegli organismi da



quarantena già segnalati in alcune zone ma non largamente diffusi e considerati sotto controllo ufficiale. Va tuttavia considerato che tali elenchi non possono risolvere il problema del “rischio d’introduzione”. Nella “Lista di Allerta” sono compresi gli organismi che possono rappresentare un rischio fitosanitario per la regione EPPO. Tale lista viene annualmente rivista criticamente al *Panel* per le Misure Fitosanitarie. Gli organismi selezionati dai pertinenti *Panel* vengono sottoposti a completo PRA (*Pest Risk Analysis*) e conseguentemente possono essere inseriti nelle Liste A1 o A2, oppure essere rimossi dalla “Lista di Allerta” se il rischio è basso. La procedura di valutazione del rischio PRA prevede: la classificazione e la biologia dell’organismo, la sua distribuzione geografica e le piante ospiti. Inoltre viene valutato il potenziale insediamento nell’area del PRA, le modalità di controllo, il trasporto e l’impatto economico e sociale (Longo, 2009).

I principali strumenti a disposizione delle Organizzazioni nazionali di protezione del territorio dalle specie esotiche consistono nelle misure di quarantena e nei preventivi controlli fitosanitari al momento dell’importazione; questi vengono effettuati su campioni più o meno rappresentativi di tutte le partite di vegetali oggetto di misure fitosanitarie. Occorre pertanto potenziare i Servizi Fitosanitari che, oltre a controllare le merci in arrivo da aree in cui sono segnalate specie aliene di temuta introduzione, dovrebbero avere mezzi e tecnici sufficienti per effettuare controlli anche sui turisti che, spesso, con l’introduzione di piante ornamentali, diventano involontari vettori di pericolosi fitofagi. Per la riduzione del livello delle popolazioni dei fitofagi nocivi sia autoctoni che alloctoni, e per prevenirne l’insediamento in determinati ambienti, tra gli interventi che è possibile attuare ci sono i mezzi fisici, comprese le trappole di vario tipo e l’eliminazione dei focolai; i mezzi chimici ricorrono all’impiego di insetticidi dotati di selettività primaria ovvero applicati in modo tale da ridurre i rischi di dispersione delle molecole tossiche nell’ambiente, o ancora di sostanze che agiscono sul comportamento, come per esempio i feromoni di sintesi, in grado di consentire catture massali. Un altro mezzo di intervento è il controllo biologico che consiste nell’introduzione di entomofagi esotici per cercare di ricostituire nelle aree di nuovo insediamento gli stessi rapporti di antagonismo di quelle di origine: attualmente studiato dall’Università di Padova e di Torino è il *Torymus sinensis*, un parassitoide specifico della vespa galligena del castagno, *Dryocosmus kuriphilus*, originaria della Cina. Si sta cercando di verificare se un’introduzione nell’ambiente del parassitoide possa dare l’avvio a un meccanismo tri-trofico con il Cinipide. Legati al controllo biologico esistono tutta una serie di rischi di difficile previsione che porterebbero a impatti enormi sugli ecosistemi. Prima di procedere alla sperimentazione sull’ambiente è necessario, quindi, costruire

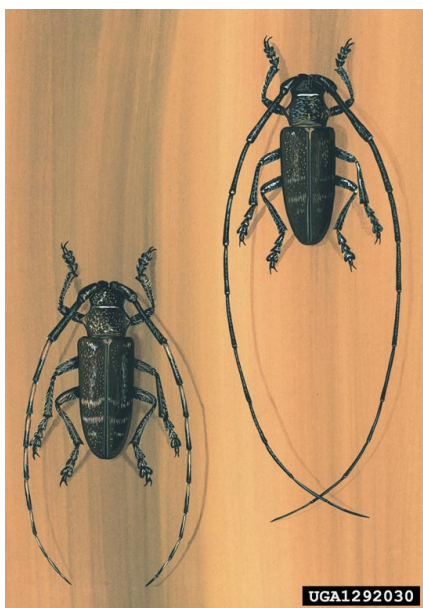
dei modelli biologici che possano descrivere le risposte degli organismi alle mutate condizioni, compito non semplice trattandosi di sistemi complessi.

Uno degli obiettivi di questo lavoro è stato quello di monitorare in pinete di *Pinus sylvestris*, attraverso trappole e feromoni, le popolazioni di *Monochamus galloprovincialis*, vettore del nematode nordamericano *Bursaphelenchus xylophilus*, specie fitopatogena da quarantena inserita nella lista A1 dell'EPPO.

### 1.3 *Monochamus galloprovincialis* e *Bursaphelenchus xylophilus*

#### 1.3.1 *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae)

*Monochamus galloprovincialis* è un coleottero della famiglia *Cerambycidae*, sottofamiglia *Lamiinae*. I cerambicidi presentano antenne lunghe o lunghissime (composte sempre da 11 antennomeri), più lunghe nei maschi; sono polifaghi, spesso xilofagi, di dimensioni medio-grandi (10-50 mm). Hanno corpo di forma allungata, di colori molto vari, a volte mimetici sulle cortecce, solo raramente con riflessi metallici. In genere le specie della sottofamiglia *Lamiinae* sono facilmente riconoscibili dagli altri cerambicidi per l'apparato masticatore ipognato e i



palpi mascellari di forma ovale (appuntiti all'estremità), invece che triangolare (allargata all'estremità) come tutti i *Cerambycoidea*.

*M. galloprovincialis* presenta un marcato dimorfismo sessuale: il maschio è uniformemente di colore marrone-nero, più piccolo della femmina, ma con antenne lunghe quasi il doppio; la femmina è lunga da 21 a 35 mm, di colore marrone rossiccio con le zampe rosse, con piccole macchie gialle e bianche. Il mesotorace è ricoperto da una corta peluria bianca che lascia scoperta un'area triangolare nera.

**Figura 1.** *M. galloprovincialis* femmina (a sinistra) e maschio (a destra). Robert Dzwonkowski, Bugwood.org.

Il genere *Monochamus* include circa 150 specie distribuite in America settentrionale, Europa e Asia (Naves et al., 2008). In Europa sono presenti 5 specie native tra cui *M. galloprovincialis* (Olivier). Questo cerambicide nelle regioni fredde dell'Europa centrale e settentrionale è bivoltino, mentre in Italia è monovoltino (Hellrigl, 1970; Francardi e Pennacchio, 1996). Le piante ospiti sono specie del genere *Pinus*. In particolare *M. galloprovincialis* preferisce come substrato trofico e per l'ovideposizione il *Pinus sylvestris*, tranne nel caso delle popolazioni del Sud Italia e Sud Europa dove sembra ci sia una maggiore preferenza per le specie di *P. pinaster* e *P. halepensis* (Koutroumpa et al., 2009). Tuttavia la preferenza per determinate piante ospiti non è un fattore limitante l'espansione dell'areale del cerambicide. Una possibile conseguenza dei cambiamenti climatici e del riscaldamento globale sarà l'espansione dell'areale della specie e l'adattamento del *Monochamus* su nuove piante ospiti tra cui *P. pinea* e *P. nigra* (Naves et al., 2006).

Gli adulti, durante l'estate, depongono le uova singolarmente o in piccoli gruppi su cicatrici della corteccia della pianta ospite; la femmina scava una piccola buca con le mandibole, poi si gira e vi ovidepone; pertanto non sono presenti gallerie materne. Le uova si schiudono dopo 4-12 giorni a seconda della temperatura esterna. Le larve sono glabre, apode, con la porzione del torace ingrossata e la testa stretta. Le larve di primo stadio iniziano a nutrirsi sul floema e sul cambio della zona sub-corticale. Raggiunto il terzo stadio, le larve iniziano a scavare dentro l'alburno formando delle gallerie composte da una parte orizzontale a forma di "s" perpendicolare all'asse del tronco e da una parte verticale parallela all'asse. Le gallerie possono raggiungere una lunghezza maggiore a 20 cm (Saint-Germain et al., 2004). Le larve completano la parte verticale delle gallerie con una camera pupale. Alla fine di febbraio le larve hanno completato il loro ciclo di crescita (Naves et al., 2007). Lo stadio di pupa dura fino a 19 giorni e dopodiché l'esemplare adulto inizia a scavare attraverso lo xilema verso l'esterno. I fori di sfarfallamento sono ovali e di dimensioni variabili. Dalla schiusa allo sfarfallamento trascorre un intervallo di 6-8 giorni. Ognuno degli stadi del ciclo vitale del cerambicide può entrare in diapausa. Quando ciò non avviene, il periodo che passa dall'ovideposizione allo sfarfallamento dell'adulto è di circa 8-12 settimane.



**Figura 2.** Gallerie larvali su *Pinus*. Milan Zubrik, Forest Research Institute - Slovakia, Bugwood.org

Subito dopo lo sfarfallamento, che avviene da maggio a ottobre (Hellrigl, 1970), gli adulti immaturi completano la maturazione sessuale nutrendosi della corteccia di rami giovani su piante sane (Naves et al., 2007). Le femmine, raggiunta la maturazione, depongono le uova sotto la corteccia di piante stressate, deperenti o recentemente abbattute. Vivono fino a 83 giorni e depongono dalle 40 alle 215 uova. Le specie del genere *Monochamus* sono tra i primi colonizzatori di foreste disturbate dal fuoco, vento o grandine (Rassati et al., 2012), e come dimostrato per il *M. scutellatus*, questi insetti preferiscono siti nei quali siano presenti sia piante stressate sia piante sane, con lo scopo di soddisfare i fabbisogni trofici, rispettivamente, delle larve e degli adulti (Saint-Germain et al., 2004). L'ecologia chimica del *M. galloprovincialis* è basata principalmente su cairmoni, come i monoterpeni della pianta ospite e l'etanolo rilasciato dalla pianta in condizioni di stress. Il processo di selezione della pianta ospite comprende una serie di passaggi che partono dal macrosito, con la localizzazione dell'habitat favorevole alla riproduzione e sviluppo, fino ad arrivare al microsito, cioè alla localizzazione dell'ospite. Nel corso di questo processo ci sono 3 potenziali fattori che influenzano la selezione dell'ospite e quindi la densità larvale (Saint-Germain et al., 2004): (1) come accennato prima ci deve essere un compromesso tra le esigenze nutrizionali delle larve e degli adulti, quindi popolamenti disturbati dal fuoco situati vicino a pinete sane potrebbero essere habitat favorevoli all'ecologia della specie e quindi più densamente popolati; (2) la specie, inoltre, colo-

nizza per prime le fasce di ambiente disturbato al confine con l'ambiente sano, e man mano che questo habitat si satura, vengono colonizzate nuove aree all'interno dell'ambiente disturbato: il risultato è un gradiente di densità decrescente; (3) il fumo viene usato da diverse specie di cerambicidi come attrattivo per localizzare habitat bruciati e, a seconda della sua direzione, può originare un gradiente di densità di colonizzazione specifico.

### 1.3.2 *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda; Aphelenchoididae)

*Monochamus galloprovincialis* è stato confermato essere specie vettore del nematode patogeno *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner & Buhner), specie esotica originaria del Nord America (Sousa et al., 2001; Robertson et al., 2011). Su scala continentale, il principale mezzo di diffusione del nematode del pino è rappresentato dal legname infestato che circola attraverso gli scambi internazionali; va da sé che la dispersione del parassita è agevolata dall'importazione di materiale che, oltre al nematode, ospita i suoi vettori. Nel XX secolo *B. xylophilus* dal Nord America viene trasportato nell'isola di Kyushu, nel sud del Giappone, attraverso il commercio internazionale di legname (EPPO/CABI, 1997). Nell'1999 il nematode arriva anche in Portogallo (Sousa et al., 2001) e nel 2008 viene individuato un focolaio in Spagna (Robertson et al., 2011; Abelleira et al., 2013).

*B. xylophilus* è un tipico nematode vermiforme, lungo circa 1 mm e quindi visibile solo al microscopio. Lo stereomicroscopio, fino a circa 50-80 ingrandimenti, è sufficiente a vedere l'animale nel suo complesso. Per osservarne le parti, e quindi per poterne stabilire la classifi-



**Figura 3.** Particolare di *Bursaphelenchus xylophilus*: la testa di una femmina. Jijing Song and Juan Shi, Beijing Forestry University, Bugwood.org.

cazione (es. distinzione tra *B. xylophilus* e *B. mucronatus*) è necessario il microscopio ottico, fino a circa 500 ingrandimenti. Un *Monochamus* può trasportare da 10.000 a 200.000 nematodi circa (Linit, 1988).

*B. xylophilus* ha due differenti modalità di ciclo vitale: una modalità propagativa e una di dispersione. In entrambi i casi, il nematode è trasmesso da una pianta ospite alla successiva attraverso le specie del genere *Monochamus*. Nel ciclo vitale di tipo propagativo, le larve di quarto stadio del nematode sono inoculate nel legno morto o deperente durante l'ovideposizione del vettore femmina. Il nematode abbandona il cerambicide ed entra nel legno tramite la cicatrice sulla corteccia incisa dalla femmina per deporre le uova. Una volta entrato il nematode si nutre sia delle ife dei funghi (*Ceratocystis* spp., responsabili dell'azzurramento del legno), anch'essi trasmessi durante l'ovideposizione, sia delle cellule dei canali resiniferi. Immediatamente le larve del nematode mutano ad adulti che iniziano a deporre uova. In questa fase di rapida moltiplicazione la popolazione è composta da esemplari adulti, maschi e femmine, e larve al quarto stadio.

Ad un certo punto, dopo l'iniziale invasione del nematode nella pianta ospite, la popolazione cessa di moltiplicarsi ed inizia a calare in numero. In questa fase si sviluppa un tipo differente di larva del terzo stadio, chiamato "larva di dispersione" che rappresenta uno stadio di sopravvivenza in grado di resistere a possibili condizioni avverse. Questo avviene quando c'è una riduzione nella disponibilità di substrato trofico. Le larve di dispersione si raccolgono intorno alla camera pupale del *Monochamus* e, appena prima della comparsa dei cerambicidi adulti, mutano in una forma speciale di quarto stadio, chiamata stadio "dauer" o stadio "durevole"; queste larve sono adatte ad essere trasportate aderendo al corpo dell'insetto vettore e penetrando, successivamente, al suo interno attraverso gli spiracoli addominali (Linit, 1988). Contemporaneamente anche le ife del fungo si sviluppano intorno alla camera pupale formando lunghi periteci. I nematodi si collocano sull'apice dei periteci. Il cerambicide adulto, uscendo dalla camera pupale, sfiora i periteci del fungo e in questo modo raccoglie i nematodi che si collocano sotto le elitre e in particolare nelle trachee del coleottero. L'adulto immaturo esce dai fori di sfarfallamento della pianta ospite portando con sé *B. xylophilus*.

Il nematode, poi, viene trasmesso a piante sane, attraverso le ferite di nutrizione, quando il *Monochamus* adulto completa la maturazione sui giovani getti di *Pinus*. Il nematode, una volta dentro la pianta ospite, si trasforma in adulto e migra nel legno, andando a nutrirsi delle cellule parenchimatiche dei canali resiniferi dove si riproduce. Quindi il movimento del cerambicide tra piante sane e deperenti garantisce un meccanismo perfetto di trasmissione per il *B. xylophilus* sia durante la maturazione sessuale degli esemplari maschi sia durante

l’ovideposizione delle femmine (Rassati et al., 2012). Alcuni mesi dopo la trasmissione in piante sane, il nematode induce un rapido declino della pianta ospite, rendendola suscettibile alla colonizzazione da parte del *Monochamus*. Quindi mentre il cerambicide diffonde il *B. xylophilus* nella foresta, allo stesso tempo il nematode rende le piante idonee all’ovideposizione e allo sviluppo larvale del *M. galloprovincialis*.

CICLO		
Mese	INSETTO VETTORE	NEMATODE
Aprile-maggio	Impupamento	Prima dello sfarfallamento dell’insetto: muta a larva quarto stadio (durevole).
Maggio-giugno	Sfarfallamento	Durante lo sfarfallamento le larve durevoli aderiscono all’insetto ed entrano nelle trachee (contaminazione).
Giugno-luglio	Adulti: nutrizione su rametti di pino	Larve durevoli: passaggio al pino, muta ad adulti, infestazione di canali resiniferi e xilema.
Luglio-agosto	Ovideposizione su corteccia di pini deperiti.	Larve e adulti: riproduzione.
Agosto-settembre	Uova: schiudono dopo 5-10 gg dalla deposizione. Larve: nutrizione in floema, cambio e poi nell'alburno, facendo gallerie a S entro cui crescono funghi.	Larve e adulti: riproduzione.
Autunno	Larve: formano la camera pupale, tappano il foro d'ingresso con rosura, entrano in diapausa.	La popolazione decade e compaiono le larve di terzo stadio (di dispersione) che si aggregano ai funghi attorno alla camera pupale.
Inverno	Larve (ultimo stadio).	Larve di terzo stadio aggregate ai funghi attorno alla camera pupale.

**Tabella 1.** Ciclo dell’insetto vettore e del nematode.

### 1.3.3 Il deperimento del pino: sintomatologia e danni.

*Bursaphelenchus xylophilus* è agente del “deperimento del pino” o “pine wilt disease (PWD)”.

Il nematode attacca le cellule epiteliali dei canali resiniferi coinvolgendo con ampie necrosi anche i tessuti attigui, ed estende i propri attacchi ai vasi conduttori della linfa causando la degenerazione delle cellule cambiali, xilematiche e floematiche di ampi settori. L’attacco ai canali resiniferi causa una fuoriuscita di resina e quindi un aumento della quantità dei terpeni (idrofobici) negli elementi conduttori; questo porta a una cavitazione delle tracheidi e a una progressiva disidratazione della pianta fino alla morte (Kuroda, 1991). Altri danni causati dal

nematode sull'ospite sono l'aumento della respirazione autotrofa, della produzione di etilene, dei composti fitotossici e la diminuzione della conduttanza idraulica (Donald et al., 2003); il tasso di traspirazione diminuisce fino a fermarsi completamente nello stadio avanzato dell'infezione. Questa situazione si manifesta già dopo tre settimane dall'attacco, con la riduzione degli essudati oleoresinosi, e una sofferenza vegetativa con appassimento e ingiallimento degli aghi. La pianta sofferente libera sostanze caïromonali che attraggono gli adulti di *Monochamus*. La pianta muore 30-40 giorni dopo l'inizio dell'infezione e può contenere, nei rami, nel tronco e nelle radici, milioni di nematodi. La sintomatologia si palesa in un periodo che va da fine agosto ad ottobre. Le elevate temperature estive favoriscono la rapida moltiplicazione del nematode il cui effetto sull'ospite risulta devastante qualora, già, stress idrici e nutrizionali abbiano indebolito la pianta predisponendola agli attacchi dei nematodi.



**Figura 3.** Danni causati dal nematode su un popolamento di *Pinus densiflora* in USA. USDA Forest Service - North Central Research Station Archive, USDA Forest Service, Bugwood.org



The pine wilt disease cycle.

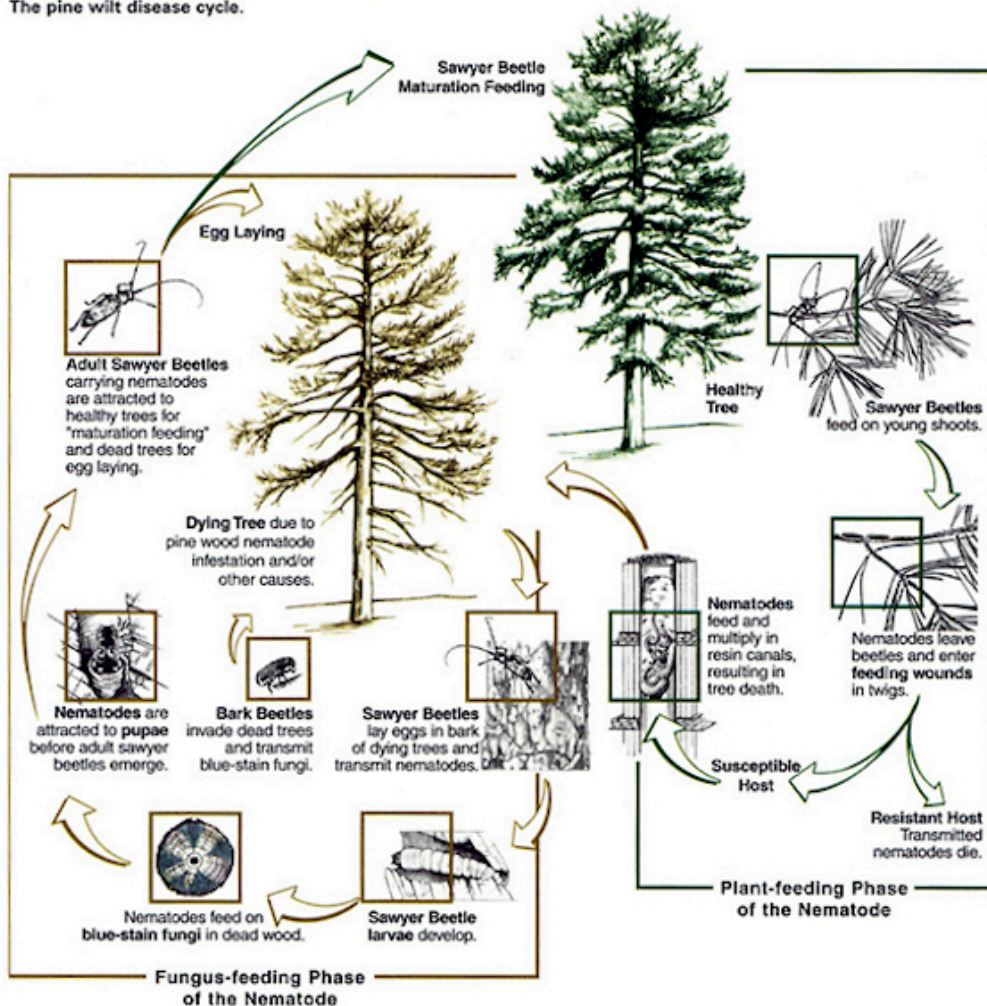


Figura 5. Il ciclo del deperimento del pino. Wingfield, ed. (1987) *Pathogenicity of the Pine Wood Nematode*, APS Press, St Paul, MN.

#### 1.3.4 Strategie di controllo

In Giappone il deperimento del pino comporta perdite che raggiungono i 2 milioni di m<sup>3</sup> all'anno (EPPO/CABI, 1997). Negli Stati Uniti il nematode del pino ha un impatto enorme sulle piantagioni, in particolare di specie non native. Nell'Unione Europea *B. xylophilus* è stato classificato come organismo da quarantena (direttiva 77/93, EEC) e inserito nella lista A1 dell'EPPO. Trattandosi di un parassita adattato ai climi temperati e temperato caldi, è evidente il rischio fitosanitario per le popolazioni di *Pinus* europee e mediterranee. Risultano particolarmente a rischio le specie *P. sylvestris*, *P. pinaster* e *P. nigra*. Data l'estesa presenza di queste specie in tutta Europa, sono state prese misure da quarantena per il materiale a rischio.

Il nematode è di per se poco mobile. La sua diffusione è legata alla mobilità dell'insetto vettore e allo spostamento commerciale di materiale contaminato. Il materiale a rischio è costituito da:

- legname di conifere in import (imballaggi, tronchi con o senza corteccia, segati, segatura, trucioli, cortecce). Su tronchi e segati può essere presente, oltre al nematode, anche il vettore *Monochamus*;
- piante vive di conifere suscettibili.

Le misure di quarantena sono (Veneto Agricoltura, 2007):

- Import: controlli su legname e conifere in ingresso nell'UE. Lo scopo è di impedire l'entrata del nematode mediante divieti, trattamenti e ispezioni all'import. Il legname può essere bonificato mediante esposizione a 56°C per 30 minuti (ISPM15) o mediante fumigazione.
- Passaporto delle piante per la circolazione interna UE.
- Monitoraggio delle pinete.
- In caso di ingresso, distruzione dei focolai: isolamento dei focolai con fasce disboscate larghe 2 km, distruzione delle piante infestate, limitazioni al movimento di legname e piante.
- Lotta biologica: diffusione di patogeni e parassitoidi dell'insetto vettore.
- Trattamenti insetticidi: controllo dell'insetto vettore (problematico in pinete naturali).
- Mezzi genetici: uso di specie di *Pinus* resistenti.

#### 1.4 Obiettivi della tesi

Gli obiettivi di questo lavoro sono stati:

- (a) Studiare la bioecologia di *Monochamus galloprovincialis* sulle Alpi nord-orientali.
- (b) Affinare i protocolli di monitoraggio delle popolazioni di *Monochamus galloprovincialis* attraverso trappole e feromoni.
- (c) Valutare la possibile presenza di individui di *Monochamus galloprovincialis* infetti da nematodi fitopatogeni da quarantena.

## 2 MATERIALI E METODI

### 2.1 La pianta ospite: il pino silvestre

#### 2.1.1 Nozioni di botanica della specie e inquadramento geografico

Il pino silvestre è un albero che a seconda della provenienza può variare la sua altezza da 20-25 m a 35-40 (45) m; il fusto è cilindrico, spesso dritto, con diametri che possono raggiungere il metro; la chioma è di colore verde grigio, rada, a profilo piramidale nelle piante giovani poi ovale ma anche espansa fino ad apparire anche compressa in vecchie piante isolate (Gellini e Grossoni, 1996).

La corteccia nella parte inferiore del fusto si fessura in placche irregolari, longitudinali, rosso brune o grigio brune mentre nella parte superiore ha un caratteristico colore ocra arancione.

Gli aghi sono riuniti in fascetti di 2. Il pino silvestre è una specie intollerante l'ombra: ha alta percentuale di N fogliare con conseguente elevato *turnover* delle proteine ed elevata respirazione fogliare; il costo di mantenimento degli aghi è costoso e per questo le coorti di aghi persistono sui rami per non più di 3 anni.

I canali resiniferi sono numerosi: da 2 a 10 e raramente fino a 20.



Figura 6. *Pinus sylvestris*. Zelimir Borzan, University of Zagreb, Bugwood.org

Questo pino è quello con l'areale più vasto: esso si estende dall'Europa sud-occidentale all'Asia nord-orientale. Il limite si estende alla Norvegia settentrionale (70° 29') e alla penisola di Kola e continua verso oriente, attraverso la Siberia, fino alla Manciuria rimanendo più o meno tangente al circolo polare; a partire dalla baia di Lubecca il limite occidentale si dirige a sud-ovest fino all'alto Danubio e, dopo aver compreso la Selva Nera e i Vosgi, torna verso Sud ai margini delle Alpi; il limite meridionale costeggia il versante meridionale delle Alpi e delle Prealpi e continua verso le Alpi austriache proseguendo a est attraverso gli Urali per la maggior parte della Siberia toccando le steppe mongole. Il pino silvestre si trova anche in "isole" di areale come in Scozia settentrionale (da qui il nome inglese "scots pine"), nella Germania occidentale, nella Spagna, nella Turchia settentrionale e nel Caucaso. All'interno di questo areale il pino silvestre si trova (a seconda della latitudine) dal livello del mare fino alla fascia subalpina.

In sintesi l'areale del pino silvestre ha un'espansione longitudinale di 145° (9000 km) e un'espansione latitudinale dai 70° N (Norvegia settentrionale) ai 38° N (Monti Pontici e Anatolia centrale). In Italia si trova principalmente sulle Alpi e sulle Prealpi, con un'unica eccezione dell'Appennino ligure-emiliano (Gellini e Grossoni, 1996).

### 2.1.2 Inquadramento tipologico ed ecologico

Il pino silvestre è una specie microterma, continentale e rustica; è xerofila, idro stabile, resiste al vento ed è eliofila (intollerante l'ombra). È specie pioniera e plastica con forte capacità di acclimatazione: si adatta a tutti i terreni, con preferenza verso quelli meno compatti. Su terreni pietrosi, aridi, acidi, torbosi, calcarei e argillosi la crescita è spesso ridotta ma in queste condizioni il pino silvestre può competere con specie climax e tolleranti l'ombra come abete rosso, abete bianco e faggio.

Nell'arco alpino italiano sono presenti diverse tipologie di pinete di pino silvestre (Del Favero, 2004).

In primo luogo, su costoni rocciosi di rupe, su corpi franosi (di falda detritica) e su erti versanti con substrato carbonatico o silicatico sciolto, si sviluppano le pinete di pino silvestre primitive; prerogativa, questa, della specie che grazie alla capacità di alterare morfologia e fisiologia (plasticità fenotipica) riesce a vegetare in condizioni edafiche proibitive per moltissime altre specie. Inoltre il pino silvestre è eurivalente per quanto riguarda l'acqua; è una specie che non tollera la disidratazione, chiude molto precocemente gli stomi quindi ha un habitus che evita

la disidratazione. La sua strategia di resistenza è traspirare pochissimo e per questo in condizioni di stress ha un accrescimento molto ridotto. I risultati di uno studio sul pino silvestre (Irvine et al. 1998) hanno dimostrato che questa specie reagisce al deficit idrico con il controllo stomatico della traspirazione (ridotta del 30%) per prevenire la caduta del  $\Psi$  fogliare oltre i -1.5 MPa e impedire così alla resistenza idraulica tra suolo e aghi di salire oltre a un fattore di 3 (Figura 5 in Irvine et al., 1998), escludendo grandi fenomeni di cavitazione xilematica. I ricercatori hanno misurato anche che con il progredire del deficit idrico nel suolo il  $\Psi$  *pre-dawn* si riduce da -0.54 a -0.71 MPa; inoltre si verifica una riduzione di accrescimento dell'alburno, dei getti e degli aghi del 14%, 34% e 20% rispettivamente.

Le pinete primitive di rupe e di falda detritica tendono a rinnovarsi in modo sparso in corrispondenza di accumuli, anche temporanei, di materiale fine che consentono una minima trattenuta dell'acqua. In queste formazioni la rinnovazione varia tantissimo da microsito a microsito. Un'altra occasione di innesco locale della rinnovazione si ha a seguito del passaggio del fuoco.

Nella regione esalpica centro-orientale, su suoli sempre relativamente xerici ma con profilo maggiormente evoluto troviamo pinete di pino silvestre con a volte contaminazioni di orniello (pineta di pino silvestre dei substrati carbonatici esalpica tipica). Se le condizioni stazionali migliorano nella pineta entrano, oltre all'orniello, la roverella e talvolta il carpino bianco. Sono formazioni che si trovano in stretto contatto con gli orno-ostrieti e con i querceti di roverella, con i quali esiste una sorta di *continuum* con frequenti contaminazioni sia attive sia passive fra le varie formazioni.

Soprattutto nelle Dolomiti Friulane la pineta di pino silvestre è contaminata dal faggio (pineta di pino silvestre su substrati carbonatici con faggio). Questo avviene soprattutto nelle parti più interne della subregione esalpica centro-orientale, nella fascia montana e submontana.

Nelle regioni mesalpica e endalpica troviamo le pinete di pino silvestre nella loro espressione tipica, localizzate lungo i medio versanti esposti a sud a matrice carbonatica e pendenze elevate. In queste zone scompare il piano dominato delle latifoglie, solo talora sostituito da un rado arbusteto di *Amelanchier ovalis*. Qui la rinnovazione si insedia in occasione di movimenti del terreno o su suoli floristicamente poveri dove la rinnovazione non soffre dell'eccessiva competizione idrica dello strato erbaceo. In presenza di un fitto tappeto erbaceo, costituito per lo più da specie filiformi, come *Brachypodium caespitosum* e *Carex alba*, e una lettiera ricca di resine, la probabilità di sviluppo del fuoco si innalza di molto. A seguito del passaggio del fuoco nelle ex pinete si possono osservare le seguenti tre successioni secondarie:

- rinnovazione pronta della pineta; questo avviene quando il fuoco ha destrutturato il suolo e portato a morte le eventuali specie consociate (latifoglie soprattutto); è quanto si osserva nelle stazioni primitive esalpiche oppure nelle regioni mesalpiche ed endalpiche a seguito del passaggio di un fuoco radente;
- ricolonizzazione da parte soprattutto dell'orniello, ma anche del carpino nero o della rovere, mentre manca la rinnovazione del pino; è quanto avviene nelle pinete esalpiche;
- innesco di lunghe fasi a betulla, pioppo tremolo, salicome e maggiociondolo (specie medicina); è quanto avviene nelle pinete delle regioni mesalpiche ed endalpiche, soprattutto su substrati silicatici.

Se la morfologia diventa più dolce, come nei basso versanti e fondovalle, e il substrato è più evoluto, si verificano frequenti contaminazioni da parte dell'abete rosso a formare la pineta di pino silvestre dei substrati carbonatici mesalpica o endalpica con abete rosso. La fase subterminale della successione, a meno di altri disturbi, sarà una formazione dominata dall'abete rosso con residui di pineta, che si collega alla pecceta. Verso la regione mesalpica queste contaminazioni avvengono anche per opera del faggio. In questo caso la possibile evoluzione è verso un piceo-faggeto. Nella regione endalpica, invece, possono partecipare anche il larice e il pino cembro (figura 16.3 in Del Favero, 2004). In questi consorzi la rinnovazione del pino silvestre si insedia negli ambienti marginali o in quelli più primitivi; la rinnovazione dell'abete rosso si localizza soprattutto sulle vecchie ceppaie o su accumuli di suolo, dove si insedia a gruppi; la rinnovazione del larice e del pino cembro avviene invece in modo casuale, di solito le due specie si rinnovano, a turno, sotto un vecchio esemplare di uno dei due.

A seconda dell'evoluzione pedologica le pinete di pino silvestre assumono connotazioni diverse. Poiché l'evoluzione del suolo è un processo lento e discontinuo nello spazio e nel tempo, le formazioni di pino silvestre creano un mosaico di situazioni, dalle più primitive alle più evolute.

## 2.2 Aree di studio

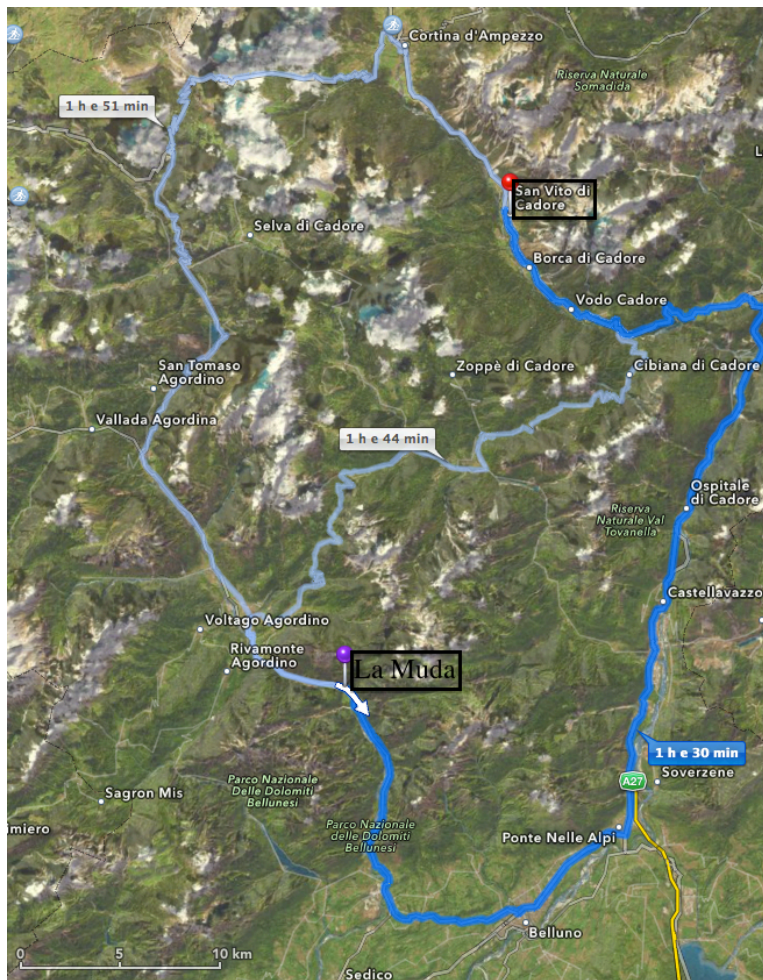


Figura 7. Le due aree di studio sulle Dolomiti bellunesi.

Due sono state le aree di studio. La prima si trova in località La Muda, nella valle del Cordevole (BL). Questa località nel maggio 2011 è stata percorsa da un forte incendio, causato dalla caduta di una pianta sulla linea elettrica. Sono stati distrutti oltre 200 ha di pineta. Per quanto riguarda la prima area, che rientra nella Comunità Montana Agordina, la quota media è di 1647 m s.l.m. Le precipitazioni in tale area risentono in modo spiccato dell'effetto barriera prodotto a sud dalle Dolomiti Bellunesi, le quali intercettano le masse d'aria umida di origine mediterranea e danno luogo ad un massimo pluviometrico di oltre 1600 mm. A nord di tale barriera si riscontra invece un tipico effetto endoalpino, con valori progressivamente decrescenti fino ai minimi di circa 1000 mm/anno dell'Alto Agordino, ad altitudini intorno ai 1500 m. L'analisi termica territoriale evidenzia che le temperature medie annue all'interno dell'area variano fra -3 e 9 °C con un gradiente termico di 0.50 °C/100m.

Il secondo sito di studio si trova nella valle del Boite, nel comune di San Vito di Cadore (BL), nell'area compresa tra il Centro studi per l'ambiente alpino dell'università di Padova, la locali-

tà Col de la Roa e la strada statale 51. La seconda area di studio ha una quota media di 1816 m s.l.m. All'interno di quest'area si trovano importanti gruppi dolomitici quali l'Antelao (3.264 m), il Sorapiss (3.205 m), le Tofane (3.244 m), il Cristallo (3.221 m) e la Croda Rossa d'Ampezzo (3.146 m). Il territorio è attraversato dal solco vallivo principale della valle del Boite (affluente del Piave) con asse indicativamente orientato in direzione SE-NW; la valle del Boite inizialmente stretta, con abitati in sinistra orografica si apre più a nord nella conca Ampezzana. L'analisi pluviometrica territoriale ha evidenziato che le precipitazioni sono condizionate dall'effetto endoalpino che è determinato dalla presenza di imponenti rilievi montuosi e che porta ad accumuli medi annui intorno ai 1150 mm. Il regime pluviometrico è di tipo solstiziale estivo. L'analisi termica territoriale ha evidenziato che le temperature medie annue variano tra i -4 °C e 8 °C con un gradiente termico medio annuo di 0.46 °C / 100 m.<sup>1</sup>

L'inquadramento delle tipologie forestali è piuttosto articolato. Nel primo sito di studio la formazione forestale principale è la pineta di pino silvestre dei substrati carbonatici mesalpica tipica. Dove la morfologia diventa più dolce e il suolo ha maggiore potenza si verificano frequenti contaminazioni da parte dell'abete rosso a formare la pineta di pino silvestre dei substrati carbonatici mesalpica con abete rosso. Mentre in quest'area il disturbo è stato causato da un incendio, evento che causa il deperimento di un numero molto elevato di alberi e in brevissimo tempo, nella località Col de la Roa (San Vito), una frana dell'Antelao degli inizi del 1800 ha alterato la struttura e la funzione dell'ecosistema, con l'instaurazione di una successione primaria. Il sistema a bassa resilienza ha determinato una condizione di deficit idrico prolungato. Questa situazione pedologica proibitiva (*leptosol*) ha determinato l'instaurarsi di pinete di pino silvestre primitive di falda detritica. Il suolo si caratterizza per essere incoerente e discontinuo, fisiologicamente secco, non in grado di trattenere l'acqua meteorica che viene persa per infiltrazione e deflusso sotterraneo. La statura potenziale del popolamento è di 7-8 m ad indicarci la bassa fertilità della stazione. Frequenti soprattutto nelle esposizioni calde, al pino silvestre si associano altre specie pioniere, quali il pino mugo e il *Salix glabra* (Del Favero, 2004). Manca invece l'abete rosso limitato dall'eccessiva aridità. Nella zona cacuminale di Col de la Roa l'esposizione a sud dei versanti comporta un'elevata percentuale di radiazione incidente. Questo fattore, congiuntamente alla forte traspirazione indotta dalle brezze di monte e di valle e alla natura litologica del substrato, incrementa il fenomeno di aridità stagionale. La notevole aridità del suolo è segnalata anche dal sottobosco, dove abbondano, a

---

<sup>1</sup> Per tutti i dati morfologici, pluviometrici e termometrici ci si riferisce a "Atlante climatico del Veneto -allegato- Caratterizzazione climatica a scopo forestale delle Comunità Montane della Regione Veneto."



causa della ridotta copertura del piano arboreo, *Erica carnea*, *Juniperus communis*, *Dryas octopetala*, *Rhododendron hirsutum*. Da segnalare è pure la presenza di *Vaccinium myrtillus*, ad indicare la progressiva acidificazione degli strati superficiali del suolo. Procedendo verso il Centro studi per l'ambiente alpino e la strada statale 51 ci si allontana dal disturbo, le condizioni pedologiche migliorano e si osservano contaminazioni di abete rosso con la formazione della pineta di pino silvestre mesalpica tipica con abete rosso. Queste formazioni caratterizzano la fase di intermedia successione (*intermediate disturbance*) nella quale le specie pioniere, intolleranti l'ombra (*Pinus sylvestris*) coesistono insieme alle specie più esigenti in acqua, tolleranti l'ombra (*Picea abies*); queste ultime domineranno nella cenosi climax, la fase terminale della successione.

## 2.3 Monitoraggio delle popolazioni con trappole e feromoni

### 2.3.1 Tipi di trappole

I modelli di trappola commerciali più comunemente usati contro gli insetti xilofagi sono due: il modello *multi-funnel* e il modello *cross-vane* (Naves et al., 2008; Rassati et al., 2012). In questo studio è stato usato un modello *multi-funnel* costituito da dodici imbuto in PVC nero disposti uno sopra all'altro, sovrastati superiormente da un coperchio protettivo mentre nella parte inferiore l'ultimo imbuto è collegato direttamente ad un contenitore cilindrico per la raccolta degli insetti catturati. È stata utilizzata la versione definita "dry", che è provvista di un foro sul fondo del contenitore di raccolta atto a favorire lo scolo dell'acqua piovana.

Il contenitore cilindrico, destinato alla raccolta degli insetti, contiene una bustina di insetticida, per evitar la fuga degli insetti catturati o eventi di predazione.



**Figura 8.** Trappola *multi-funnel* impiegata in Cadore per il monitoraggio dei generi *Ips* e *Monochamus*.

### 2.3.2 Attrattivi

Al momento dell'installazione, le trappole sono state innescate con erogatori di sostanze volatili attrattive.

Sono stati usati due tipi di miscele attrattive per *Monochamus*: un'esca cairomonale e un kit commerciale specifico per *M. galloprovincialis* (Rassati et al., 2012). La sostanza cairomonale è composta di  $\alpha$ -pinene a rilascio elevato ( $2 \text{ g day}^{-1}$ , durata in campo di 100 giorni), metil-butenolo che è un alcool altamente volatile, ( $11 \text{ mg day}^{-1}$ , durata in campo di 60 giorni) e ipsenolo che è un componente dei feromoni di aggregazione del genere *Ips* DeGeer ( $0.4 \text{ mg day}^{-1}$ , durata in campo di 60 giorni); queste sostanze sono state rilasciate da contenitori separati. Tutti i componenti sono forniti da Pherotech. In tabella 2 questo feromone è indicato come "*Ips + Monochamus*".

Il kit commerciale specifico per *M. galloprovincialis* (Galloprotect 2D®) è composto di un feromone di aggregazione specifico (2-undecyloxy-1-ethanol) e due erogatori di sostanze cairomonali (metil-butenolo e ipsenolo), completati da un erogatore di  $\alpha$ -pinene (Galloprotect Plus®). Il kit viene commercializzato dalla ditta spagnola SEDQ® e ha una durata in campo di 45-50 giorni. In tabella 2 questo feromone è indicato come "*Monochamus*".

In Europa è stato dimostrato che i feromoni del genere *Ips*, l'ipsenolo e il ipsdienolo combinati con il cis-verbenolo e il 2-metil-3-butenolo, sono attrattivi per *Monochamus galloprovincialis* (Pajares et al., 2004). Recentemente, in ambiente di laboratorio è stato dimostrato che esem-

plari maschi maturi di *M. galloprovincialis* producono un feromone che attrae esemplari femmine maturi. Questo composto prodotto esclusivamente da individui maschi maturi è stato identificato come 2-undecyloxy-1-ethanol. In due prove di campo, trappole *multi-funnel* innescate con 2-undecyloxy-1-ethanol sintetico hanno catturato entrambi i sessi della specie *M. galloprovincialis*, con numero di catture più alto incrementando il tasso di rilascio del composto. Inoltre la combinazione del nuovo composto con la miscela cairomonale ha mostrato un tasso di cattura dell'80-140% più alto rispetto alla somma delle catture usando gli attrattivi separati. I ricercatori hanno concluso affermando che il 2-undecyloxy-1-ethanol costituisce il primo feromone di aggregazione specifico per la sottofamiglia Lamiinae di cui fa parte *M. galloprovincialis* (Pajares et al., 2010).

In questo studio è stata usata esclusivamente la miscela attrattiva specifica per *M. galloprovincialis* nelle trappole in località La Muda. Invece, nel sito San Vito, tre trappole sono state innescate con la miscela specifica mentre altre tre con l'esca cairomonale generica per xilofagi.

### 2.3.3 Installazione delle trappole e loro svuotamento

Nel primo sito, La Muda, sono state collocate 4 trappole nella parte bassa del versante esposto a est, disturbato dall'incendio, su alberi scottati ma non morti.

Le 6 trappole del sito San Vito sono state collocate in questo modo:

- 2 trappole lungo la strada statale 51;
- 1 trappola in località Col de la Roa sul corpo di frana;
- 1 trappola vicino al residence "Ciasa Festinel";
- 1 trappola poco oltre il Centro studi per l'ambiente alpino dell'università di Padova vicino ad una mangiatoia per ungulati;
- 1 trappola in località Dogana Vecchia.

Le trappole sono state montate nei due siti il 2 maggio 2013 e sono stati effettuati da quella data 7 controlli per quanto riguarda il sito San Vito e 6 per La Muda con dimessa finale in data 25 ottobre 2013. Durante questo periodo le miscele attrattive sono state sostituite sulla base della loro durata in campo.

In entrambi i siti le trappole sono state agganciate a circa 1.80m dal suolo attraverso delle corde tese tra due alberi. Ciascuna trappola è stata contrassegnata con apposito codice identificativo (tabella 2).

TRAPPOLA	SITO	FEROMONE
S2C	S. Vito Col de la Roa	<i>Ips + Monochamus</i>
S3C	S. Vito strada 51	<i>Ips + Monochamus</i>
S11C	S. Vito Festinel	<i>Ips + Monochamus</i>
D1C	S. Vito mangiatoia	<i>Monochamus</i>
D4C	S. Vito strada 51	<i>Monochamus</i>
D3C	S. Vito dogana	<i>Monochamus</i>
1	La Muda	<i>Monochamus</i>
2	La Muda	<i>Monochamus</i>
3	La Muda	<i>Monochamus</i>
4	La Muda	<i>Monochamus</i>

**Tabella 2.** Trappole con codice identificativo, sito di montaggio e feromone utilizzato.

La raccolta del materiale presente all'interno dei contenitori cilindrici è avvenuta mediamente ogni 20 giorni. Gli insetti catturati sono stati posti all'interno di appositi contenitori sui quali è stato annotato il codice identificativo di ciascuna trappola. . Le operazioni di montaggio e controllo delle trappole sono state effettuate in collaborazione con gli operatori del Servizio Forestale di Belluno. Successivamente presso il dipartimento DAFNAE dell'Università di Padova, il materiale raccolto è stato smistato, identificando, separando e contando gli esemplari di *Monochamus galloprovincialis* dal resto degli insetti presenti. Gli individui d'interesse sono stati conservati all'interno di provette contenenti alcool puro 95° in modo tale da consentire eventuali analisi genetiche.

#### 2.4 Analisi molecolare

Negli ultimi anni si sono diffuse tutta una serie di metodologie molecolari d'identificazione per un accurato riconoscimento del nematode *Bursaphelenchus xylophilus* all'interno dell'insetto vettore *Monochamus*. Tra queste si è diffusa recentemente una tecnica di amplificazione del DNA che permette di ottenere risultati in tempi rapidi e in condizioni non di laboratorio, quindi in luoghi dove la sterilità non può essere controllata e i macchinari disponibili sono ridotti. Questa analisi si basa sulla LAMP (*Loop-mediated isothermal amplification*), un metodo particolare di amplificazione di acidi nucleici che si svolge ad un'unica temperatura e che presenta un livello di sensibilità superiore a quello di una PCR normale.

Per la validazione del test LAMP sono stati utilizzati 11 esemplari di *M. galloprovincialis*, conservati in etanolo 80%. L'analisi molecolare è avvenuta presso il dipartimento DAFNAE dell'Università di Padova.

Per quanto riguarda l'estrazione del DNA, il metodo del *Salting Out* è stato utilizzato per l'isolamento del DNA da porzioni di tessuto dell'insetto prelevati dal torace, dove è più probabile trovare il nematode del pino. Il principio di questa tecnica si basa sulla proprietà delle proteine di precipitare in soluzione ad alta concentrazione salina.

La LAMP è una tecnica di amplificazione del DNA con alta specificità, efficienza e rapidità, in condizioni isoterme. Questo metodo prevede l'uso di una DNA polimerasi ed un *set* di quattro *primer* che riconoscono un totale di sei regioni distinte della sequenza *target* di DNA garantendo un'elevata specificità (Notomi et al., 2000). L'amplificazione e la rilevazione della sequenza d'interesse sono completate in un singolo *step*, incubando i campioni, i *primer* e l'enzima Bst (una DNA polimerasi) ad una temperatura costante di 65°C.

La LAMP è divisa in 2 fasi, una non ciclica e l'altra ciclica. Nella prima fase non ciclica si ha la formazione di strutture ad anello (*stem-loop*) che serviranno come stampo per l'inizio della fase ciclica. Nella fase ciclica la DNA polimerasi utilizza questa particolare struttura per produrre diversi tipi di amplificati.

Per la rilevazione e la visualizzazione dei prodotti d'amplificazione è stato usato un termociclatore specifico per le reazioni LAMP, abbinato a un software in grado di quantificare la fluorescenza emessa dal fluoroforo (SYBR Green, un colorante per acidi nucleici) legato al DNA a doppia elica.

Per valutare la qualità degli estratti dei campioni di insetto recuperati da trappole, si è proceduto all'analisi di alcuni campioni mediante l'utilizzo di PCR sulle regioni *barcode* dell'insetto. Queste regioni vengono definite *barcode* perché sono impiegate per l'identificazione delle specie nel regno animale e quindi costituiscono un vero e proprio "codice a barre" per ogni specie.

## 2.5 *Analisi statistica*

I dati ottenuti dalle prove di campo sono stati sottoposti all'analisi della Varianza (ANOVA), dopo la verifica della loro normalità (test di Cochran) e la loro eventuale trasformazione ( $X' = \text{Log}(X+1)$  o  $X' = \arcsin\sqrt{P_x}$ ). In caso di differenze significative alla varianza, le medie sono state separate tramite il multiple comparison Tukey test (Honestly Significant Difference (HSD)) (Zar, 1984). Le serie di dati aventi una distribuzione non normale sono state indagate grazie ad analisi non parametriche applicando il test  $\chi^2$ . Tutti i test statistici sono stati condotti utilizzando il software STATISTICA® per Windows®.

### 3 RISULTATI

#### 3.1 Monitoraggio con trappole: catture di *Monochamus galloprovincialis*

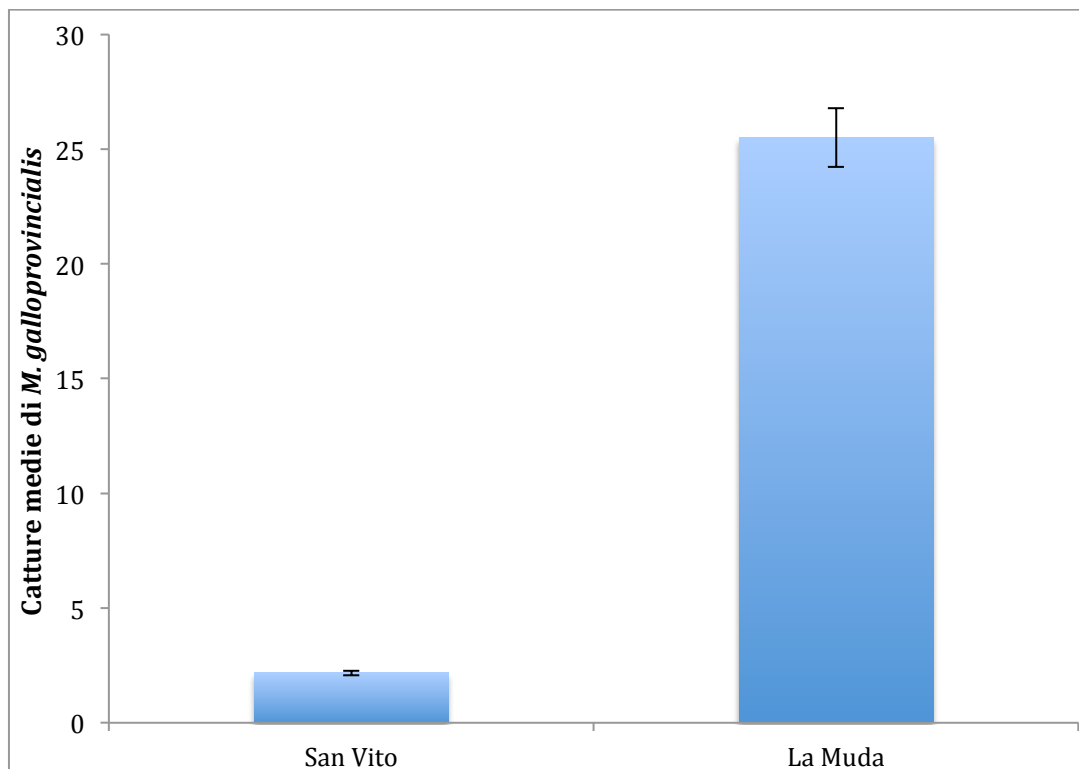
##### 3.1.1 Confronto fra aree di studio

Le catture, osservate nel corso del monitoraggio delle popolazioni di *M. galloprovincialis* condotto da giugno a fine ottobre 2013 nelle 10 stazioni indagate, oscillano da un minimo di 1 (sito San Vito strada 51) ad un massimo di 178 (sito La Muda) insetti totali per trappola (tabella 3).

SITO	TRAPPOLA	Catture tot.
S. Vito Col de la Roa	S2C	4
S. Vito strada 51	S3C	12
S. Vito Festinel	S11C	4
S. Vito mangiatoia	D1C	2
S. Vito strada 51	D4C	1
S Vito dogana	D3C	3
La Muda	1	27
La Muda	2	178
La Muda	3	77
La Muda	4	24

**Tabella 3.** Catture totali di *M. galloprovincialis* da giugno a fine ottobre 2013 nelle 10 stazioni monitorate.

Nel sito San Vito sono stati catturati un totale di 26 esemplari, con una media di 2.17 per trappola, mentre nel sito La Muda un totale di 306 esemplari, con una media di 25.5 per trappola (figura 9).



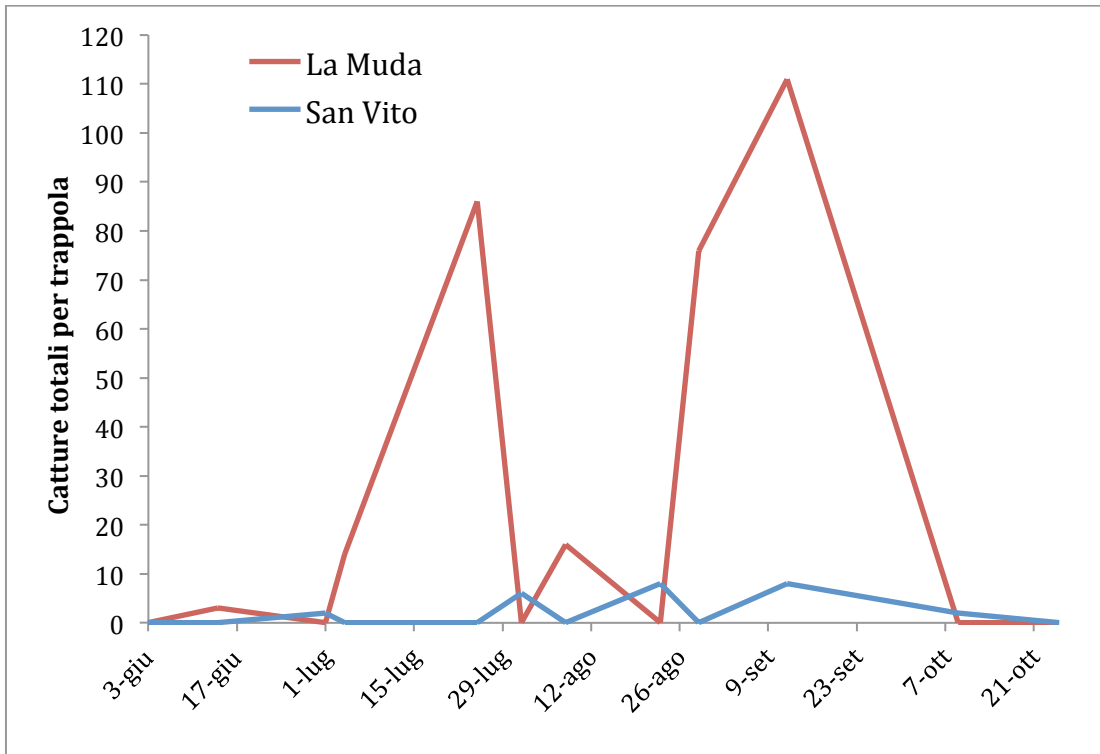
**Figura 9.** Catture medie per trappola nei due siti di monitoraggio durante il periodo giugno-ottobre 2013. Barra= errore percentuale.

### 3.1.2 Analisi della fenologia e del voltinismo di *M. galloprovincialis*

Per quanto riguarda il sito La Muda, le catture di *Monochamus galloprovincialis* si sono concentrate in modo elevato principalmente nei mesi di luglio e settembre. Ci sono stati infatti due principali picchi di volo, in data 25 luglio e 12 settembre. Il picco del 25 luglio è preceduto da catture molto basse o nulle; nel mese di agosto c'è una forte diminuzione delle catture con piccoli picchi di cattura in data 8 e 29 agosto. Dall'ultimo picco del mese di settembre, si verifica infine un progressivo declino delle catture fino alla dismessa finale delle trappole avvenuta il 25 ottobre.

Anche per quanto riguarda il sito San Vito ci sono tre picchi di volo nei mesi di luglio, agosto e settembre con numero di *Monochamus* catturati tuttavia fra loro pressoché uguale: 6 nel primo, 8 nel secondo e 8 nel terzo. In questo sito, nelle altre date di controllo delle trappole, le catture sono risultate pressoché nulle. Anche in questo caso si osserva tuttavia un'attività di volo principalmente tardo-estiva (fig. 10).

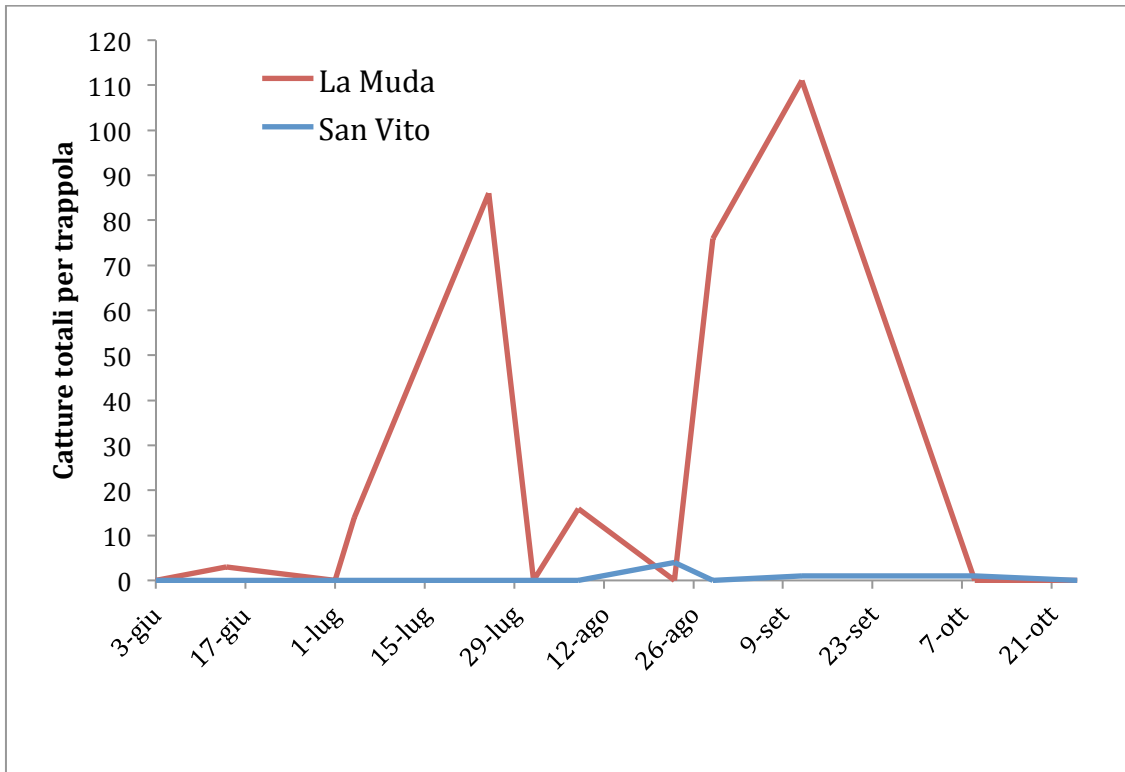




**Figura 10.** Andamento temporale delle catture totali (numero di individui) tra i due siti nell’arco del periodo di monitoraggio.

A parità di attrattivo tra i due siti, quindi considerando solo le trappole innescate con il feromone specifico per *M. galloprovincialis* (Galloprotect 2D®) indicato in tabella 2 come “*Monochamus*”, ci sono differenze statisticamente significative tra le due aree di studio (ANOVA;  $F=3.07$ ;  $P<0.0001$ ). A San Vito le catture totali per l’attrattivo “*Monochamus*” sono state di 6 esemplari con una media di 2 per trappola, a La Muda sono state di 306 esemplari con una media di 76.5 per trappola.

Attraverso il test di Tukey, effettuato sulle medie delle catture tra le due aree di studio, si è rilevato che le differenze tra le due medie prese in considerazione sono significative, con catture maggiori in ambienti danneggiati dal fuoco (La Muda)( figura 11).



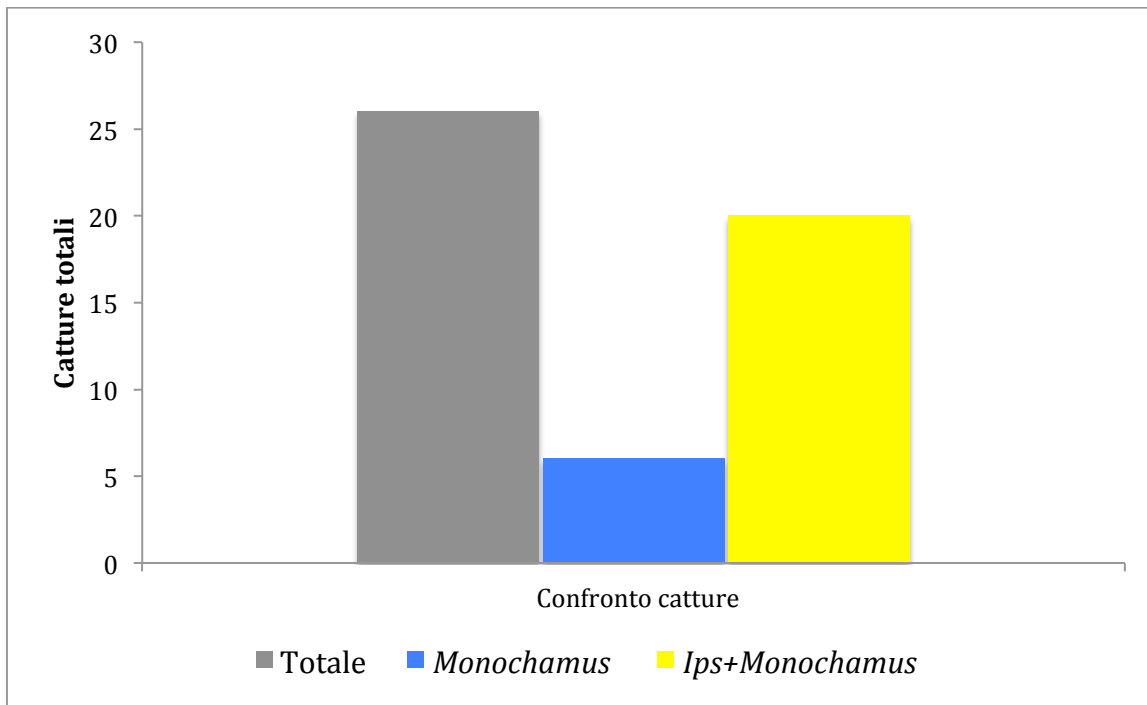
**Figura 11.** Andamento temporale delle catture nei due siti a parità di attrattivo (*Monochamus*).

### 3.1.3 Attrattivi

E' stata riscontrata una differenza di efficacia tra i due attrattivi usati, con catture totali maggiori con l'attrattivo generico ("*Ips+Monochamus*").

In particolare, nel periodo di monitoraggio a San Vito, le catture totali sono state di 6 esemplari (23%) per l'attrattivo "*Monochamus*" e 20 esemplari (77%) per l'attrattivo "*Ips+Monochamus*" (figura 12).

Nonostante l'apparente grande diversità di catture, l'analisi statistica ha evidenziato che a parità di ambiente (San Vito) non ci sono differenze significative tra i due attrattivi (ANOVA;  $F=2.9$ ;  $P<0.16$ ). Non è stato necessario in questo caso effettuare il test di Tukey.



**Figura 12.** Catture totali delle trappole montate a San Vito e innescate con i due diversi attrattivi (legenda).

### 3.2 Presenza di *Bursaphelenchus xylophilus*

L'analisi molecolare non ha evidenziato esemplari di *Monochamus* infettati dal nematode.

## 4 DISCUSSIONE

I risultati di questo studio, supportati dall'analisi statistica, mostrano una differenza significativa di catture tra le due aree di studio, con catture più elevate nel sito La Muda. A differenza di San Vito, la località La Muda nel 2011 è stata percorsa da un incendio (paragrafo 2.2). Un ambiente disturbato dal fuoco diventa idoneo alla colonizzazione da parte del *Monochamus galloprovincialis* che, come spiegato nel paragrafo 1.3.1, ha bisogno di piante deperenti per l'ovideposizione e lo sviluppo larvale e piante sane per la maturazione sessuale degli adulti (Saint-Germain et al., 2004; Naves et al., 2007; Rassati et al., 2012). Questa teoria spiega i 306 esemplari catturati a La Muda contro i 26 esemplari a San Vito.

Per quanto riguarda i due attrattivi usati nelle trappole a San Vito, nonostante l'apparente grande diversità di catture (23% per l'attrattivo specifico e 77% per l'attrattivo generico), l'analisi statistica ha dimostrato che non ci sono differenze significative nell'efficacia dei due attrattivi. Altri studi (Pajares et al., 2010; Rassati et al., 2012) hanno tuttavia dimostrato il contrario, cioè una maggiore efficacia del feromone specifico per *Monochamus* rispetto all'esca cairomonale generica. Il risultato riscontrato in questo studio è probabilmente dovuto alla bassa densità di colonizzazione dell'area (26 esemplari catturati), in quanto si tratta di un popolamento sano con poche piante deperenti e quindi non adatto a sostenere elevate popolazioni della specie.

Poiché le trappole a feromone catturano l'insetto durante le fasi di dispersione che seguono lo sfarfallamento degli adulti, i picchi di cattura corrispondono ai momenti in cui la maggior parte degli insetti è in attività e alla ricerca di siti idonei alla riproduzione. Il numero di picchi, il periodo in cui avvengono e la distanza tra essi sono informazioni utili per comprendere la biologia dell'insetto. Il *trend* stagionale delle catture indica che la popolazione di *M. galloprovincialis* è monovoltina, come osservato in studi precedenti condotti nel nord-est Italia (Hellrigl, 1970). Sebbene il volo degli adulti si estende in modo continuo da metà luglio fino ad inizio settembre, l'attività di volo è principalmente estiva con il primo picco nella seconda metà di luglio, a supporto di osservazioni precedenti condotte in Portogallo e in Italia centrale sulla fenologia della specie (Francardi e Pennacchio, 1996; Naves et al., 2008).

Uno degli obiettivi di questo lavoro è stato il monitoraggio delle popolazioni di *M. galloprovincialis* in quanto vettore del nematode *B. xylophilus*, agente del deperimento del pino. L'analisi molecolare non ha tuttavia trovato esemplari di *Monochamus* infettati dal nematode. Grazie agli studi dei ricercatori portoghesi e spagnoli (Sousa et al., 2001; Robertson et al., 2011; Abel-leira et al., 2013) sappiamo che il nematode del pino è presente in Europa; è quindi importan-

te continuare a monitorare le popolazioni del cerambicide per cercare di prevenire una possibile futura infestazione di altre pinete europee.

In Italia le pinete occupano una superficie di circa 996.611 ha (INFC, 2007) cioè circa il 10% della superficie forestale italiana, di cui 58.113 ha in Veneto (INFC, 2007) pari al 14.5% circa della superficie forestale veneta. I potenziali vettori di *Bursaphelenchus*, costituiti da varie specie di coleotteri cerambicidi del genere *Monochamus* sono inoltre ampiamente diffusi nelle regioni con clima mediterraneo, le cui temperature rientrano nell'*optimum* di sviluppo del nematode. Le condizioni ambientali sono perciò molto favorevoli ad una rapida diffusione del patogeno in Italia, qualora questo venisse introdotto. Da quanto detto si evince la necessità di disporre di metodologie diagnostiche affidabili che consentano di intercettare eventuale materiale infetto e da qui la necessità del costante monitoraggio delle popolazioni del cerambicide, attraverso studi mirati a livello regionale o locale.

Ai rischi fin qui descritti, si aggiungono inoltre le conseguenze dei cambiamenti climatici, ormai inevitabili e rese note dall'*Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC). Il risultato del riscaldamento globale potrebbe avere effetti sull'areale del *M. galloprovincialis*. Sono già state raccolte numerose prove del fatto che gli insetti possono modificare il loro areale in relazione alle variazioni della temperatura, con conseguenze in alcuni casi gravi per l'estensione di attacchi parassitari a nuove zone. Come già osservato per altre specie (Battisti e Faccoli, 2007), due sono i possibili scenari. Il primo implica lo spostamento delle popolazioni del cerambicide verso nord in relazione alla regressione dell'areale della pianta ospite principale (*Pinus sylvestris*). Il secondo scenario prevede, invece, un'espansione dell'areale dei pini mediterranei e, data la notevole plasticità trofica di *Monochamus galloprovincialis*, l'adattamento del coleottero ai nuovi ospiti (Koutroumpa et al., 2009). Il rischio dell'espansione delle popolazioni del cerambicide su ospiti secondari come *P. pinea* o *P. nigra* (Naves et al., 2006) avrebbe conseguenze devastanti nel caso di infestazioni del soprassuolo arboreo da parte del nematode del pino.

Gli insetti forestali, inoltre, sono favoriti dallo stato di progressivo indebolimento sofferto dalle piante per il ripresentarsi di estati sempre più calde e siccitose, seguite da inverni miti. L'innalzamento delle temperature medie determina una duplice azione, avvantaggiando da un lato organismi eterotermi come gli insetti, e aumentando dall'altro la vulnerabilità dei soprassuoli forestali agli attacchi dei parassiti.

Il problema delle intense pullulazioni, che negli ultimi anni stanno colpendo molti soprassuoli arborei in Italia e in altri paesi, presenta risvolti di natura economica ma anche di natura sociale. Oltre ai noti aspetti sanitari e di sicurezza pubblica e agli interessi economici per le atti-

vità selvicolturali, emergono esigenze di protezione dei popolamenti forestali dettate da fini estetico-paesaggistici e ricreativi. Le foreste, inoltre, stanno diventando sempre più importanti per i servizi ecosistemici che offrono, come il mantenimento climatico, il *sink* di carbonio, il servizio regimante etc.

Da quanto detto si può capire che il ruolo dei parassiti forestali, nella distruzione delle foreste e nello sconvolgimento dei delicati equilibri ecosistemici, avrà un impatto enorme sull'economia e sulla società umana.

In conclusione questo studio, attraverso il monitoraggio delle popolazioni con trappole e feromoni, conferma la preferenza di *M. galloprovincialis* per habitat disturbati dal fuoco, indicando tali ambienti come siti d'elezione per un eventuale monitoraggio della specie; individua come ugualmente utili entrambe le miscele feromonali saggiate; non riscontra esemplari di *Monochamus* infettati dal nematode da quarantena *B. xylophilus*. In relazione ai cambiamenti climatici in corso, il continuo monitoraggio delle due specie è indispensabile per l'individuazione delle relazioni specie-clima e soprattutto per la prevenzione dei danni nelle pinete italiane ed europee.

## 5 BIBLIOGRAFIA

Abelleira A., Picoaga A., Mansilla J. P., & Aguin O. (2013). Detection of *Bursaphelenchus xylophilus*, causal agent of pine wilt disease on *Pinus pinaster* in Northwestern Spain. *Florida Entomologist*, 96(3), 770-780.

Battisti A. & Faccoli M. (2007). Gli insetti forestali nel quadro del cambiamento climatico. *Informatore fitopatologico*, 57(10), 49-51.

Del Favero R. (2004). *I boschi delle regioni alpine italiane: tipologia, funzionamento, selvicoltura*. Padova, Cleup, pp. 123-126, 367-376

Donald P. A., Stamps W. T., & Linit M. J. (2003). Pine wilt disease in APSnet plant disease lessons. *St. Paul: The American Phytopathological Society*.

EPPO/CABI (1997) *Bursaphelenchus xylophilus*. In: Quarantine Pests for Europe, 2nd edn (Ed. Smith IM, McNamara DG, Scott PR & Holderness M), pp. 581-592. CAB International, Wallingford (GB).

Fearnside P. M. (1993). Deforestation in Brazilian Amazonia: the effect of population and land tenure. *Ambio-Journal of Human Environment Research and Management*, 22(8), 537-545.

Francardi V. & Pennacchio F. (1996). Note sulla bioecologia di *Monochamus galloprovincialis* (Olivier) in Toscana e in Liguria (Coleoptera Cerambycidae). *Redia*, 79, 153-169.

Gellini R., Grossoni P. (1996), *Botanica forestale vol 1. Gimnosperme*. Milano, Cedam, pp. 153-159.

Hellrigl K. G. (1970). Bionomie der europäischen *Monochamus*-Arten (Coleopt., Cerambycid.) und ihre Bedeutung für die Forstund Holzwirtschaft. *Redia*, 52, 367-509

Holmes T. P., Aukema J. E., Von Holle B., Liebhold A., Sills E. (2009). Economic impacts of invasive species in forest: past, present and future. *The Year in Ecology and Conservation Biology*, 1162, 18-38

INFC, 2007 – *Le stime di superficie 2005 – Prima parte*. Autori G. Tabacchi, F. De Natale, L. Di Cosmo, A. Floris, C. Gagliano, P. Gasparini, L. Genchi, G. Scrinzi, V. Tosi. Inventario Nazionale delle Foreste e dei Serbatoi Forestali di Carbonio. MiPAF – Corpo Forestale dello Stato - Ispettorato Generale, CRA - ISAFa, Trento. [on line] URL: <http://www.infc.it>.

Irvine J., Perks M. P., Magnani F. & Grace J. (1998). The response of *Pinus sylvestris* to drought: stomatal control of transpiration and hydraulic conductance. *Tree physiology*, 18(6), 393-402.

King W. B. (1985). Island birds: will the future repeat the past. *Conservation of island birds*, 3, 3-15.

Kirkendall L. R., Faccoli M. (2010). Bark beetles and pinhole borers (Curculionidae, Scolytinae, Platypodinae) alien to Europe. *ZooKeys*, 56, 227-251

Koutroumpa F. A., Salle A., Lieutier F. & Roux-Morabito G. (2009). Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* on its main hosts *Pinus sylvestris* and *Pinus pinaster*. *Entomologia Hellenica*, 18, 35-46.

Kuroda K. (1991). Mechanism of cavitation development in the pine wilt disease. *European journal of forest pathology*, 21(2), 82-89.

Linit M. J. (1988). Nematode-vector relationships in the pine wilt disease system. *Journal of Nematology*, 20(2), 227-235.

Longo S. (2009). Fitofagi esotici e invasioni biologiche negli ecosistemi forestali. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, 57, 69-77.

Mack R. N., Simberloff D., Lonsdale W. M., Evans H., Clout M. & Bazzaz F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10(3), 689-710.

Mariani L., Parisi S. G., Rech F. (2013). *Caratterizzazione climatica a scopo forestale delle Comunità Montane della Regione Veneto*. Regione del Veneto, Mestre.

Naves P. M., De Sousa E. M., & Quartau J. A. (2006). Feeding and oviposition preferences of *Monochamus galloprovincialis* for certain conifers under laboratory conditions. *Entomologia experimentalis et applicata*, 120(2), 99-104.

Naves P. M. (2007). Biology of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae) and its role as vector of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda, Parasitaphelenchidae) in Portugal. *Doutoramento em Biologia (Biologia Populacional)*. Faculdade de Ciências.



Naves P. M., Camacho S., De Sousa E. M., & Quartau, J. A. (2007). Transmission of the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* through feeding activity of *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae). *Journal of Applied Entomology*, 131(1), 21-25.

Naves P. M., Sousa E., & Rodrigues J. M. (2008). Biology of *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera, Cerambycidae) in the pine wilt disease affected zone, Southern Portugal. *Silva Lusitana*, 16(2), 133-148.

Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., & Hase T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic acids research*, 28(12), e63-e63.

Pajares J. A., Ibeas F., Diez J. J. & Gallego D. (2004). Attractive responses by *Monochamus galloprovincialis* (Col., Cerambycidae) to host and bark beetle semiochemicals. *Journal of Applied Entomology*, 128(9 - 10), 633-638.

Pajares J. A., Álvarez G., Ibeas F., Gallego D., Hall D. R. & Farman D. I. (2010). Identification and field activity of a male-produced aggregation pheromone in the pine sawyer beetle, *Monochamus galloprovincialis*. *Journal of chemical ecology*, 36(6), 570-583.

Rassati D., Petrucco Toffolo E., Battisti A., Faccoli M. (2012). Monitoring of the pine sawyer beetle *Monochamus galloprovincialis* by pheromone traps in Italy. *Phytoparasitica*, 40, 329-336.

Robertson L., Cobacho Arcos S., Escuer M., Santiago Merino R., Esparrago G., Abelleira A. & Navas A. (2011). Incidence of the pinewood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* Steiner & Buhrer, 1934 (Nickle, 1970) in Spain. *Nematology*, 13(6), 755-757.

Saint-Germain M., Drapeau P. & Hebert C. (2004). Landscape-scale habitat selection patterns of *Monochamus scutellatus* (Coleoptera: Cerambycidae) in a recently burned black spruce forest. *Environmental Entomology*, 33(6), 1703-1710.

Sousa E., Bravo M. A., Pires J., Naves P., Penas A. C., Bonifacio L. & Mota M. (2001). *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda; Aphelenchoididae) associated with *Monochamus galloprovincialis* (Coleoptera; Cerambycidae) in Portugal. *Nematology*, 3, 89-91.

## **Ringraziamenti**

Si ringrazia il Dott. Valerio Finozzi e i Servizi Forestali di Belluno per l'insostituibile aiuto erogato nello svolgimento di tutte le prove di campo.