

ENEA

Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile



IL CAMPIONAMENTO DELL'ARTROPODOFAUNA PER IL MONITORAGGIO AMBIENTALE

Applicazioni per la valutazione dell'impatto ambientale delle
Piante Geneticamente Modificate

a cura di: Giovanni Burgio, Ferdinando Baldacchino, Alessandra Magarelli,
Antonio Masetti, Salvatore Santorsola, Salvatore Arpaia



**IL CAMPIONAMENTO DELL'ARTOPODOFAUNA
PER IL MONITORAGGIO AMBIENTALE**

Applicazioni per valutazione dell'impatto ambientale delle
Piante Geneticamente Modificate

A cura di: Giovanni Burgio, Ferdinando Baldacchino, Alessandra Magarelli,
Antonio Masetti, Salvatore Santorsola, Salvatore Arpaia

“Validation of risk management tools for genetically modified plants in protected and sensitive areas in Italy” (MAN-GMP-ITA), progetto LIFE+ NAT/IT/000334. Partner ENEA – Agenzia nazionale per le nuove tecnologie, l’energia e lo sviluppo economico sostenibile, Rotondella (MT); ISPRA - Istituto Superiore per la Ricerca e la Protezione Ambientale, Roma; ALMA MATER STUDIORUM - Università di Bologna, Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Bologna; CRA-RPS - Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per lo Studio delle Relazioni tra Pianta e Suolo, Roma; Consorzio In.Bio - Consorzio per la creazione di Incubatori di imprese innovative Biotecnologiche, Roma.

Il presente volume è stato ottenuto da una rielaborazione del deliverable dell’Azione di progetto A3 - Report Conclusivo su “Measurement Endpoints, Monitoring and Statistical Methods”. Responsabile dell’azione: Università di Bologna. Partner partecipanti: ENEA, ISPRA.

Redazione del volume a cura di: Giovanni Burgio¹, Ferdinando Baldacchino², Alessandra Magarelli², Antonio Masetti¹, Salvatore Santorsola², Salvatore Arpaia²

¹*Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum Università di Bologna*

²*ENEA, Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, l’Energia e lo Sviluppo Economico Sostenibile, UTTRI-SSPP, Centro Ricerche Trisaia, Rotondella (MT)*

ISBN: 978-88-8286-277-0

PREFAZIONE

Le tematiche che coinvolgono lo sviluppo ed applicazione delle agrobiotecnologie ed in particolare l'argomento "Organismi Geneticamente Modificati", sia per la loro rilevanza ed attualità scientifica, sia per i molteplici e delicati aspetti di natura sociale ed economica coinvolti, suscitano da sempre grande interesse.

Sempre più spesso, in particolare sull'argomento OGM, si assiste da parte di addetti ai lavori o di rappresentanti della società civile, a prese di posizione a favore o contro l'uso ed il rilascio di specie geneticamente modificate o loro derivati, la stragrande maggioranza delle volte non suffragate da dati oggettivi e scientificamente validati e condivisi. In un tale contesto è facile immaginare quali e quante implicazioni, le cui conseguenze possono essere difficilmente prevedibili, possano derivare da affermazioni e valutazioni frettolose in materia.

E' per questo motivo che chi si occupa di attività di Ricerca in questo settore, e più in generale di Biosicurezza, ha l'obbligo, scientifico ed etico, di valutare con particolare attenzione i risultati delle proprie ricerche e comunque ogni aspetto, tecnico e non tecnico, che esse coinvolgono. Ciò assume ancora maggiore rilevanza in una realtà come quella del nostro Paese, ove la salvaguardia della biodiversità e la protezione della qualità delle produzioni agroalimentari del *Made in Italy* rappresentano due valori non discutibili. C'è poi da considerare che, se anche un cambiamento viene definito tecnicamente attuabile ed abbia passato gli esami più rigidi e stringenti in materia di "analisi del rischio", a volte non risulta comunque accettabile dalla società civile, in special modo se essa stessa non è stata partecipe del processo che lo ha generato.

Il Progetto MAN-GMP-ITA, che vede impegnati il CRA, l'ISPRA, l'Università di Bologna, il Consorzio In.Bio, oltre l'ENEA, ha l'obiettivo di valutare il rischio dell'esposizione a Piante OGM in aree protette e sensibili in diversi areali del nostro Paese. La ricerca non utilizza piante geneticamente modificate per la sperimentazione in campo. L'obiettivo, infatti, è assumere informazioni dettagliate dei livelli preesistenti di biodiversità nelle aree da proteggere per poter poi fissare con precisione gli obiettivi di protezione ambientale ed elaborare e proporre una metodologia per monitorare e gestire i possibili effetti sulla biodiversità.

Il presente manuale "*Il campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale*" rappresenta un *deliverable* del Progetto e nel contempo contribuisce a fornire alla comunità scientifica uno strumento sviluppato secondo regole e metodologie in linea con

gli attuali canoni scientifici condivisi ed applicabili ad analisi ecologiche dell'artropodofauna anche in ambiti diversi. Oltre che come strumento tecnico destinato agli operatori del settore, il manuale è pensato anche per consentire di approfondire tali tematiche a quanti lo desiderino, per studio, per professione o anche solo per formarsi una personale opinione sull'argomento.

Roberto Balducchi

Coordinamento di Ricerca nel settore delle agro-biotecnologie

ENEA - Centro Ricerche Trisaia

SOMMARIO

1 I bioindicatori	7
2 Criteri per la selezione di artropodi bioindicatori.....	10
2.1. Criteri per la selezione di specie per lo studio degli impatti ambientali delle piante geneticamente modificate	12
3 Metodologie di campionamento per lo studio della biodiversità degli insetti	14
3.1 Generalità.....	14
3.2 Gli scopi di un campionamento	15
3.3 Tecniche e programmi di campionamento	22
4 Principali tecniche di campionamento per l'artropodofauna.....	25
5 Programmi di campionamento per l'artropodofauna e altri indicatori	47
5.1. Programmi di campionamento convenzionali	47
5.2 Programmi di campionamento su base spaziale	50
5.3 La distribuzione spaziale: un importante requisito per studiare le popolazioni di artropodi e altri organismi	51
6 Piani di monitoraggio per la valutazione degli impatti di piante bt sull'artropodofauna non bersaglio: review degli studi di campo	57
6.1 Costruzione del database.....	59
6.2 Risultati	60
6.3 Analisi dei dati e disegno sperimentale	64
Bibliografia	69
Appendice 1. schede riassuntive delle caratteristiche di alcuni di gruppi di artropodi comunemente impiegati come bioindicatori	80
Bibliografia di base sull'impiego di artropodi come indicatori biologici	87
Appendice 2 - tecniche di spazializzazione dei dati	92
Bibliografia di base su teorie e tecniche per l'analisi spaziale dei dati.....	130
Bibliografia su tecniche di analisi spaziale dei dati applicate allo studio delle popolazioni di artropodi	133

1 I Bioindicatori

Il primo passo nella progettazione di un programma di monitoraggio ambientale è la selezione di organismi bioindicatori più adatti allo scopo. L'evidente ragione di questa scelta preliminare è dettata dal fatto che anche il più povero degli ambienti di studio può mantenere un numero tanto elevato di specie da rendere impraticabile il monitoraggio di tutte le specie ivi presenti.

Benché possa sembrare intuitiva, la risposta alla domanda “Che cosa è un bioindicatore?” non è affatto semplice. Una definizione di bioindicatore ampiamente condivisa dagli studiosi è la seguente: “una specie (o un gruppo di specie) che risponde in maniera prevedibile a uno o più fattori esterni e la cui presenza è indicativa del mantenimento di determinate condizioni ambientali”. Recentemente è stata proposta una suddivisione dei bioindicatori in tre classi (Tabella 1). Pur se recepita e largamente adottata, questa suddivisione è comunque arbitraria.

Le diverse categorie, infatti, sono abbondantemente sovrapposte e molti organismi possono essere inclusi in più di una categoria.

Tabella 1 Classificazione dei bioindicatori.

<u>Indicatori AMBIENTALI</u>	evidenziano una perturbazione nell'ambiente
<u>Indicatori ECOLOGICI</u>	dimostrano gli effetti delle alterazioni ambientali sui sistemi biologici
<u>Indicatori di BIODIVERSITÀ</u>	riflettono in qualche misura la biodiversità generale di un ambiente

Il processo di scelta di un organismo (o un gruppo di organismi) da utilizzare come bioindicatore parte dalla definizione degli obiettivi del piano di monitoraggio. La scelta degli organismi bioindicatori da monitorare deve essere fatta specificamente in funzione del contesto ambientale (es. area naturale o antropizzata).

Facendo riferimento al caso specifico della valutazione di possibili effetti ambientali a carico dell'artropodofauna in un agro-ecosistema (e l'esempio porta già ad una riduzione consistente del numero di specie possibilmente soggette ad indagine), le interazioni fra i diversi livelli trofici sono molteplici. In Figura 1 è riportato uno schema semplificato che illustra le possibili interazioni tra piante ed artropodofauna.

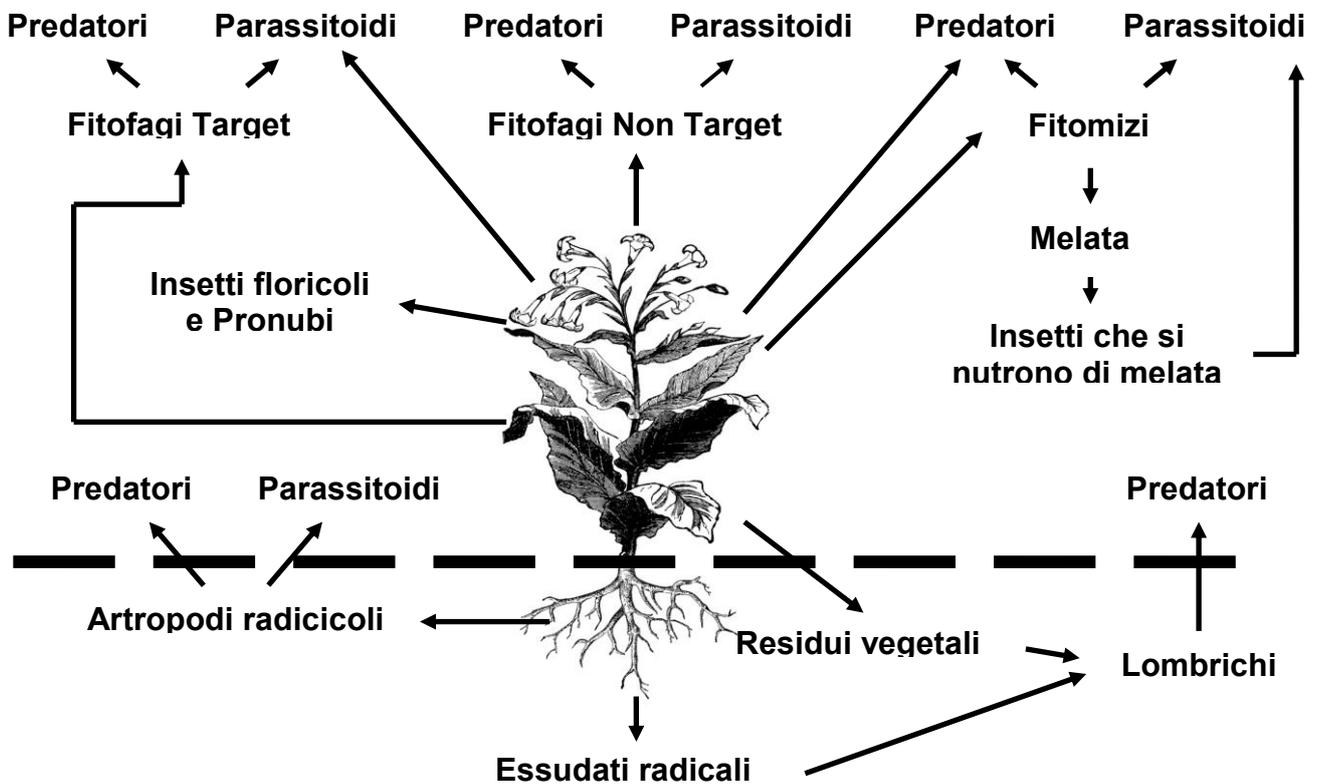


Figura 1 Schematizzazione delle potenziali interazioni tra piante geneticamente modificate e artropodofauna

Tutti gli studi di laboratorio e la maggior parte degli studi di campo hanno come obiettivo l'isolamento di una o poche interazioni trofiche scelte all'interno delle reti alimentari esistenti nell'agroecosistema. La valutazione degli effetti che lo stressor ambientale può causare sulle

singole specie selezionate viene quindi effettuata monitorando i principali parametri biologici di queste in condizioni controllate. Tuttavia a livello di (agro)ecosistema tutte le molteplici interazioni tra PGM ed artropodofauna sono difficilmente isolabili in maniera completa e risulta più adeguata una valutazione a livello di biodiversità generale (approccio “quasi-olistico”). Di conseguenza si registra un crescente interesse per gli indicatori di biodiversità che hanno maggiore potenzialità di evidenziare possibili perturbazioni nell’ecosistema.

Tra la moltitudine di artropodi utilizzabili è possibile effettuare un primo screening sulla base di diversi “**criteri a priori**” legati essenzialmente alle caratteristiche bio-ecologiche degli organismi, al livello di conoscenze scientifiche sul gruppo tassonomico, alla scala dello studio e ad altre esigenze contingenti (vedi capitolo 2).

2 Criteri per la Selezione di Artropodi Bioindicatori

Tra le caratteristiche biologiche maggiormente utilizzate per la scelta di bioindicatori, le più comuni sono le seguenti:

- **Regime trofico:** nel *Phylum* degli artropodi sono rappresentate tutte le tipologie di regime alimentare: Micofago, Saprofago, Fitofago (ivi inclusi fitomizi e xilofagi), Fito-saprofago, Entomofago, ecc.

Moltissimi sono gli insetti caratterizzati da **regimi alimentari misti**. È il caso ad esempio di diversi insetti predatori come Coleotteri ed Eterotteri che normalmente si nutrono di altri artropodi, ma, in caso di scarsità di prede, possono cibarsi di materiali vegetali per periodi più o meno lunghi o nutrirsi di linfa delle piante come complemento alla loro dieta proteica. Bisogna anche tenere in considerazione che gli insetti a metamorfosi completa (olometaboli) hanno, nella maggior parte dei casi, regimi alimentari completamente diversi nello stato larvale ed in quello adulto. Gli esempi sono molteplici, uno ben noto è quello dei Sirfidi della tribù dei Sirfini con larve che sono predatrici di afidi ed adulti floricoli.

- **Categoria Funzionale:** definisce la funzione svolta da un determinato organismo nel suo ecosistema. Si riconoscono:

Consumatori primari: gli erbivori, inclusi i pollinifagi che hanno spesso anche una fondamentale funzione ecologica come impollinatori o pronubi.

Consumatori secondari e di ordine superiore: sono i carnivori in senso lato che includono predatori, parassitoidi, iperparassitoidi, parassiti.

Detritivori e decompositori: organismi che si cibano di materia organica derivante da organismi morti o da materiale fecale.

Un singolo organismo può ricoprire diversi ruoli funzionali come nel caso di molti Imenotteri parassitoidi che sono anche impollinatori. La categoria funzionale varia anche in ragione dello stadio di sviluppo come ad esempio per i Lepidotteri diurni che hanno larve fitofaghe ed adulti floricoli ed impollinatori.

- **Mobilità:** gli artropodi mostrano tutte le sfumature possibili circa il livello di mobilità. Si passa da organismi **sessili**, immobili per una parte più o meno lunga del loro ciclo vitale, ad organismi **camminatori** più o meno erratici ad insetti **volatori** a volte capaci di migrazioni per centinaia di chilometri.

Il livello di mobilità è fortemente influenzato dallo stadio di sviluppo: in genere le forme giovanili sono poco mobili, mentre gli adulti (spesso volatori) si possono spostare su distanze più ampie. In base alla scala spaziale e ad altre caratteristiche del piano di monitoraggio si devono scegliere bioindicatori con mobilità adeguata.

- **Localizzazione:** in base alla localizzazione, gli artropodi sono classicamente suddivisi in due grandi categorie:

Artropodi del terreno o edafici: possono essere **ipogei** (vivono sottoterra), o **epigei** (si spostano principalmente sulla superficie del terreno).

Artropodi della parte aerea delle piante: questi possono essere ulteriormente suddivisi in **endofiti** (vivono all'interno dei tessuti vegetali), **camminatori** e **volatori**.

- **Scala spaziale dello studio:** solitamente una prima grossa suddivisione riguarda le prove di campo e di laboratorio, anche se alcuni autori individuano anche alcuni livelli intermedi di non semplice definizione e standardizzazione, come il semi-campo ed il microcosmo. Nell'ambito delle prove di campo, sono individuate a loro volta diverse scale spaziali (*field-scale* o scala di campo; *farm-scale* o scala aziendale; *landscape-scale* macroscale o scala di paesaggio-comprensorio).

- **Conoscenze scientifiche:** nella scelta di un gruppo di organismi da utilizzare come bioindicatori, oltre a conoscenze dettagliate su biologia ed ecologia, sono di primaria importanza tutta una serie di altre informazioni come: il livello di conoscenza tassonomica generale e delle biocenosi locali, la semplicità nell'identificazione e disponibilità di esperti, la disponibilità di banche dati facilmente fruibili e possibilmente informatizzate.

- **Campionamento:** nella scelta di un bioindicatore, gli aspetti tecnici legati all'efficacia del suo campionamento sono di primaria importanza, ma devono essere tenuti in considerazione anche aspetti di ordine economico, la semplicità di esecuzione e la possibilità di standardizzare il campionamento, ecc.

Nell'allegato 1 vengono fornite alcune schede relative alle caratteristiche biologiche sopra indicate per i gruppi di insetti più comunemente utilizzati come indicatori biologici.

2.1 Criteri per la Selezione di Specie per lo Studio degli Impatti Ambientali delle Piante Geneticamente Modificate

Nella letteratura scientifica ci sono diversi criteri che sono stati suggeriti per la selezione di specie “non bersaglio” su cui condurre l'accertamento del rischio ambientale dovuto all'uso di piante geneticamente modificate.

Romeis *et al.* (2008) hanno proposto di selezionare specie che siano rappresentative del genere di appartenenza e/o di particolari gruppi funzionali (inclusi erbivori, impollinatori, predatori e parassitoidi, decompositori, ecc.) e che possano essere testate in maniera affidabile in condizioni di laboratorio e/o di campo. Queste specie vengono definite “*surrogate species*” e vengono selezionate sulla base della loro possibile esposizione al fattore di stress ambientale costituito dai prodotti del transgene. Ad esempio, se una tossina Bt è espressa nel polline, l'ape da miele (*Apis mellifera* L.) può essere considerata come utile “*surrogate species*” per tutta la categoria degli impollinatori. Le api sono, inoltre, presenti ed importanti in molte colture e quindi sono anche delle specie chiave di tali agroecosistemi per il ruolo ecologico che esse svolgono. Organismi più specificamente legati ad un agroecosistema, e coinvolti in importanti funzioni ecologiche, possono essere inoltre selezionati a livello di genere rappresentativo (e.g. *Orius* spp.). Specie fitofaghe che presentano una nota sensibilità allo specifico prodotto di PGM vengono talora usate quale “*surrogate species*” secondo quest'approccio. In questa forma di selezione di organismi indicatori dell'impatto causato da PGM, la familiarità con la specie quale organismo da laboratorio è ritenuta particolarmente importante. Il concetto di usare “*surrogate species*” è largamente applicato negli studi di ecotossicologia, ad esempio nel monitoraggio degli effetti di sostanze inquinanti.

Il criterio di selezionare specie appartenenti a specifici gruppi funzionali o che hanno un importante valore antropocentrico (e.g. specie di valore conservazionistico) sono alla base del concetto presentato da Andow *et al.* (2006). I componenti essenziali di questo approccio includono i seguenti passi: a) selezionare gli elementi per la misurazione del rischio, b) caratterizzare le vie di esposizione possibili e c) selezionare in maniera prioritaria (ranking) le specie che rispondono alle caratteristiche ecologiche dello specifico agroecosistema nell'ambiente ricevente. Questo processo di selezione consente la definizione in maniera trasparente di circa 6-10 specie chiave per la specifica combinazione PGM /carattere espresso che devono poi essere studiate con maggiore dettaglio.

Facendo una selezione ragionata dei principi proposti da entrambi gli approcci sopra descritti, la European Food Safety Authority (EFSA, 2010a) ha elaborato delle linee guida per la selezione di specie “non-bersaglio” su cui basare gli studi di valutazione dell’impatto ambientale fondate sulla identificazione di “*focal species*”, rappresentative di tutti i gruppi funzionali presenti negli agroecosistemi, e priorizzate sulla base dei seguenti criteri:

- la specie è esposta alla PGM nelle normali condizioni di coltivazione, con specificazione degli stadi vitali esposti;
- sensibilità nota della specie verso i prodotti espressi dalla PGM;
- legame della specie all’agroecosistema e presenza di fonti di cibo alternative;
- abbondanza;
- possibili interazioni trofiche (dirette o indirette) con la specie bersaglio (i.e. la specie fitofaga contro cui è stata introdotta la resistenza in pianta);
- vulnerabilità della specie (i.e. popolazione già sottoposta a stress ambientali);
- rilevanza ecologica per gli habitat adiacenti, inclusi gli habitat naturali e semi-naturali.

Nel processo di selezione proposto dall’EFSA (2010b) viene inoltre esplicitato che come “*stressor*” vanno considerati sia i prodotti del transgene ed i loro metaboliti, che la PGM stessa.

3 Metodologie di Campionamento per lo Studio della Biodiversità degli Insetti

3.1 Generalità

Il campionamento delle popolazioni di artropodi costituisce una fase molto delicata nell'ambito dell'entomologia applicata, poiché influisce su qualità ed attendibilità dei dati raccolti in campo.

Uno dei principi di base della teoria del campionamento è il seguente: **Stime affidabili della densità di una popolazione di una specie devono essere basate sulla raccolta di campioni che siano rappresentativi del range dell'abbondanza della specie nell'area interessata.** Questo principio si basa sull'assunto di evitare scelte individuali di tipo soggettivo, che causano distorsione (*bias*). I programmi e le tecniche di campionamento qui analizzati, cercano proprio di evitare l'influenza di questo tipo di disturbo.

Le statistiche tradizionali definiscono il campione in base a degli indici statistici di posizione, comunemente alla densità **media** di popolazione, nonché ad alcuni indici di dispersione della media stessa, come la **varianza** (*var* oppure σ^2), la **deviazione standard** (**SD**, oppure σ), e l'**errore standard** (**SE**), che non è altro che la deviazione standard di una media campionaria (cioè SD/\sqrt{n}). Da ricordare comunque che esistono altri stimatori della tendenza centrale di una popolazione come la **mediana** e la **moda**. Nei casi in cui la distribuzione dei dati non rispetta il requisito di normalità (cioè i dati non sono distribuiti secondo una curva gaussiana), o se si tratta di distribuzioni asimmetriche, la mediana o la moda possono essere dei parametri giusti per descrivere la popolazione.

E' importante ricordare alcune caratteristiche fondamentali del concetto statistico di popolazione che è un fenomeno reale, ma di natura astratta e non osservabile, basandosi sul concetto di "campionamento ripetibile all'infinito". Ecco perché essa è stimabile esclusivamente attraverso l'analisi delle caratteristiche di un suo campione che possa essere ripetibile indefinitamente ed i suoi risultati aggregati definiscono la "popolazione di misure" (Fisher, 1925). Il passaggio logico fra campione e popolazione si basa su un "presente" (il campione di cui si dispone) tramite il quale si simula un "futuro". Perciò solo un campionamento bene eseguito consentirà la valutazione accurata delle caratteristiche della popolazione oggetto di studio, tramite il calcolo di parametri che consentono la stima di quelli della popolazione "vera" (es. media campionaria m , che rappresenta la stima della "vera"

media μ della popolazione, o la varianza campionaria s^2 , che stima quella della popolazione σ^2).

Questo concetto di inferenza statistica delle stime campionarie è valido tenendo presente però una serie di assunzioni sulla natura dell'indagine; in particolare si è dimostrato valido **per popolazioni normalmente distribuite**, e se il campionamento viene fatto raccogliendo sempre **campioni indipendenti**. In questa sede non viene svolta una trattazione dettagliata di tutti i requisiti per ottenere delle stime statisticamente robuste, è importante però evidenziare che, per il teorema centrale del limite di Lindeberg-Lévy, un campione casuale estratto da una popolazione con distribuzione qualsiasi, **per un numero di campioni sufficientemente grande**, tende a disporsi come una popolazione normale standard, pertanto le stime campionarie risultano valide.

Va sottolineato che in natura le popolazioni entomatiche non rispondono sempre al requisito della distribuzione normale e pertanto questa operazione di stima è particolarmente delicata quando si tratta di stimare popolazioni di insetti, o di stati patologici delle piante, la cui distribuzione risulta spesso molto eterogenea in campo.

3.2 Gli scopi di un campionamento

Il campionamento deve tenere conto del contesto specifico in cui si opera. Ad esempio la stima delle popolazioni di insetti nei campionamenti periodici in un'azienda agraria è finalizzata sempre a una decisione operativa. I tecnici o gli agricoltori devono, infatti, rispondere ad esigenze molto pratiche, come la necessità di intervenire o meno con un trattamento, oppure se la grandezza del campione è sufficiente a stimare l'entità della popolazione di un fitofago oppure è necessario continuare a campionare.

Nell'ecologia applicata, invece, conoscere la densità di popolazione di un insetto può essere importante per valutare ad esempio l'influenza di input e fattori di disturbo sulla biodiversità (es. sostanze inquinanti, insetticidi, ecc.). Il caso di uno studio dell'impatto di piante geneticamente modificate (PGM) sull'artropodofauna rappresenta un nuovo caso in tale ambito, come pure l'impostazione di una politica ambientale protezionistica (insetti rari da proteggere) e la progettazione di riserve e parchi (la conoscenza del volume di una popolazione di insetti ritenuti fondamentali per il corretto funzionamento dell'ambiente influisce sulla stima della dimensione dell'area protetta) riveste un ruolo importante nella protezione della natura. Altri settori d'indagine, come ad esempio la faunistica, possono

prevedere studi che si prefiggono di stilare liste di presenza di specie appartenenti a un certo gruppo, associate alle loro abbondanze relative.

Pertanto in fase di progettazione e programmazione di un piano di campionamento, è necessario definire preliminarmente precisi obiettivi da perseguire. L'esempio in Figura 2 riguarda diversi tipi di campionamento possibili in campo agrario a supporto di azioni di lotta integrata.

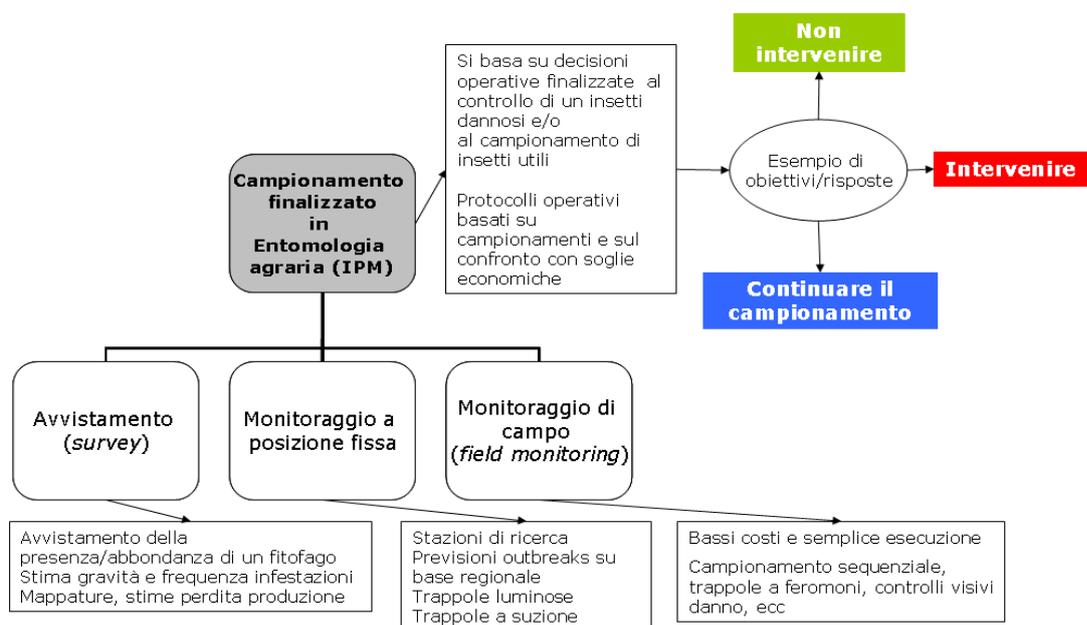


Figura 2. Flow chart per la definizione di un piano di campionamento

In Figura 3 vengono schematizzati gli obiettivi e le fasi operative da seguire nell'impostazione di un programma di campionamento relativo ad un organismo bioindicatore. Ad ogni obiettivo segue una specifica fase operativa di campo. In questo caso il campionamento ha come scopo la stima delle popolazioni di un insetto utile, o la sua presenza.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

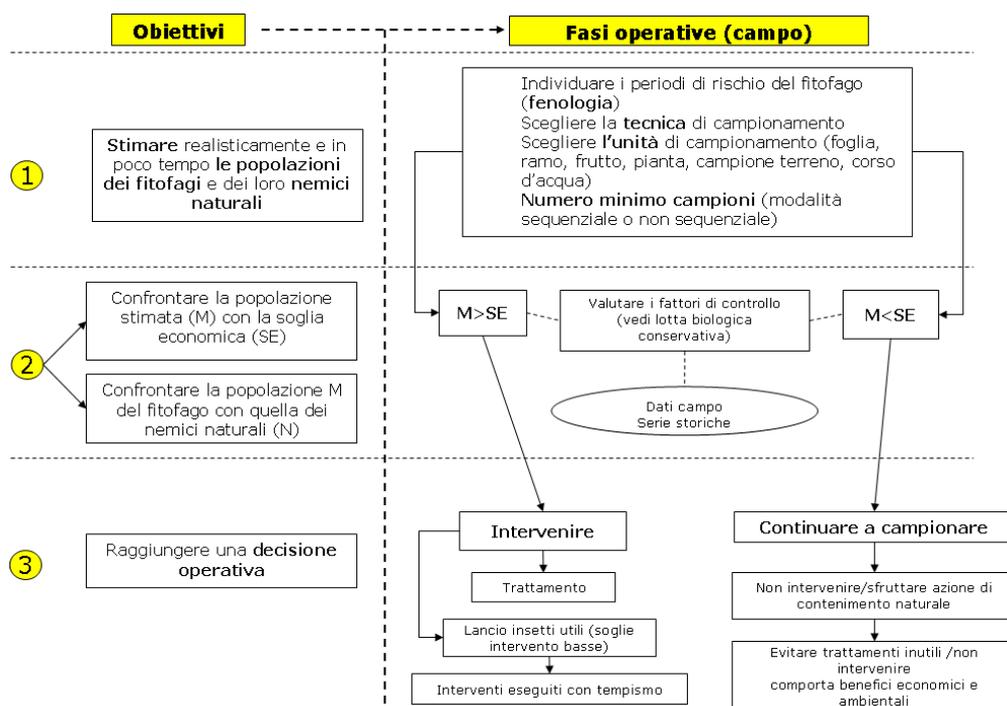


Figura 3. Obiettivi e fasi operative di un piano di campionamento per un insetto come bioindicatore

In Figura 4 vengono invece indicati obiettivi e fasi operative nell'impostazione di un programma di campionamento per insetti fitofagi. Da notare come in questo caso il campionamento sia finalizzato alla decisione di intervenire o non intervenire contro un insetto fitofago.

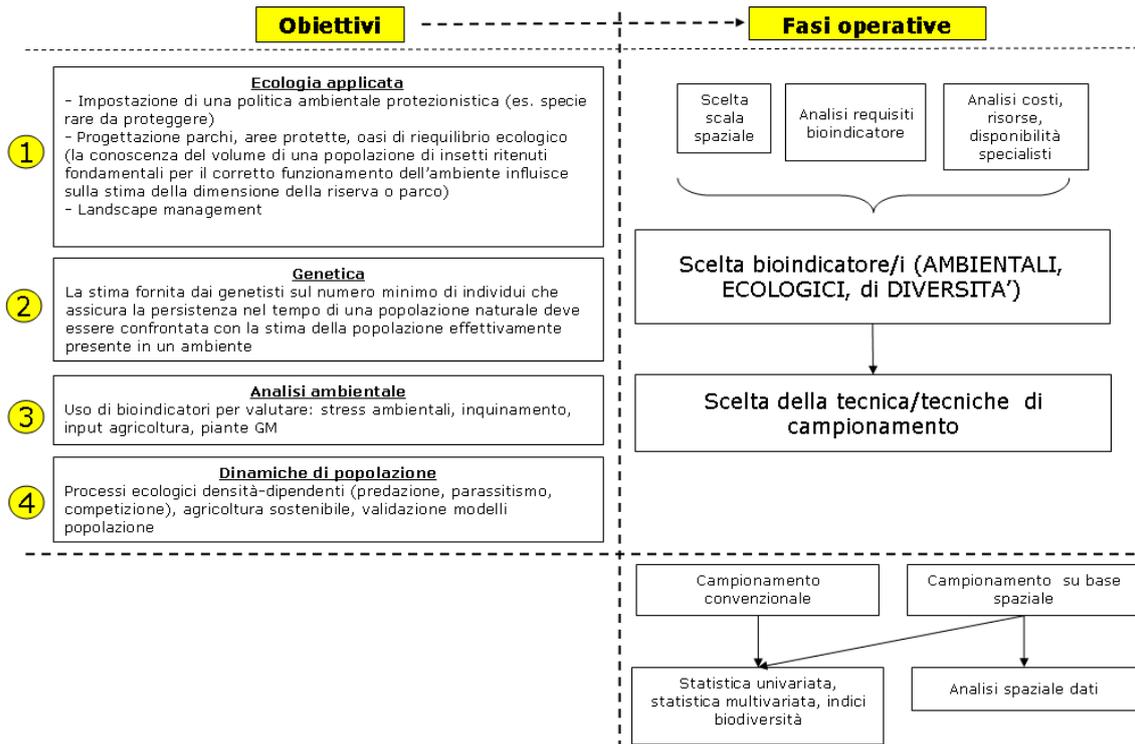


Figura 4. Obiettivi e relative fasi operative, nell'impostazione di un programma di campionamento per un insetto potenzialmente dannoso in agricoltura

Anche il concetto, apparentemente semplice, di popolazione in biologia nasconde in realtà complicazioni. Nel caso degli insetti le popolazioni mostrano spesso risposte aggregative locali (*patches*), sono fluttuanti nel tempo e nello spazio, sono soggette ad immigrazione ed emigrazione, manifestano sotto-popolazioni nei siti di aggregazione.

Per questi motivi, per gli insetti (ed altri organismi) si parla spesso di meta-popolazioni, un termine che indica un insieme di più popolazioni locali collegate fra loro da individui.

Il piccolo glossario fornito in Tabella 2 costituisce una rassegna sintetica sui termini più ricorrenti relativi al campionamento degli artropodi.

Tabella 2. Definizione di termini comunemente impiegati nel campionamento entomologico

Termine	Definizione	Bibliografia di riferimento
Popolazione	Gruppo di individui presenti in un dato tempo entro un certo ambiente o parte di esso (coltura, pianta, organo vegetale, siepe, bosco, vallata, lago, isola, fiume, ecc.).	Southwood (1975) Rossi e Giavelli (1990)
Campione	Gruppo rappresentativo di individui sul quale ottenere generalizzazioni concernenti la popolazione o la comunità di partenza.	Cochran (1977) Southwood (1975)
Densità di popolazione	Rapporto tra il volume della popolazione e la dimensione dell'ambiente (misurata solitamente come area o volume) o un parametro della vegetazione (pianta, culmo, getto, ecc.).	Southwood (1975) Rossi e Giavelli (1990)
Stima assoluta di abbondanza	Stima della popolazione in termini di densità per unità spaziali (area o volume di terreno) o unità di habitat o vegetazione (foglia, stelo, ramo, pianta intera o metri cubi di vegetazione).	Southwood (1975)
Stima relativa di abbondanza	Stima nella quale la popolazione viene quantificata senza rapporto con vere e proprie unità di riferimento (es: catture/trappola, catture/retino, ecc.).	Southwood (1975)
Distribuzione spaziale	Modalità con cui gli individui di una popolazione si aggregano in campo: <ul style="list-style-type: none">- Uniforme (var < media)- Aggregata (var > media)- Random (o Poisson) (var = media)	Bliss e Owen (1958) Taylor (1961) Scossiroli <i>et al.</i> (1974) Southwood (1975) Taylor (1984)

Un problema molto pratico, che spesso si deve affrontare nel campionamento in entomologia applicata, è il compromesso fra l'attendibilità del metodo ed il suo costo. Spesso le tecniche di campionamento più precise sono molto costose e difficili da realizzare; altre tecniche, più semplici e rapide, sono del resto prettamente qualitative (cioè sono adatte a segnalare la presenza o l'assenza di una specie) ma sono scarsamente quantitative (cioè mal si prestano per stimare la densità di popolazione di una specie e le sue fluttuazioni). Inoltre, non esistono tecniche di campionamento "universali", nel senso che ogni gruppo di insetti necessita di tecniche appropriate e specifiche che tengono in considerazione la biologia delle diverse specie. Da queste considerazioni emerge come la scelta del tipo di campionamento da attuare per lo studio di una popolazione entomologica sia un aspetto non certo semplice, che deve essere ponderato con attenzione.

Come detto in precedenza, un presupposto di base di un campionamento è che i campioni siano fra loro **indipendenti**. Questo è un presupposto molto rigido che non sempre è rispettato; anche campioni separati da piccole distanze sono spesso correlati positivamente (autocorrelazione dei campioni). Questa conclusione deriva dalla *prima legge di Tobler*, che afferma: "**Tutto è correlato con tutto, ma le cose vicine sono più correlate delle cose lontane**". Su questa semplice constatazione si fonda uno dei concetti più importanti della statistica spaziale, quello di autocorrelazione spaziale. Lo studio della dipendenza spaziale dei campioni verrà approfondito più avanti, ma l'autocorrelazione dei dati, almeno teoricamente, è di utilità anche nelle applicazioni delle statistiche tradizionali. Nell'estrazione di campioni, infatti, sarebbe opportuno testare preventivamente se i campioni sono correlati.

Uno dei test più semplici per valutare l'autocorrelazione spaziale dei dati è la funzione correlogramma:

$$\rho(h) = \frac{\sum z_1 z_2 - N_h M_h^2}{N_h S_h^2}$$

dove:

- z_1 and z_2 sono il numero di organismi trovati in due campioni separati dalla distanza h (*lag*);

- la sommatoria è eseguita su tutte le coppie possibili di campioni separati dalla distanza h ;
- Nh è il numero di coppie separate dalla distanza h ;
- Mh e Sh sono la media (M) e la deviazione standard (DS) del numero dei campioni separati dalla distanza h (ogni campione cioè è pesato sul numero di coppie di campioni nel quale è incluso).

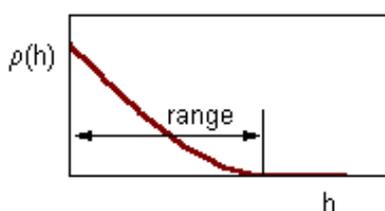
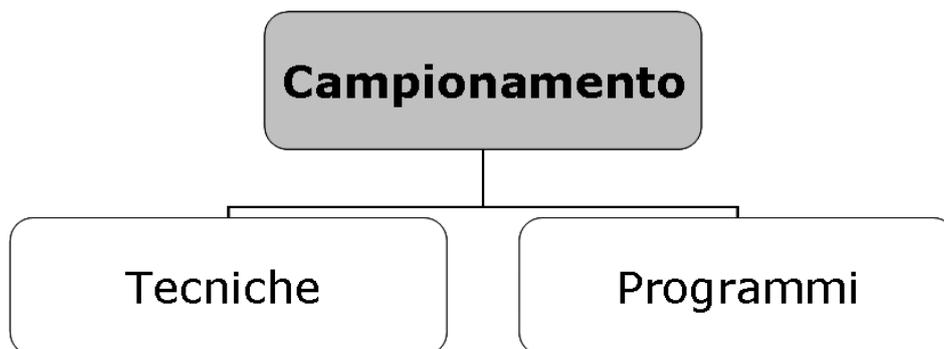


Figura 5. Correlogramma (da Sharov. 1996).

La correlazione decresce in funzione della distanza, secondo un andamento caratteristico (Figura 5). Il *range* di un correlogramma è la distanza (*lag*) per la quale la correlazione diventa zero. Le statistiche standard possono essere applicate (teoricamente) solo se la distanza fra i campioni è maggiore del *range* del correlogramma. In pratica il *range* definisce la distanza da tenere fra un punto di campionamento e l'altro. E' chiaro che questo assunto non deve essere interpretato rigidamente, poiché nella pianificazione di un campionamento vi sono molti aspetti legati agli obiettivi preposti. Ma in ogni caso questo principio generale può aiutare a standardizzare la progettazione della raccolta dei dati.

3.3 Tecniche e programmi di campionamento

Da un punto di vista pratico è importante distinguere le **tecniche** di campionamento dai **programmi** di campionamento.



Le tecniche di campionamento sono definite come i metodi usati per raccogliere informazioni da unità di campionamento, e riguardano l'attrezzatura, l'equipaggiamento e il modo in cui il conteggio è effettuato. Prima di parlare delle tipologie dei programmi di campionamento, si fornirà una rassegna delle principali tecniche utilizzate per il campionamento degli artropodi.

Le **tecniche di campionamento** (Figura 6), possono essere di tipo **distruttivo** e **non distruttivo**. Le prime sono molto accurate poiché gli insetti hanno meno possibilità di sfuggire durante il conteggio; esse non permettono però il ri-campionamento sulla stessa unità di area o di pianta. Tra questi metodi sono comprese tecniche che prevedono la **rimozione dell'intera pianta o parti della stessa** (*bagged plant* o *bagged leaves*) e l'estrazione di campioni o carote di terreno. Queste tecniche sono utili per campionare un elevato numero di piante in condizioni di alta uniformità (foresta, certe colture) ma possono costituire un problema se si dispone di un limitato numero di piante. Il prelievo ripetuto porta inoltre a disformità nel campo che possono rilevarsi un fattore di disturbo particolarmente rilevante nel caso di parcelle non molto grandi e di misure numerose nell'arco di una stagione colturale.

Le tecniche non distruttive consentono di eseguire un ri-campionamento o un programma di campionamento nel tempo sulle stesse unità, sono più rapide e creano meno disturbo.

Queste tecniche sono più indicate per studi conservazionistici, soprattutto nel caso in cui le specie da campionare siano rare.

Una distinzione fondamentale è quella fra tecniche di campionamento che consentono **stime assolute** e quelle che producono invece **stime relative**. Mentre le prime danno luogo a vere e proprie stime della popolazione in termini di densità per unità spaziali e/o habitat (ad esempio numero di insetti per metro quadrato o per pianta), le seconde producono stime nelle quali la popolazione viene quantificata senza rapporto ad unità spaziali (es. insetti per trappola). Le stime relative devono essere elaborate statisticamente con attenzione e prudenza, perché se da una parte forniscono dati qualitativi molto attendibili, possono non essere appropriate per analisi statistiche di tipo quantitativo o per il calcolo di indici di diversità.

In altri casi, poi, può essere richiesta semplicemente la **presenza** di un insetto bioindicatore, ad esempio nel caso di entità rare o a rischio di estinzione.

Di seguito (Figura 6) viene riportata una rassegna schematica delle principali tecniche utilizzate per il campionamento degli artropodi, con particolare riferimento agli insetti utili.

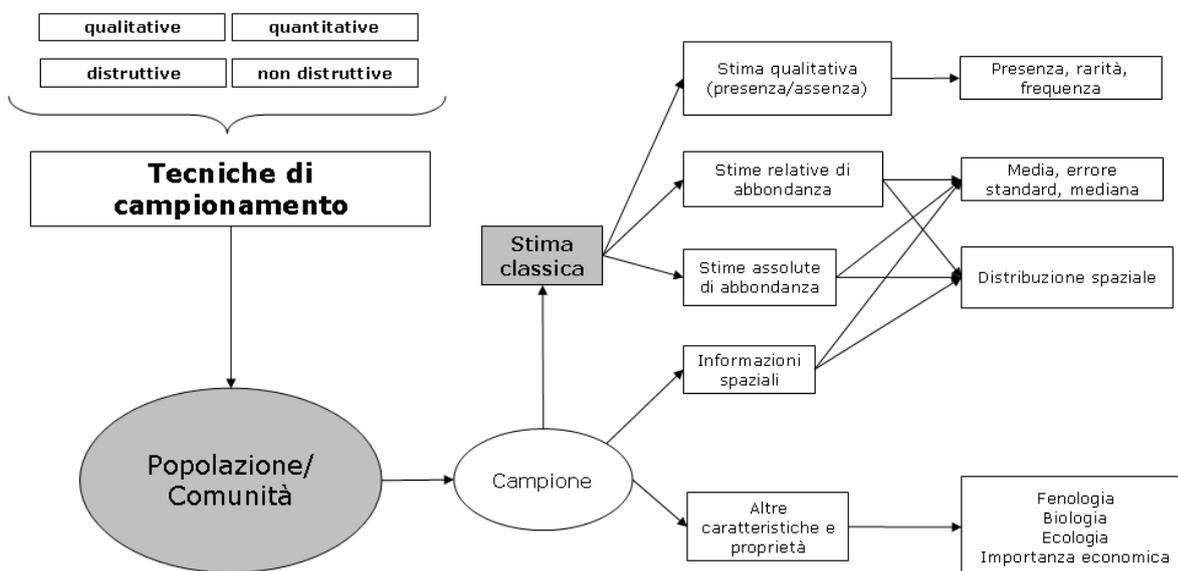


Figura 6. Schema dell'applicazione delle tecniche di campionamento per la stima delle caratteristiche di una popolazione di un artropode.

Testi classici sulla teoria del campionamento e sulle tecniche di campionamento degli artropodi sono Seber (1973) e Southwood (1975), mentre indicazioni pratiche possono trovarsi anche in Jervis e Kidd (1996). Una revisione generale specifica sul campionamento di insetti utili è riportata in Burgio (1999).

Partendo dalle tecniche di campionamento, si ottiene un campione che permette di generare un'inferenza sulla popolazione di partenza (non conoscibile). In figura 6, sulla destra sono indicati i parametri e le caratteristiche della popolazione che possono essere quantificati. Con le stime classiche è possibile ottenere informazioni sulla presenza di una specie, la sua media e variabilità (es. errore standard). Da ricordare che per caratterizzare una popolazione di artropodi sono importanti anche altre informazioni non necessariamente quantitative, come la fenologia, la biologia, l'ecologia, l'importanza economica.

4 Principali Tecniche di Campionamento per l'artropodofauna

Trappole a caduta (*Pitfall traps*)

Sono molto pratiche e facilmente standardizzabili. Si tratta di semplici contenitori cilindrici aperti ad un'estremità (es. barattoli, bicchieri), che vengono piantati nel terreno coi bordi dell'imboccatura a livello del piano di campagna (Figura 7).



Figura 7. Trappola a caduta

Gli organismi, camminando sul terreno, vengono intercettati e cadono all'interno della trappola. Spesso contengono un liquido preservante (acido acetico, glicole etilenico o propilenico, ecc; la formaldeide risulta molto efficace ma è fortemente tossica ed è da sconsigliare) per la conservazione degli esemplari e per evitare fenomeni di predazione e mutilazione. Sono utilizzate per artropodi del terreno come Coleotteri Carabidi e Stafilinidi, ragni e opilioni. Non consentono stime assolute di densità in quanto risultano più efficaci per la cattura di specie molto mobili. L'impiego delle trappole a caduta è una fra le più diffuse tecniche utilizzate per lo studio delle comunità di invertebrati terrestri. La maggior parte delle conoscenze sugli invertebrati epigei (es: l'effetto del disturbo antropico, la loro importanza come bioindicatori, il monitoraggio di insetti utili e fitofagi in agricoltura, ecc.) sono state acquisite con questo metodo. Nonostante il dibattito sull'influenza del metodo sui dati di cattura e sulla sua standardizzazione, il valore di questa tecnica rimane nel tempo.

La trappola a caduta è un sistema di campionamento di campo di tipo passivo, non selettivo e continuo nell'arco della giornata (non considera le differenze interspecifiche sui

ritmi circadiani). Si presta a programmi di campionamento sia di tipo estensivo che intensivo. Il successo è dovuto ai numerosi vantaggi che offre rispetto ad altre tecniche. Le trappole a caduta sono economiche, facili da costruire, facili da usare, efficienti, raccolgono una grande quantità di specie ed individui in numero tale da prestarsi a rigorose analisi statistiche. Le trappole sono facilmente replicabili, e molti siti diversi possono essere campionati contemporaneamente e ripetutamente nel tempo. I materiali di cui sono fatte le trappole sono facilmente reperibili ovunque, e possono essere utilizzati persino materiali di rifiuto. Un ulteriore punto di forza sta nel fatto che le trappole non necessitano di personale altamente specializzato per la loro gestione.

Le trappole vengono in qualche modo protette da una copertura che funge da protezione per ridurre il rischio che il contenitore venga allagato dalla pioggia, o da detriti di vario genere (es.: foglie) pregiudicando le catture. Un'altra importante funzione della copertura è quella di nascondere la trappola alla vista dei grandi vertebrati che potrebbero essere attratti dagli artropodi catturati o dal liquido di cattura. Lo svantaggio di queste coperture è che attraggono l'attenzione di persone estranee alla sperimentazione (agricoltori, cacciatori, turisti, ecc.), e potrebbero favorire atti di vandalismo nei confronti della trappola stessa. Nonostante la copertura sembri limitare l'accesso alla trappola, alcuni invertebrati possono essere attratti da essa nella ricerca di un riparo, e potrebbero attirare anche alcune specie per tigmotassi. Sono stati impiegati i più svariati tipi di copertura, ma, per la sua semplicità, è consigliabile l'utilizzo di sottovasi di plastica fissati al suolo con filo di ferro.

Le trappole a caduta sono ampiamente utilizzate in entomologia per valutare differenze spazio-temporali nella dimensione delle popolazioni e nello studio delle strutture delle comunità di artropodi. Tuttavia, come in ogni tecnica di campionamento, l'interpretazione dei dati di cattura deve essere fatta tenendo conto dei limiti imposti da questo tipo di campionamento. L'abbondanza delle catture, infatti, dipende non solo dalla densità dell'organismo in questione, ma anche dal suo grado di attività. Per tale motivo parlando di trappole a caduta non ci si riferisce a stime di densità, ma ad un indice combinato detto densità di attività. Il contributo dell'attività dell'individuo sull'abbondanza delle catture vi aggiunge così tanti fattori di variabilità che a volte la sua interpretazione potrebbe risultare problematica. Per di più ci sono una miriade di altri fattori che influenzano le catture, ed in particolare il numero di *taxa* catturati e le loro abbondanze relative. Questi fattori di disturbo possono aggiungere un effetto di confusione tra due tesi a confronto, e determinare un certo

grado d'incertezza in studi eseguiti esclusivamente con questo sistema di campionamento. Differenze interspecifiche nella direzione e nella portata di questi fattori di disturbo possono portare ad un'errata interpretazione della reale struttura delle comunità e delle sue dinamiche nel tempo e nello spazio. Il confronto tra le catture effettuate con le trappole a caduta e metodi di campionamento di tipo assoluto hanno evidenziato come queste problematiche meritino seria attenzione nel caso si voglia utilizzare realisticamente questo sistema di campionamento.

Rimozione della pianta o parte della stessa

Prevede l'inserimento di campioni vegetali (foglie, rami, branche o anche piante intere) all'interno di appositi contenitori, in genere plastici, che poi vengono portati in laboratorio per un'analisi approfondita degli artropodi presenti.

Carotaggi nel terreno (*soil sampling*)

Usati per campionare artropodi terricoli come collemboli, acari oribatidi e organismi ipogei come lombrichi. Tecnica facilmente standardizzabile che richiede un carotatore, cioè uno strumento in grado di staccare in modo rapido "carote" di terreno ad una determinata profondità. La separazione dell'artropodofauna dal terreno può avvenire mediante metodi fisici (es. flottazione) o metodi dinamici (es. imbuto di Berlese-Tullgren). Per organismi di maggiori dimensioni, come i lombrichi, può essere conveniente uno smistamento del terreno a vista.

Il *soil sampling* è una tecnica di campionamento di tipo attivo. Essa è rivolta prevalentemente a *taxa* atteri come collemboli, acari, ed alcuni ragni e coleotteri che vivono a stretto contatto con il suolo e che generalmente non vengono catturati con altri sistemi come quelli passivi (es. trappole a caduta) a causa della loro ridotta mobilità. Questo sistema inoltre permette la cattura delle specie effettivamente residenti nell'area di campionamento, mentre è molto ridotta la cattura accidentale di specie immigrate dalle zone limitrofe.

Il campione di terreno viene prelevato per mezzo di un carotatore che può avere sezione circolare o quadrata, e dimensioni che dipendono sia dalla dimensione dell'animale che si vuole studiare, sia dalla sua distribuzione spaziale. Per studiare la microfauna, carote di terreno di circa 2,5 cm di diametro sono solitamente sufficienti, mentre per la mesofauna

sono più adatte carote di circa 5 cm; per la macrofauna occorrono carote con diametro superiore ai 10 cm. Per campionare i microartropodi edafici sono consigliati carotatori Ø 6,5 x 10 cm.

Quando è necessario fare una valutazione quantitativa la più accurata possibile, si può prelevare un campione di terreno a volume noto e sgretolarlo manualmente e delicatamente su di un foglio di carta bianca, fino ad arrivare ai più piccoli aggregati, e raccogliere gli artropodi che nel frattempo si riescono ad individuare ad occhio nudo. I suoli argillosi sono però impossibili da sgretolare in questa maniera senza provocare numerose perdite fra gli artropodi più piccoli come ad es. i collemboli. Questo sistema è considerato eccessivamente dispendioso in termini di ore/uomo e diventa particolarmente oneroso quando sono richiesti numerosi campioni. È considerato anche un metodo relativamente inefficiente e soggetto a numerose fonti d'errore, come la sottostima delle forme immobili e degli artropodi più piccoli, la sottostima in caso di elevate densità degli individui, è fortemente influenzato dall'abilità dell'operatore, ecc., tanto da non essere considerato un metodo adatto per studi quantitativi. Anche la separazione della microfauna dal suolo tramite setaccio presenta notevoli svantaggi. Oltre ad essere un metodo notevolmente laborioso richiedendo un notevole dispendio di tempo, porta spesso al danneggiamento dei microartropodi a causa della agitazione e frizione con le particelle del terreno. Per tale motivo tale separazione deve essere fatta utilizzando accurati sistemi di estrazione. La grande varietà di specie e di suoli e loro relative caratteristiche, rende questa operazione di separazione difficoltosa ed impegnativa, sia in termini di risorse che di tempo. Non esiste un sistema di estrazione universale che possa essere utilizzato per ogni tipo di terreno ed animale, per cui il metodo deve essere adattato alle particolari condizioni sperimentali dello studio.

Ci sono due metodi fondamentali per ottenere questa separazione (Edwards, 1991):

1. metodi fisici (o anche metodi meccanici o passivi) – si basano sulle proprietà chimico-fisiche dell'organismo, e comprendono il metodo del setacciamento, centrifugazione, *hydrocarbon adhesion*, flottazione, ecc.;
2. metodi dinamici (o anche metodi attivi o *behavioural extraction*) – consistono nell'esercitare uno stress fisico o chimico per costringere gli invertebrati ad abbandonare autonomamente i campioni di terreno, come *dry-funnel methods*, *wet-funnel methods*, *wet-container methods*, ecc.

L'estrattore Berlese-Tullgren modificato (*dry-funnel methods*) è uno strumento molto utilizzato (Figura 8). Il primo sistema di estrazione degli invertebrati basato sugli imbuto a secco fu sviluppato da Berlese (1905), e consisteva in un imbuto metallico a doppia parete contenente acqua calda. Il terreno o la lettiera venivano posti su di una rete di ferro e gli animali, costretti dall'elevato calore ad abbandonare il campione, cadevano in una provetta di raccolta posta alla base dell'apparecchio. Berlese lo descrive come «...un apparecchio molto semplice e di ottimo effetto, col quale raccolgo, in gran numero e senza fatica di sorta, piccoli artropodi come piccoli insetti di tutti gli ordini». Questo sistema era molto meno efficiente di quello descritto successivamente da Tullgren (1918), che per primo ha utilizzato come fonte di stress il calore sviluppato da una lampada ad incandescenza sospesa sopra all'imbuto. La grande maggioranza degli imbuto di estrazione, anche se con numerose modifiche e varianti, è costruita sulla base del principio di Tullgren. I componenti essenziali dell'apparato sono: il contenitore del campione, costruito con rete di metallo o plastica con maglia da 0,5 a 2 mm; un imbuto di metallo, plastica o vetro, posto al di sotto del contenitore del campione; una provetta di raccolta dei microartropodi posta al di sotto dell'imbuto, contenente un liquido di conservazione (acido picrico, o alcol etilico (70-95%) con glicerolo (5%) oppure acido acetico (5%); una fonte di calore sistemata al di sopra del campione (lampada ad incandescenza, resistenza elettrica, luce solare, ecc.). L'obiettivo della fonte di calore è di creare nel campione un forte gradiente di temperatura ed umidità in senso verticale costringendo gli invertebrati ad abbandonare autonomamente il campione di terra. L'azione della lampada ad incandescenza è duplice: la prima è diretta, e risulta in un rapido movimento della mesofauna verso il basso per effetto del loro fototropismo negativo; la seconda, più lenta, è di tipo indiretto, ed è causata dalla disidratazione progressiva degli strati più superficiali del campione che costringe gli individui igrofilo a scendere sempre di più fino a cadere nel liquido di conservazione. Purtroppo man mano che il campione si secca, assieme agli artropodi cade nelle provette anche una certa quantità di terra e detriti. I casi peggiori sembrano quelli eseguiti su terreni coltivati. Gli accorgimenti presi per limitare questo inconveniente (es. garze poste tra imbuto e campione) sembrano però ostacolare il movimento degli animali, per cui ne è sconsigliato l'utilizzo.

Gli imbuto dovrebbero essere posti in un ambiente ben ventilato a temperatura costante e ripuliti tra un'estrazione e quella successiva per evitare contaminazioni. Nel caso ci fosse condensa sulle pareti dell'imbuto a causa del campione di terreno, ci potrebbero essere

notevoli perdite dei microartropodi che vi potrebbero rimanere bloccati. Per tale motivo è raccomandato di non lasciare che le carote di terra tocchino i bordi dell'imbuto ma che rimanga abbastanza spazio fra di essi, per facilitare la dispersione dell'umidità. Per la maggior parte delle tipologie di suolo, i campioni posti sull'imbuto non dovrebbero essere più spessi di 5 cm, o meno di 2 cm; dovrebbero inoltre essere posti invertiti nel contenitore di raccolta del campione senza essere sgretolati o troppo maneggiati per evitare di uccidere le forme più delicate od ostruirne i passaggi di fuga verso il basso. In questo modo gli animali che normalmente vivono in superficie non devono spostarsi molto attraverso il suolo, mentre quelli in grado di scavare hanno la distanza maggiore da percorrere. Quando possibile i campioni dovrebbero essere posti sugli estrattori lo stesso giorno di raccolta. La durata del periodo di estrazione varia da 6 ore ad un paio di settimane, e dipende dal tipo di terreno, dalla dimensione del campione, dalla sua umidità, dall'intensità della fonte di calore, dallo spessore ed uniformità del campione, e dal tipo di artropodi in esame. L'inconveniente di tempi d'estrazione eccessivamente lunghi è che un numero considerevole di individui di alcune specie di Collemboli (es. *Lepidocyrtus* spp., *Sminthuridae* spp.), possono sgusciare dalle uova, introducendo un ulteriore fattore di variabilità dei dati di raccolta. Dopo l'estrazione, si consiglia di sciacquare gli imbuti con alcol in modo da recuperare eventuali microartropodi appiccicati alla superficie interna a causa della condensa. I campioni di terra possono essere conservati per ulteriori analisi come la determinazione dell'umidità assoluta (mediante la differenza in peso), contenuto in sostanza organica, pH, granulometria, ecc.



Figura 8. Estrattore Berlese-Tullgren modificato

Solitamente, per studi di popolazione della fauna del terreno, i semplici imbusti di Berlese-Tullgren sono considerati poco efficienti per la loro bassa capacità di estrazione dell'artropodofauna. Per tale motivo sono state fatte sostanziali modifiche che hanno portato ad un miglioramento della capacità estrattiva del metodo attraverso un aumento dei gradienti di temperatura ed umidità, come il *Macfadyen high-gradient funnel*, e i suoi perfezionamenti come l'estrattore di Merchant-Crossley, e quello di Crossley e Blair.

In genere i metodi di estrazione fisici comprendono tecniche più efficienti nella raccolta di individui poco mobili, e stadi di sviluppo immobili. Purtroppo recuperano anche individui morti e tendono a danneggiare gli esemplari rendendo a volte difficile la loro identificazione. Per di più, la maggior parte dei metodi fisici richiedono una grande quantità sia di lavoro che di tempo, limitando quindi il numero di campioni che possono essere studiati. In particolare, sembra che il tempo richiesto per trattare un campione di terreno con il metodo della flottazione difficilmente possa essere inferiore di dieci volte a quello richiesto dall'imbuto di Berlese-Tullgren. Un ulteriore inconveniente dei metodi fisici come la flottazione è che richiede una notevole quantità di acqua. Il metodo della flottazione, ed in generale tutti i metodi fisici, sono relativamente inefficienti in terreni con un elevato tenore in sostanza organica (soprattutto se indecomposta), e di argilla. Il metodo della flottazione risulta solitamente più adatto degli imbusti di Berlese-Tullgren in terreni agricoli per il loro relativamente basso contenuto di frammenti organici. Risulta inoltre più adatto per terreni aridi di tipo sabbioso. I metodi fisici sono meno suscettibili rispetto a quelli dinamici a fonti di variabilità etologica, stagionale, e meccanica, e sono l'unico sistema efficace in terreni profondi dove il numero degli artropodi è molto basso.

I metodi d'estrazione dinamici raccolgono invertebrati in condizioni eccellenti. Possono però fornire una rappresentazione distorta della popolazione, in quanto dipendono dall'attività dell'artropode, dalla sua reattività agli stimoli offerti e dalla sua capacità di liberarsi dalla struttura del suolo. L'efficienza di questo sistema può variare molto in base ai *taxa*, agli anni, alle stagioni, e ai campioni della stessa data di raccolta. L'estrattore di Berlese-Tullgren, grazie alla sua semplicità e praticità d'uso, è il metodo d'estrazione più diffuso per i microartropodi del terreno e della lettiera. Il suo maggiore limite è che non è adatto per le forme immobili (uova, pupe, forme diapausanti, ecc.). Per la maggior parte delle tipologie di suolo, gli imbusti di Berlese-Tullgren sembrano i più efficienti nell'estrazione dei microartropodi (Acari e Collemboli), mentre la flottazione sembra più indicata per artropodi di

maggiori dimensioni. Al contrario, i microartropodi più piccoli e delicati sembrano più efficacemente estratti per mezzo della flottazione, mentre per i microartropodi di maggiori dimensioni e più mobili come i Collemboli Entomobryomorpha, gli imbuti sembrano più adatti.

Trappole Malaise



Figura 9. Trappola Malaise

Le trappole Malaise (Figura 9) sono delle strutture a tenda ed intercettano insetti volatori mediante aperture laterali. Gli insetti vengono raccolti in un collettore contenente acqua o alcol 70%. Questo metodo non consente stime assolute di densità, ma soltanto stime relative.

Forniscono informazioni utili sulla fenologia, ma essendo poco selettive richiedono molto tempo per selezionare e separare i vari gruppi. Sono molto efficaci ma adatte soprattutto per studi naturalistici o ecologici in ambienti limitrofi a quelli agrari. Sono considerate il metodo standard di campionamento degli adulti di Ditteri (Sirfidi, Tachinidi, Straziomidi, Pipincolidi, ecc.) Imenotteri, Neurotteri Crisopidi e Lepidotteri, anche se in quest'ultimo caso il materiale può risultare molto rovinato e quindi di difficile determinazione. Queste trappole sono relativamente costose e possono essere distrutte dagli animali selvatici o dalle intemperie. L'elevato costo delle trappole ed anche i lunghi tempi per lo smistamento del materiale raccolto riducono fortemente la possibilità di un numero elevato di ripetizioni necessarie per un'applicazione utile di tecniche statistiche. Sono consigliate come tecnica di base per il campionamento dei Sirfidi nell'applicazione del metodo informatizzato "Syrph the net" (Speight *et al.*, 1998; Speight e Castella, 2001).

Trappole ad emergenza

Somigliano alle trappole Malaise, di dimensioni più contenute e normalmente utilizzate a copertura di una o più piante erbacee, e consentono di raccogliere tutti gli artropodi che si sviluppano all'interno di aree di terreno ben definite. Si tratta di dispositivi costituiti da tulle, o altra rete a maglia fine, che vengono fissati al terreno e permettono di raccogliere gli insetti in appositi contenitori (Figura 10). Il metodo è molto efficace per stime assolute, ma è dispendioso e laborioso in quanto richiede un numero di repliche relativamente alto e/o lo spostamento della trappola all'interno di un'area. Le trappole ad emergenza sono considerate un metodo integrativo alle trappole Malaise per il campionamento dei Sirfidi. Come nel caso precedente sono poco selettive e richiedono molto tempo per selezionare e separare i vari gruppi.

Una variante delle trappole ad emergenza è costituita da trappole costruite con tela opaca (photo-electors) in modo da migliorare l'efficacia di cattura sfruttando il fototropismo positivo di molte specie di insetti.



Figura 10. Trappole ad emergenza

Trappole cromotropiche a colla

Sono di vario colore (giallo, arancione, bianco, verde, blu) e sono adatte per insetti volatori, di cui sfruttano l'attrazione verso particolari frequenze visive (es. giallo per i ditteri, azzurro per i tripidi). Non consentono stime assolute. Sono pratiche e poco costose, ma poco selettive. E' necessario spesso eseguire l'estrazione degli individui con solventi come esano o xilolo. Utili

per la fenologia, sono in grado di campionare Ditteri (es. Sirfidi) ma anche Rincoti e Imenotteri. Il materiale raccolto è spesso rovinato, impedendo una sua precisa identificazione.

Trappole ad acqua

Consistono in bacinelle riempite d'acqua e tensioattivi (o detersivi) che vengono posizionate all'altezza delle piante o appoggiate al terreno. Molto efficaci per Imenotteri parassitoidi, Ditteri e Rincoti. Sono simili alle trappole a colla; presentano gli stessi vantaggi fornendo però materiale meglio conservato. Tuttavia sono meno efficaci soprattutto per gli insetti buoni volatori (es. Sirfidi) e richiedono visite frequenti. Possono essere innescate con attrattivi luminosi, alimentari e feromoni.

Trappole innescate con attrattivi sessuali o alimentari

Molto usate nella lotta integrata, sono poco usate nel campionamento di insetti utili. Non consentono stime assolute. Esiste una ricca bibliografia su tali trappole, ma sono state sviluppate soprattutto per campionamenti di insetti fitofagi; nel caso di uno studio su insetti "non-bersaglio" sono poco utilizzabili, pertanto si rimanda ad altri lavori specifici.

Trappole luminose

Le trappole luminose sfruttano l'attrazione esercitata da fonti di luce artificiale nei confronti di insetti volatori ad attività crepuscolare e notturna, in particolare i lepidotteri.

Per richiamare insetti notturni è sufficiente l'utilizzo di una lampada appesa ad un filo; la raccolta deve essere effettuata manualmente con un retino. L'abilità individuale del raccoglitore può aiutare fortemente la raccolta di individui di specie diverse che possono essere più o meno attratte dalla lampada. Infatti alcune specie finiscono direttamente a contatto con la lampada, mentre altre si mantengono ad una certa distanza. In questo caso la sensibilità del raccoglitore può spingerlo a raccogliere attivamente anche le specie che tendono a mantenersi a una distanza di 5-10 metri dalla lampada. Operatori con diversa abilità possono pertanto ottenere risultati molto differenti. L'installazione di una superficie di color bianco (es. un lenzuolo) nelle immediate vicinanze della lampada tende a favorire il fermarsi delle specie su di esso, facilitando la successiva raccolta.

Nel caso di uno studio che preveda campionamenti in molte aree e soprattutto l'analisi di dati relativi a diverse aree di campionamento è di fondamentale importanza disporre di dati raccolti in modo omogeneo. In questo caso sono richiesti campionamenti standardizzati e soprattutto automatizzati. La perdita inevitabile di alcune specie nel campionamento viene compensata dall'omogeneità dei dati e da dati quantitativi più oggettivi.

Le trappole luminose automatiche (Figura 11) possono operare per l'intera notte e per più notti consecutive anche per periodi estesi e diverse località contemporaneamente. L'automatismo di questi sistemi di cattura si basa sull'utilizzo di temporizzatori e interruttori crepuscolari (dispositivi in grado di comandare dei carichi in funzione dell'intensità luminosa ambientale). In genere, queste trappole sono costituite da una struttura di supporto che sorregge il portalampada e ripara la lampada dagli agenti atmosferici. La lampada è circondata da setti trasparenti che intercettano gli insetti in volo e li fanno precipitare in un ampio imbuto posto al di sotto della lampada. L'imbuto convoglia gli insetti in un contenitore di raccolta dove è presente un insetticida a bassa tensione di vapore, di solito etile acetato, che uccide velocemente gli individui raccolti impedendo loro di danneggiarsi.



Figura 11. Trappola luminosa artigianale per la cattura di Lepidotteri notturni.

La lampada emette luce nel visibile e nell'ultravioletto, lunghezze d'onda cui gli insetti notturni, e tra questi soprattutto i Lepidotteri, rispondono positivamente.

Sono potenzialmente utilizzabili svariati tipi di lampada, ma quelle più comunemente impiegate sono “a vapori di mercurio” e “a luce miscelata”. Anche le lampade ultraviolette e di Wood hanno un forte effetto attrattivo, ma il loro costo è elevato e la grande quantità di ultravioletti emessi può risultare dannosa agli occhi degli osservatori.

Anche la potenza delle lampade è fondamentale. Disponendo di rete elettrica o di gruppo elettrogeno portatile, risultano vantaggiose lampade da 160-250 Watt. Dovendo ricorrere a batterie si possono alimentare solo lampade da 6-12 Watt con risultati modesti. Le lampade al sodio, che emettono soprattutto luce gialla, non risultano attrattive.

Retino entomologico

Non consente stime assolute ed è adatto per insetti buoni volatori. E' molto influenzato dalle condizioni climatiche e, soprattutto, dall'abilità del raccogliitore e quindi produce spesso dati molto soggettivi, di problematica elaborazione quantitativa. Tende, infatti, a sovrastimare le specie rare. E' efficace per valutare la presenza/assenza di specie e quindi è importante per stilare liste faunistiche. Il metodo del retino entomologico è stato il mezzo di indagine scelto, ad esempio, da Rauschen *et al* (2009) per uno studio sui miridi in campi di mais geneticamente modificato.

Retino da sfalcio

E' un metodo molto usato per il campionamento-raccolta di artropodi dalla vegetazione (soprattutto erbacea) per l'estrema economicità, praticità e rapidità d'esecuzione. Prima di iniziare un campionamento tramite sfalcio, è importante standardizzare il metodo, poiché la sua efficienza di campionamento varia notevolmente in funzione del tipo di vegetazione, della modalità di raccolta, delle condizioni climatiche e dell'ora del giorno. Per questo motivo normalmente vengono fissati: il numero dei colpi (sfalci), la loro ampiezza, la velocità dell'esecuzione, lo stadio fenologico delle piante interessate dallo sfalcio e infine la fase del giorno in cui concentrare il campionamento. Gli insetti raccolti vengono trasferiti in contenitori di raccolta, dove solitamente sono uccisi per evitare perdite dovute alla predazione (Powell *et al.*, 1996). Questo metodo è particolarmente indicato per campionare piccoli Imenotteri (Calcidoidei, Cinipoidei, Proctotruoidei, Braconidi) (Powell *et al.*, 1996).

Benchè molto usata per la sua praticità, tale tecnica è influenzata da molti fattori, come la distribuzione spaziale, la densità e lo stadio fenologico degli organismi che si campionano, le caratteristiche della vegetazione e, non da ultimo, l'abilità e manualità dell'esecutore del campionamento. Un'ulteriore complicazione è quella di correlare gli insetti catturati con una unità finita di area o di volume di vegetazione, poiché questo tipo di campionamento in genere non consente stime assolute di densità. Per ovviare a questo problema, è stata sviluppata una formula (Tonkyn, 1980) che consente di calcolare il volume di vegetazione sottoposto al campionamento, in base alle dimensioni del retino ed al tipo di esecuzione dello sfalcio. Per semplificare, il volume che copre uno sfalcio di 180° risulterebbe:

$$V = B (\pi r + 2\Delta y/\pi)$$

dove

B = area dell'apertura del retino;

Δy = distanza che percorre il retino durante uno sfalcio (cioè la differenza fra il punto d'inizio e il punto finale);

r = raggio dello sfalcio misurato al centro del retino.

In questo caso, uno sfalcio di 180° sta a indicare che la posizione di fine sfalcio è parallela rispetto alla posizione iniziale (figura 12).

Il retino da sfalcio è molto efficiente per campionare Coccinellidi (Elliott e Michels, 1997; Boriani *et al.*, 1998), Nabidi (Gyenge *et al.*, 1997), ragni (Wheeler, 1973) e acari predatori. Tuttavia è una metodologia di campionamento poco efficiente in condizioni di vegetazione bagnata ed elevata umidità.

In conclusione, questo sistema è utilizzato per campionare insetti su colture erbacee o piante spontanee, anche se deve essere usato con attenzione e precauzione qualora si ricerchino precise stime quantitative. Per questi motivi è necessaria una standardizzazione ed una taratura del metodo, mediante, ad esempio, correlazioni con metodi assoluti di stima (Elliott e Michels, 1997); eventualmente, l'applicazione della formula vista precedentemente può aiutare per l'ottenimento di stime assolute.

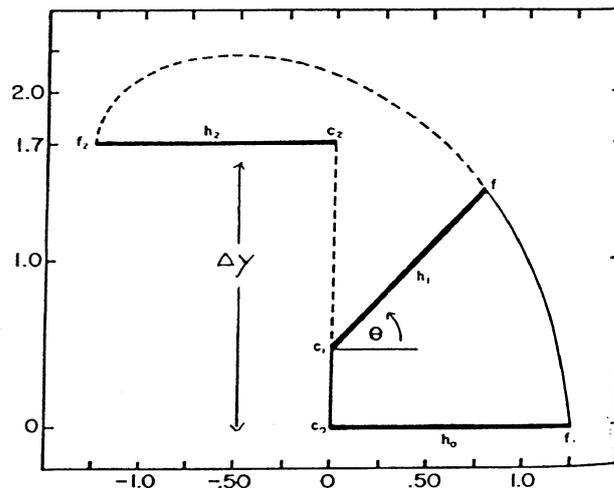


Figura 12. Traiettoria di un ipotetico sfalciatore con retino; la posizione "0" rappresenta la partenza, la posizione "1" un punto intermedio, la posizione "2" l'arrivo. Δy è la distanza fra posizione di partenza e posizione di arrivo. L'unità di misura, in entrambi gli assi, è in metri. Il raggio dello sfalciatore [r] è misurato al centro del retino.

Nell'esempio in Figura 12 viene eseguito uno sfalciatore di 180° , con un retino di area = $0,073 \text{ m}^2$, $\Delta y = 1,7 \text{ m}$ e raggio dello sfalciatore di $1,25 \text{ m}$ (caratteristiche che corrispondono pressappoco a uno sfalciatore standard). Se 100 insetti sono catturati con 25 *sfalci* (cioè colpi di retino), avremo che il volume di uno sfalciatore sarà uguale a $V = 0,073 [1,25\pi + (2 \cdot 1,7)/\pi] = 0,36 \text{ m}^3$. Il volume totale della vegetazione diventerà quindi $25 \cdot 0,36 = 9,15 \text{ m}^3$. Il rapporto di cattura risulterà $100 \text{ insetti}/9,15 \text{ m}^3$ e cioè $10,9 \text{ insetti per m}^3$ di vegetazione. Questa formula quindi è utilizzabile, fatte le dovute precauzioni, per tarare il campionamento, trasformando le catture in stime assolute. Per sfalciatori con angoli diversi da 180° , e in generale per approfondimenti su tale argomento, si rimanda a Tonkyn (1980).

L'efficienza del retino da sfalciatore è messa in evidenza confrontandola col metodo visivo. In Figura 13 e 14 sono mostrate le correlazioni fra le densità medie di Coccinellidi ottenute con campionamento visivo (ascisse) contro il retino da sfalciatore (ordinate), su due diverse colture (frumento ed erba medica). Si può innanzi tutto vedere come, a parità di densità massima di Coccinellidi stimata con campionamento visivo ($0,8$ e $0,7$ individui per organo rispettivamente su frumento ed erba medica), lo sfalciatore risulti più preciso su erba medica rispetto al frumento. Su quest'ultima coltura le Coccinelle raccolte con sfalciatore vanno incontro a una sottostima (diverse caratteristiche vegetative, densità di piante/mq, ecc...), anche se tale metodo risulta

molto competitivo rispetto al campionamento visivo, oltre che più rapido e pratico. In entrambe le curve può essere anche dedotto che lo sfalcio, indipendentemente dalla coltura, è più preciso a basse densità di Coccinelle (fase iniziale delle curve); superata una certa densità, entrambe le curve tendono ad appiattirsi e il numero di insetti campionati con lo sfalcio tende a diventare costante (il rapporto fra insetti campionati con lo sfalcio e col metodo visivo risulta 0,75 per il frumento e 2,5 per la medica, nei punti estremi delle curve a parità di densità di insetti stimati visivamente).

Questi esempi mostrano come stesse tecniche di campionamento possano variare come efficienza fra una coltura e l'altra, e come tali curve di taratura fra un metodo assoluto e uno relativo risultino importanti per consentire una maggior precisione nelle stime di densità, consentendo una calibratura dei dati fra un metodo e l'altro.

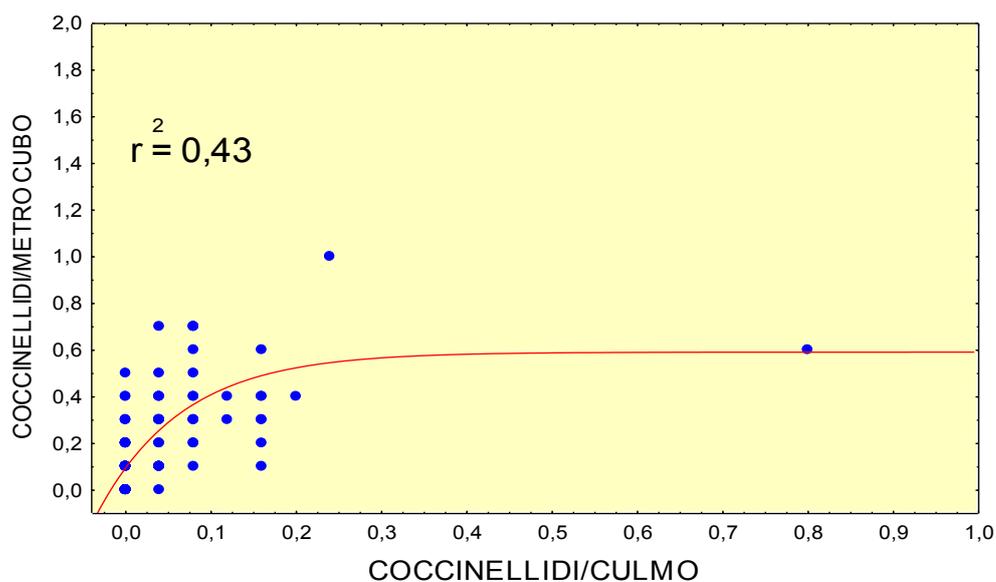


Figura 13. Correlazione fra numero medio di Coccinellidi/stelo ottenuti con campionamento visivo e numero medio di Coccinellidi stimati al metro cubo con retino da sfalcio (coltura: frumento). Da Burgio, 1999.

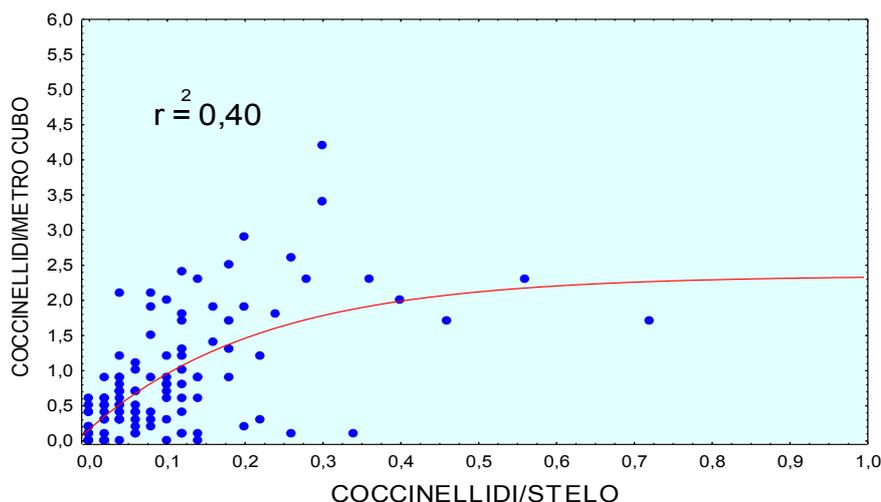


Figura 14. Correlazione fra numero medio di Coccinellidi/stelo ottenuti con campionamento visivo e numero medio di Coccinellidi stimati al metro cubo con retino da sfalcio (coltura: erba medica). Da Burgio, 1999.

Scuotimento meccanico o metodo dell'ombrello entomologico

Detto anche *frappage* è un metodo molto pratico e veloce che non consente stime assolute. La tecnica consiste nel percuotere la vegetazione con un bastone rivestito di gomma (per evitare danni alle piante) al fine di raccogliere gli individui, che cadono in un recipiente a forma di ombrello o di imbuto, a cui può essere applicato un barattolo di raccolta. Il *frappage* è una tecnica di campionamento adatta per insetti non abili volatori e artropodi che si nascondono fra la vegetazione e/o sfuggono all'osservazione diretta. Il *frappage* è indicato per raccogliere Coccinellidi, Neurotteri, Rincoti e ragni.

Aspirazione pneumatica

Può consentire stime assolute nel caso vengano calcolate le aree o i volumi da campionare (calibrazione). Rapido e pratico, richiede un'attrezzatura apposita, costituita da un aspiratore azionato da motore a scoppio o elettrico. Poco selettivo, richiede la separazione successiva del materiale raccolto in laboratorio. Adatto per molti insetti che frequentano la vegetazione. Anche in questo caso risulta inefficiente in caso di bagnatura della vegetazione. E' stato usato con efficacia, per esempio, nel campionamento delle larve di *Spodoptera* spp. su spinacio, dove può consentire stime assolute affidabili e rapide. L'aspirazione pneumatica viene inoltre

normalmente utilizzata in campionamenti in cui occorre raccogliere informazioni su un numero elevato di taxa contemporaneamente ed è stato utilizzato spesso anche in analisi di impatti ambientali delle PGM (es. Ludy and Lang, 2006).

Osservazioni visive dirette

Metodo molto versatile e facilmente standardizzabile che richiede informazioni sulla biologia e distribuzione spaziale dell'insetto da campionare. Questa tecnica di campionamento può essere eseguita su parcelle (*area samples*), piante o organi vegetali. Nel caso si adotti per il conteggio di organismi di piccole dimensioni (es. acari, afidi), può richiedere molto tempo e attenzione. L'osservazione visiva diretta è molto sensibile alla capacità dell'osservatore. Tuttavia, se effettuata correttamente, può consentire stime assolute affidabili. Il campionamento visuale è utilizzato sia nell'entomologia agraria che in ecologia applicata e faunistica, inclusi casi studio di impatti delle PGM (es. Arpaia *et al.*, 2007).

In Tabella 3 viene presentato un confronto dei vari mezzi di campionamento disponibili per i principali artropodi da campionare.

Tabella 3. Caratteristiche riassuntive dei principali metodi di campionamento e raccolta per insetti utili (da Jervis e Kidd, 1996, modificato)

Tecnica di campionamento	Caratteristiche	Principali Insetti o Artropodi utili campionabili
Trappole a caduta (pitfall traps)	<p>Non consentono stime assolute di densità;</p> <p>Molto pratiche e facilmente standardizzabili;</p> <p>La vegetazione circostante la trappola più influenzare le catture;</p> <p>Alcuni insetti (Carabidi) possono manifestare fenomeni di aggregazione;</p> <p>Le catture sono influenzate, oltre che dalla densità, anche dall'attività degli organismi;</p> <p>Forniscono dati di presenza/assenza;</p> <p>Dati elaborabili quantitativamente per curve fenologiche e indici di diversità.</p>	<p>Coleotteri (Carabidi, Stafilinidi), Ragni, Opilioni.</p>
Trappole Malaise	<p>Non consentono stime assolute;</p> <p>Forniscono utilissime informazioni sulla fenologia;</p> <p>E' richiesto molto lavoro per selezionare e separare i vari gruppi;</p> <p>Per studi naturalistici e ricerca di base, poco pratiche nella lotta integrata.</p>	<p>Ditteri (es. Tachinidi, Sirfidi, Pipunculidi), Imenotteri.</p>
Trappole cromotropiche a colla	<p>Non consentono stime assolute; Per insetti volatori;</p> <p>Pratiche ma poco selettive;</p> <p>Per eseguire la classificazione può essere necessario provvedere all'estrazione degli individui con solventi;</p> <p>Possono fornire informazioni sulla fenologia e le curve di volo.</p>	<p>Ditteri Sirfidi, Imenotteri (Afelinidi, Braconidi).</p>

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Trappole ad acqua	Non consentono stime assolute; Per organismi difficilmente campionabili con altri metodi; Richiedono il frequente ricambio del liquido; Poco selettive;	Ditteri (Sirfidi, Dolicopodidi), Rincoti Antocoridi, Imenotteri (Cerafronidi, Scelionidi, Platigastridi, Diapriidi, Mimaridi, Encirtidi).
Trappole innescate con attrattivi (sessuali e alimentari)	Non consentono stime assolute; Metodo che presenta alcuni casi interessanti (vedi testo), ma poco usato nella pratica per gli insetti utili.	Lepidotteri, Ditteri e Coleotteri dannosi alle colture.
Retino da sfalcio	Non consente generalmente stime assolute, ma è possibile calcolare con una formula il volume interessato allo sfalcio (vedi testo); Molto pratico e veloce; Importante standardizzare il campionamento (ora della giornata, condizioni climatiche, tipo pianta, tecnica nell'eseguire lo sfalcio, ecc) e tarare le catture con stime assolute; Comodo per campionare insetti su erbacee (coltivate e spontanee); Non campiona stadi "fissi" (es. pupe e uova); La bagnatura della vegetazione diminuisce notevolmente l'efficienza.	Imenotteri (Calcidoidei, Cinipoidei, Proctotruoidei, Braconidi), Coleotteri Coccinellidi, Rincoti (Miridi, Nabidi, Antocoridi), Neurotteri, Ragni.

Retino a volo (o retino entomologico)	<p>Non consente stime assolute; Per insetti volatori; Molto influenzato dalle condizioni climatiche e dall' "abilità" del raccoglitore; Metodo scarsamente quantitativo ma molto importante per dati di presenza/assenza; Molto pratico per liste faunistiche o come integrazione ad altri metodi di campionamento.</p>	<p>Lepidotteri diurni, Ditteri (Sirfidi, Tachinidi, Conopidi), Imenotteri, Neurotteri.</p>
Scuotimento meccanico (frappage)	<p>Non consente stime assolute; Molto pratico e veloce; Necessario standardizzare il numero di "colpi"; Adatto per piante arboree e arbustive; Per insetti non abili volatori; Non campiona stadi "fissi" (es. pupe e uova); Può campionare insetti difficilmente osservabili con altri metodi.</p>	<p>Coleotteri Coccinellidi, Rincoti (Miridi, Nabidi, Antocoridi), Ragni, Opilioni.</p>
Aspirazione pneumatica	<p>Può consentire stime assolute nel caso vengano calcolate le aree o i volumi da campionare (calibrazione); Rapido e pratico, ma richiede apparecchiature particolari; Poco adatto per campionamenti di routine; Poco selettivo, richiede la separazione in laboratorio del materiale raccolto.</p>	<p>Rincoti, Ditteri, Larve di Lepidotteri, Coleotteri, Imenotteri.</p>

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Osservazioni visive su piante o relativi organi	<p>Può consentire stime assolute;</p> <p>Importante conoscere la distribuzione spaziale dell'organismo per la calibrazione del numero di campioni da scegliere (vedi testo);</p> <p>Assai versatile e molto usato nella lotta integrata per la facilità di standardizzazione;</p> <p>In certi casi (insetti molto piccoli, acari predatori) richiede molto tempo e attenzione.</p>	<p>In generale per Insetti predatori (es. Coccinellidi, Antocoridi, Miridi, larve di Sirfidi e Cecidomidi, ecc.), ospiti parassitizzati, Acari.</p>
Osservazioni visive su parcelle (area samples)	<p>Può consentire stime assolute;</p> <p>Simile al precedente, in questo caso la densità viene rapportata a un'unità di superficie;</p> <p>Per organismi poco mobili durante il campionamento.</p>	<p>Coleotteri Coccinellidi, Ditteri Sirfidi (larve).</p>
"Removal sampling"	<p>Può consentire stime assolute;</p> <p>Se un numero conosciuto di organismi viene rimosso da parcelle o unità spaziali conosciute, tale rimozione influenza le dimensioni delle catture seguenti.</p> <p>Il rapporto con cui le catture diminuiscono è correlato con la dimensione della popolazione totale dell'insetto che viene campionato e il numero di insetti rimossi,</p> <p>Tecnica usata a volte per la stima del volume delle popolazioni di certi insetti come Coccinellidi (vedi testo).</p>	<p>Coleotteri Coccinellidi.</p>

<p>Osservazioni visive mediante "camminamento" (<i>walking census method</i>)</p>	<p>Per insetti adulti di grosse dimensioni; Utilizzato soprattutto per insetti pronubi; Richiede la delimitazione di un transetto di superficie definita (es 200 x 1 m), su cui effettuare le osservazioni; Spesso non è possibile l'identificazione dell'insetto fino al rango di specie.</p>	<p>Adulti di pronubi (Imenotteri Apoidei, Ditteri Sirfidi, Lepidotteri diurni).</p>
<p>Osservazioni visive mediante conteggio e/o raccolta di insetti parassitizzati</p>	<p>Fondamentale nello studio delle dinamiche ospite-parassitoide in campo e nelle indagini faunistiche di molti parassitoidi; Necessita l'integrazione del laboratorio per la stima della percentuale di parassitizzazione e lo sfarfallamento degli adulti.</p>	<p>Ditteri, Imenotteri.</p>
<p>Raccolta di piante o parti di piante</p>	<p>Sistema molto efficiente ma che necessita il supporto del laboratorio; Poco applicabile per campionamenti di routine; Può consentire stime assolute.</p>	<p>Per stadi preimmaginali di insetti difficilmente campionabili mediante osservazioni di campo (es. larve di Sirfidi).</p>
<p>Carotaggio</p>	<p>Tecnica precisa ed adatta per organismi poco mobili, ma dispendiosa intermini di manodopera; Necessita del laboratorio per la separazione dei reperti; Può consentire stime assolute.</p>	<p>Artropodi ipogei (es. Acari, Collemboli); molto usato per i Lombrichi.</p>

5 Programmi di campionamento per l'artropodofauna e altri indicatori

I **programmi di campionamento** sono le procedure per eseguire ed applicare le tecniche di campionamento. Un programma di campionamento definisce dunque le modalità con cui deve essere estratto un campione, la dimensione dell'unità di campionamento (unità spaziali come volume o area, oppure unità di habitat o di vegetazione), il numero dei campioni e il momento per eseguire il campionamento.

I programmi di campionamento possono essere divisi in:

1. **programmi di campionamento convenzionali** (*conventional sampling programs, CSP*) o di tipo classico;
2. **programmi di campionamento su base spaziale** (*spatial sampling programs, SSP*).

I CSP non considerano le coordinate geografiche (spaziali) delle unità campionate, sono molto usati e ampiamente diffusi. Essi non sono validi nel caso si vogliano costruire mappe di densità di una popolazione di un insetto, mappe di rischio o nel caso si intenda assegnare un connotato spaziale all'aggregazione di una popolazione.

5.1 Programmi di campionamento convenzionali

I campionamenti convenzionali o classici comprendono:

1. **campionamento random** (*random sampling*) (Figura 15);
2. **campionamento sistematico** (*systematic sampling*) (Figura 16);
3. **campionamento stratificato** (*stratified sampling*) (Figura 17).

Il **campionamento random** prevede la selezione casuale di campioni da una popolazione rispettando il principio che ogni campione abbia la stessa probabilità di essere scelto. In altre parole si estraggono i campioni a caso. È un metodo molto semplice alla base di molti protocolli di campionamento ed è consigliato per il campionamento dell'artropodofauna quando il numero di piante disponibili è molto superiore al numero minimo di campioni occorrenti (es. campionamento in una coltura estensiva). Sono anche disponibili delle formule per definire il numero minimo di campioni per definire una stima affidabile.

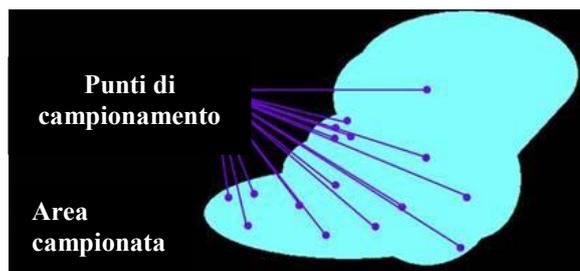


Figura 15. Esempio di campionamento random.

Il **campionamento sistematico** prevede la raccolta di campioni ad intervalli fissi nello spazio o nel tempo. La dimensione dell'intervallo ed il punto iniziale sono dettati, entro certi limiti, da criteri definiti a priori. Ad esempio, i campioni sono estratti sempre nella stessa posizione in ogni strato della vegetazione, le stesse piante sono ricampionate nel corso del tempo. Il campionamento sistematico non considera le coordinate spaziali di ogni punto ma spesso sono usate griglie per ridurre eventuali *bias*.

Per un campionamento dell'artropodofauna legata alla parte aerea delle piante, ad esempio il campionamento sistematico è da preferire quando il numero di piante presenti non è molto superiore al numero di campioni necessari.



Figura 16. Esempio di campionamento sistematico impostato nello "spazio". Nel campionamento sistematico, i campioni sono raccolti da posizioni predeterminate, solitamente a distanza regolare l'una dall'altra. In genere sono usate griglie (o reticoli).

Il **campionamento stratificato** è utilizzato se l'area (o il volume) da campionare è eterogenea e nel caso siano disponibili informazioni relative all'area di studio (tipo di suolo, topografia, colture presenti, infrastrutture ecologiche). L'area (o il volume) è diviso in più porzioni, che sono campionate separatamente.

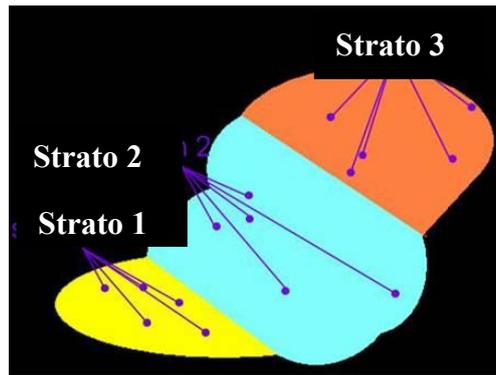


Figura 17. Esempio di campionamento stratificato.

La popolazione di N insetti è divisa in sotto popolazioni non sovrapposte [$N_1; N_2; N_3... N_n$] tali che:

$$N_1 + N_2 + N_3 + \dots + N_n = N$$

Le sottopopolazioni sono chiamate *strati*. Se un campionamento *random* viene fatto per ogni strato, il campionamento si chiama "*random stratificato*".

La media, M , è stimata come media pesata delle medie M_i di ogni strato, con i pesi (w_i) proporzionali, ad esempio, alla superficie coperta da ogni strato (Sharov, 1996):

$$M = \sum M_i \cdot w_i$$

Un'applicazione del campionamento stratificato è fornita nell'esempio seguente, un caso studio condotto raccogliendo dati di infestazione di adulti di Elateridi in un'azienda eterogenea caratterizzata da diverse colture (Figura 18). I dati di cattura sono stati anche elaborati mediante approccio geostatistico verranno riproposti in seguito come caso studio di un programma di campionamento su base spaziale (SSP).

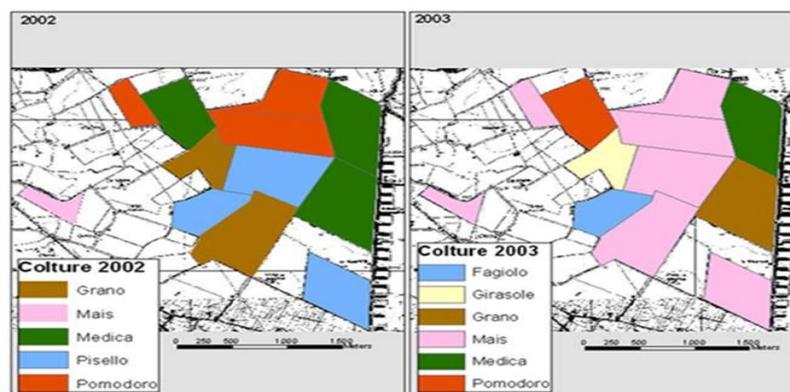


Figura 18. Esempio di campionamento stratificato di Elateridi adulti in un'azienda di 500 ha (da Burgio *et al.* 2005).

Altri campionamenti, desunti dalla bibliografia, meno rigorosi dal punto di vista statistico (*Non-probability methods*) usati in certi casi (e non approfonditi in questa sede) sono:

- **Convenience sampling**
- **Judgment sampling**
- **Quota sampling**
- **Snowball sampling**

5.2 Programmi di campionamento su base spaziale

I programmi di campionamento su base spaziale (SSP) si basano sulla raccolta di dati da punti georeferenziati e sono adatti per studiare e visualizzare la struttura spaziale di una popolazione e/o per generare mappe. In un SSP, ogni campionamento è contestualizzato in un punto preciso, misurato con tecniche che ne consentono la localizzazione nello spazio.

Le tecnologie **Global Positioning Systems (GPS)** e **Geographic Information Systems (GIS)** permettono di ottenere le coordinate geografiche (spaziali) di ogni punto campionato con una buona risoluzione spaziale. Anche mediante il software GoogleEarth è possibile assegnare coordinate spaziali a punti di campionamento (Figura 19).

La struttura spaziale di una popolazione di un insetto, la sua mappa di distribuzione o la relativa mappa di rischio, possono essere visualizzate e descritte grazie a modelli statistico-matematici come la geostatistica.

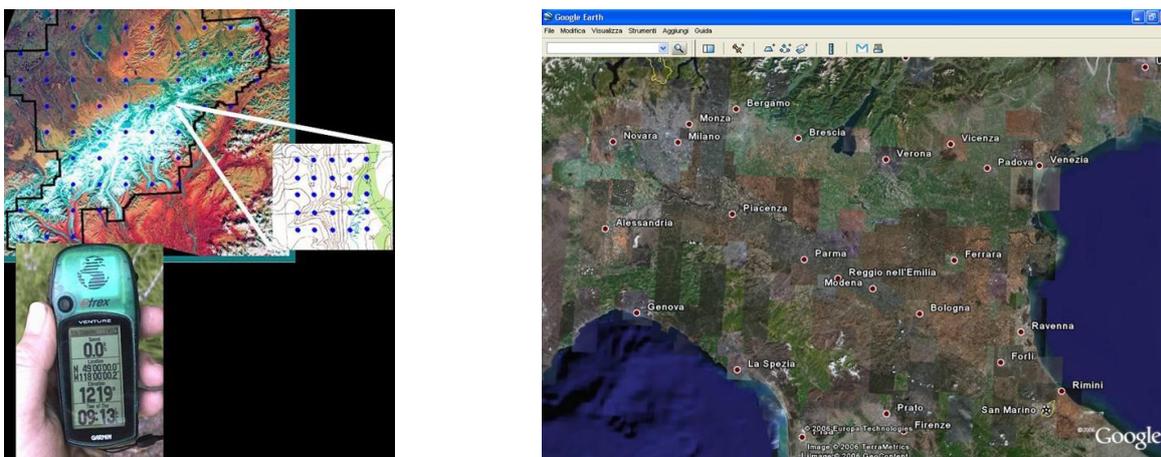


Figura 19. A sinistra misurazione delle coordinate di campionamento mediante GPS portatile. A destra utilizzo del software Google Earth per interfacciare le mappe di distribuzione di un insetto a foto aeree o satellitari.

Anche gli SSP utilizzano le statistiche classiche come media e varianza. Da notare inoltre che campionamenti sistematici o stratificati ottenuti con la localizzazione spaziale dei punti di campionamento (coordinate) diventano automaticamente campionamenti su base spaziale. La differenza fra campionamenti convenzionali e su base spaziale riguarda quindi solamente la prerogativa di indicare o meno le coordinate spaziali. In questo ambito una corretta stratificazione (vedi campionamento stratificato) o l'impostazione di griglie (vedi campionamento sistematico) possono essere d'ausilio e integrarsi pienamente con una metodica su base spaziale. Questo è un esempio di come i campionamenti convenzionali e su base spaziale possano essere integrabili fra loro e non siano rigidamente separati.

5.3 La distribuzione spaziale: un importante requisito per studiare le popolazioni di artropodi e altri organismi

La distribuzione spaziale rappresenta uno degli attributi più importanti di una popolazione animale. La conoscenza del tipo di distribuzione spaziale (dispersione) degli individui di una popolazione ha importanza di base negli studi demografici ed ecologici e nelle operazioni di campionamento. La distribuzione spaziale negli insetti, anche se può essere influenzata dall'uomo (es. operazioni colturali, scelte agronomiche), riflette caratteristiche innate di una specie.

Nonostante gli insetti tendano in generale a manifestare forti aggregazioni (a chiazze o contagiose), vi sono forti differenze tra una specie e l'altra. Alcuni insetti (ad esempio gli afidi) manifestano tipicamente colonie distribuite a chiazze (gli alati colonizzano la coltura in alcuni punti e da questi rapidamente hanno origine le colonie).

Anche fra gli afidi però, alcune specie (e.g. *Aphis fabae*, *Aphis sambuci*, *Aphis gossypii*, *Brevicoryne brassicae*) formano colonie fitte e molto aggregate (Figura 20), altre mostrano colonie meno dense ed aggregate (e.g. *Myzus persicae*), mentre altre ancora (e.g. *Drepanosiphum platanooides*) presentano un fenomeno chiamato «gregarietà spaziata», con gli individui che si tengono a buona distanza l'uno dall'altro a colpi di zampe e di antenne. Alcuni insetti del terreno invece (es. larve di Elateridi) mostrano aggregazioni più "regolari" (tendenti a una distribuzione "casuale" o random, vedi dopo), mentre altri (es. le larve delle Tipule) presentano una distribuzione molto più aggregata.

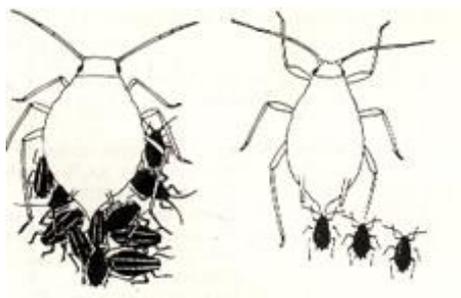


Figura 20. Afide con forte aggregazione spaziale (a sinistra) e afide con tendenza a formare colonie meno aggregate (a destra).

In termini generali, si possono riconoscere nelle popolazioni di artropodi tre tipi generali di aggregazione spaziale, definiti uniforme (*regular*), random o aggregata (Figura 21).

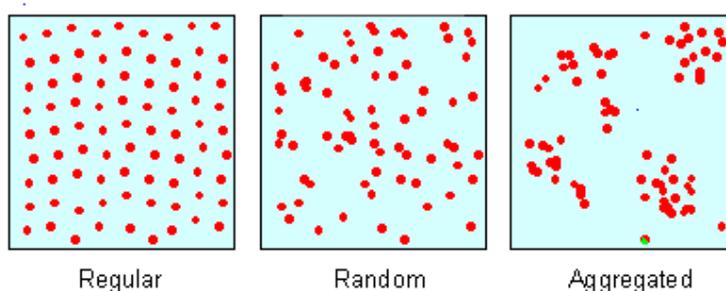


Figura 21. Rappresentazione grafica dei tre tipi principali di distribuzione spaziale delle popolazioni di artropodi.

Alla base di questi tipi così diversi di aggregazione vi sono comportamenti ereditari specifici. Lo studio dei fenomeni aggregativi si può fare a diversi livelli: da una parte vi sono studi molto approfonditi, che richiedono conoscenze dettagliate di modelli statistici e matematici, ma vi sono anche approcci elementari, basati su concetti semplici e alla portata di tutti.

Un modo molto semplice per stimare la distribuzione spaziale di una popolazione è quello di calcolare il rapporto tra *media* e *varianza* (Figura 21). Nel primo caso (distribuzione uniforme, pannello di sinistra), il valore della varianza è inferiore a quello della media; nel secondo caso (distribuzione random, al centro) la varianza è tendenzialmente uguale alla media; nel terzo caso, il valore della varianza è significativamente superiore a quello della

media (distribuzione aggregata, a destra). In natura gli esempi di distribuzione uniforme di individui di una popolazione, sono abbastanza rari.

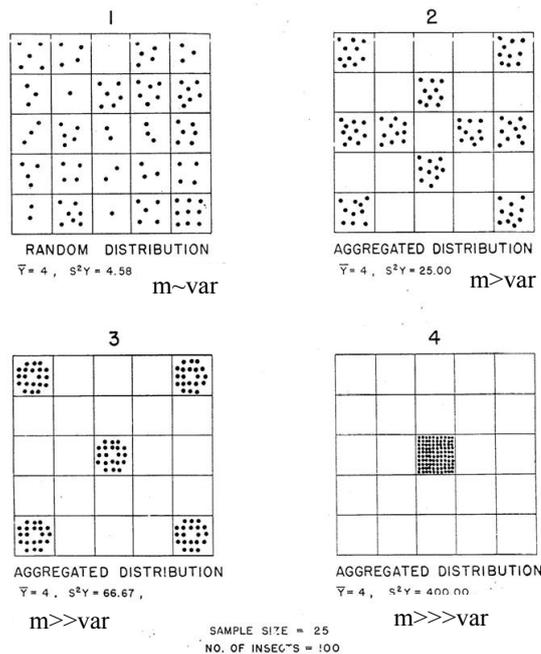


Figura 22. Esempio di quantificazione della distribuzione spaziale mediante confronto media/varianza (1 Distribuzione random; 2, 3 e 4 Distribuzione aggregata).

Esiste un rapido test per confrontare media e varianza, valutando statisticamente la distribuzione spaziale di un insetto. Il test valuta se la distribuzione spaziale si adegua a una distribuzione random o di Poisson (ipotesi: $\text{var} = m$).

$$\chi^2 = \frac{\text{var}(NC - 1)}{m}$$

dove var =varianza campionaria, m = media campionaria, NC = numero campioni.

Il calcolo si effettua confrontando il valore calcolato del χ^2 con quello tabulare (valori critici della distribuzione χ^2), per quei determinati gradi di libertà. Nell'esempio in Figura 22, nel caso 1 il valore calcolato (per 24 gradi di libertà) non supera quello tabulare e accetto l'ipotesi che $m = \text{var}$ (quindi la distribuzione spaziale dell'ipotetica popolazione è di tipo random). Nei casi 2, 3, 4, i valori calcolati superano quelli tabulari e si rifiuta perciò l'ipotesi di partenza di una distribuzione random, accettando l'ipotesi alternativa (distribuzione aggregata).

In molti casi però lo studio non può limitarsi a conoscere la tendenza all'aggregazione di una popolazione in campo, ma è necessario stimare più precisamente questo grado di

aggregazione. Un primo approccio prevede il calcolo di **indici di aggregazione**. I più importanti e utilizzati sono: il coefficiente di dispersione; la legge di Taylor (1961) (il più comune); il *mean crowding* (Lloyd, 1967); la *mean crowding regression* (Iwao, 1968) e l'indice di Morisita.

Il coefficiente di dispersione (CD) è un modo intuitivo e semplice per quantificare la "dispersione" dei dati e dare una prima interpretazione della distribuzione spaziale rilevata in campo. E' spesso usato in statistica descrittiva per indicare la dispersione ("variabilità") dei dati intorno alla media.

$$CD = SD^2 / M$$

dove SD è la deviazione standard e M è la media.

L'indice di aggregazione più usato in entomologia è la "*power law*" di Taylor (1961). È una curva chiamata "legge potenza", e mette in relazione le medie campionarie con le rispettive varianze. Trasformando in logaritmi si ottiene una legge lineare che facilita il calcolo dei parametri *a* e *b*.

$$S^2 = a m^b$$

$$\text{Log } s^2 = \text{Log } a + b \text{ Log } m$$

Questo modello ha mostrato di descrivere efficacemente l'aggregazione spaziale di molti organismi in diverse situazioni (Figura 23).

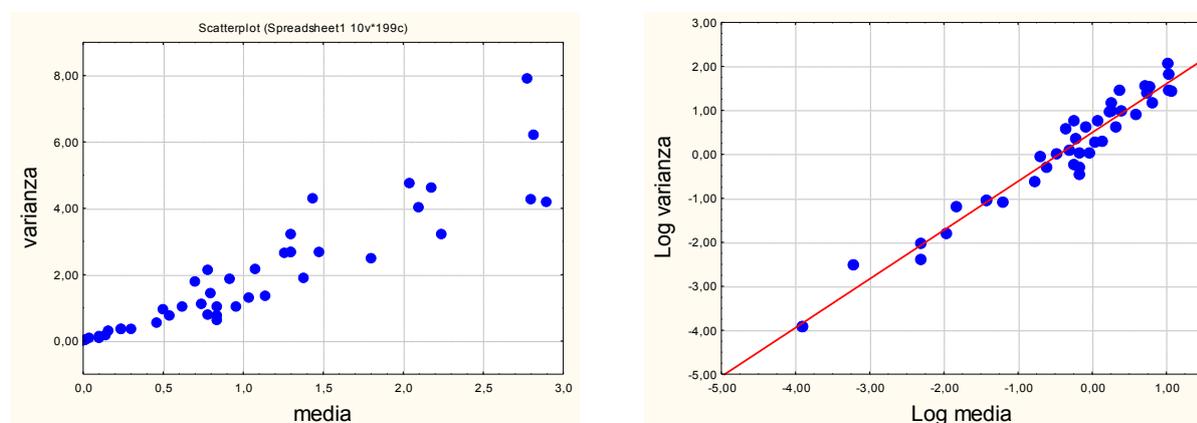


Figura 23. Applicazione della legge di Taylor al Dittero Agromizide *Liriomyza huidobrensis*, la trasformazione in logaritmi linearizza i dati (da Burgio *et al.*, 2005).

Esso è considerato un indice di aggregazione indipendente dalla densità della popolazione (non varia se la popolazione cambia). Il coefficiente angolare "b" è considerato caratteristico e costante per una determinata specie e dovrebbe essere costante per una specie campionata anche in ambienti diversi, ma tale presupposto non è sempre valido. In effetti, per rappresentare una base rigorosa di uno schema di campionamento i parametri *Log a* e *b* dovrebbero essere invarianti per tutte le possibili fonti di variazione (es. anno, metodo di campionamento, località stadio biologico dell'insetto, scala spaziale, ecc). Al contrario, Taylor (1984) enfatizza che entrambi non possono essere definiti invarianti nei confronti di tutte le possibili fonti di variazione, ma che esiste evidenza di una buona consistenza dei parametri fin quando il metodo di campionamento è lo stesso e non ci sono grandi differenze di condizioni ambientali.

Pertanto in ambienti con elevato grado di somiglianza, il coefficiente *b* mostra una certa costanza:

"b" varia in modo continuo passando per:

$b \rightarrow 0$ = distribuzione regolare;

b prossimo a 1 = distribuzione random;

$b > 1$ = distribuzione aggregata.

L'intercetta "a" dipende essenzialmente dal metodo di campionamento.

L'indice di Taylor ha avuto una notevole importanza pratica: *a* e *b* sono stati usati come parametri in moltissime formule per calcolare la dimensione ottimale dei campioni e in generale per algoritmi usati nella predisposizione di piani di campionamento (e.g. Hamilton *et al.*, 1998). Questo indice, insieme con gli altri, ha avuto una certa importanza storica nella lotta integrata, ma è stato criticato recentemente da molti autori per la mancanza di significato spaziale in senso stretto. In altre parole i parametri che possono essere quantificati con questo indice non hanno valore descrittivo dal punto di vista spaziale. Nonostante questi approcci tradizionali nello studio della distribuzione spaziale degli insetti (confronto medie/varianza, legge di Taylor, altri indici di aggregazione) possano sembrare superati, hanno avuto una importanza fondamentale nella lotta integrata, perché sono stati la base per la pianificazione dei campionamenti.

Perry (1981) ha confrontato l'uso dei modelli più comunemente adottati per la quantificazione dell'aggregazione spaziale in popolazioni di insetti concludendo che il modello

di Taylor (1961) ha rappresentato efficacemente i dati ecologici esaminati, raccomandandone pertanto l'uso per studi di questo tipo.

Va citato infine che interazioni ecologiche complesse si stabiliscono comunemente in tutti gli ecosistemi, compresi quelli molto semplificati come gli agroecosistemi e di conseguenza l'abbondanza e la dispersione di ciascuna specie in campo viene fortemente influenzata da interazioni negative (come la competizione o la predazione) o positive (come il mutualismo). La trattazione dettagliata di questi argomenti esula dallo scopo del presente lavoro.

6 Piani di monitoraggio per la valutazione degli impatti di piante Bt sull'artropodofauna non bersaglio: review degli studi di campo

Ad oltre 15 anni dall'avvio della loro commercializzazione, le piante geneticamente modificate (PGM) mostrano ogni anno un notevole incremento delle superfici coltivate, facendo registrare il più alto tasso di adozione di una tecnica innovativa in campo agricolo (James, 2011). Tale attitudine non è però rispettata in Europa dove la coltivazione di piante geneticamente modificate (PGM) ha generato preoccupazione circa possibili effetti sulla salute umana e sull'ambiente. Il dibattito su rischi e benefici della coltivazione di piante geneticamente modificate per la resistenza agli insetti è pertanto ancora molto acceso (EFSA, 2008). La coltivazione su larga scala di PGM comporta l'esposizione di un gran numero di organismi che popolano l'agroecosistema e l'ambiente immediatamente circostante alla PGM e ai prodotti dei transgeni. I potenziali rischi dal punto di vista ambientale vengono individuati nella possibile dispersione del transgene (attraverso il polline o il trasferimento genico orizzontale) che potrebbero indurre vantaggi selettivi negli organismi recipienti ed in eventuali effetti negativi a carico degli organismi "non bersaglio" (i.e. *"all living organisms that are not meant to be affected by newly espresse compounds in GMPs, and that can be potentially exposed, directly or indirectly, to the GM plant and/or its products in the agro-ecosystem where GMPs will be released or in adjacent habitats"*, Arpaia, 2010). I potenziali effetti di questa esposizione su diverse componenti della biocenosi, sull'agroecosistema e sull'ambiente circostante sono perciò oggetto di apposite valutazioni prima della messa in commercio delle PGM (EFSA, 2010b).

Mentre la gran parte delle specie non bersaglio sono presenti sporadicamente nei sistemi agricoli o non incidono significativamente sulla produzione agricola, molte altre svolgono invece servizi ecologici fondamentali come i decompositori, gli impollinatori, i nemici naturali delle specie fitofaghe (predatori o parassitoidi) (EFSA, 2010a).

La modificazione più comune delle piante ingegnerizzate per la resistenza agli insetti è ottenuta con l'inserimento di geni del batterio *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) che portano alla produzione di tossine cristalline di natura proteica (Cry) dotate di varia specificità nei confronti di insetti ed altri gruppi animali (ad esempio Nematodi). Dall'espressione costitutiva dei geni *cry* codificanti per queste tossine nelle PGM, deriva una lunga esposizione stagionale di molte specie di artropodi alle tossine. Inoltre, a differenza della modalità di azione delle

tossine naturalmente prodotte dai batteri (pro-tossine che necessitano di attivazione nel lume intestinale della vittima), le piante che esprimono tossine Bt le producono in forma attivata. In natura l'efficacia dell'endotossina dipende dall'azione delle proteasi intestinali degli insetti bersaglio e dalla presenza di recettori epiteliali specifici. Nel caso di tossine prodotte in pianta invece, potrebbero risultare teoricamente a rischio anche specie normalmente non sensibili alle tossine cry in quanto sprovviste di idonei enzimi proteolitici.

Le sperimentazioni riguardanti i possibili effetti ambientali, condotte sia in laboratorio che in campo, riflettono in sostanza la diffusione delle varie colture GM. Ad oggi le piante più studiate sono il mais resistente a Lepidotteri (in particolare *Ostrinia nubilais* Hubner) che produce tossine del gruppo Cry 1Ab, il mais resistente a *Diabrotica* spp. che esprime la tossina Cry 3Bb ed il cotone resistente ai Lepidotteri ingegnerizzato per la produzione di tossine Cry 1 Ac (e.g. Marvier *et al.*, 2007). Alcuni studi hanno preso in considerazione anche patata e melanzana esprimenti tossine Cry 3Bb per la resistenza alla dorifora (*Leptinotarsa decemlineata* Say) (Arpaia *et al.*, 2007; Arpaia *et al.*, 2009).

Solo pochi dei numerosi studi di laboratorio hanno dimostrato effetti tossici di PGM a carico di artropodi non bersaglio. Tuttavia, le ricerche di laboratorio si sono concentrate su un numero relativamente limitato di specie e hanno considerato pochi parametri biologici, per lo più riferibili alla valutazione di effetti tossici acuti (Lövei & Arpaia, 2005; Lövei *et al.*, 2009). Le prove di campo sono considerate da alcuni come il metodo più realistico per la valutazione degli effetti delle PGM sull'artropodofauna non bersaglio. Solo gli studi di pieno campo, infatti, tengono implicitamente conto delle complesse interazioni che coinvolgono tutte le specie presenti nei sistemi agricoli (Firbank *et al.* 2005). La maggiore limitazione del loro uso è però rappresentata dalla loro scarsa sensibilità. Gli studi di campo sono infatti influenzati da una molteplicità di fattori che aumentano la variabilità del sistema, riducendone la sensibilità. Pertanto solo grandi effetti ambientali (nell'ordine del 50%), possono essere efficacemente rilevati attraverso esperimenti di campo (EFSA, 2010b). Inoltre, proprio per la complessità che caratterizza anche gli ecosistemi all'apparenza più semplificati, le ricerche di campo risultano difficili, costose e richiedono un approccio multidisciplinare. Per di più, considerata la variabilità intrinseca degli ecosistemi, è necessario valutare gli effetti su scale spaziali sufficientemente ampie e per periodi di tempo abbastanza lunghi. Di conseguenza gli studi effettuati in campo sono stati talvolta caratterizzati da un basso numero di repliche, condotti per periodi brevi ed hanno preso in considerazione un numero limitato delle possibili specie oggetto di studio (assessment endpoints).

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Lo scopo di questa review è principalmente metodologico. Difatti, si propone di valutare non tanto i risultati dei lavori presi in considerazione, per i quali si rimanda ad articoli di revisione e studi specifici (e.g. Lövei *et al.*, 2009, Romeis *et al.*, 2009, Arpaia, 2010), quanto piuttosto i metodi di raccolta e analisi dei dati. Poiché la valutazione dei possibili effetti della coltivazione PGM deve essere fatta caso per caso, riferendosi strettamente al contesto ambientale e paesaggistico dove una determinata PGM viene coltivata (EFSA, 2010a), questo capitolo si prefigge di evidenziare gli elementi comuni ai diversi studi, elementi che possono essere riprodotti in diverse situazioni tipiche degli agroecosistemi italiani e fornire così una guida per la progettazione *ad hoc* di sperimentazioni mirate alla valutazione degli effetti delle PGM.

6.1 Costruzione del Database

Nel database realizzato per valutare i metodi applicati per lo studio degli effetti delle PGM sull'artropodofauna sono stati presi in considerazione lavori conformi ai seguenti criteri:

- 1- Sperimentazioni condotte in condizioni di pieno campo e replicate nel tempo e nello spazio.
- 2- Lavori pubblicati su riviste internazionali con *impact factor*. Si tratta di un criterio piuttosto restrittivo, tuttavia la revisione da parte di esperti del settore garantisce l'idoneità dei metodi di raccolta dati e delle relative analisi statistiche e che le conclusioni dello studio siano giustificate dai dati presentati e ritenuti validi dalla comunità scientifica. Questo è particolarmente importante per gli obiettivi sostanzialmente metodologici del nostro lavoro. Inoltre, questo approccio consente anche a non specialisti (es. funzionari, tecnici ambientali, enti, ecc) di accedere agli articoli originali con facilità, trattandosi di pubblicazioni comparse su importanti riviste internazionali.
- 3- Sperimentazioni eseguite su piante esprimenti una o più proteine derivanti da *Bacillus thurugiensis* (proteine Cry).
- 4- Sperimentazioni in cui l'abbondanza e la ricchezza di specie di artropodi, è stata impiegata come variabile nel confronto tra parcelle coltivate con piante transgeniche e parcelle coltivate con i corrispettivi non transgenici, trattati o meno con insetticidi.

In totale sono stati inclusi nel database 32 studi di campo conformi ai criteri indicati (Tabella 4).

6.2 Risultati

Piante geneticamente modificate oggetto degli studi

La maggior parte degli studi (n. 23) sono stati effettuati su mais Bt. Di questi, 15 studi interessavano eventi ottenuti da trasformazione con geni *cry 1Ab*, 6 sono stati effettuati su eventi esprimenti Cry 3Bb1 e 2 esperimenti di campo riguardavano piante esprimenti proteina Cry 3Bb2. Tutti i sette studi svolti sul cotone, coltura di importanza relativa in Italia ed in Europa, sono stati condotti sul territorio americano o australiano su eventi ottenuti da trasformazione per la resistenza ai Lepidotteri (tramite espressione della proteina Cry 1Ac). Sono stati inclusi nel database anche altri due studi pubblicati su riviste con *impact factor*, uno riguardante la patata e l'altro la melanzana. Entrambe le *cultivar* trasformate esprimevano proteina Cry 3Bb attiva contro i Coleotteri Crisomelidi.

Nessun lavoro di campo mirato alla valutazione degli effetti della coltivazione di colza (*Brassica napus*) transgenica sull'artropodofauna non bersaglio è stato pubblicato ad oggi su riviste con *impact factor*. Compaiono invece lavori sul flusso genico tra colza e infestanti congeneriche.

Tecniche di campionamento

Le metodiche di campionamento utilizzate in studi con PGM riflettono la varietà dei gruppi campionati e, in sostanza, tutti i metodi di campionamento mirati alla raccolta di insetti e altri artropodi sono stati, di volta in volta, applicati. Alcuni studi utilizzano contemporaneamente più metodi di campionamento mirati alla raccolta di componenti diverse della comunità di artropodi.

In tabella 4 si riportano la frequenza con cui tali tecniche sono state applicate negli studi di pieno campo sui potenziali effetti delle PGM.

Tabella 4. Tecniche di campionamento utilizzate in studi di campo per la valutazione degli effetti delle PGM sull'artropodofauna non bersaglio

Tecnica di campionamento	Artropodi bersaglio	Numero studi in cui è stata applicata
Trappole a caduta (<i>pitfall traps</i>)	Insetti e Aracnidi che si muovono attivamente sul terreno	12
Campionamenti visivi delle piante	Tutti gli artropodi di medie-grandi dimensioni che si trovano sulle piante	12
Trappole cromotropiche	Insetti, di solito buoni volatori, attirati dalla colorazione e dalla forma della trappola	4
Aspiratori pneumatici	Tutti gli artropodi che trovano sulle piante o sul terreno (le specie più mobili hanno più possibilità di sfuggire)	3
Scuotimento meccanico	Tutti gli artropodi che trovano sulle piante (le specie più mobili hanno più possibilità di sfuggire)	3
Rimozione delle intere piante o di parti di esse	Tutti gli artropodi anche molto piccoli che trovano sulle piante (le specie più mobili hanno più possibilità di sfuggire)	3
Carotaggi del terreno abbinati all'imbuto di Tullgren-Berlese	Artropodi (soprattutto Collemboli e Acari) che si trovano nei primi strati del terreno	3

Livello tassonomico

Nei diversi studi il dettaglio tassonomico a cui è stata spinta l'identificazione degli artropodi campionati è estremamente vario. Si passa da identificazioni a livello di specie, all'utilizzo di generi e famiglie, alla definizione di OTU (unità tassonomiche operative), all'identificazione degli organismi per soli gruppi funzionali.

Il tipo di campionamento influisce in modo determinante sulle possibilità di identificazione. Tutti i metodi che non prevedono la raccolta di materiale, come ad esempio i campionamenti visivi, consentono di identificare con sicurezza sino al rango specifico solo una piccola parte degli organismi osservati.

D'altra parte, per l'identificazione specifica di molti degli artropodi raccolti sono spesso necessarie analisi lunghe e laboriose (chetotassi, analisi delle strutture edeagali, analisi ultrastrutturali al microscopio elettronico, analisi molecolari, ecc.), che possono essere portate avanti solo da pochi esperti del settore. Per l'identificazione di tutto il materiale raccolto, spesso decine di migliaia di individui, possono essere perciò necessari anche diversi anni di lavoro.

Gruppi maggiormente studiati

Carabidi

Risultano 11 prove nel database, tutte svolte in campi di mais (otto Cry 1 e tre su Cry 3) e per tutte sono state usate trappole a caduta come metodo di campionamento. Le dimensioni delle parcelle variano da un massimo di 4880 m² a un minimo di 225 m².

Araneidi

Per il campionamento dei ragni sono state impiegate diverse metodologie. Ancora una volta le trappole a caduta risultano il metodo più usato con cinque prove. Seguono i metodi che prevedono l'uso di aspiratori e di ispezioni visive con due prove ciascuno. Infine, i ragni sono stati anche sporadicamente raccolti con altri metodi mirati principalmente all'analisi di altri gruppi come trappole adesive, imbuto posizionati sui fusti delle piante, raccolta di piante intere e scuotimento meccanico. È evidente che con metodi di campionamento delle piante si raccolgono specie diverse che con i metodi di raccolta al suolo.

Ancora il mais Bt risulta la coltura campionata nella totalità dei casi con l'eccezione di uno studio sulla melanzana esprime Cry 3Bb.

I ragni fanno parte della categoria funzionale dei predatori generalisti e possono entrare in contatto con le tossine cibandosi di insetti che avevano precedentemente consumato parti di piante GM. Tuttavia, le specie di Araneidi che tessono ragnatele di ampia superficie potrebbero anche assumere direttamente polline GM presente nella tela.

Nemici naturali: Predatori

Diversi autori hanno utilizzato *taxa* afferenti a questa vastissima categoria funzionale. Tra le famiglie più comunemente campionate vi sono Coccinellidi, Neurotteri, Antocoridi, Nabidi, Ligeidi e Sirfidi. Si tratta principalmente di specie che ricercano attivamente le prede muovendosi sulle piante ed i metodi di campionamento utilizzati rispecchiano questa caratteristica biologica. La maggior parte delle prove si sono basate su campionamento visivo delle piante (11 prove). Anche le trappole cromotropiche a colla risultano abbastanza utilizzate (quattro prove). Lo scuotimento meccanico è stato impiegato in due prove, come anche l'aspiratore pneumatico. Uno studio condotto in Ungheria ha adottato un approccio non convenzionale al campionamento degli artropodi predatori, sono state raccolte le tele di *Theridion impressum* Koch e sono stati identificati e contati gli insetti utili predati da questo ragno.

Nemici naturali: Parassitoidi

La quasi totalità degli insetti parassitoidi sono inclusi nella sezione Parasitica degli Imenotteri e nella famiglia dei Ditteri Tachinidi. Dal punto di vista tassonomico questa categoria funzionale include uno sterminato numero di specie, alcune caratterizzate da spettro d'ospite ampio, altre legate a una singola specie.

La raccolta di larve dei fitofagi è uno dei metodi tipici per il campionamento dei parassitoidi. Gli adulti, spesso buoni volatori, sono campionati con trappole cromotattiche (utilizzate in quattro studi), osservazioni visive (uno studio), lo scuotimento meccanico (uno studio), trappole ad emergenza (uno studio) ed aspiratore pneumatico (uno studio).

Per le dimensioni generalmente ridotte ed il grande numero di specie morfologicamente simili, l'identificazione precisa degli Imenotteri parassitoidi è praticamente impossibile con tecniche che non prevedono la raccolta degli esemplari. I lavori basati su dati ottenuti mediante ispezioni visive delle piante si limitano spesso al rango di famiglie o all'inclusione di tutti i parassitoidi in un'unica unità tassonomica operativa.

Poiché la PGM più comunemente studiata è il mais trasformato per la resistenza alla piralide, il parassitoide studiato più di frequente è il Braconide *Macrocentrus cingulum* Brischke (tre lavori). Anche i parassitoidi che si sviluppano a spese di afidi, fitofagi secondari non sensibili alle tossine Bt, hanno ricevuto una certa attenzione.

Collemboli e Acari

Le tossine espresse dalle piante transgeniche possono raggiungere il suolo tramite gli essudati radicali o i residui delle colture e alcuni studi hanno dimostrato una persistenza di queste tossine per diversi mesi (Baumgarte and Tebbe, 2005). Poiché gli animali che vivono all'interno del terreno svolgono un'azione fondamentale nel ricircolo dei nutrienti nell'ecosistema, gli artropodi edafici sono stati oggetto di alcuni studi specifici.

I Collemboli, che spesso costituiscono il gruppo numericamente più abbondante delle comunità di artropodi edafici, sono considerati buoni bioindicatori. Anche gli Acari del suolo (Prostigmata, Mesostigmata ed Oribatea) sono molto abbondanti e comunemente presi in considerazione. In tutti i casi, il metodo di raccolta usato è il carotaggio di porzioni di terreno seguito dall'estrazione degli artropodi tramite imbuto di Tullgren-Berlese.

Poiché si tratta di organismi di dimensioni estremamente ridotte e generalmente poco caratterizzati dal punto di vista tassonomico, l'identificazione delle varie entità risulta spesso problematica. Per il personale non esperto anche la suddivisione di Acari e Collemboli in ordini e famiglie risulta difficoltosa.

Nel database sono stati inclusi tre studi di campo mirati al campionamento di artropodi edafici. Due di questi hanno preso in considerazione sia Collemboli sia Acari limitandosi a una separazione per ordini o famiglie. Un terzo studio ha invece considerato solo i Collemboli spingendo l'identificazione degli individui al rango specifico. Uno dei summenzionati studi ha tenuto conto anche dei Collemboli caduti nelle *pitfall trap*.

Acari e Collemboli del terreno sono organismi relativamente poco mobili adatti ad analisi su scala ridotta, di conseguenza il piano sperimentale può considerare anche parcelle di dimensioni limitate (< 100 m²).

6.3 Analisi dei dati e disegno sperimentale

La definizione di un piano sperimentale adeguato e la scelta del tipo di analisi statistica da applicare è decisiva per la corretta valutazione degli effetti legati alla coltivazione di PGM. Molte tecniche diverse possono essere impiegate per adattarsi alle condizioni sperimentali contingenti.

In otto degli studi esaminati (25% del totale) le tecniche classiche di analisi univariata (e.g. analisi della varianza, ANOVA) sono affiancate da metodi multivariati come MANOVA *Principal*

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Response Curve (PRC), *Multi-Response Permutation Procedure* (MRPP), *Multi Dimensional Scaling* (MDS) e *Principal Component Analysis* (PCA). In alcuni casi (sette in totale, 22%) è stato adottato anche un approccio faunistico più classico con il confronto tra indici di dominanza e diversità calcolati nelle parcelle a diverso trattamento.

A quanto risulta dall'analisi della letteratura, le tecniche di spazializzazione dei dati non sono mai state applicate allo studio degli effetti sull'artropodofauna dovuti alla coltivazione di PGM.

In conseguenza della grande diversità di approcci esistenti, diverse metodologie sono state suggerite ed in Europa di recente l'EFSA ha suggerito l'uso delle analisi statistiche più appropriate per quanto concerne la valutazione dei nuovi eventi di PGM di cui viene richiesta l'autorizzazione in commercio (EFSA, 2010) sollecitando anche l'uso contemporaneo di test di differenza e test di uguaglianza.

In questo paragrafo vengono soltanto richiamati brevemente alcuni dei principali problemi che devono essere affrontati durante questo tipo di sperimentazione e la cui risoluzione è fondamentale per una corretta interpretazione dei dati sperimentali. Questi problemi rappresentano i limiti sperimentali principali segnalati dall'analisi della letteratura specifica esistente.

La "power analysis".

La power analysis consente di calcolare la probabilità che un dato esperimento riveli effetti di una definita grandezza ed è ritenuta uno strumento indispensabile in uno studio di impatto ambientale. Per dimostrare che un effetto ambientale "collaterale" all'uso di PGM sia ben definito ed abbia una bassa probabilità, ci si basa (al contrario della gran parte degli esperimenti negli agroecosistemi) su di una ipotesi nulla di ineguaglianza fra il trattamento (la PGM) ed il controllo sperimentale (di solito la stessa linea o varietà da cui è stata originata la PGM). In questo caso perciò lo sperimentatore dovrà impostare la prova per falsificare l'ipotesi nulla per concludere che la PGM è invece equivalente alla pianta controllo non trasformata. La sensibilità di un esperimento può quindi essere predeterminata attraverso la scelta di un adeguato "power test" che rappresenta il complemento matematico dell'errore di tipo II dell'esperimento. Per una trattazione matematica più completa del *power test* cfr. Andow, 2003. In accordo con il principio di precauzione, che regola lo studio degli impatti ambientali delle PGM (Secretariat of the Convention of Biological Diversity, 1992) ogni esperimento dovrà avere un sufficiente potere statistico tale da rigettare l'ipotesi nulla in

favore dell'alternativa, che rappresenta l'unico modo possibile per concludere sull'assenza di possibili effetti ambientali (Perry *et al.*, 2009).

Una *power analysis* eseguita al momento della pianificazione dello studio e prima del suo avvio consente di stimare il potere statistico dell'esperimento, di scegliere il numero appropriato di repliche, e di fornire rassicurazioni che l'esperimento sia effettivamente in grado di rilevare un effetto significativo esistente (Perry *et al.*, 2009).

Dimensioni delle parcelle

Per evidenti ragioni pratiche, e spesso anche legislative legate alle procedure autorizzative, le prove di campo sono condotte su una scala molto più piccola rispetto alle dimensioni tipiche del campo coltivato destinato alla produzione.

Le dimensioni delle parcelle sono il principale fattore che rende conto della scala spaziale dello studio perché è tra i *plot* che si calcolano le medie e, in ultima analisi, si valutano le differenze nell'abbondanza degli artropodi.

Alcuni studi statunitensi sono stati condotti in fase di post-commercializzazione e quindi condotti su parcelle sperimentali di estensione notevole e situate all'interno di vasti comprensori coltivati con PGM. A causa della normativa comunitaria sulla coltivazione delle PGM, gli studi svolti in Europa sono stati condotti in campi sperimentali spesso isolati dal contesto agricolo circostante e perlopiù di piccola estensione. Le dimensioni delle parcelle variano da 17,5 a 20000 m² (Figura 24).

Diverse ricerche hanno dimostrato che la dimensione delle parcelle influenza la valutazione della densità e della distribuzione degli artropodi e dei danni che essi causano. Parcelle più grandi forniscono condizioni più realistiche e rappresentative degli agroecosistemi, in particolare quando si studiano organismi dotati di forte mobilità, come ad esempio gli impollinatori, e subiscono minore interferenza fra parcelle contigue. Il movimento degli artropodi attraverso i confini delle parcelle è, probabilmente, la ragione principale degli effetti delle dimensioni delle parcelle. Nei *plot* più piccoli l'elevato rapporto perimetro/area aumenta la probabilità che gli individui entrino e escano dalle parcelle. Questo alto tasso di immigrazione ed emigrazione dovrebbe, nella maggior parte dei casi, ridurre i tempi di recupero della comunità in seguito a un disturbo e risultare, in ultima analisi, in un'omogeneizzazione delle differenze tra i trattamenti.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Esistono degli studi specifici volti a determinare il dimensionamento ottimale dei campi sperimentali (e.g. Prasifka *et al.*, 2005; Winder *et al.*, 1999) ma l'estensione di tali risultati ad altri sistemi va fatta con estrema cautela.

Non essendovi una regola aurea che possa indurre a determinare la spazializzazione ottimale di una prova sperimentale, sarebbe comunque opportuno che la scelta delle dimensioni del campione di ogni esperimento (es. numero di repliche, numero di unità sperimentali, uso di blocchi, numero di stagioni, ecc.) fosse giustificata per quanto possibile da argomentazioni di tipo biologico e/o statistico.

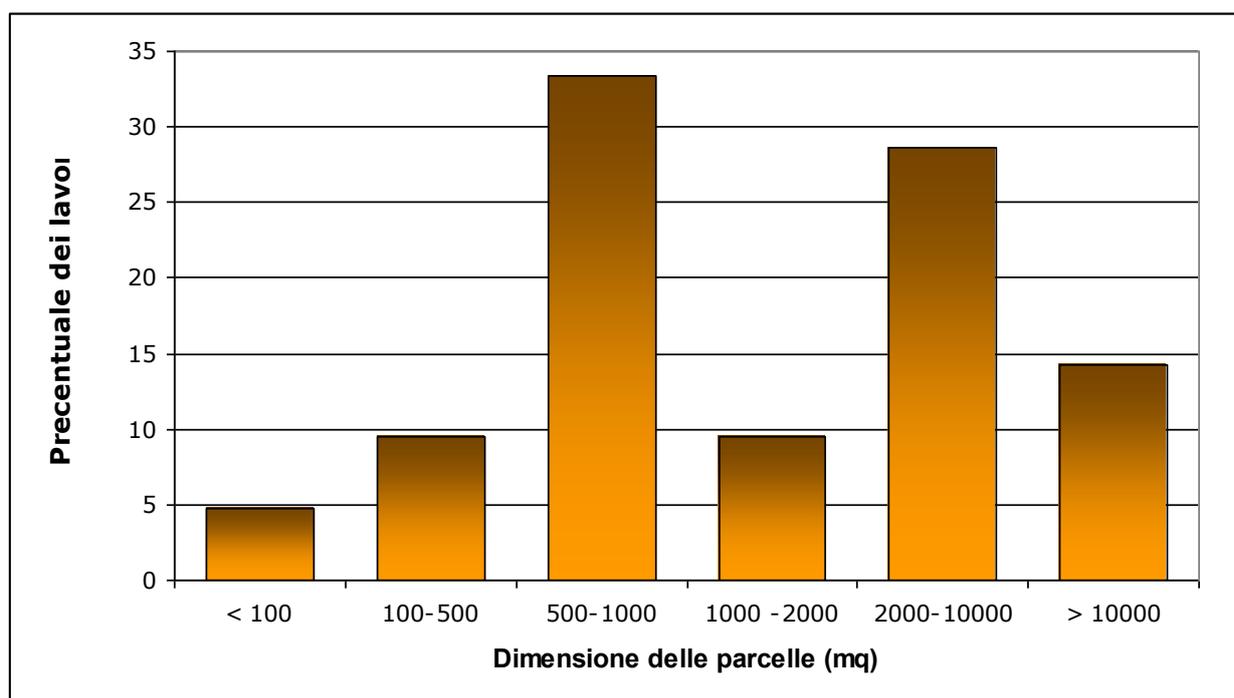


Figura 24. Dimensione delle parcelle negli studi per la valutazione degli effetti delle PGM su artropodi non bersaglio. Non sono stati inclusi tre lavori, presenti nel database, effettuati su cotone Bt in fase di avvenuta commercializzazione campionando campi in produzione.

Numero di repliche utilizzate per gli studi di campo

Il numero di repliche effettuate per ciascuno dei trattamenti analizzati è un altro fattore determinante per la pianificazione sperimentale degli studi. In oltre il 70% dei lavori presi in considerazione, i campionamenti sono stati condotti su tre o quattro repliche (Figura 25). I pochi studi che si discostano da questi livelli di ripetizione comprendono tre studi replicati due volte, altri tre studi replicati otto volte, due studi replicati cinque volte e due studi con una e sei repliche ciascuno.

È interessante considerare come in alcuni lavori il numero di repliche non sia costante per tutti i *taxa* ma vari in base agli artropodi oggetto di studio e alla relativa metodica di campionamento.

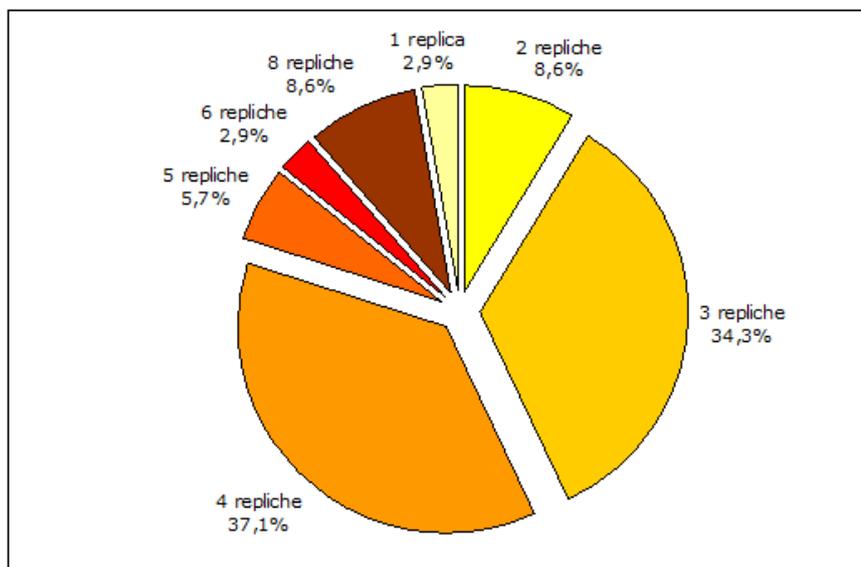


Figura 25- Numero di repliche (espresso in percentuale sul totale) utilizzate negli studi di campo per la valutazione degli effetti delle PGM su artropodi non bersaglio

Ulteriori approcci possibili

Nonostante si tratti di indici molto popolari per la misura della biodiversità, gli indici di diversità non sono raccomandabili per studi di impatto ambientale su piccola scala. Sebbene un indice sintetico della stima della biodiversità risulti molto attraente per una misura degli effetti ambientali, l'idea che questo possa essere rappresentato semplicemente da un numero è considerata una soluzione troppo semplicistica (Perry *et al.*, 2009).

L'approccio multivariato, molto comune nell'ecologia delle popolazioni, può essere molto utile per studi su larga scala in fase di post-commercializzazione (EFSA, 2010b) o per l'identificazione di strutture di correlazione fra i diversi parametri misurati, ma sembrano meno efficienti per studi su scala più ridotta (Perry *et al.*, 2009).

La letteratura scientifica in merito agli effetti ambientali delle PGM si è arricchita di recente di approcci statistici poco applicati finora in questo campo. L'uso di meta-analisi per riportare una sintesi di dati ottenuti in vari esperimenti diversi è stato suggerito inizialmente da Marvier *et al.*, (2007) in una review degli studi di campo su mais e cotone esperimenti tossine Bt. Altri studi recenti sono stati effettuati con questa metodologia applicandola ai diversi gruppi funzionali di artropodi non-bersaglio (Wolfenbarger *et al.*, 2008), o specificamente alle api

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

(Duan *et al.*, 2008), o per stabilire la tipologia di effetti diretti o indiretti nello studio di Naranjo (2009). Lövei *et al.* (2009) hanno invece utilizzato la meta-analisi per discutere gli effetti delle PGM sui nemici naturali in condizioni di laboratorio.

Bibliografia

- Andow D.A. 2003. *Negative and positive data, statistical power, and confidence intervals. Environ. Biosafety Res.* 2: 75-80.
- Andow D.A., Birch N.A.E., Dusi A.N., Fontes E.M.G., Hilbeck A., Lang A., Lövei G.L., Pires C.S.S., Sujii E.R., Underwood E, Wheatley R.E. 2006. *Non-target and biodiversity ecological risk assessment for GM crops. Proceedings of 9th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms (ISBR), September 24-29 2006, Jeju Island, Korea, pp 68-73.*
- Arpaia S. 2010. *Genetically modified plants and “non-target” organisms: analysing the functioning of the agro-ecosystem. Coll. Biosaf. Rev.,* 5: 12-80.
- Arpaia S., Di Leo G.M., Fiore M.C., Schmidt J.E.U., Scardi M. 2007. *Composition of Arthropod Species Assemblages in Bt-expressing and Near Isogenic Eggplants in Experimental Fields. Environmental Entomology,* 36(1): 213-227.
- Arpaia S., Schmidt J.E.U., Di Leo G.M., Fiore M.C. 2009. *Oviposition of the Colorado potato beetle (Leptinotarsa decemlineata - Say) and natural predation on its egg masses in Bt-expressing fields. Biocontrol Science and Technology,* 19(9): 971-984.
- Baars M.A. 1979. *Catches in pitfall traps in relation to mean densities of carabid beetles. Oecologia,* 41: 25-46.
- Banaszak J. 1980. *Studies on method of censusing the numbers of bees. (Hymenoptera, Apoidea). Pol. Ecol. Stud.,* 6: 355-366.
- Baumgarte S., Tebbe C.C. 2005. *Field studies on the environmental fate of the Cry1Ab Bt-toxin produced by transgenic maize (MON810) and its effect on bacterial communities in the maize rhizosphere. Molecular Ecology* 14: 2539-2551.
- Bennison J.A. 1992. *Biological control of aphids on cucumbers use of open rearing systems or “banker plants” to aid establishment of Aphidius matricariae and Aphidoletes aphidimyza. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.,* 57/2b: 457-466.
- Berlese A.1905. *Apparecchio per raccogliere presto ed in gran numero piccoli artropodi. Redia,* 2: 85-89.

- Binns M.R., Nyrop J.P. 1992. Sampling insect populations for the purpose of IPM decision making. *Ann. Rev. Entomol.*, 37: 427-453.
- Bliss C.I., Owen A.R.G. 1958. Negative binomial distributions with a common k. *Biometrika*, 45: 37-58.
- Boriani L., Ferrari R., Burgio G., Nicoli G., Pozzati M., Cavazzuti C. 1998. Il ruolo delle siepi nell'ecologia del campo coltivato. II. Ulteriori indagini sui Coccinellidi predatori di afidi. *Informatore Fitopatologico*, 48 (5): 51-58.
- Bowden J. 1981. The relationship between light and suction-trap catches of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) and the adjustment of light-trap catches to allow for variation in moonlight. *Bull. Entomol. Res.*, 71: 621-629.
- Brandmayr P., Pizzolotto R. 1987. Aspetti zoocenotici e biogeografici dei popolamenti a Coleotteri nella fascia alpina delle Vette di Feltre (Belluno). *Biogeographia*, 12: 713-743.
- Brown M.W., Cameron E.A. 1982. Spatial distribution of adults of *Eoncyrtus kuvanae* (Hymenoptera: Encyrtidae), an egg parasite of *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae). *Can. Ent.*, 114: 1109-1120.
- Burbutis P.P., Stewart J.A. 1979. Blacklight trap collecting of parasitic Hymenoptera. *Entomology News*, 90: 17-22.
- Burgio G., Maini S. 1994. Phenylacetaldehyde trapping of *Ostrinia nubilalis* (Hb.) *Autographa gamma* (L.) and Hoverflies: trap design effect. *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna*, 49: 1-14.
- Burgio G., Cornale R., Cavazzuti C., Pozzati M. 1995. Distribuzione spaziale e campionamento binomiale di *Sitobion avenae* (F.) e *Rhopalosiphum padi* (L.), infestanti il frumento in Emilia-Romagna. *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna*, 50: 15-27.
- Burgio G., 1999. Tecniche di campionamento e raccolta di insetti e acari entomofagi. *Informatore Fitopatologico*, 42 (12): 3-18.
- Burgio G., Lanzoni A., Masetti A., Manucci F. 2005. Spatial patterns and sampling plan for *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae) and related parasitoids on lettuce. *Environ. Entomol.*, 34 (1): 178-183.
- Burgio G., Ferrari R., Ragagnoli G., Petacchi R., Pozzati M., Reggiani A., Furlan L., Galassi T., 2005. Analisi spaziale delle popolazioni di *Agriotes sordidus* Illiger e *Agriotes litigiosus* Rossi (Coleoptera Elateridae) mediante geostatistica e GIS: primi risultati di un'indagine eseguita in Emilia-Romagna. *Informatore Fitopatologico*, 55 (4): 45-50.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Cavazzuti C., Pozzati M., Burgio G. 1995. I principali fitofagi del frumento. *Informatore Fitopatologico*, 45 (10): 19-23.
- Cochran W.G. 1977. *Sampling techniques*. (Third ed.). Wiley.
- Contarini E., Garagnani P. 1980. I carabidi del comprensorio pinetale e vallivo di S. Vitale di Ravenna (Coleoptera). *Bollettino della Societa Entomologica Italiana*, 112 (1-3): 26-35.
- Cornale R., Pozzati M., Cavazzuti C., Burgio G. 1996. Trattamenti insetticidi al grano: influenza su afidi e loro antagonisti naturali. *Informatore Agrario*, 22: 35-39.
- Daccordi M. 1979. Ditteri Sirfidi in un frutteto a lotta integrata nella provincia di Verona. *Quaderni Azienda Agr. Sper. Villafranca*, 1: 3-23.
- Daccordi M., Mason F., Gazzanelli G. 1981. Ditteri Sirfidi raccolti in una stretta area forestale dei monti Lessini (provincia di Trento). *Studi trentini di Scienze Naturali - Acta biologica*, 57: 247-258.
- Decker U.M., Powell W. E., Clark S.K. 1993. Sex pheromones in the cereal aphid parasitoids *Praon volucre* and *Aphidius rhopalosiphii*. *Entomol. Exp. et Appl.*, 69: 33-39.
- den Boer P.J. 1979. The individual behaviour and population dynamics of some carabid beetles of forest. In: den Boer P.J., Thiele H.U. e Weber F. – *On the evolution of behaviour in carabid beetles, papers 18*, Univ. Wageningen, 151-166.
- Dent D.R., Walton M.P. 1997. *Methods in ecological and agricultural entomology*. CAB International, 387 pp.
- Dixon A.F.G. 1959. An experimental study of the searching behaviour of the predatory coccinellid beetle *Adalia decempunctata* (L.). *J. Anim. Ecol.*, 28: 259-281.
- Duan J.J., Marvier M., Huesing J., Dively G., Huang Z.Y. 2008. A meta-analysis of effects of Bt crops on honey bees (Hymenoptera: Apidae). *PLoS ONE* 3: 1-6 (e1415).
- Edwards C.A., 1991. The assessment of populations of soil-inhabiting invertebrates. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 34: 145-176.
- EFSA 2008. *Environmental risk assessment of Genetically Modified Plants – Challenges and approaches*. EFSA Scientific Colloquium Summary Report, European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy. Available at: http://www.efsa.europa.eu/en/colloquiagmoera/publication/comm_colloquium8_2008_en.pdf.
- EFSA 2010a. *Scientific Opinion on the assessment of potential impacts of genetically modified plants on non-target organisms*. *EFSA Journal* 8(11): 1877.

- EFSA 2010b. *Guidance on the environmental risk assessment of genetically modified plants.* EFSA Journal 2010; 8(11):1879.
- Elliott N.C., Michels G.J. 1997. *Estimating aphidophagous coccinellid populations in alfalfa.* Biological Control, 8: 43-51.
- Ericson D. 1977. *Estimating population parameters of Pterostichus cupreus and P. melanarius (Carabidae) in arable fields by mean of capture-ricapture.* Oikos, 29: 407-417.
- Ericson D. 1978. *Distribution, activity and density of some Carabidae (Coleoptera) in winter wheat fields.* Pedobiologia, 18: 202-217.
- Feng J.G., Nowierski R.M. 1992. *Spatial patterns and sampling plans for cereal aphids (Hom.: Aphididae) killed by entomophthoralean fungi and Hymenopterous parasitoids in spring wheat.* Entomophaga, 37 (2): 265-275.
- Feng J.G., Nowierski R.M., Zeng Z. 1993. *Binomial sampling plans for the English grain aphid, Sitobion avenae (Homoptera: Aphididae) based on an empirical relationship between means density and proportion of tillers with different tally thresholds of aphids.* Bull. Ent. Res., 83: 187-196.
- Feng J.G., Zhang Y., Tao X., Chen X.L. 1988. *Use of radioisotope ³²P to evaluate the parasitization of Adoxophyes orana (Lep.: Tortricidae) by mass release Trichogramma dendrolimi (Hym.: Trichogrammatidae) in an apple orchard.* Chinese Journal of Biological Control, 4: 152-154.
- Firbank L., Lonsdale M., Poppy G. 2005. *Reassessing the environmental risks of GM crops.* Nature Biotechn. 23(12): 1475-1476.
- Fisher R.A. 1925. *Theory of Statistical Estimation.* Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society, 22: 700-725.
- Flint H.M., Salter S.S., Walters S. 1979. *Caryophyllene: an attractant for the green lacewing.* Environ. Entomol., 8: 1123-1125.
- Gauld I., Bolton B. 1988. *The Hymenoptera.* Oxford University Press (Oxford), 332 pp.
- Gerrard D.J., Chiang H.C. 1970. *Density estimation of corn rootworm egg populations based upon frequency of occurrence.* Ecology, 51: 237-245.
- Goff A.M., Nault L.R. 1984. *Response of the pea aphid parasite Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera: Aphididae) to transmitted light.* Environ. Entomol., 13: 595-598.
- Green R.H. 1970. *On fixed precision levelsequential sampling.* Res. Popul. Ecol., 12, 249-251.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Grout T.G. 1985. Binomial and sequential sampling of *Euseius tularensis* (Acari: Phytoseiidae), a predator of citrus red mite (Acari: Tetranychidae) and citrus thrips (Thysanoptera: Thripidae). *J. Econ. Entomol.*, 78(3): 567-570.
- Gyenge J.E., Edelstein J.D., Trumper E.V. 1997. Comparison of sampling techniques of predatory arthropods in alfalfa and effect of environmental factors on estimates of abundance. *Ceiba*, 38 (1): 13-18.
- Hamilton G.C., Lashomb J.H., Arpaia S., Chianese R., Mayer M. 1998. Sequential Sampling Plans for Colorado Potato Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in Eggplant. *Environ. Entomol.*, 27(1): 33-38.
- Hardie J., Nottingham S.F., Powell W., Wadhams L.J. 1991. Synthetic aphid sex pheromone lures female parasitoids. *Ent. Exp. Appl.*, 61: 97-99.
- Helenius J. 1990. Incidence of specialist natural enemies of *Rhopalosiphum padi* (L.) (Hom., Aphididae) on oats in monocrops and mixed intercrops with faba beans. *J. Appl. Ent.*, 109: 136-143.
- Henderson I.F., Whitaker T.M. 1977. The efficiency of an insect suction sampler in grassland. *Ecol. Entomol.*, 2: 57-60.
- Hickman J.M., Wratten S.D. 1996. Use of *Phacelia tacacetifolia* strips to enhance biological control of aphids by hoverfly larvae in cereal fields. *Econ. Entomol.*, 89 (4): 832-840.
- Honek A., Kokourek F. 1986. The flight of aphid predators to a light trap: possible interpretations. In: Hodek I. (ed) - *Ecology of aphidophaga*. Academia Prague, 333-337.
- Hopper K.R., Woolson E.A. 1991. Labeling a parasitic wasp, *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), with trace elements for mark-recapture studies. *Annals of Entomological Society of America*, 84: 255-262.
- Hopper K.R., Powell J.E., King E.G. 1991. Spatial density dependence in parasitism of *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) by *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae) in the field. *Environ. Entomol.*, 20: 292-302.
- Ives P.M. 1981. Estimation of coccinellid numbers and movement in the field. *Can. Ent.*, 113: 981-997.
- Iwao S., 1968. A new regression method for analysing the aggregation pattern of animal populations. *Res. Popul. Ecol.*, 10: 1-20.
- Jackson C.G., Debolt J.W. 1990. Labeling of *Leiphron uniformis*, a parasitoid of *Lygus* spp., with rubidium- Southwestern Entomologist, 15: 239-244.

- Jackson C.G., Cohen A.C., Verdugo C.L. 1988. Labelling *Anaphes oviventatus* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasite of *Lygus* spp. (Jemiptera: Miridae), with rubidium. *Annals of Entomological Society of America*, 81: 919-922.
- James C. 2011. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops*. ISAAA Brief No. 43. Ithaca, NY, USA.
- James C. 2010. *Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2010*. ISAAA Brief No. 42. ISAAA: Ithaca, NY.
- Jarosik V. 1992. Pitfall trapping and specie abundance relationships: a value for carabid beetles (Coleoptera, Carabidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 89: 1-12.
- Kirk W.D.J. 1984. Ecologically selective coloured traps. *Ecol., Entomol.*, 9: 35-41.
- Kromp B., Steinberger K.H. 1992. Grassy field margins and arthropod diversity: a case study on ground beetle and spiders in eastern Austria (Coleoptera: Carabidae; Arachnida: Aranei, Opiliones). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 40: 71-93.
- Kuno E. 1991. Sampling and analysis of insect populations. *Annu. Rev. Entomol.*, 36: 285-304.
- Lapchin L., Ferran A., Iperti G. et al. 1987. Coccinellids (Coleoptera: Coccinellidae) and syrphids (Diptera: Syrphidae) as predators of aphids in cereal crops: a comparison of sampling methods. *Canadian Entomologist*, 119: 815-822.
- Lloyd M., 1967. "Mean Crowding". *J. Anim. Ecol.*, 36: 1-30.
- Lovei G.L., Arpaia S. 2005. The impact of transgenic plants on natural enemies: a critical review of laboratory studies. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 114(1): 1-14.
- Lövei G.L., Andow D.A., Arpaia S. 2009. Transgenic insecticidal crops and natural enemies: a detailed review of laboratory studies. *Environ. Entomol.* 38(2): 293-306.
- Ludy C., Lang A. 2006. A 3-year field-scale monitoring of foliage-dwelling spiders (Araneae) in transgenic Bt-maize fields and adjacent field margins. *Biol. Contr.* 38(3): 314-324.
- Luff M.L. 1982. Population dynamics of Carabidae. *Annals of Applied Biology*, 101: 164-170.
- Lys J.A., Nentwin W. 1991. Surface activity of carabid beetles inhabiting cereal fields. *Pedobiologia*, 35: 129-138.
- Maini S., Burgio G. 1990. Influence of trap design and phenylacetaldehyde upon field capture of male and female *Ostrinia nubilalis* (Hb.) (Lepidoptera, Pyralidae) and others moths. *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna*, 45: 157-165.
- Marston N.L. 1980. Sampling parasitoids of soybean insect pest. In: Kogan M. e Herzog D.C. (eds) – *Sampling methods in soybean entomology*. Springer-Verlag (New York), 481-504.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Marvier M., McCreedy C., Regetz J., Kareiva P. 2007. A meta-analysis of effects of Bt cotton and maize on nontarget invertebrates. *Science*, 316: 1475-1477.
- Masner L. 1976. Yellow pan traps (Moreicke traps, Assiettes jaunes). *Proctos*, 2 (2): 2.
- Michels G.J., Behle R.W. 1992. Evaluation of sampling methods for lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) in grain sorghum. *J. Econ. Entomol.*, 85(6): 2251-2257.
- Mills N. 1997. Techniques to evaluate the efficacy of natural enemies. In: Dent D.R. e Walton M.P. (eds) – *Methods in ecological & agricultural entomology*. CAB International, 271-291.
- Molinari F., Pradelli G. 1995. Carabids population in a crop rotation system in northern Italy. *Boll. Zool. Agr. Bachic.*, 27 (2): 163-175.
- Molinari F., Cravedi P., Spada G. 1989. Studi sulle popolazioni di Coleotteri Carabidi in pescheti dell'Italia settentrionale. *Frustula Entomologica*, 12 (25): 15-33.
- Moreno D.S., Gregory W.A., Tanigoshi L.K. 1984. Flight response of of *Aphis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae) and *Scorptthrips citri* (Thysanoptera: Thripidae) to trap color, size and shape. *Environ. Entomol.*, 13: 935-940.
- Morisita M. 1957. A new method for estimation of density by the spacing method applicable to non-randomly distributed populations. *Physiol. Ecol.*, 7: 134-144.
- Naranjo S.E. 2009. Impacts of Bt crops on non-target invertebrates and insecticide use patterns. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 4: 1-23.
- Nelemans M.N.E., den Boer P.J., Spee A. 1989. Recruitment and summer diapause in the dynamics of a population of *Nebria brevicollis* (Coleoptera: Carabidae). *Oikos*, 56: 157-169.
- Neuenschwander P., Canard M., Michelakis S. 1981. The attractivity of protein hydrolysate baited McPhalis traps to different chrysopid and hemerobiid species (Neuroptera) in a Cretan olive orchard. *Annals of Entomological Society of France*, 17: 213-220.
- Nicoli G., Limonta L., Cavazzuti C., Pozzati M. 1995. Il ruolo delle siepi nell'ecologia del campo coltivato. I. Prime indagini sui Coccinellidi predatori di afidi. *Informatore Fitopatologico*, 7-8: 58-64.
- Niemelä J. 1990. Spatial distribution of carabid beetles in the southern Finnish taiga: the question of scale. In: Stork N.E. (ed) - *The role of ground beetle in ecological and environment studies*, Intercept (Andover), 143-155.

- Noyes J.S. 1989. A study of five methods of sampling Hymenoptera (Insecta) in a tropical forest, with special reference to the Parasitica. *Journal of Natural History*, 23: 285-298.
- Noyes J.S. 1982. Collecting and preserving chalcid wasps (Hymenoptera: Chalcidoidea). *Journal of Natural History*, 16: 315-334.
- Nyrop J.P. 1988. Sequential classification of prey/predator ratios with application to European red mite (Acari: Tetranychidae) and *Typhlodromus pyri* (Acari: Phytoseidae) in New York apple orchards. *J. Econ. Entomol.*, 81 (1): 14-21.
- Nyrop J.P., Binns M. 1991. Quantitative methods for designing and analyzing sampling programs for use in pest management. *CRC Handbook of Pest Management in Agriculture*, vol. II, 67-132.
- Onsager J.A. 1976. The rationale of sequential sampling, with emphasis on its use in pest management. *Technical Bulletin*, 1526, 19 pp.
- Ortu S., Floris I. 1990. Osservazioni sul cromotropismo di alcune specie di Ditteri Sirfidi. *Boll. Soc. Ent. Ital. Genova*, 122 (2): 151-157.
- Pantaleoni R.A., Ticciati V. 1990. I Neurotteri delle colture agrarie: esperienze sul metodo di campionamento per abbattimento chimico. *Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna*, 45: 143-154.
- Paoletti M.G., Favretto M.R., Bressan M., Marchiorato A., Babetto M. 1993. Biodiversità in pescheti forlivesi. In: Paoletti M.G., Favretto M.R., Nasolini T., Scaravelli D. e Zecchi T. (eds) – *Biodiversità negli agroecosistemi*, 33-80.
- Pasqualini E., Antropoli A. 1994. *Stethorus punctillum*. *Informatore Fitopatologico*, 44 (5): 33-36.
- Pennacchio F., Tremblay E. 1986. Campionamento sequenziale: possibilità e limiti del suo impiego in fitoiatria. *La Difesa delle piante*, 3: 389-402.
- Pennacchio F., Tremblay E. 1986. Distribuzione spaziale e piani di campionamento di due specie afidiche dell'erba medica: *Acyrtosiphon pisum* (Harris) e *Therioaphis trifolii* f. *maculata* (Monell) (Homoptera, Aphidoidea). *Frustula Entomologica*, 9 (22): 9-21.
- Perry J.N. 1981. Taylor's power law for dependence of variance on mean in animal populations. *Applied Statistics*, 30(3): 254-263.
- Perry J.N. 1997. Statistical aspects of field experiment. In: Dent D.R. e Walton M.P. (eds) - *Methods in ecological & agricultural entomology*. CAB International, 171-201.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Perry J.N., Bowden J. 1983. A comparative analysis of *Chrysoperla carnea* catches in light- and suction-traps. *Ecol. Entomol.*, 8: 383-394.
- Perry J. N., Ter Braak C., Dixon P.M., Duan J.J., Hails R.S., Huesken A., Lavielle M., Marvier M., Scardi M., Schmidt K., Tothmeresz B., Schaarschmidt F., Van Der Voet H. 2009. Statistical aspects of environmental risk assessment of GM plants for effects on non-target organisms. *Environmental Biosafety Research*, 8: 65-78.
- Piccolo D. 1998. *Statistica*. Il Mulino, Bologna.
- Poehling H.M. 1987 Effect of reduced dose rates of pirimicarb and fenvalerate on aphids and beneficials arthropods in winter wheat. *IOBC/WPRS Bull.*, 10 (1): 184-193.
- Pollard E. 1977. A method for assessing changes in the abundance of butterflies. *Biol. Conserv.*, 12: 115-134.
- Powell W., Walton M.P., Jervis M.A. 1996. Populations and communities. In: *Insect natural enemies- Jervis M. e Kidd N. (eds)*. Chapman & Hall, 223-292.
- Prasifka J. R., Hellmich R. L., Dively G. P., Lewis L. C. 2005 Assessing the effects of pest management on nontarget arthropods: the influence of plot size and isolation. *Environ. Entomol.*, 34: 1181-1192.
- Rauschen S., Schultheis E., Pagel-Wieder S., Schuphan I., Eber S. 2009. Impact of Bt-corn MON88017 in comparison to three conventional lines on *Trigonotylus caelestialium* (Kirkaldy) (Heteroptera: Miridae) field densities. *Transg. Res.*, 18(2): 203-214.
- Ricci C. 1986. Seasonal food preferences and behaviour of *Rhizobius litura*. In: Hodek I. (ed) – *Ecology of aphidophaga*. Academia, Prague and W. Junk (Dordrecht), 119-123.
- Rice R.E., Jones R.A. 1982. Collections of *Prospaltella perniciosi* Tower (Hymenoptera: Aphelinidae) on San Jose scale (Homoptera: Diaspididae) pheromone traps. *Environ. Entomol.*, 11: 876-880.
- Romeis J., Bartsch D., Bigler F., Candolfi M.P., Gielkens M.C., Hartley S.E., Hellmich R.H., Huesing J.E., Jepson P.C., Layton R., Quemada H., Raybould A., Rose R.I., Schiemann J., Sears M.K., Shelton A.M., Sweet J., Vaituzis Z., Wolt J.D. 2008. Assessment of risk of insect-resistant transgenic crops to non-target arthropods. *Nature Biotechnology*, 26: 203-208.
- Romeis J., Meissle M., Raybould A., Hellmich R.L. 2009. Environmental impact of genetically modified crops on above-ground non target arthropods. In: *Environmental Impact of Genetically Modified Crops*, Ferry N & Gatehouse AMR (eds.). CAB International, UK. pp. 165-198.

- Rossi O., Giavelli G. 1990. *Metodi statistici per la stima del volume delle popolazioni naturali. Dispensa del 15° corso di Metodologia Statistica per la ricerca biologica di base ed applicata, Cortona, settembre/ottobre 1990, 9 pp.*
- Schneider F. 1969. *Bionomics and physiology of aphidophagous Syrphidae. Ann. Rev. Ent., 14: 103-124.*
- Scossiroli R.E., Clementel S., Scossiroli S. 1974. *Metodi statistici per l'ecologia. Zanichelli, 218 pp.*
- Seber G.A.F. 1973. *The estimation of animal abundance and related parameters. Griffin (London), 506 pp.*
- Seber G.A.F., Le Cren E.D. 1967. *Estimating population parameters from catches large relative to the population. J. Anim. Ecol., 36: 631-643.*
- Secretariat of the Convention on Biological Diversity. 1992. *Convention on Biological Diversity. Montreal, Canada. Available at <http://www.biodiv.org/doc/legal/cbd-en.pdf>.*
- Sharov A. 1996. *Quantitative population ecology. On-line lectures. <http://home.comcast.net/~sharov/PopEcol/>).*
- Smith J.G. 1976. *Influence of crop background on natural enemies of aphids on Brussels sprout. Ann. Appl. Biol., 83: 15-29.*
- Southwood T.R.E. 1975. *Ecological methods. Chapman and Hall, London, 412 pp.*
- Speight M.C.D., Castella E. 2001. *An approach to interpretation of lists of insects using digitised biological information about the species. J. Ins. Cons., 5: 139-1139.*
- Speight M.C.D., Castella E., Obdrlik P., Schneider E. 1998. *Use the Syrph the Net database, 6. Syrph The Net Publications, 1-104.*
- Taylor L.R. 1961. *Aggregation, variance and the mean. Nature, 189: 732-735.*
- Taylor L.R. 1984. *Assessing and interpreting the spatial distributions of insect populations. Annu. Rev. Entomol, 29: 321-327.*
- Thiele H.V. 1977. *Carabid beetles in their environments. Springer-Verlag, 389 pp.*
- Tonkyn D.W. 1980. *The formula for the volume sampled by a sweep net. Annals of the Entomological Society of America, 73: 452-454.*
- Tremblay E. 1982. *Entomologia applicata. Vol. I. Liguori editore, 224 pp.*
- Trimble R.M., Brach E.J. 1985. *Effect of color on sticky-trap catches of Pholetesor ornigis (Hymenoptera: Braconidae), a parasite of the spotted tentiform leafminer Phyllonorycter blancardella (Lepidoptera: Gracillaridae). Can. Ent., 117: 1559-1564.*

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Tullgren A. 1917. Ein einfacher Ausleseapparat für terricole Tiermormen. *Zeitschrift Angewandte Entomologie*, 4: 149-150.
- Vickerman G.P., Sunderland K.D. 1975. Arthropods in cereal crops: nocturnal activity, vertical distribution and aphid predation. *J. Appl. Entomol.*, 12: 755-766.
- Viggiani G. 1997. *Lotta biologica e integrata nella difesa fitosanitaria*. Vol. II. Liguori editore, 445 pp.
- Waage J.K. 1983. Aggregation in field parasitoids: foraging time allocation by a population of *Diadegma* (Hymenoptera, Ichneumonidae). *Ecol. Entomol.*, 8: 447-453.
- Walgenbach J.F. 1994. Distribution of parasitized and nonparasitized potato aphid (Homoptera: Aphididae) on stacked tomato. *Environ. Entomol.*, 23 (4): 795-804.
- Wallin H. 1985. Spatial and temporal distribution of some abundant carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) in cereal fields and adjacent habitats. *Pedobiologia*, 28: 19-34.
- Wheeler A.G. 1973. Studies on the arthropod fauna of alfalfa. V. Spiders (Araneida). *Can. Ent.*, 105 (3): 425-432.
- Winder L., Perry J.N., Holland J.M. 1999. The spatial and temporal distribution of the grain aphid *Sitobion avenae* in winter wheat. *Entomol. Exp. Appl.*, 93: 277-290.
- Wolfenbarger L.L., Naranjo S.E., Lundgren J.G., Bitzer R.J., Watrud L.S. 2008. Bt crop effects on functional guilds of non-target arthropods: a meta-analysis. *PLoS ONE*, 3: 1-11 (e21118).

Appendice 1. Schede riassuntive delle caratteristiche di alcuni di gruppi di artropodi comunemente impiegati come bioindicatori

Per ogni gruppo è riportata una indicazione del regime alimentare, della categoria funzionale, della localizzazione, e della scala spaziale. Inoltre, è stata fornita una valutazione arbitraria per classi (● = bassa, ●● = media, ●●● = alta) di alcuni parametri che ne caratterizzano lo stato delle conoscenze e la possibilità d'impiego (conoscenze biologiche, mobilità, facilità nell'identificazione, facilità e standardizzabilità del campionamento). La valutazione circa la facilità nell'identificazione è stata ottenuta considerando i seguenti sotto-criteri:

- Conoscenze tassonomiche
- Disponibilità di chiavi di determinazione utilizzabili anche da operatori non esperti
- Disponibilità di specialisti del gruppo
- Facilità generale nel riconoscimento

Acari del terreno (Acarina, Oribatida, Astigmata)

Stadio di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	●●	Micofago Fitofago Saprofago Predatorio Misto	Detritivori Erbivori	Ipogei	●	Campo Azienda	●	●●	●●●
Larva-Ninfe	●●	Micofago Fitofago Saprofago Predatorio Misto	Detritivori Erbivori	Ipogei	●	Campo Azienda	●	●●	●●●

Tecniche di campionamento consigliate: Carotaggio e imbuto Berlese-Tullgren



Acario del terreno

Collemboli (Entognatha, Collembola)

Stadio di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	● ●●●	Micofago Fitofago Saprofago Misto	Detritivori Erbivori	Ipogei Epigei Canopy	●	Campo	●	●●	●●●
Neanide	● ●●●	Micofago Fitofago Saprofago Misto	Detritivori Erbivori	Ipogei Epigei	●	Campo	●	●●	●●●

Tecniche di campionamento consigliate: Pitfall trap, Carotaggio e imbuto Berlese-Tullgren



Collembolo del terreno

Carabidi (Coleoptera, Carabidae)

Stadio di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	●●●	Entomofago Fitofago Misto	Predatori Fitofagi	Epigei Canopy	● ●●●	Azienda Paesaggio	●●●	●●●	●●●
Larva	●●	Entomofago Fitofago Misto	Predatori Fitofagi	Epigei Ipogei	●	Campo	●	●●	●●●

Tecniche di campionamento consigliate: Pitfall trap



Calosoma sycophanta

Farfalle (Lepidoptera, Ropalocera)

Stadio di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	●●●	Glicifago Pollinofago	Pronubi	Canopy (Volatori)	●●●	Azienda Paesaggio	●●	●●	●●
Larva	●●	Glicifago Pollinofago	Erbivori	Ipogei Canopy	●		●	●*	●*

Tecniche di campionamento consigliate: Retino, Osservazioni visive



Larva di *Papilio machaon*



Adulto di *Papilio machaon*

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Sirfidi (Diptera, Syrphidae)

* = per le difficoltà nel campionamento, le larve risultano praticamente non utilizzabili ai fini della valutazione della biodiversità. Tuttavia, in alcuni casi le larve predatrici vengono campionate per la stima dell'impatto dei Sirfidi nella lotta biologica conservativa.

Stato di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	●●●	Glicifago	Pronubi	Canopy (Volatori)	●●●	Paesaggio	●●●	●●	●●
Larva	●	Saprofago Fitofago Predatore	Erbivori Carnivori	Ipogei Canopy	●	Paesaggio	●	*	*

Tecniche di campionamento consigliate: Trappole Malaise (metodo standard); Retino, Trappole ad emergenza (metodiche integrative)



Tipica larva di Sirfide afidifago



Adulto della specie *Chrysotoxum arcuatum*

Apoidei (Hymenoptera, Apoidea)

* = le larve sono campionabili mediante la tecnica del *nest-trapping*, tuttavia tale metodo risulta di complessa attuazione.

Stato di sviluppo	Conoscenze Biologiche Ecologiche	Regime Alimentare	Categoria Funzionale	Localizzazione	Mobilità	Scala Spaziale	Facilità nell'Identificazione	Facilità di Campionamento	Standardizzazione del Campionamento
Adulto	●●●	Glicifago Pollinofago	Pronubi	Canopy (Volatori)	●●●	Azienda Paesaggio	●●	●●	●●
Larva	●●	Glicifago Pollinofago	Erbivori	Ipogei Canopy	●		●	●*	●*

Tecniche di campionamento consigliate: Retino, Trappole Malaise, Osservazioni visive



Adulto di *Anthidium* sp.



Adulto di *Bombus* sp.

Bibliografia di base sull'impiego di artropodi come indicatori biologici

- Alvarez T., Frampton G.K., Goulson D. 2001. *Epigeic Collembola in winter wheat under organic, integrated and conventional farm management regimes. Agriculture, Ecosystems and Environment* 83.
- Andersen A., Hoffmann B., Muller W.J., Griffiths A.D. 2002. *Using ants as bioindicators in land management: simplifying assessment of ant community responses. Journal of Applied Ecology*, 39: 8-17.
- Andow D.A, Birch N.A.E., Dusi A.N., Fontes E.M.G., Hilbeck A., Lang A., Lövei G.L., Pires C.S.S., Sujii E.R., Underwood E., Wheatley R.E. 2006. *Non-target and biodiversity ecological risk assessment for GM crops. Proceedings of 9th International Symposium on the Biosafety of Genetically Modified Organisms (ISBR), September 24-29 2006, Jeju Island, Korea, pp 68-73.*
- Andre H.M., Ducarme X., Lebrun P. 2002. *Soil biodiversity: myth, reality or conning? Oikos*, 96: 3-24.
- Behan-Pelletier V.M. 1999. *Oribatid mite biodiversity in agroecosystems: role for bioindication. Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 411-423.
- Biesmeijer J.C., Roberts S.P.M.M., Reemer M., et al. 2006. *Parallel Declines in Pollinators and Insect-Pollinated Plants in Britain and the Netherlands. Science*, 313: 351-354.
- Boller E.F., Häni F., Poehling H.M. 2004. *Ecological Infrastructures: Ideabook on Functional Biodiversity at the Farm Level Temperate Zones of Europe. IOBC/WPRS Bull., Lindau, Switzerland.*
- Bros U. 2003. *Regional diversity of temporary wetland carabid beetle communities: a matter of landscape features or cultivation intensity? Agriculture, Ecosystems and Environment*, 98: 163-167.
- Burgio G., Sommaggio D. 2002. *Diptera Syrphidae caught by Malaise trap in Bologna province and new record of *Neoascia interrupta* in Italy. Bulletin of Insectology*, 55: 43-47.
- Burgio G., Sommaggio D. 2007. *Syrphids as landscape bioindicators in Italian agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment*, 120: 416-422.

- Burgio G. 2007. *The role of ecological compensation areas in conservation biological control*, pp. 154. Wageningen Universiteit, Wageningen.
- Chapin III F.S., Zavaleta E.S., Eviner V.T., et al. 2000. *Consequences of changing biodiversity*. *Nature*, 405: 234-242.
- Chernova N.M., Kuznetsova N.A. 2000. *Collembolan community organization and its temporal predictability*. *Pedobiologia*, 44: 451-466.
- Clark S., Szlavecz K., Cavigelli M., Purrington F. 2006. *Ground Beetle (Coleoptera: Carabidae) Assemblages in Organic, No-Till, and Chisel-Till Cropping Systems in Maryland*. *Environ. Entomol.*, 35: 1304-1312.
- Clergue B., Amiaud B., Pervanchon F., Lasserre-Joulin F., Plantureux S. 2005. *Biodiversity: function and assessment in agricultural areas. A review*. *Agron. Sustain. Dev.*, 25: 1-15.
- Crane P., Bateson P. 2003. *Measuring biodiversity for conservation*, pp. 57. The Royal Society, London.
- Dauber J., Purtauf T., Allspach A., Frisch J., Voigtländer K., Wolters V. 2005. *Local vs. landscape controls on diversity: a test using surface-dwelling soil macroinvertebrates of differing mobility*. *Global Ecology and Biogeography*, 14: 213-221.
- de Bruyn L.A.L. 1999. *Ants as bioindicators of soil function in rural environments*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 425-441.
- Detsisa V., Diamantopoulos J., Kosmas C. 2000. *Collembolan assemblages in Lesvos, Greece. Effects of differences in vegetation and precipitation*. *Acta Oecologica*, 21: 149-159.
- Döring T.F., Krompb B. 2003. *Which carabid species benefit from organic agriculture? a review of comparative studies in winter cereals from Germany and Switzerland*. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 98: 153-161.
- EFSA 2010a *Scientific Opinion on the assessment of potential impacts of genetically modified plants on non-target organisms*. *EFSA Journal*, 8(11): 1877
- Filser J., Mebes K.H., Winter K., Lang A., Kampichler C. 2002. *Long-term dynamics and interrelationships of soil Collembola and microorganisms in an arable landscape following land use change*. *Geoderma*, 105: 201-221.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Fleishman E., Murphy D.D., Brussaed P.F. 2000. A new method for selection of umbrella species for conservation planning. *Ecological Applications*, 10: 569-579.
- Fountain M.T., Hopkin S.P. 2005. *Folsomia candida* (Collembola) a "Standard" Soil Arthropod. *Annu. Rev. Entomol.*, 50: 201-222.
- Frampton G.K. 2000. Recovery responses of soil surface Collembola after spatial and temporal changes in long-term regimes of pesticide use. *Pedobiologia*, 44: 489- 501.
- Helenius J., Holopainen J.K., Huuserla-Veistola E., Kurppa S., Pokki P., Varis A.L. 2001. Ground beetle (Coleoptera, Carabidae) diversity in Finnish arable land. *Agricultural and Food Science in Finland*, 10: 261-276.
- Hilty J., Merenlender A. 2000. Faunal indicator taxa selection for monitoring ecosystem health. *Biological Conservation*, 92: 185-197.
- Hopkin S.P. 1997. *The Biology of the Collembola (Springtails): The Most Abundant Insects in the World*. Oxford University Press.
- Knoeppa J.D., Coleman D.C., Crossley D.A. Jr., Clark J.S. 2000. Biological indices of soil quality: an ecosystem case study of their use. *Forest ecology and management* 138: 357-368.
- Kromp B. 1999. Carabid beetles in sustainable agriculture: a review on pest control efficacy, cultivation impacts and enhancement. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 187-228.
- Larsen K.J., Work T.T, Purrington F.F. 2003. Habitat use patterns by ground beetles (Coleoptera: Carabidae) of northeastern Iowa. *Pedobiologia*, 47: 288-299.
- Lindberg N. 2003. *Soil Fauna and Global Change Responses to Experimental Drought, Irrigation, Fertilisation and Soil Warming*, pp. 37, Department of Ecology and Environmental Research, Uppsala.
- Lovei G., Sunderland K.D. 1996. *Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae)*. *Annu Rev. Entomol.*, 41: 231-256.
- Mace G., Masundire H., Baillie J. 2005. *Biodiversity, Ecosystems and Human Well-being: Current State and Trends*. Island Press.
- Maes D. 2004. *The use of indicator species in nature management and policy making. The case of invertebrates in Flanders [northern Belgium]*, pp. 291. Gent.

- Magura T., Tothmeresz B., Bordan Z. 2000. Effects of nature management practice on carabid assemblages (Coleoptera: Carabidae) in a non-native plantation. *Biological Conservation*, 93: 95-102.
- McGeoch M.A., Chown S.L. 1998. Scaling up the value of bioindicators. *Tree* 13: 46-47.
- McGeoch M.A. 1998. The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators. *Biol. Rev.*, 73: 181-201.
- Millán de la Peña N., Butet A., Delettre Y., Morant P., Burel F. 2003. Landscape context and carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) communities of hedgerows in western France. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 94: 59-72.
- Niemela J. 2000. Biodiversity monitor for decision-making. *Ann. Zool. Fennici* 37: 307-317.
- Niemi G.J., McDonald M.E. 2004. Application of Ecological Indicators. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35: 89-111.
- Nummelin M., Lodenius Martina, Tulisalo E., Hirvonen H., Alanko T. 2007. Predatory insects as bioindicators of heavy metal pollution. *Environmental Pollution*, 145: 339-347.
- Oliver I., Beattie A.J. 1996. Designing a cost-effective invertebrate survey: a test of methods for rapid assessment of biodiversity. *Ecological Applications*, 6: 594-607.
- Paoletti M.G. 1999. Using bioindicators based on biodiversity to assess landscape sustainability. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 1-18.
- Ponge J.F., Gillet S., Dubs F., Fedoroff E., Haese L., Sousa J.P., Lavelle P. 2003. Collembolan communities as bioindicators of land use intensification. *Soil Biology & Biochemistry*, 35: 813-826.
- Rainio J., Niemela J. 2003. Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators. *Biodiversity and Conservation*, 12: 487-506.
- Raworth D.A., Choi M.-Y. 2001. Determining numbers of active carabid beetles per unit area from pitfall-trap data. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 98: 95-108.
- Reemer M., Kok F, de Bruyne R.H., Kalkman W.J., Turin H. 2005. Suitability of different groups of terrestrial invertebrates for assessment of heterogeneity of terrestrial parts of lowland floodplains. *Arch. Hydrobiol. Suppl.*, 155: 289-303.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Reemer M. 2005. Saproxylic hoverflies benefit by modern forest management (Diptera: Syrphidae). *Journal of Insect Conservation*, 9: 49-59.
- Romeis J., Meissle M., Bigler F., 2006. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology*, 24 : 63-71
- Sarthou J.-P., Ouin A., Arrignon F., Barreau G., Bouyjou B. 2005. Landscape parameters explain the distribution and abundance of *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae). *Eur. J. Entomol.*, 102: 539-545.
- Sartori F. [ed.] 1998. *Bioindicatori ambientali*. Fondazione Lombardia per l'Ambiente.
- Sommaggio D. 1999. Syrphidae: can they be used as environmental bioindicators? *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74: 343-356.
- Sommaggio D., Corazza C., Burgio G. 2004. Misurare la biodiversità: i Ditteri Sirfidi, pp. 1-8, XIV Congresso della società italiana di ecologia, Siena.
- Speight M.C.D., Castella E. [eds.]. 2005. Assessment of subalpine grassland and heath sites in Haute-Savoie using Syrphidae (Diptera). *Syrph the Net publications*, Dublin.
- Tscharntke T., Gathmann A., Steffan-Dewenter I. 1998. Bioindication using trap-nesting bees and wasps and their natural enemies: community structure and interactions. *Journal of Applied Ecology*, 35: 708-719.
- Weller B., Ganzhorn J. U. 2004. Carabid beetle community composition, body size, and fluctuating asymmetry along an urban-rural gradient. *Basic and Applied Ecology*, 5: 193-201.

Appendice 2. Tecniche di Spazializzazione dei Dati

Negli ultimi anni le applicazioni di tecniche di analisi spaziale dei dati, interfacciabili a sistemi basati su GIS, hanno introdotto nuove prospettive per l'ottimizzazione del monitoraggio di artropodi, nonché per la verifica degli interventi di lotta (Liebhold *et al.* 1993). In particolare, l'esigenza di utilizzare analisi avanzate dei dati, risulta motivata dalla necessità tecnico-economica di estendere i processi decisionali su territori di sempre maggiore estensione (es. comprensori, province, regioni). Questi sistemi si basano sull'elaborazione cartografica e sull'impiego di modelli di interpolazione per analizzare dati che mostrano una dipendenza spaziale. Tale procedura, nota con il nome generale di "spazializzazione", ha lo scopo di analizzare la distribuzione spaziale di una variabile (nel nostro caso le popolazioni di artropodi) sulla scala desiderata, mediante un approccio descrittivo che prevede la creazione di mappe di superficie (mappe ad aree, mappe di isovalori o *contour plot*).

La geostatistica è un insieme di tecniche statistiche-matematiche usate tradizionalmente nelle scienze della terra (geologia, geopedologia, ingegneria mineraria). La geostatistica, che è alla base delle tecniche di spazializzazione dei dati, recentemente sta ricevendo sempre maggior interesse in entomologia applicata. Mediante tale tecnica in Italia sono state studiate problematiche riguardanti alcuni insetti d'importanza economica come *Bactrocera oleae* (mosca delle olive), *Grapholita funebrana* e *Cydia pomonella*. Tale tecnica è stata applicata anche su Coleotteri Elateridi fitofagi di diverse colture agrarie in Emilia – Romagna (Burgio *et al.*, 2005) e per *Dociostaurus maroccanus* in Puglia (Baldacchino *et al.*, 2012). Per una rassegna dettagliata delle casistiche di impiego dei modelli di analisi spaziale, si veda la tabella successiva. Questi metodi si basano sulla descrizione dell'autocorrelazione spaziale fra campioni, usando vari modelli spaziali. In pratica la geostatistica ha lo scopo di ricercare un modello che esprima e descriva la dipendenza spaziale dei dati. I metodi geostatistici sono recentemente utilizzati in ecologia (ad esempio in *landscape ecology* e *landscape management*) e sembrano offrire strumenti di studio molto importanti ed affascinanti.

La geostatistica ribalta tutta la metodologia del campionamento. Quest'ultima si basa sul principio che i dati **non** debbano essere **autocorrelati** e lo scopo dei metodi di campionamento è proprio di evitare l'auto-correlazione spaziale (vedi campionamento). In geostatistica non abbiamo l'esigenza di evitare l'autocorrelazione spaziale e il campionamento è quindi meno restrittivo. Inoltre la geostatistica cambia il metodo di riferimento del

campionamento, passando dalla stima media di popolazione, al mappaggio di singole popolazioni spazialmente distribuite.

L'ipotesi fondamentale su cui si basa la geostatistica prevede il concetto di variabili aleatorie regionalizzate. Una variabile è definita regionalizzata [variabili $Z(x)$] se assume differenti valori a seconda della posizione spaziale x nella regione d'interesse. In una variabile regionalizzata sono presenti due aspetti:

- aleatorio, manifestazione delle **irregolarità** locali presentate dal fenomeno
- strutturale, espressione dell'aspetto strutturale dello stesso fenomeno

La variabile regionalizzata si può quindi scrivere come:

$$Z(x) = m(x) + y(x)$$

dove $y(x)$ = componente aleatoria e $m(x)$ = componente strutturale.

Scopo della geostatistica è ricercare le due componenti suddette in modo da poter utilizzare il modello appropriato per effettuare delle stime in localizzazioni non campionate.

In Figura 1 viene mostrato un *flow chart* che illustra le procedure nella predisposizione di un campionamento su base spaziale per il monitoraggio di un bioindicatore su scala paesaggistica. Il monitoraggio può contemplare sia un contesto GM, che altre situazioni. In questo modello operativo la geostatistica riveste un ruolo di primo piano, sia nell'analisi dei dati che nell'implementazione del campionamento. E' molto importante partire da obiettivi chiari ed effettuare un'analisi delle risorse, per tarare il campionamento su basi realistiche.

L'applicazione di un modello geostatistico prevede a sua volta diversi passaggi:

1. Predisposizione delle griglie di campionamento;
2. Valutazione della dipendenza spaziale;
3. Interpolazione dei dati;
4. Verifica della bontà e dell'attendibilità della mappa.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Tabella 1. Lavori in cui tecniche di spazializzazione dei dati sono state applicate allo studio di popolazioni di artropodi

1° Autore	Anno	Coltura prevalente	Artropodi	Categoria funzionale	Tecniche di campionamento	Scala spaziale (km ²)	Modelli usati
Agustin	2004	ippocastano	<i>Cameraria ohridella</i>	fitofago	Trappole a feromoni	10400	Correlogramma - Ordinary kriging
Beckler	2005	mais	<i>Diabrotica</i> spp.	fitofagi	Trappole a emergenza Trappole cromotattiche	32	Indice di Moran-IDW
Blackshow	2006	varie	Elateridae	fitofagi	Trappole a feromoni	9,5	SADIE
Burgio	2005	varie	Elateridae	fitofagi	Trappole a feromoni	0,5	Semivariogramma - Ordinary kriging
Carriere	2005	cotone, medica	<i>Lygus hesperus</i>	fitofago	Retino da sfalcio	360	Approccio GIS
Cesaroni	1997		Dolichopoda	predatori		Italia	Semivariogramma - Ordinary kriging
De Luigi	2009	frumento	Elateridae	fitofagi	Trappole a feromoni	0,004-0,01	Semivariogramma - Ordinary kriging
		mais	<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	fitofagi	Trappole a feromoni	Veneto	e Indicator kriging; IDW
Ferguson	2006	colza	<i>Psylliodes chrysocephala</i> (Chrysomelidae), <i>Ceutorhynchus pallidactylus</i> (Curculionidae)	fitofagi	Trappole a caduta	0,0024	SADIE - kriging
			<i>Tersilochus microgaster</i> (Ichneumonidae)	parassitoidi	Raccolta larve ospiti		
			<i>Tersilochus obscurator</i> (Ichneumonidae)				
Gilbert	2004	ippocastano	<i>Cameraria ohridella</i>	fitofago	Valutazione del danno	Germania	GIS - modelli diffusione/dispersione
Gilbert	2005	ippocastano	<i>Cameraria ohridella</i>	fitofago	Valutazione del danno	Francia	GIS - modelli diffusione/dispersione
Gribko	1995	varie forestali	<i>Lymantria dispar</i>	fitofago	Dati storici di defogliazione	Massachusetts	Variogramma - Ordinary kriging
					Conteggio visivo ovature		
Holland	2004	orzo e frumento	Aphidoidea	fitofagi	Conteggio visivo	0,0022	SADIE
			Carabidae, Staphylinidae, Araneae, larve di Carabidae e Staphylinidae	predatori	Aspiratore pneumatico		

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

			<i>Pterostichus melanarius, Poecilus cupreus,</i>				
Holland	2005	orzo e frumento	<i>Pterostichus madidus, Philonthus cognatus</i> (Carabidae)	predatori	Trappole a caduta	0,064	SADIE
Holland	2007	orzo e frumento	Carabidae e Staphylinidae	predatori	Trappole a caduta	0,012 - 0,032	SADIE
Ifoulis	2006	vite	<i>Lobesia botrana</i>	fitofago	Conteggio visivo	0,0005	Semivariogramma
					Valutazione del danno		
Liebhold	1998	varie forestali	<i>Lymantria dispar</i>	fitofago	Conteggio visivo ovature	monti Appalachi	Ordinary kriging
					Trappole a feromoni		
Morin	2005	varie forestali	<i>Lymantria dispar</i>	fitofago	Dati storici	USA (costa est)	Ordinary kriging
		tsuga	<i>Adelges tsugae</i> (Aphidoidea)	fitofago			
			Aphidoidea	fitofagi	Presenza/assenza		
Park	2004	mais	Coccinellidae	predatori	Conteggio visivo	0,00025 - 0,008	Semivariogramma - Ordinary kriging
Petacchi	2004	olivo	<i>Bactrocera oleae</i>	fitofago	Trappole	Lazio	Semivariogramma - kriging
					Trappole a feromoni	mesoscala	
Ragolini	2005	olivo	<i>Bactrocera oleae</i>	fitofago	Indice di infestazione	varie estensioni	Semivariogramma - kriging
Ramilli	2006	erbacee e aree non coltivate	Carbidae, Oplionidae	predatori	Trappole a caduta	0,05	IDW
Schotzko	1992	frumento	<i>Diuraphis noxia</i> (Aphidoidea)	fitofago	Teorico	Teorico	Covariogramma - Modello di simulazione spaziale
Sciaretta	2001	susino	<i>Cydia funebrana</i>	fitofago	Trappole a feromoni	0,012 - 250	Indice di Moran-kriging
Sciaretta	2003	frumento	Coccinellidae	predatori	Retino da sfalcio	0,005	Contour Plot e Surface Response
Sciaretta	2003	olivo	<i>Bactrocera oleae</i>	fitofago	Conteggio visivo e interviste	Liguria	Semivariogramma

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Thomas	2001	erbacee e aree non coltivate	Carabidae		predatori	Trappole a caduta	0,001	SADIE - kriging
Toepfer	2007	mais	<i>Diabrotica virgifera</i>		fitofago	Trappole a feromoni	0,0015-0,003	Indice di Moran - semivariogramma - kriging
Toepfer	2007	mais	<i>Agriotes ustulatus</i>		fitofago	Trappole a feromoni	monti appalachi	Ordinary kriging
Trematerra	2004	melo	<i>Cydia pomonella</i>		fitofago	Trappole a feromoni	0,0275-0,055	Correlogramma - Ordinary kriging
Trematerra	2004	derrate	Insetti delle derrate		fitofagi	varie		Vari (Lavoro di revisione)
Winder	2001	frumento	Aphidoidea <i>Pterostichus melanarius</i> , <i>Pterostichus madidus</i> (Carabidae)		fitofagi predatori	Conteggio visivo Trappole a caduta	0,0032-0,0043	SADIE
Woldewahid	2004	varie	<i>Schistocerca gregaria</i>		fitofago	Conteggio visivo	800	Variogramma - kriging
Zhou	1995	varie forestali	<i>Lymantria dispar</i>		fitofago	Dati storici di defogliazione Conteggio visivo ovature	Massachusetts	Cellular automaton
Sharov	1998	varie forestali	<i>Lymantria dispar</i>		fitofago	Dati storici di defogliazione Conteggio visivo ovature	monti Appalachi	Modello di meta-popolazione di dispersione stratificata

Predisposizione delle griglie di campionamento

I punti di campionamenti vengono georeferenziati, come descritto sopra (vedi campionamento su base spaziale). Il tipo di griglia e la sua ampiezza dipendono dallo scopo del lavoro e dalle risorse, e non è possibile stilare regole universali. Buoni criteri sono cercare di costruire una griglia con punti abbastanza uniformi. E' chiaro che spesso non è possibile predisporre griglie uniformi: in questo caso è bene fare in modo che non vi siano porzioni di un territorio non campionate. Facciamo qualche esempio.

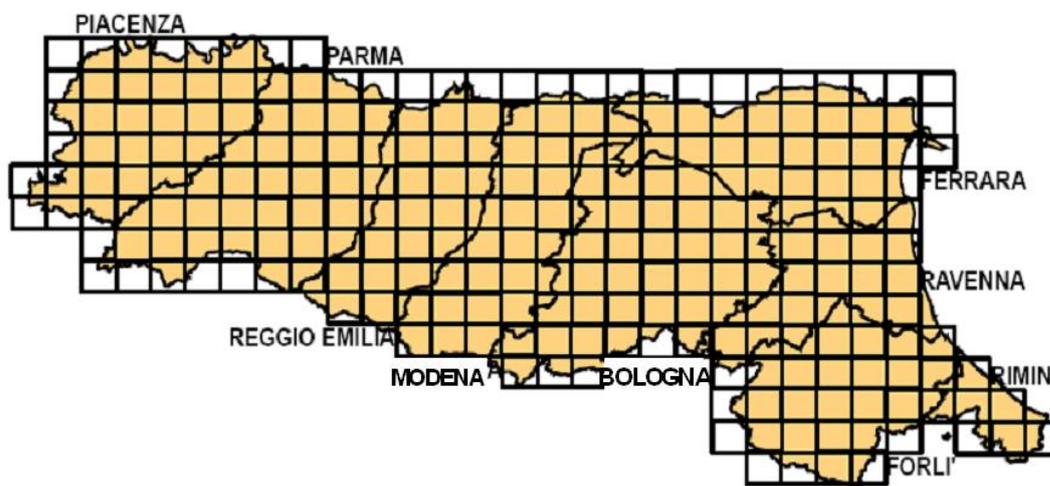


Figura 2. Reticolo di campionamento a maglia regolare su scala regionale

Nell'esempio di figura 2 vediamo un reticolo di campionamento a maglia regolare su scala regionale. Ogni quadrante è caratterizzato da un lato di 10 km. Il reticolo può essere di ausilio nel selezionare le zone da campionare, in funzione degli obiettivi del piano di monitoraggio.

I punti di campionamento (es. aziende) sono inseriti all'interno dei quadrati. Si può procedere impostando un punto di campionamento (rilevamento singolo), o più punti, all'interno di ogni quadrato, in base agli scopi del lavoro, alle risorse, alla tecnica di monitoraggio e alla distribuzione spaziale dell'insetto. Un monitoraggio di questo tipo è stato ipotizzato per un campionamento sugli Elateridi, usando per ogni azienda un numero variabile di trappole a feromoni (1-3 trappole a seconda della dimensione del campo).

In questo caso, più aziende possono essere comprese all'interno di ogni quadrato, a seconda della disponibilità.

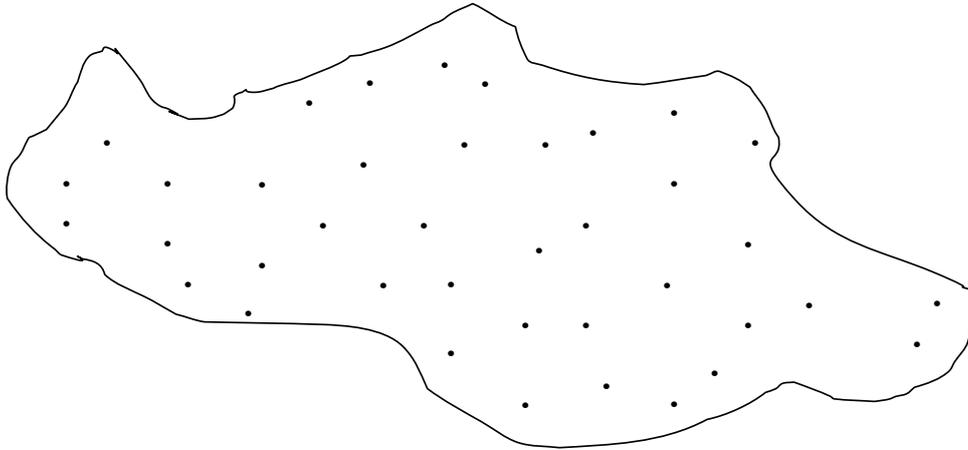


Figura 3. Campionamento mediante griglia di punti georeferenziati

L'esempio di figura 3 riguarda un campionamento mediante griglia di punti georeferenziati. E' consigliabile una griglia il più possibile uniforme, con i punti distribuiti abbastanza omogeneamente sul territorio da campionare. Ogni punto rappresenta un rilevamento (campionamento). I campionamenti possono essere ripetuti nel tempo. L'area da campionare può essere un territorio, più e meno esteso.

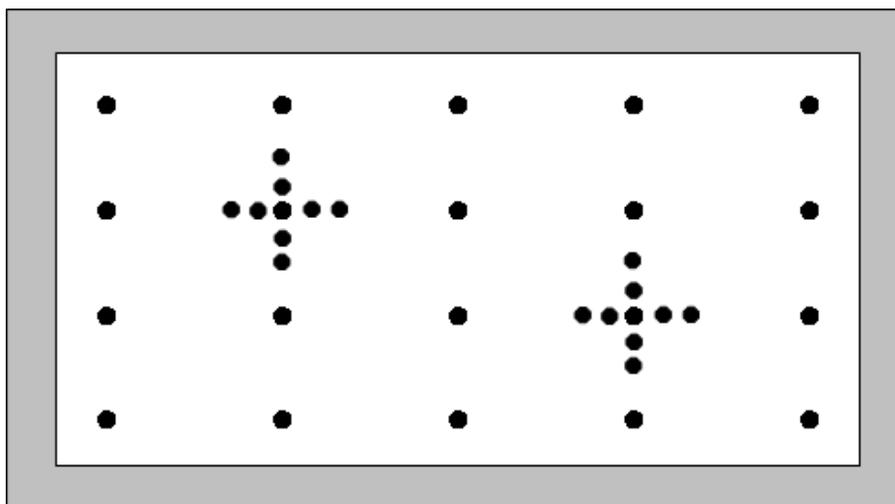


Figura 4. Esempio di intensificazione del campionamento in alcune zone (tratto da Raspa 1995, modificato dagli autori).

L'altro esempio (Figura 4) riguarda un campionamento a maglia regolare quadrata, con intensificazione della raccolta dati in alcune zone (croci a maglie più fitte): questo accorgimento serve per intensificare il *campionamento del fenomeno a piccola scala* e in termini tecnici evidenzia meglio il comportamento all'origine del variogramma. In sintesi questo accorgimento migliora l'analisi dei dati, permettendo in certi casi di migliorare la stima del modello che descrive la dipendenza spaziale dei dati (Raspa, 1995).

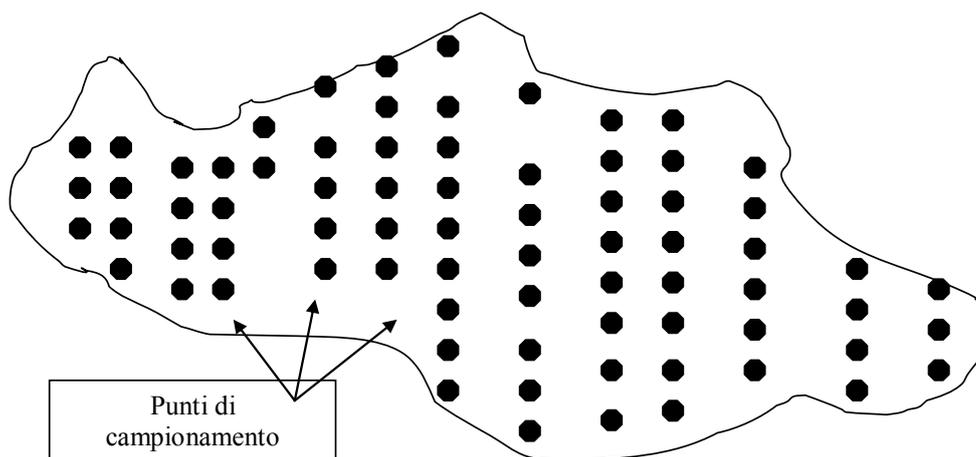


Figura 5. Griglia di campionamento a maglia regolare

Nell'esempio di figura 5 è stata impostata una griglia di campionamento a maglia regolare che si adatta bene per un campionamento con trappole *pit-fall*. Ogni punto di campionamento può prevedere la messa in posa di 1-3 trappole. Una griglia simile è adottata da Thomas *et al.* (2001) per uno studio sui carabidi, adottando 156 punti di campionamento, ognuno dotato di tre trappole *pit fall* (totale 468 trappole).

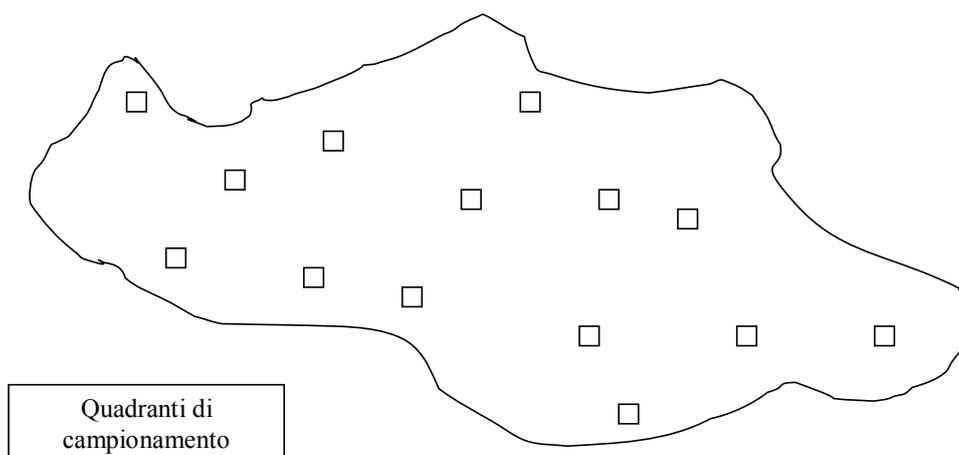


Figura 6. Campionamento georeferenziato mediante quadrati

L'esempio di figura 6 riguarda un campionamento georeferenziato mediante quadrati. Ogni quadrato elementare prevede all'interno più punti di campionamento disposti a croce, quadrato, triangolo, a seconda delle situazioni. La dimensione del quadrato è variabile (es. 5x5 m, 10x10 m). Un ulteriore esempio di griglia per campionamento è riportato in figura 7.

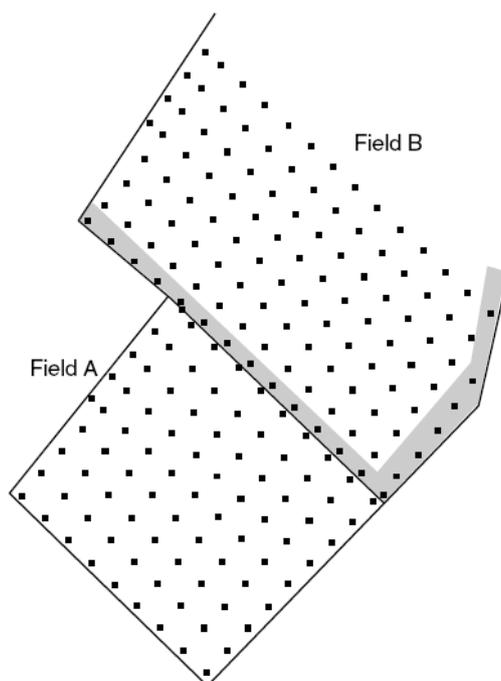


Figura 7. Esempio di griglia per il campionamento di Carabidi. Il campo A misura 12 ettari, mentre il campo B 32 ettari. I punti di campionamento sono distanziati 40 m. In questo esempio, per ogni punto di campionamento sono state installate 2 trappole *pitfall* (da Holland *et al.*, 2007).

Valutazione della dipendenza spaziale

L'analisi geostatistica è basata sullo studio dei semi-variogrammi e di modelli di interpolazione. Abbiamo già visto che la funzione correlogramma, (vedi autocorrelazione dei dati), è il metodo più semplice per valutare la dipendenza spaziale dei dati. La legge di Tobler afferma, infatti, che “punti più vicini sono maggiormente correlati (cioè simili)” e il correlogramma è un metodo per valutare tale dipendenza spaziale. Altri metodi per valutare la dipendenza spaziale sono: la funzione covarianza e il semi-variogramma. Correlogramma (ρ), funzione covarianza (C), semi-variogramma (γ) sono in ogni caso tutti correlati fra loro, ed esistono dimostrazioni matematiche su queste relazioni (Raspa, 1995) (Figura 8).

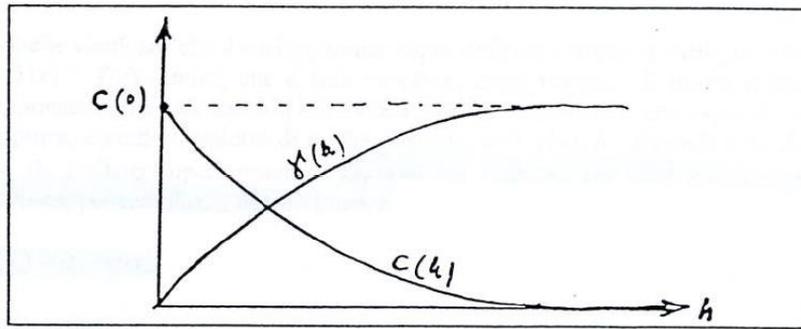


Figura 8. Correlazione tra funzione covarianza (C) e semi-variogramma (γ)

Funzione covarianza e funzione variogramma

Il semivariogramma, un modello matematico che quantifica la semivarianza in funzione della distanza che separa coppie di punti discreti, risulta uno dei modelli più utilizzati.

$$\gamma(h) = \frac{1}{2N(h)} \sum_{a=1}^{N(h)} [z(u_a) - z(u_a + h)]^2$$

dove $\gamma(h)$ = semivariogramma,

N = numero di coppie di punti

h = distanza di separazione

Z = valore del parametro campionato

U = posizione.

Il modello è rappresentabile graficamente con la figura 9 (da Sharov, 1996).

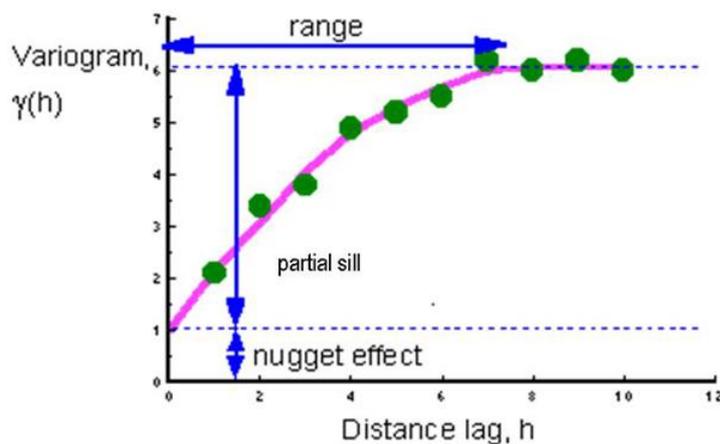


Figura 9. Esempio di semivariogramma

Dai parametri del modello è possibile ricavare interpretazioni sulla struttura spaziale della variabile in oggetto. Il *nugget* (effetto pepita) rappresenta in particolare il rumore di fondo

(*white noise*), cioè la pura variazione casuale e può essere associato anche all'errore nel campionamento. Il *range* è la distanza h massima oltre la quale la semivarianza rimane costante. Questo valore massimo di semivarianza prende il nome di *sill*, il cui valore è la somma di una componente generata dalla varianza in funzione della distanza tra i punti campionati (*partial sill*) e la parte generata dalla variabilità casuale dei dati (*nugget effect*) (Figura 10).

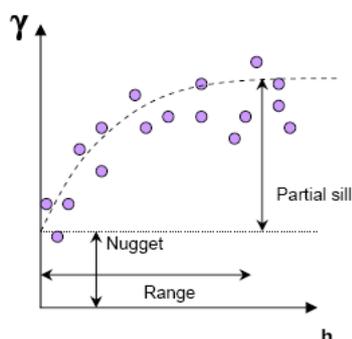


Figura 10. Esempio di variogramma (da Sharov, 1996 modificato).

Nel caso di una distribuzione spaziale aggregata, la semivarianza aumenterà in funzione della distanza fra i punti; per una distribuzione *random*, invece, non si noteranno significativi cambiamenti della semivarianza con la distanza.

Quando la varianza casuale (*nugget effect*) è tale per cui non è possibile individuare un *partial sill* ci si trova di fronte ad un'assenza di correlazione spaziale o, comunque, non rilevabile in quanto il *nugget effect* copre la correlazione spaziale: il grafico risultante diventa una linea piatta. Nel caso contrario, quando cioè il *nugget effect* è nullo, il risultato è che *sill* e *partial sill* coincidono e la curva del semivariogramma ha origine nell'intersezione degli assi del grafico (Figura 11). Nei tre esempi vediamo:

1. popolazione caratterizzata da puro effetto *nugget* (mancanza di correlazione spaziale);
2. popolazione caratterizzata da correlazione spaziale significativa in combinazione con una variabilità casuale (misurato dal *nugget*);
3. alta correlazione spaziale ed assenza di *nugget*.

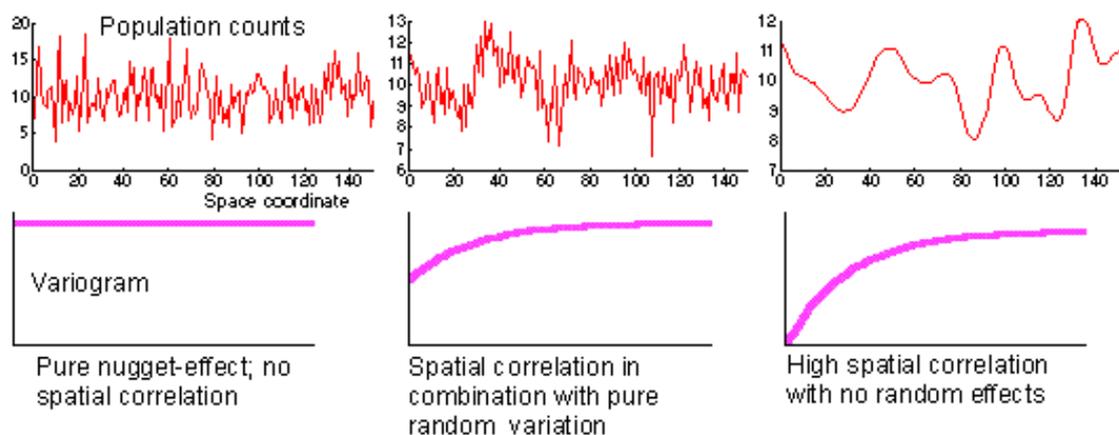


Figura 11. Esempi di correlazione spaziale

Uno dei vantaggi di queste tecniche è quella di poter misurare la varianza in funzione della direzione (*anisotropia*), al fine di individuare la presenza di una direzione preferenziale dell'autocorrelazione. Cioè è possibile analizzando il cambiamento della varianza in funzione delle diverse direzioni e quando questa aumenta in maniera più intensa in una direzione rispetto ad un'altra, raggiungendo il *sill* più rapidamente, l'autocorrelazione è maggiore. L'anisotropia riguarda fenomeni che si sviluppano in maniera diversa in funzione della direzione. Ad esempio lungo la direzione S-N il variogramma risulta diverso da quello calcolato nella direzione W-E (Figura 12).



Figura 12. Esempio di variogramma con anisotropia (da Sharov, modificato)

Questo fenomeno, per gli insetti avviene spesso, anche se l'interpretazione non è spesso semplice come per le variabili di tipo geologico e minerario.

Se invece il variogramma mantiene lo stesso andamento in tutte le direzioni, la funzione è detta *isotropa*.

Diversi modelli matematici sono utilizzati per descrivere un semi-variogramma (Figura 13). La scelta del modello più appropriato è un punto molto delicato poiché influenza la precisione e l'attendibilità della fase successiva, cioè l'interpolazione dei dati.

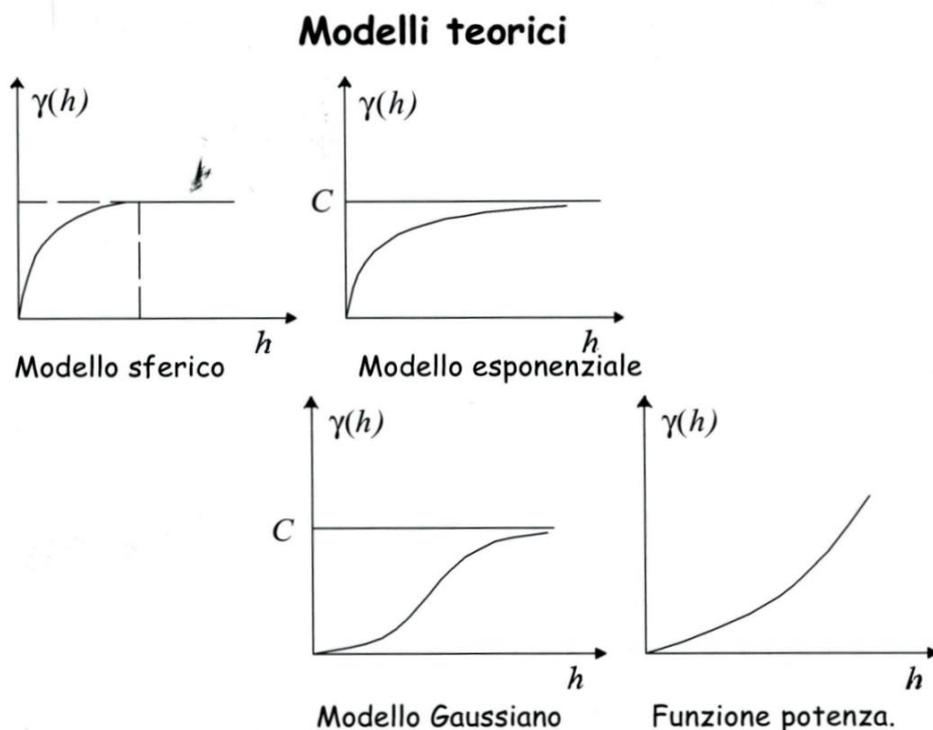


Figura 13. Modelli utilizzati per descrivere i semi-variogrammi (da Raspa, 1995 modificato).

A volte può essere necessario trasformare i dati in logaritmi prima di calcolare il variogramma. La trasformazione può essere necessario per rendere la distribuzione dei dati più simmetrica e per rimuovere i cosiddetti fenomeni di *trend* della varianza. A volte può capitare, infatti, che in aree ad alte densità, la varianza sia molto maggiore rispetto a zone di bassa densità. Dopo tale trasformazione la varianza tende all'uniformità (Sharov, 1996). L'esempio riportato è molto chiaro (Figura 14). Ovviamente, se sono presenti zeri è necessario utilizzare la trasformazione $\text{Log}(x + 1)$.

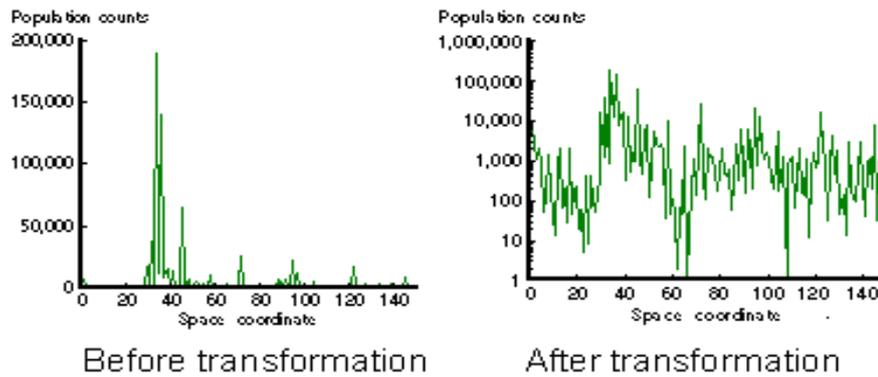


Figura 14. Confronto tra variogrammi ottenuti prima e dopo la trasformazione dei dati in logaritmi (da Sharov, 1995 modificato)

Autocorrelazione spaziale: altri metodi

Da ricordare che l'autocorrelazione spaziale può essere studiata con altri metodi, come ad esempio l'indice I di autocorrelazione di Moran e l'indice C di Geary. Per il calcolo degli indici I e C è necessario in primo luogo definire in termini di contiguità spaziale le diverse zone S_i nel quale è ripartito lo spazio S . A tale scopo possono essere utilizzate diverse regole tutte però riducibili alla seguente logica: data uno spazio S suddiviso in S_i sub-aree si considerano contigue due sub-zone che soddisfano un criterio prestabilito di vicinanza. Indicando con W la matrice della contiguità e con w_{ij} l'elemento generico della matrice si ha che:

$$\begin{cases} w_{ij} = 1 \text{ se la subarea o zona } i \text{ confina con la subarea o zona } j \\ w_{ij} = 0 \text{ se la subarea o zona } i \text{ non confina con la subarea o zona } j \end{cases}$$

$$W = \begin{bmatrix} 0 & w_{12} & \dots & w_{1n} \\ w_{21} & 0 & \dots & w_{2n} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ w_{n1} & w_{n2} & \dots & 0 \end{bmatrix}$$

L'indice di autocorrelazione I di Moran che può essere definito nel seguente modo:

$$I = \frac{n}{S_0} \frac{\sum_{i=1}^n \sum_{j=1}^n (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})w_{ij}}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

dove:

- x_i è la variabile osservata nelle n ripartizioni spaziali e \bar{x} è la media di tale variabile;
- w_{ij} è l'elemento generico della matrice di contiguità;
- $S_0 = \sum_{i=1}^n w_{ij}$ (nel caso di una matrice di contiguità spaziale tale somma è uguale al

numero dei legami non nulli).

L'indice I può assumere valori che ricadono fuori del *range* -1 +1. Inoltre, nel caso di autocorrelazione nulla il suo valore non è 0 ma è pari a $-\frac{I}{n-1}$. Per cui se:

$$I < -\frac{I}{n-1} \rightarrow \text{autocorrelazione negativa};$$

$$I = -\frac{I}{n-1} \rightarrow \text{autocorrelazione nulla};$$

$$I > -\frac{I}{n-1} \rightarrow \text{autocorrelazione positiva}.$$

L'interpolazione dei dati

La tecnica di interpolazione dei dati (il *kriging* è la tecnica più usata ma vedremo che sono utilizzabili altre tecniche di interpolazione), è stata sviluppata in campo minerario da D.G. Krige.

L'interpolazione spaziale dei dati è una tecnica di analisi in ambiente GIS che produce la stima di un valore in zone dove non vi sono dati campionati. La funzione generale per l'interpolazione è la seguente:

$$Z_0 = \sum_{i=1}^N \lambda_i S_i$$

dove:

Z_0 è il valore predetto;

N è il numero di punti campionati attorno al valore predetto;

λ_i sono i pesi corrispondenti ai valori misurati;

S_i sono i valori dei punti campionati.

Il valore da attribuire a un punto Z_0 del campo è calcolato quindi mediante una **combinazione lineare** dei valori noti situati nelle vicinanze del punto da stimare, per esempio entro un dominio circolare (il dominio può comunque avere qualsiasi forma e contiene di solito da 20 a 60 punti). Questo dominio è chiamato *vicinaggio di stima*. Questo tipo di stima è chiamato in gergo *stima locale*. La combinazione lineare non è altro che una media pesata e i coefficienti della combinazione lineare sono chiamati ponderatori.

Le mappe così create sono chiamate anche carte a isovalori o carte vettoriali, oppure *contour plot* (mappe ad aree), e sono il punto centrale di tutta la geostatistica.

Tra le tecniche di interpolazione si riconoscono metodi **deterministici** (es. *Inverse Distance Weighting* o IDW), che applicano una funzione matematica ai dati di input per ricavare la mappa, e metodi **stocastici**, chiamati *geostatistici* in senso stretto (es. *kriging*). Fondamentalmente, quello che cambia tra le varie tecniche deterministiche e stocastiche è il modo di assegnazione dei pesi.

Le **tecniche deterministiche** permettono la creazione delle mappe a partire dai valori misurati nei punti di campionamento mediante un algoritmo che si basa sulla similarità e differenze tra i dati. A loro volta queste pratiche si suddividono in tecniche di *Interpolazione globale* (*Global Polynomial Functions*), che calcolano i valori predetti utilizzando l'intero dataset, e tecniche di *Interpolazione locale*, che basano la previsione a partire dai punti più vicini, analizzando quindi una piccola porzione di spazio per volta fino a ricreare l'intera superficie. Possiamo infine distinguere *interpolatori esatti*, che predicono nei punti campionati valori identici a quelli misurati (*Inverse Distance Weighting*), ed *interpolatori inesatti*.

La tecnica dell'IDW si basa sull'assunto che punti nello spazio più vicini tra loro siano più somiglianti rispetto a punti più lontani (legge di autocorrelazione di W. Tobler). Sulla base di questo assunto, l'IDW calcola il valore dei punti non campionati in funzione della distanza dei punti realmente campionati. In sostanza i valori predetti sono condizionati in modo proporzionalmente più intenso in funzione della vicinanza con i punti campionati. Nell'IDW il valore dei pesi λ_i assegnato ad ogni valore misurato, è determinato dalla potenza p che riduce tale valore all'aumentare della distanza (d) del punto in cui viene fatta la previsione:

$$\lambda = d^p / \sum_{i=1}^N d^p$$

Come si diceva, l'IDW è un *interpolatore esatto*, cioè i valori misurati nei punti conosciuti vengono riportati tali e quali nella mappa di previsione, mentre i valori predetti sono ottenuti tenendo conto degli effetti locali. Proprio per queste prerogative tale tecnica è utile per dare risalto al valore misurato ed al suo rapporto con i punti vicini. Applicando l'IDW, non esiste una misura dell'errore compiuto con l'interpolazione. L'IDW è uno dei più veloci, semplici ed intuitivi metodi di interpolazione spaziale. Il suo utilizzo è sempre molto efficace qualora non si possiedano molte informazioni riguardo al dato da trattare. L'IDW fornisce una prima, immediata interpolazione attraverso la quale è possibile valutare subito il "comportamento spaziale" dei dati consente di osservare, ad esempio, se è presente un *trend* di qualche tipo.

L'altra famiglia di interpolatori, quelli **stocastici**, è rappresentata da tecniche che basano le previsioni sullo studio delle proprietà statistiche dei valori misurati mediante lo studio dell'autocorrelazione e della dipendenza spaziale dei dati attraverso la costruzione del semi-variogramma. Queste tecniche furono sviluppate inizialmente in ambiti minerari e geologici, poi a partire dalla fine degli anni ottanta hanno cominciato ad essere prese in considerazione anche in ambito ecologico.

Tra le tecniche di maggior rilievo nell'interpolazione abbiamo una serie di strumenti di analisi che vanno sotto il nome di *Kriging*. Come l'IDW, il *Kriging* fonda i suoi assunti sul fatto che punti vicini nello spazio siano maggiormente autocorrelati rispetto a punti più lontani:

$$Z_0 = \sum_{i=1}^N \lambda_i S_i$$

Nel *kriging* detto *ordinario* (*ordinary kriging*), la somma dei pesi risulta uguale a 1, cioè:

$$\sum_{i=1}^N \lambda = 1$$

Come per l'IDW,

Z_0 è il valore predetto;

N è il numero di punti campionati attorno al valore predetto;

λ_i sono i pesi corrispondenti ai valori misurati;

S_i sono i valori relativi ai punti campionati.

A differenza dell'IDW, dove i pesi λ_i sono assegnati in funzione della distanza tra il punto predetto e i punti misurati, nel *Kriging* il peso viene assegnato anche sulla base dell'analisi della semi-varianza in funzione della distanza tra i punti. Questa analisi si effettua tramite la costruzione e l'analisi del semi-variogramma, che ha un ruolo importantissimo per il calcolo dei pesi da assegnare durante l'interpolazione. La scelta del modello di semi-variogramma è quindi un aspetto molto importante e delicato, che si riflette nella bontà dell'interpolazione e nella creazione della mappa.

Il *kriging* ordinario può essere applicato a variabili stazionarie cosiddette del secondo ordine, cioè che presentano media costante e varianza dipendente solo dalla distanza (*lag*) muovendosi da punto a punto. In pratica la condizione di stazionarietà significa che muovendosi da una zona ad un'altra del campo la media dei valori è pressoché costante. Nel caso di variabili non stazionarie (in gergo si dice che presentano un *trend*) tale tecnica non potrebbe essere utilizzata.

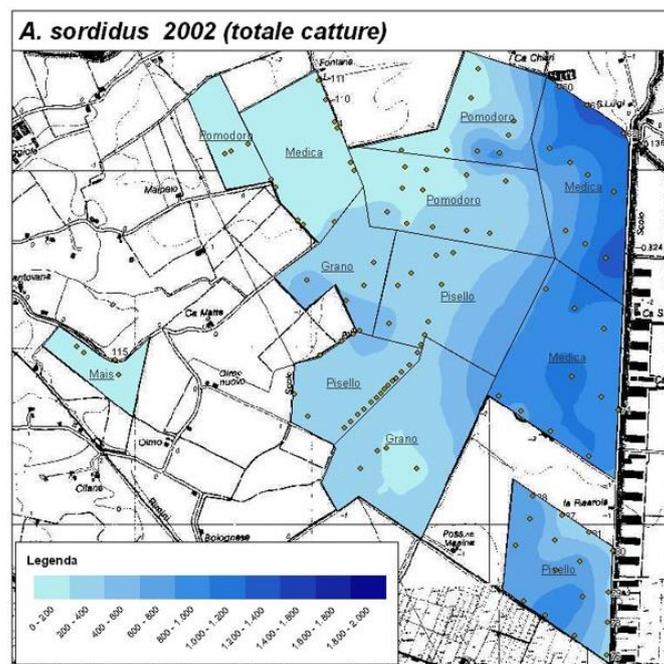


Figura 15. Ordinary kriging di una specie di Elateride catturata con trappole a feromoni (da Burgio et al., 2005).

In figura 15 è riportato un esempio di *ordinary kriging* su una specie di Elateride (*Agriotes sordidus*) in un'azienda di circa 500 ettari. I dati si riferiscono a maschi catturati con trappole a feromone. Le zone in blu scuro si riferiscono alle catture più alte (vedi legenda).

Indicator Kriging

Tra le tecniche *stocastiche* ne esiste una che prende il nome di *Indicator Kriging*. Si tratta di una tecnica che prevede la trasformazione dei dati misurati in valori binari secondo con la seguente formula:

$$Ic(x) = \begin{cases} 1, & \text{se } x \geq c \\ 0, & \text{se } x \leq c \end{cases}$$

dove c è un valore soglia (*cut off*) che determina la trasformazione del dato misurato in valore binario (1, 0).

In ambito entomologico, tale tecnica risulta di notevole utilità per stimare la probabilità di superare soglie di attenzione o di danno nel caso di insetti nocivi. Tale procedura è la base della creazione delle cosiddette mappe di rischio. L'*indicator kriging* è un interpolatore molto potente e versatile, è può essere applicato in una moltitudine di casi, anche per bioindicatori e insetti utili, se ad esempio come *cut-off* vengono indicate soglie di estinzione di questi insetti o se, per insetti rari, viene mappata la probabilità di presenza. Questa tecnica può consentire quindi di mappare la probabilità di un certo evento, legato anche a ipotesi concernenti i bioindicatori.

Esistono altri tipi di *kriging*, alcuni dei quali appartenenti a metodi molto avanzati dei dati.

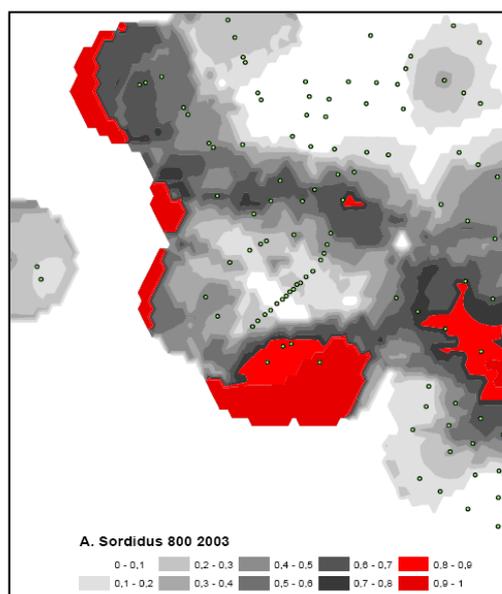


Figura 16. Mappa di probabilità di Elateridi, realizzata con *Indicator Kriging*, usando come *cutoff*, $c = 800$ adulti/trappola

La mappa in figura 16 quantifica la probabilità che venga superata un valore annuale di 800 catture per trappola. Per un insetto utile o raro, il valore di *cutoff* potrebbe essere fissato come una densità minima di sopravvivenza della popolazione. La mappa rielabora i dati del grafico precedente (Burgio *et al.*, 2005).

Verifica della bontà e dell'attendibilità della mappa

Le tecniche geostatistiche permettono, oltre allo studio della variabilità spaziale, di verificare anche la "bontà", o meglio l'attendibilità delle interpolazioni nello spazio (mappe), attraverso l'analisi delle differenze tra i valori misurati sperimentalmente e quelli predetti dal modello di interpolazione (es. *cross validation*). La *cross validation* è quindi un metodo che permette di misurare la correlazione tra valori realmente misurati e quelli calcolati, e stimare l'errore commesso attraverso le medie delle differenze tra tali valori (*mean predicted error*). Per ogni punto campionato viene stimato un valore predetto, togliendo quel punto dalla mappa d'interpolazione; il valore predetto viene confrontato col valore campionato e si crea un data-set con tutte le coppie di valori. Con una correlazione lineare si può calcolare una retta e verificare quanto si discosta dal valore 1, che rappresenta una situazione ideale in cui la somma degli errori è uguale a zero. Di solito correlazioni significative positive ($r > 0$, $P < 0.05$) indicano una buona attendibilità di una mappa.

Un esempio di *cross-validation* viene riportata per dati che provengono dal campionamento di elateridi con trappole a feromoni sessuali (Burgio *et al.*, 2005) (Figura 17).

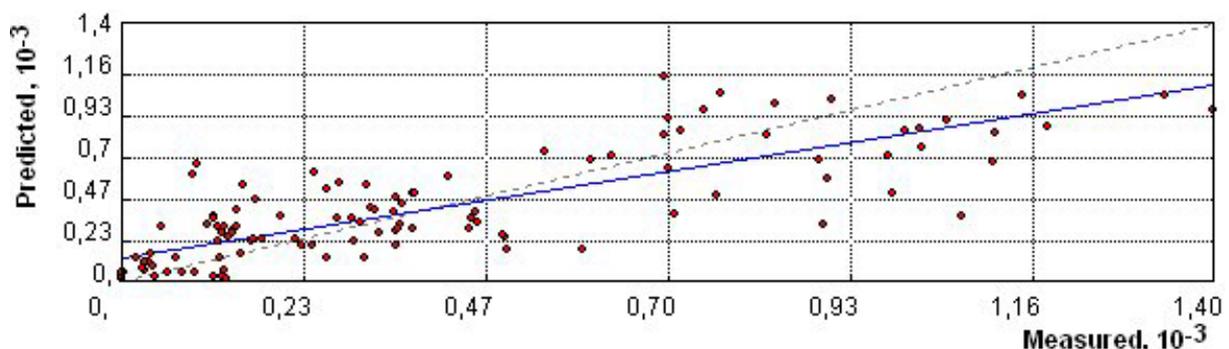


Figura 17. *Cross-validation* che si riferisce alla mappa precedente calcolata con *ordinary kriging*.

In questo caso la correlazione significativa indica una buona concordanza tra valori calcolati e stimati. Come si può notare, il coefficiente angolare < 1 (ma significativo per $P < 0.01$) indica

una leggera sottostima dei dati predetti rispetto ai valori campionati. Da notare come in generale la stima non viene influenzata dal valore dei dati: ad esempio nelle parti alte del grafico (dati con valori assoluti massimi), i valori predetti dal modello *kriging* non sottostimano in maniera significativa i dati.

Universal kriging

Quando viene meno la condizione di stazionarietà, cioè quando esiste un significativo *trend* spaziale del dato (caratteristica intrinseca del dato stesso che fa sì che la media dei valori non sia costante ma vari da punto a punto) questa assunzione viene meno. La geostatistica, basandosi sul concetto del confronto spaziale tra coppie di valori, necessita di un dato di input che non sia affetto da alcuna variazione sistematica. Con il termine *trend* si individua una variazione sistematica ed evidente dei dati che può essere dovuta, in genere, ad alcune proprietà fisiche del dato stesso: facendo esempi desunti dalla geologia, il gradiente di una falda varia al variare della permeabilità, l'erosione aumenta all'aumentare della pendenza, ecc. Talvolta, alla scala di lavoro, i dati non presentano *trend* (anche perché il trend non è una caratteristica dei dati, ma dipende dalla scala di osservazione) oppure, se questo è presente, è talmente debole da poter essere trascurato senza compromettere l'affidabilità della previsione.

La condizione di stazionarietà del dato può essere comunque ristabilita attraverso l'introduzione di una funzione deterministica che descriva il *drift*, cioè l'andamento della media, in modo da poter isolare il residuo, cioè la parte aleatoria del dato. Il *kriging* universale quindi modella e sottrae il *drift* presente nel dato tramite una funzione deterministica, ed analizza la sola componente aleatoria (residuo). Questo procedimento, in gergo, viene anche chiamato "*detrendizzazione*" del dato. In conclusione, nei casi in cui la stazionarietà è violata viene applicato l'*universal kriging*. Per una trattazione di tale metodo si rimanda a testi avanzati (es. Raspa 1995, Dispense di Geostatistica Applicata).

Il *drift* è una semplice funzione polinomiale che descrive l'andamento della nuvola di dati.

L'*universal kriging* utilizza in definitiva il seguente modello (Figura 18):

$$Z(\mathbf{s}) = \mu(\mathbf{s}) + \varepsilon(\mathbf{s})$$

dove $\mu(\mathbf{s})$ è la funzione utilizzata, nel caso seguente un polinomio di II grado, e $\varepsilon(\mathbf{s})$ è l'errore. La media di tutti gli $\varepsilon(\mathbf{s})$ è uguale a 0. Concettualmente, l'autocorrelazione viene modellizzata a partire dagli errori $\varepsilon(\mathbf{s})$.

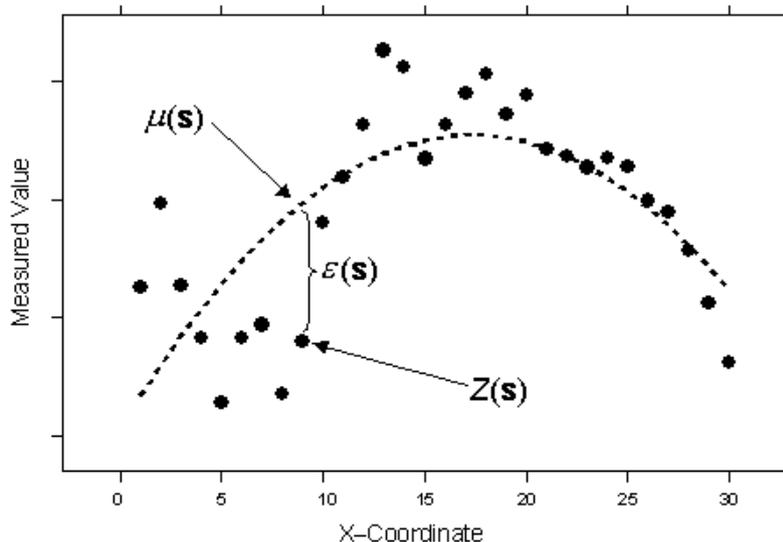


Figura 18. Universal kriging

Geostatistica multivariata

È una branca della geostatistica che analizza le relazioni che esistono simultaneamente tra più variabili campionate. Si definisce un cross-variogramma e una cross-covarianza per ogni coppia di variabili regionalizzate. Il *cokriging* è una variante del *kriging* che permette di migliorare la stima di una variabile sottocampionata attraverso l'uso combinato di un'altra variabile che presenti una correlazione con la prima. Quando si debbono interpolare spazialmente variabili con un ridotto numero di punti campionati, la geostatistica multivariata risulta particolarmente utile, poiché riesce a trattare contemporaneamente più variabili statistiche spaziali. È necessario solo che esse abbiano un significativo numero di punti campione in comune, o vicini tra loro, per ottenere una discreta stima del cross variogramma. Inoltre, come già accade per il *kriging* ordinario, la relazione che permette la determinazione della superficie si ottiene minimizzando la varianza dell'errore di stima. Questa tecnica è stata sviluppata da Matheron (1971) e non richiede nessuna assunzione sul tipo di correlazione che deve esistere tra le due variabili.

Altri approcci geostatistici di tipo avanzato

Esiste anche una pratica, detta geostatistica non-lineare, di cui il metodo più importante è il *kriging disgiuntivo* che appartiene a una parte meno nota di geostatistica. Questa pratica è stata introdotta da Matheron nel 1973 ed in seguito sono usciti testi su tale argomento (es Rivoirard, 1994, *Introduction to disjunctive kriging and non-linear geostatistics*). Anche per questo argomento, si rimanda a testi avanzati, citati nella bibliografia.

Geostatistica e campionamento: qualche considerazione riassuntiva

Mediante tali tecniche è possibile disegnare mappe di superficie che stimano il dato da spazializzare nei punti in cui non si è eseguito il campionamento. Il vantaggio di tali mappe è che, se esse sono eseguite correttamente, offrono una rappresentazione spaziale a due o tre dimensioni della variabile studiata (es. la popolazione di un insetto) offrendo un approccio di tipo descrittivo che può aiutare l'interpretazione di dati su meso o macro-scala. Recentemente tali tecniche, nonostante molti autori sostengano che debbano essere applicate con molta attenzione ai dati biologici o zoologici, sono state applicate nell'ecologia ambientale e nel *landscape management* per analizzare i *pattern* di distribuzione di bioindicatori come i Carabidi su colture o ambienti non coltivati.

Nonostante le limitazioni e la cautela nell'utilizzo di queste metodologie in zoologia e biologia, queste tecniche offrono un'enorme potenzialità nell'ecologia ambientale e nell'entomologia territoriale per la possibilità di rappresentare in modo descrittivo certi fenomeni di tipo complesso.

La prospettiva di un'analisi geostatistica cambia drasticamente l'approccio allo sviluppo delle metodologie di campionamento in quanto lo scopo primario è la caratterizzazione del grado di dipendenza spaziale, al contrario del campionamento classico in cui si cerca di eliminare questa dipendenza spaziale. Il campionamento deve prendere in considerazione le caratteristiche della variabilità spaziale del sistema in esame: la conoscenza della sua struttura spaziale costituisce la premessa indispensabile per un efficiente campionamento. Il problema matematico, relativo alla derivazione dello schema ottimale di campionamento, non è di facile soluzione; consiste nella definizione preliminare di qualche indice di efficienza (varianza di stima, errore medio di stima, errore massimo di stima, ecc.) e quindi nello studio del sistema in rapporto a tale criterio: l'obiettivo sarà quello di scegliere il numero e la configurazione

geometrica dei punti di campionamento che minimizzino il criterio di efficienza scelto. Nella maggior parte dei casi l'obiettivo che si persegue consiste nel minimizzare l'errore di stima per cui, fra le varie soluzioni praticamente possibili, viene scelta quella che soddisfa un tale criterio; in molte situazioni, tuttavia, è necessario tenere conto anche di altri fattori addizionali, quali il costo del campionamento o la disponibilità di manodopera.

“Il più serio ostacolo nell'utilizzare la strategia di ottimizzazione è la necessità di conoscere il variogramma in anticipo” (Webster e Burgess, 1984 citato in Ramilli, 2006). Innanzitutto è necessario verificare se è rispettata l'ipotesi di stazionarietà, e quindi scegliere il semivariogramma o qualche altra funzione di covarianza generalizzata per descrivere la dipendenza spaziale. Supposto di utilizzare il variogramma, la sua conoscenza è fondamentale per poter ottimizzare il campionamento, ma lo stesso variogramma può essere determinato solo con il campionamento. Occorre, pertanto, stabilire in anticipo quanto sforzo dedicare nel lavoro di campionamento alla stima del variogramma.

Le tecniche geostatistiche permettono, oltre allo studio della varianza spaziale, di verificare anche la “bontà”, o meglio l'attendibilità delle interpolazioni nello spazio (mappe), attraverso l'analisi delle differenze tra i valori misurati sperimentalmente e quelli predetti dal modello di interpolazione (*Cross Validation*). La *Cross Validation* è quindi un metodo che permette di misurare la correlazione tra valori realmente misurati e quelli calcolati e stimare l'errore commesso attraverso le medie delle differenze tra tali valori (*mean predicted error*) (Figura 19).

Oltre che dal criterio di ottimizzazione, l'efficienza del campionamento dipende anche dalle modalità di esecuzione. Molti esempi tratti dalla letteratura scientifica provano che le stime più precise sono quelle ottenute con un campionamento sistematico, utilizzando una griglia regolare a forma di triangolo equilatero, poiché in tal caso sono minimizzati gli effetti negativi dovuti all'addensamento spaziale e alla ridondanza dei punti sperimentali. Una tale configurazione, tuttavia, è piuttosto difficile da realizzare in pratica, per cui generalmente si preferisce utilizzare una griglia quadrata o rettangolare. In uno studio di entomologia applicata è stato riscontrato che il disegno sperimentale più efficiente per caratterizzare la struttura spaziale degli insetti è costituito dalla disposizione dei punti di campionamento su griglia regolare a celle esagonali.

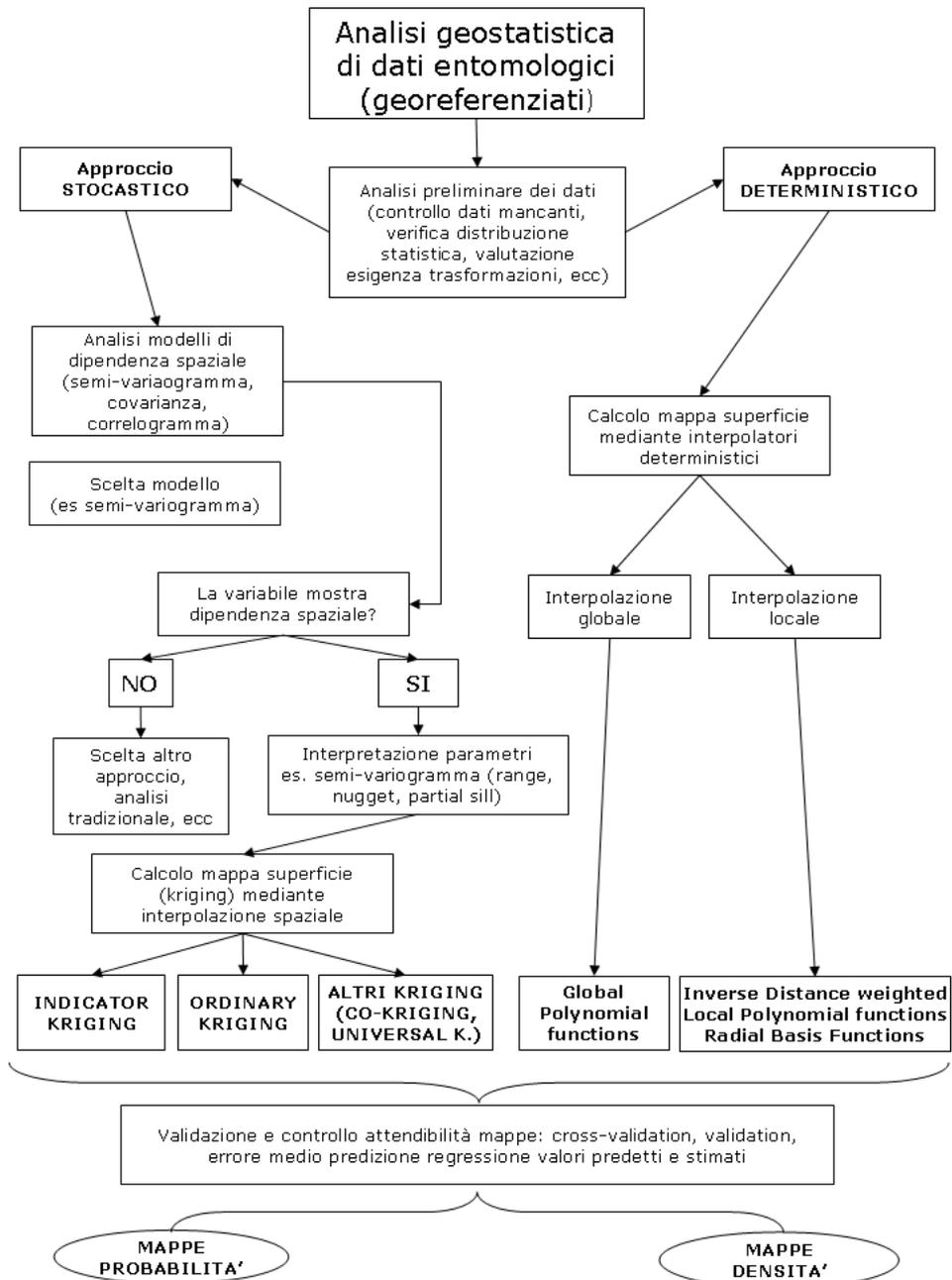


Figura 19. Sintesi dei passaggi per eseguire un'analisi geostatistica di dati entomologici, mediante approccio stocastico (sinistra) o deterministico (destra).

Altri approcci

Il pattern spaziale di un insetto può essere studiato mediante altri approcci, che si basano su altri tipi di modellistica. Ad esempio, la componente spaziale può essere associata a modelli statistici di regressione o a modelli fenologici, assegnando una componente spaziale ad altri tipi di predizione. Un altro approccio riguarda il metodo dei **cellular automaton**, metodo usato in simulazioni matematiche, scienza dei computer, biologia teorica e studio delle microstrutture. Il metodo prevede la costituzione di una griglia di celle, ognuna di essere caratterizzata da un numero finito di stati. Lo stato di ogni cella, al tempo t , è funzione dello stato di un numero finito di celle vicine (chiamate *neighbours*) al tempo $t-1$. Questo metodo è basato sulle interazioni locali di tipo dinamico fra le celle, governato da regole, che vengono applicate a tutte le celle. Come principio di simulazione, due metodi sono molto utilizzati, basati rispettivamente sul *Moore neighbourhood* e il *von Neumann neighbourhood*, che prevedono una diversa disposizione (nonché un diverso numero) delle celle vicine (Figura 20).

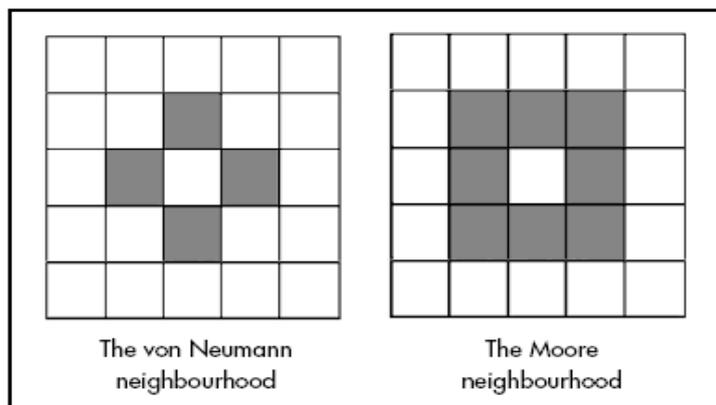


Figura 20. Metodi basati sul *Moore neighbourhood* (a sinistra) e sul *von Neumann neighbourhood* (a destra)

Un modello stocastico basato sui **cellular automaton** è stato utilizzato per simulare la defogliazione di un insetto (*Lymantria dispar*), mediante il calcolo della probabilità di transizione fra i due stati: defogliato-non defogliato (Zhou and Liebhold, 1995) (Figura 21).

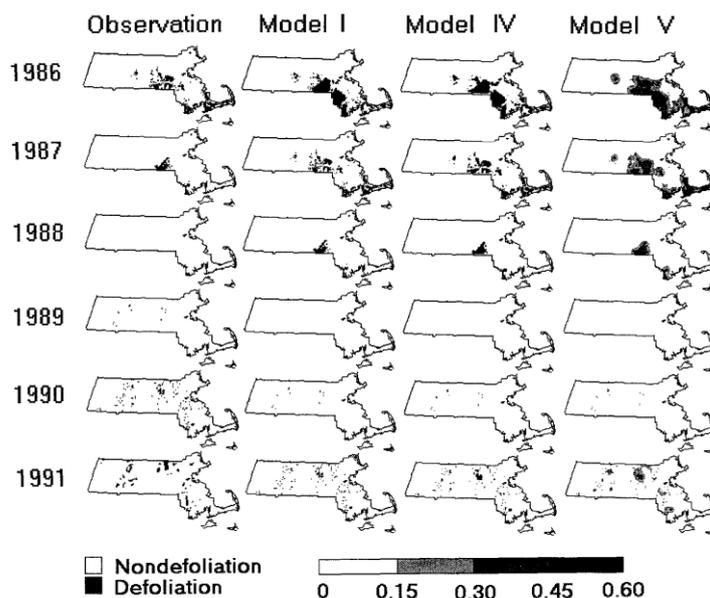


Figura 21. Modello stocastico basato sui *cellular automaton*

Altri approcci che si basano su una componente spaziale sono i modelli di diffusione (Sharov, 1996). In questo ambito si ricorda il modello *random walk* (Figura 22), che simula la diffusione di organismi a partire da un centro di diffusione, secondo una distribuzione normale a due dimensioni.

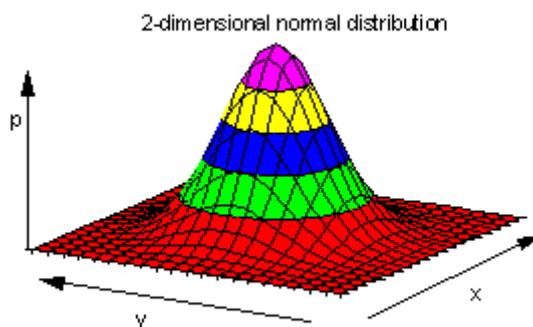


Figura 22. Esempio di modello di diffusione: il *random walk* (da Sharov, 1996 modificato)

Un altro modello, chiamato modello di Skellam predice il tasso di espansione del fronte di popolazione. Il modello permette di calcolare il tasso di espansione in tempi successivi. Il tasso di espansione è definito come distanza fra siti con la stessa densità di popolazione in due anni successivi.

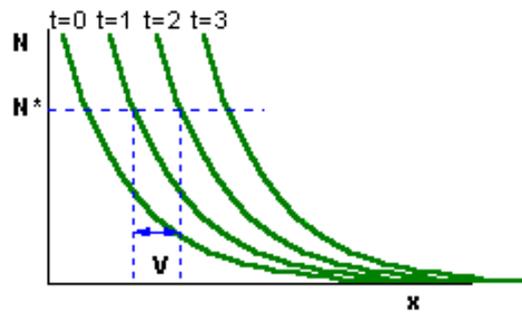


Figura 23. Modello di Skellam (da Sharov, 1996 modificato)

Il modello indica la seguente formula per calcolare il tasso di espansione:

$$V = \sqrt{4rD}$$

dove D è un coefficiente di diffusione.

Il punto debole di questi modelli è che prevedono una velocità continua di diffusione. Il modello di Skellam (Figura 23) inoltre ha come assunto che tutti gli individui si riproducano e si disperdano simultaneamente e che non ci sia variazione nella capacità di dispersione fra gli individui. In natura, vari meccanismi di trasporto passivi (es. vento, trasporto mediato dall'uomo), rendono la diffusione di insetti (e altri piccoli organismi) come un fenomeno discontinuo.

Da questi presupposti sono nati modelli di dispersione stratificata (Hengeveld 1989, in Sharov, 1996). Questi modelli prevedono un fronte di avanzamento diviso in tre aree (Figura 24):

- zone non infestate
- zone infestate
- zone di transizione, dove colonie isolate si stabiliscono e crescono.

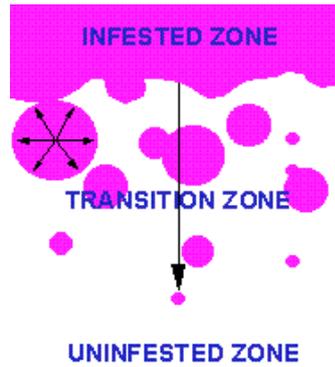


Figura 24. Fronte di avanzamento nei modelli di dispersione stratificata (da Sharov, 1996 modificato)

Un esempio di insetto che manifesta un tipo di diffusione assoggettabile a una dispersione stratificata è *Lymantria dispar* (Sharov, 1996). Questa dinamica è facilmente interpretabile dalla seguente mappa, che descrive la distribuzione spaziale delle catture dell'insetto, ottenute con trappole a feromoni nei monti Appalchi (Virginia-West Virginia). Le chiazze isolate, visibili come piccoli spot, sono rappresentati nella mappa (Figura 25).

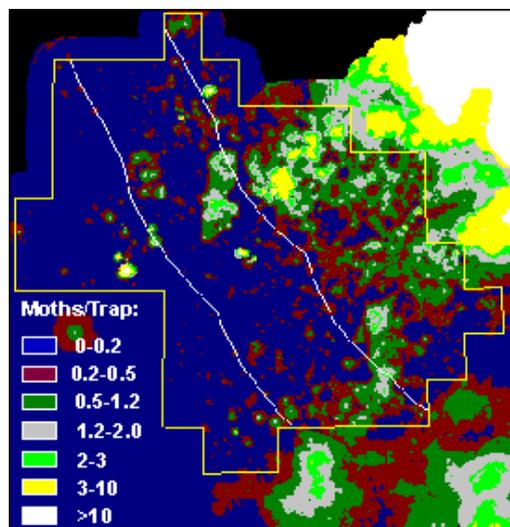


Figura 25. Distribuzione spaziale delle catture di *Lymantria dispar*, ottenute con trappole a feromoni nei monti Appalchi (Virginia-West Virginia) (da Sharov, 1996).

E' disponibile anche un modello di meta-popolazione di dispersione stratificata sviluppato da Sharov e Liebhold (1989, citato in <http://home.comcast.net/~sharov/PopEcol/>), in cui la probabilità di formazione di nuove colonie decresce con la distanza a partire dal fronte di avanzamento (Figura 26). Il modello è complesso e si rimanda al lavoro originale per i dettagli.

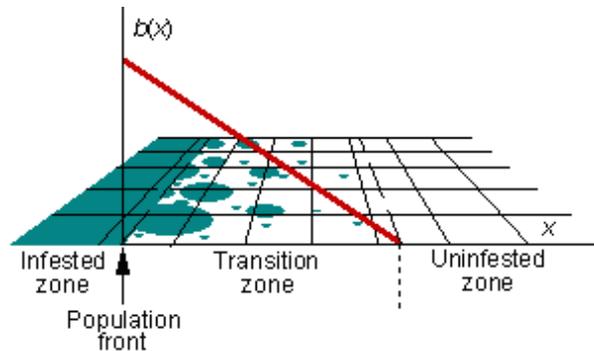


Figura 26. Modello di meta-popolazione di dispersione stratificata sviluppato da Sharov e Liebhold

E' interessante notare come i modelli basati sui *cellular automaton* possano essere combinati ai modelli di dispersione stratificata (Sharov, 1996). Il modello sfrutta i principi visti prima e definisce 3 regole che si basano sulla dispersione stratificata (Figura 27):

- spostamenti stocastici a lunga distanza;
- dispersione locale continua;
- popolazione in crescita.

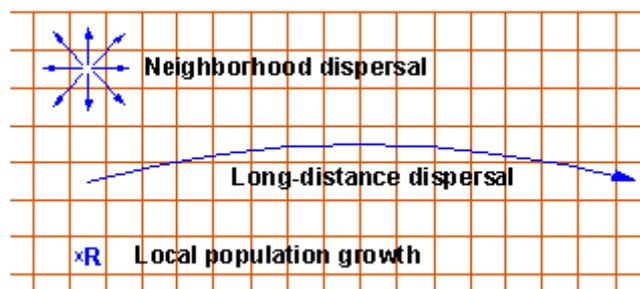


Figura 27. Regole basate sulla dispersione stratificata

I risultati delle simulazioni sono mostrati in figura 28, per diversi tempi successivi. Da notare come piccole colonie isolate si stabiliscano e si accrescano. Un modello simile è stato usato per predire l'influenza di barriere sulla dispersione di una popolazione di insetto (Sharov, 1996).

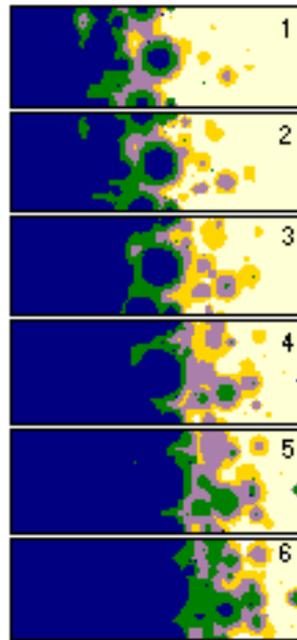


Figura 28. Risultati delle simulazioni per tempi successivi

Il metodo *Spatial Analysis by Distance IndiciEs* (SADIE)

Recentemente è stato proposto un metodo, definito SADIE, che ha lo scopo di determinare e misurare i *cluster* aggregativi di una popolazione, che vengono divisi in *patch* (regione caratterizzata da elevati conteggi) e *gap* (zona caratterizzata da conteggi relativamente bassi). Questo metodo permette di creare i cosiddetti grafici rosso-blù (*red-blue plots*), che consentono di visualizzare in modo intuitivo i fenomeni aggregativi degli insetti. Il metodo può essere combinato ad analisi geostatistica dei dati, spazializzando i valori dell'indice (Figura 29).

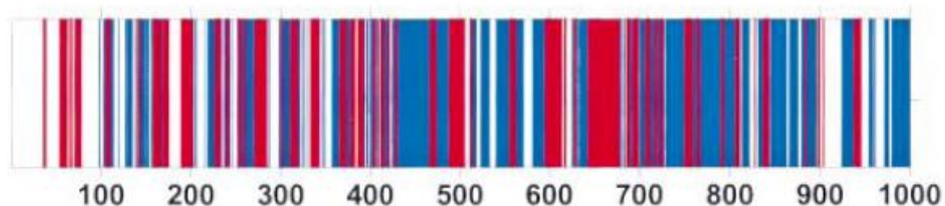


Figura 29. Utilizzo di SADIE per quantificare l'aggregazione di *Betula glandulosa*, in funzione della posizione. In rosso scuro sono indicati patches con valori dell'indice > 1.5 , in blu scuro sono indicati gap con valori < -1.5 . Le aree bianche non corrispondono né a *patches* né a *gaps*.

Questo metodo si basa sul concetto di calcolare lo “sforzo” che gli individui di una popolazione impiegherebbero per re-distribuirsi nello spazio in modo da raggiungere una configurazione regolare. In pratica tale “sforzo” viene computato come la distanza minima D per consentire questo assetto regolare. Il valore di D viene calcolato mediante un apposito algoritmo che si basa sui flussi di informazione da un donatore (caratterizzato da valori di abbondanza superiori alla media) a un ricevente (con valori di abbondanza inferiori alla media). Per ogni punto, il rapporto fra un valore osservato di D e il suo valore medio, permette di calcolare un indice di aggregazione I_a , in cui $I_a = 1$ indica che i conteggi sono distribuiti in modo casuale, mentre $I_a > 1$ indica un'aggregazione in *cluster*. Questi parametri consentono di applicare anche un test, per calcolare la probabilità P_a che i dati non siano distribuiti a caso (distribuzione random). Il metodo permette anche di calcolare un indice di associazione, I_m per confrontare diversi data-set, corrispondenti ad esempio ad una specie campionata in periodi diversi, due specie che condividono un habitat oppure l'associazione di una specie a un certo ambiente, quest'ultimo quantificabile con conteggi. L'indice I_m è calcolato combinando due indici intermedi, I_f (analogo a un indice di correlazione e privo di informazioni spaziali) e I_z (caratterizzato da informazioni spaziali) (vedi lavori specifici per i calcoli). Nell'esempio sotto riportato (Perry *et al.*, 1999), si prenda il punto A, con le coordinate (150;120) e caratterizzato da un valore di 27. Siccome il valore medio di abbondanza è 8,79 tale punto è un donatore. L'ampiezza del flusso per tale punto è 18,21 (= 27-8,79) (Figura 30 A).

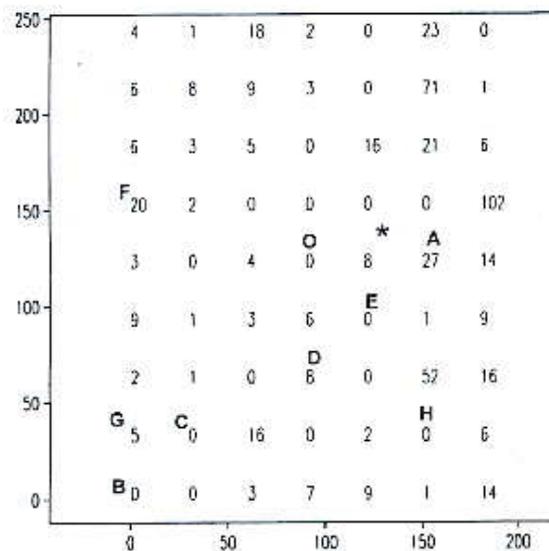


Figura 30. (A). Esempio di utilizzo di SADIE

Applicando i calcoli mediante l'algoritmo, questo flusso viene ripartito a 4 unità riceventi: 5,7 all'unità B (coordinate 0;0), 2,92 all'unità C (coordinate 30;30), 0,80 all'unità D (60;60) e 8,79 all'unità E (120;90) (Figura 30 B).

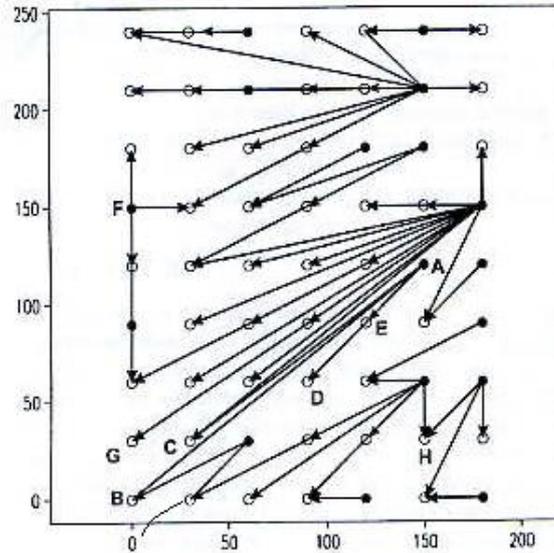


Figura 30 (B). Esempio di utilizzo di SADIE

Di seguito si riporta un'applicazione di SADIE, sulla pianta *Ambrosia dumosa* (Figura 31)

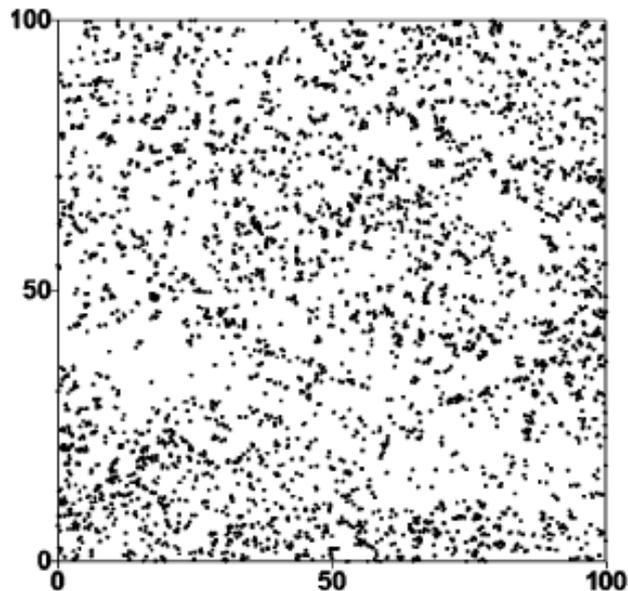


Figura 31. Esempio di applicazione di SADIE sulla pianta *Ambrosia dumosa*

Le chiazze rosso scuro rappresentavano *cluster* a forte aggregazione (*patchiness*) ($I_a > 1,5$), le chiazze blu scuro indicano elevati *gap* ($I_a < - 1,5$) (Figura 32).

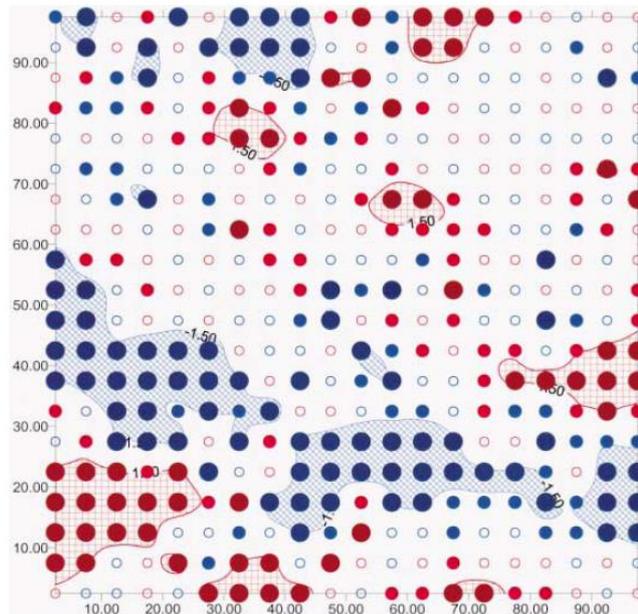


Fig. 32. Esempio di *red-blu analysis* su dati riferiti alla pianta *Ambrosia dumosa*, campionata in quadrati di 5x5 m.

Anche la tecnica SADIE non è esente da controindicazioni e limitazioni. Mentre la geostatistica pura ha lo scopo l'interpolazione spaziale per la costruzione di mappe di superficie, SADIE è più incentrato nella misura e nella identificazione del grado di non-casualità dei dati in ambito spaziale e schiaccia conteggi elevati isolati, che possono essere cruciali in una elaborazione in ambito geostatistico. Per un confronto di SADIE con altre tecniche di spazializzazione dei dati, si può consultare la *review* di Perry *et al.* (2002). In figura 33, vengono riportate applicazione di SADIE per spazializzare le popolazioni di Carabidi (da Holland *et al.* 2005).

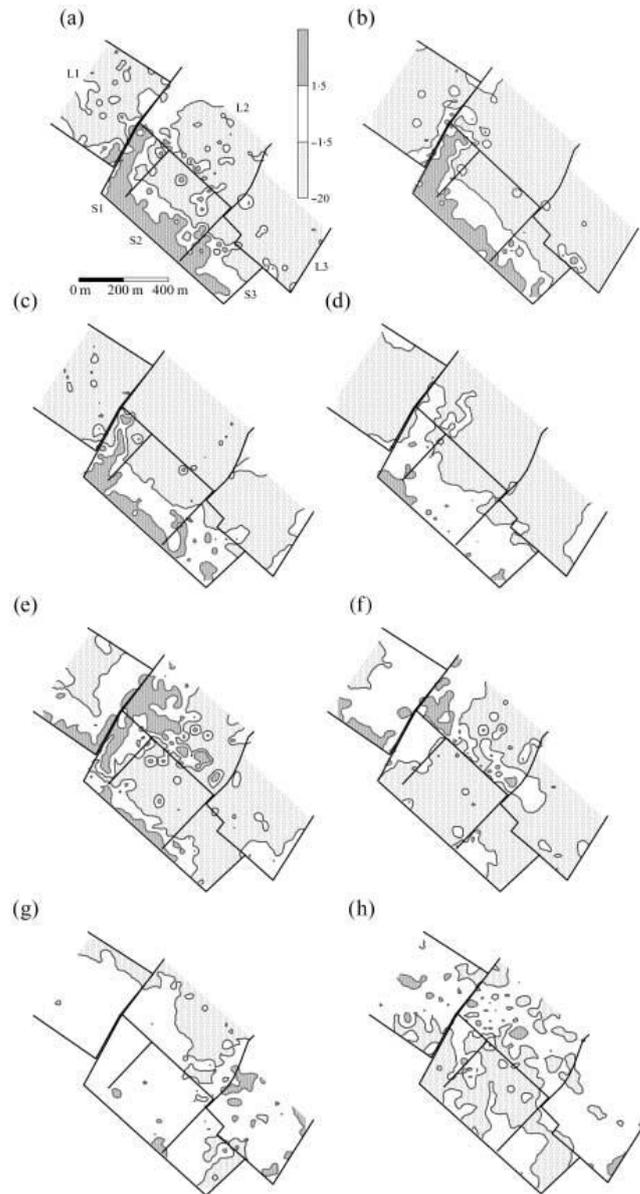


Figura 33. Aggregazione spaziale di *Poecilus cupreus* in diverse date. Le mappe indicano i clusters caratterizzati da elevati conteggi (chiazze più dense e scure, $v_i > 1,5$) e i gap caratterizzati da bassi conteggi (chiazze chiare, $v_j < -1,5$).

Considerazioni conclusive: perché un approccio spaziale potrebbe essere utile per la valutazione degli effetti causati all'artropodofauna non bersaglio dalla coltivazione di piante geneticamente modificate per la resistenza agli insetti?

Nelle pagine precedenti è stata evidenziata la grande diversità di approcci impiegati per la valutazione, in pieno campo, delle potenziali perturbazioni causate dalla coltivazione di PGM sull'artropodofauna non bersaglio. Tale diversità, che si riscontra in molti aspetti chiave degli studi come: la scelta dei *taxa* da campionare, le tecniche di raccolta dati, le dimensioni delle parcelle, la tipologia di analisi statistiche, è un riflesso della complessità dell'agroecosistema e dell'impossibilità intrinseca di valutare contemporaneamente tutte le componenti dell'artropodofauna. Questo implica che non è possibile definire una metodica d'elezione, vale a dire che non esiste un protocollo univoco su cui basarsi per l'analisi dei possibili effetti non target delle coltivazioni di PGM.

Poiché il singolo contesto ambientale e paesaggistico dove la PGM viene coltivata è determinante, le valutazioni sul protocollo da seguire devono essere fatte caso per caso. Ne consegue che si deve porre grossa attenzione nel trarre conclusioni generali dai risultati ottenuti in determinate aree geografiche e condizioni colturali.

Tra la grande varietà di approcci per la raccolta e l'analisi dei dati di campo in contesti GM non risultano ad oggi studi che utilizzino tecniche di spazializzazione. Questo tipo di approccio deve essere preso in considerazione con cautela e attenzione poiché si basa su alcuni assunti che influenzano fortemente la qualità e la buona riuscita del metodo. In certi casi, infatti, i presupposti per l'elaborazione spaziale dei dati (campionamenti georeferenziati, elevato numero di punti di raccolta, specie campionate poco mobili in relazione all'area studiata, ecc.) non risultano verificati negli studi di campo sugli effetti delle PGM.

L'accuratezza, la risoluzione e la grandezza dei data base GIS e dell'hardware necessario per gestirli sono stati finora dei fattori limitanti oggettivi, ma che nel corso del tempo sono stati in parte superati grazie all'avanzamento tecnologico degli ultimi anni (e.g. Lehmann *et al.*, 2002). Comunque l'accesso ai dati rimane la maggiore barriera all'uso dei GIS e dei modelli matematici per l'elaborazione dei dati spaziali. In altri casi la refrattarietà a un approccio di spazializzazione è probabilmente più imputabile alla relativa novità dell'applicazione di queste tecniche agli studi ecologici e alla ridotta possibilità di confronto con dati storici elaborati con metodi classici. Da considerare anche che questi metodi utilizzano un'analisi avanzata dei dati

che necessita software specializzati più complessi dei normali programmi per la statistica di routine.

Ciononostante, le molteplici procedure disponibili di analisi spaziale dei dati - dalla geostatistica classica, all'analisi SADIE, alla modellistica più complessa con simulazioni predittive su base spaziale - possono dare un valore aggiunto e accompagnare le elaborazioni classiche dei dati soprattutto in studi con parcelle di grandi dimensioni (meso e macro-scala) e in generale con ampie aree coltivate con piante GM (monitoraggi di controllo in fase di *post market*).

In particolare tramite un'analisi spaziale dei dati è possibile:

1. studiare l'aggregazione spaziale degli artropodi e i loro pattern di distribuzione su larga scala con i modelli di variabilità e le tecniche di interpolazione;
2. mappare con approcci probabilistici (come *indicator kriging*) le specie rare potenzialmente danneggiate da coltivazioni GM;
3. evidenziare anche effetti lievi, effetti bordo, ripercussioni a lungo raggio dal campo coltivato ed effetti a gradiente;
4. analizzare e interfacciare l'abbondanza degli artropodi con altre variabili (flusso genico, dispersione di polline GM, fattori climatici, tipi di suolo, corridoi ecologici, ecc);

I modelli utilizzati sono piuttosto complessi ma la loro interpretazione è diretta e questo risulta molto importante in fase decisionale, quando funzionari, politici e altro personale non tecnico deve trarre conclusioni integrando una gran quantità di dati scientifici con altre considerazioni di carattere socio-economico.

Bibliografia di base su teorie e tecniche per l'analisi spaziale dei dati

- Bacaro G., Chiarucci A., Ricotta C. 2006. A β -diversity measure based on the autocorrelation structure of community patterns, pp. 72-75. In B. Cafarelli, G. J. Lasinio and A. Pollice [eds.], *Spatial data methods for environmental and ecological process*, Foggia.
- Baumgartner J., Gilioli G. 2009. Overview on modelling tools used in management strategies for invasive insect species. *Boll. Zool. Agr. Bachic.*: in press.
- Benedetti R., Catenaro R., Postiglione P. 2006. Local Stationarity of Spatial Regression Models, pp. 60-63. In B. Cafarelli, G. J. Lasinio and A. Pollice [eds.], *Spatial data methods for environmental and ecological process*, Foggia.
- Bhatti A.U. 2004. Using Geostatistics to Find Optimum Plot Size for Field Research Experiments. *Communicatons in Soil Science and Plant Analysis*, 35: 2299-2310.
- Bodini A., Gilioli G., Manti F., Vacante V. 2006. Application of an information-based approach for large-scale management of pest metapopulation, pp. 87-90. In B. Cafarelli, G. J. Lasinio and A. Pollice [eds.], *Spatial data methods for environmental and ecological process*, Foggia.
- Burrough P.A. 2001. GIS and geostatistics: essential partners for spatial analysis. *Environmental and Ecological Statistics*, 8: 361-377.
- Cencetti C., de Rosa P., Fredduzzi A., Marchesini I. 2007. I processi di interpolazione spaziale nella ricostruzione della superficie piezometrica. Un'applicazione all'acquifero alluvionale dell'Alta Valtiberina. *Giornale di Geologia Applicata*, 6: 17-32.
- Cressie N. 1989. *Geostatistics. The American Statistician*, 43: 197-202.
- Fleischer S.J., Blom P.E., Weisz R. 1999. Sampling in Precision IPM: When the Objective Is a Map. *Phytopathology*, 89: 1112-1118.
- Gaetan C. 2004. Introduzione alla geostatistica, pp.1-111. <http://digilander.libero.it/statistici/ambientale.htm>
- Hengl T. 2006. The art of spatial prediction: from sampling to visualisation of results, pp. 109-112. In B. Cafarelli, G. J. Lasinio, A. Pollice [eds.], *Spatial data methods for environmental and ecological process*, Foggia.
- Krivoruchkoa K., Gotwayb C.A. 2003. *Using Spatial Statistics In GIS*, International Congress on Modelling and Simulation, Townsville, Australia.

- Lehmann A., Overton J.M., Austin M.P. 2002. Regression models for spatial prediction: their role for biodiversity and conservation. *Biodiversity and Conservation*, 11 (12): 2085-2092.
- Liebold A.M., Rossi R.E., Kemp W.P. 1993. Geostatistics and geographic information systems in applied insect ecology. *Annual Review of Entomology*, 38: 303-327.
- Mase S., Honma Y. 2006. Fitting variogram models using the cross validation method, pp. 49-52. In B. Cafarelli, G. J. Lasinio, A. Pollice [eds.], *Spatial data methods for environmental and ecological process*, Foggia.
- Matheron G. 1970. *The theory of regionalized variables and its applications*. Les Chaiers du Centre Morphologie Mathematique 5 Ecole des Mines de Paris.
- Matheron G. 1971. *La theorie des Fonctions Aleatoires Intrinsiques Generalisees*. Publication N-252 Centre de Geostatistique, Ecole des Mines de Paris, Fontainebleau.
- Perry J.N., Winder L., Holland J.M., Alston R.D. 1999. Red-blue plots for detecting cluster in count data. *Ecology Letters*, 2: 106-113.
- Perry J.N., Liebhold A.M., Rosenberg M.S., Dungan J., Miriti M., Jakomulska A., Citron-Pousty S. 2002. Illustrations and guidelines for selecting statistical methods for quantifying spatial pattern in ecological data. *Ecography*, 25: 578-600.
- Raspa G. 1995. *Dispense di Geostatistica Applicata - Capitolo 3: Geostatistica di base*.
- Rossi R.E., Mulla D.J., Journel A.G., Franz, E.H. 1992. Geostatistical tools modeling interpreting ecological spatial dependence. *Ecological Monographs*, 62: 277-314.
- Rossi R.E., Borth P.W., Tollefson J.J. 1993. Stochastic simulation for characterizing ecological spatial patterns and apprising risk. *Ecological Applications*, 3: 719-735.
- Rossi M. 2009. *Elementi di geostatistica applicata - Corso di laurea in Ingegneria per l'ambiente e il territorio*. In L. Tulipano [ed.], *Corso di Gestione e Controllo dei Sistemi Idrogeologici* (<http://geoingegneria.dits.uniroma1.it/people/mrossi/dispense/geostatistica.pdf>), Università degli Studi "La Sapienza" di Roma.
- Sharov A. 1996. *Quantitative population ecology. On-line lectures*. <http://home.comcast.net/~sharov/PopEcol/>;
- Sharov A. 1996. *Modelling Forest Insect Dynamics*, pp. 293-303. In E. Korpilahti, H. Mikkela and T. Salonen [eds.], *Caring for the forest: research in a changing world*. Gummerus Printing, Tampere, Finland.

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

Stein A., Ettema C. 2003. *An overview of spatial sampling procedures and experimental design of spatial studies for ecosystem comparisons. Agriculture, Ecosystems and Environment*, 94: 31-47.

Tolosana-Delgado R., Pawlowsky-Glahn V., Egozcue J.J., van den Boogaart K.G. 2005. *A Compositional Approach to Indicator Kriging*, pp. 651-656, *Proceedings of IAMG'05: GIS and Spatial Analysis*. 1.

Vendrusculo L.G., Magalhães P.S.G., Vieira S.R., Porto de Carvalho J.R. 2004. *Computational system for geostatistical analysis. Sci. Agric.*, 61: 100-107.

Wiens J.A. 1989. *Spatial Scaling in Ecology. Functional Ecology*, 3: 385-397.

Bibliografia su tecniche di analisi spaziale dei dati applicate allo studio delle popolazioni di artropodi

- Alexander C.J., Holland J.M., Winder L., Woolley C., Perry J. N. 2005. Performance of sampling strategies in the presence of known spatial patterns. *Annals of Applied Biology*, 146: 361-370.
- Augustin S, Guichard S, Svatoš A, Gilbert M. 2004. Monitoring the regional spread of the invasive leafminer *Cameraria ohridella* (Lepidoptera: Gracillariidae) by damage assessment and pheromone trapping. *Environmental Entomology*, 33: 1584-1592.
- Baldacchino F., Sciarretta A., Addante R. 2012. Evaluating the spatial distribution of *Dociostaurus maroccanus* egg pods using different sampling designs. *Bulletin of Insectology*, 65 (2): 223-231.
- Beckler A.A., Chandler L.D., French B.W. 2005. Using GIS in Areawide Pest Management: A Case Study in South Dakota. *Transactions in GIS*, 9: 109-127.
- Blackshaw R.P., Vernon R.S. 2006. Spatiotemporal stability of two beetle populations in non-farmed habitats in an agricultural landscape. *Journal of Applied Ecology*, 43: 680-689.
- Burgio G., Ferrari R, Ragolini G., Petacchi R., Pozzati M., Reggiani A., Furlan L., Galassi T. 2005. Analisi spaziale delle popolazioni di *Agriotes sordidus* Illiger e *Agriotes litigiosus* Rossi (Coleoptera Elateridae) mediante geostatistica e GIS: primi risultati di un'indagine eseguita in Emilia Romagna. *Informatore Fitopatologico*, 4: 53-58.
- Carriere Y., Ellsworth P.C., Dutilleul P., Eilers-Kirk C., Barkley V., Antilla L. 2005. A GIS-based approach for areawide pest management: The scales of *Lygus hesperus* movements to cotton from alfalfa, weeds and cotton. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 118: 203-210.
- Cesaroni D., Matarazzo P., Allegrucci G., Sbordoni V. 1997. Comparing patterns of geographic variation in cave crickets by combining geostatistic methods and Mantel tests. *Journal of Biogeography*, 24: 419-431.
- Dauber J., Purtauf T., Allspach A., Frisch J., Voigtländer K., Volkmar W. 2005. Local vs. landscape controls on diversity: a test using surface-dwelling soil macroinvertebrates of differing mobility. *Global Ecology and Biogeography*, 14: 213-221.
- de la Peña N.M., Butet A., Delettre Y., Morant P., Burel F. 2003. Landscape context and carabid beetles (Coleoptera: Carabidae) communities of hedgerows in western France. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 94: 59-72.

- De Luigi V. 2009. *Analisi spaziale dei dati entomologici in ambiente GIS: prospettive di utilizzo nell'agricoltura di precisione*, *Entomologia Agraria. Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna*.
- Ferguson A.W., Barari H., Warner D. ., Campbell J.M., Smith E.T., Watts N.P., Williams I.H. 2006. *Distributions and interactions of the stem miners *Psylliodes chrysocephala* and *Ceutorhynchus pallidactylus* and their parasitoids in a crop of winter oilseed rape (*Brassica napus*)*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119: 81-92.
- Ferrari R., Pozzati M., Reggiani A., Zucchi L., Burgio G. 2005. *Il monitoraggio degli Elateridi in azienda*. *Agricoltura*: 99-101.
- Gilbert M., Grégoire J.C., Freise J.F., Heitland W. 2004. *Long-distance dispersal and human population density allow the prediction of invasive patterns in the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella**. *Journal of Animal Ecology*, 73: 459-468.
- Gilbert M., Guichard S., Freise J., Grégoire J.C., Heitland W., Straw N., et al. 2005. *Forecasting *Cameraria ohridella* invasion dynamics in recently invaded countries: from validation to prediction*. *Journal of Applied Ecology*, 42: 805-813.
- Gilbert M., Svatos A., Lehmann M., Bacher S. 2003. *Spatial patterns and infestation processes in the horse chestnut leafminer *Cameraria ohridella**. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 107: 25-37.
- Gribko L.S., Liebhold A. M., Hohn M.E. 1995. *Model to predict gipsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) defoliation using kriging and logistic regression* *Environmental Entomology*, 24: 529-537.
- Holland J.M., Thomas C.F.G, Birkett T., Southway S. 2007. *Spatio-temporal distribution and emergence of beetles in arable fields in relation to soil moisture*. *Bulletin of Entomological Research*, 97: 89-100.
- Holland J.M, Birkett T., Begbie M., Southway S., Thomas C.F.G. 2003. *The spatial dynamics of predatory arthropods and the importance of crop and adjacent margin habitats*, pp. 65-70. In Rossing W.A.H., Poehling, H.M.and G. Burgio [eds.], *Landscape management for Functional Biodiversity*. IOBC/WPRS Bull.
- Holland J.M., Thomas C.F.G., Birkett T., Southway S., Oaten H. 2005. *Farm-scale spatiotemporal dynamics of predatory beetles in arable crops*. *Journal of Applied Ecology*, 42: 1140-1152.

- Holland J.M., Winder L., Woolley C., Alexander C.J., Perry J.N. 2004. *The spatial dynamics of crop and ground active predatory arthropods and their aphid prey in winter wheat. Bulletin of Entomological Research, 94: 419-431.*
- Ifoulis A., Savopoulou-Soultani M. 2006. *Use of geostatistical analysis to characterize the spatial distribution of European Vine Moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae in northern Greece. Environmental Entomology, 35: 497-506.*
- Liebholt A., Luzader E., Reardon R., Bullard A., Roberts A., Ravlin W.F., S. Delost, B. Spears. 1996. *Use of geographic information system to evaluate regional treatment effects in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantridae) management program Journal of Economic Entomology, 89: 1192-1203.*
- Liebholt A., Luzader E., Reardon R., Roberts A., Ravlin W.F., Sharov A., Zhou G. 1998. *Forecasting gypsy moth (Lepidoptera, Lymantridae) defoliation with geographical information system. Journal of Economic Entomology, 91: 464-472.*
- Morin R.S., Liebholt A.M., Luzader E.R., Lister A.J., Gottschalk K.W., Twardus D.B. 2005. *Mapping Host-Species Abundance of Three Major Exotic Forest Pests, pp. 1-15. In U. F. Service [ed.], Northeastern Research Station NE-726.*
- Park Y.L., Obrycki J.J. 2004. *Spatio-temporal distribution of corn leaf aphids (Homoptera: Aphididae) and lady beetles (Coleoptera: Coccinellidae) in Iowa cornfields. Biological Control, 31:210-217.*
- Pearson D.L., Carroll S.S. 1998. *Global patterns of species richness: spatial models for conservation planning using bioindicators and precipitation data. Conservation Biology, 12: 809-821.*
- Petacchi R., Ragolini G. 2004. *L'Olivicoltura del Lazio. La mosca delle Olive nel Territorio del Lazio. Regione Lazio.*
- Ragolini G. 2005. *Utilizzo delle Tecniche di Analisi Spaziale e della Tecnologia GIS per lo Studio delle popolazioni di Insetti Fitofagi, con particolare riferimento all'Agroecosistema Oliveto Calisse di Scienze Sperimentali - Settore di Agraria Scuola Superiore Sant'Anna Pisa.*
- Ramilli F. 2006. *Utilizzo di artropodi come bioindicatori nell'agroecosistema: prospettive sull'utilizzo dell'analisi spaziale dei dati su diverse scale, Entomologia Agraria Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Bologna.*

Il Campionamento dell'artropodofauna per il monitoraggio ambientale

- Ramilli F., Burgio G., Fabbri R., Vignudelli M., Rossi P. 2006. L'Importanza delle aree di compensazione ecologica (ACE). *Agribusiness Paesaggio & Ambiente*, 9: 147-153. Pisa.
- Schotzko D.J., Knudsen G.R. 1992. Use of geostatistics to evaluate a spatial simulation model of aphid population dynamics. *Environmental Entomology*, 21: 1271-1282.
- Sciarretta A., Burgio G., Petacchi R. 2003. Spatial aspects in entomological experiments on landscape management. *IOBC/WPRS Bull.*, 26: 139-144.
- Sciarretta A., Trematerra P., Baumgärtner J. 2001. Geostatistical Analysis of *Cydia funebrana* (Lepidoptera: Tortricidae) Pheromone Trap Catches at Two Spatial Scales. *American Entomologist*, 47: 174-184.
- Sharov A.A., Liebhold A.M. 1998. Quantitative analysis of gypsy moth spread in the Central Appalachians, pp. 99-110. In J. Braumgartner, P. Brandmayer, B. F. J. Manly [Eds.], *Population and community ecology for insect management and conservation*. Balkema, Rotterdam.
- Thomas, C.F.G., Parkinson, L., Griffiths, G.J.K., Fernandez Garcia A., Marshall E.J.P. 2001. Aggregation and temporal stability of carabid beetle distributions in field and hedgerow habitats. *Journal of Applied Ecology*, 38: 100-116.
- Toepfer S., Ellsbury M. M., Eschen R., Kuhlmann U. 2007. Spatial clustering of *Diabrotica virgifera virgifera* and *Agriotes ustulatus* in small-scale maize fields without topographic relief drift. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 124: 61-75.
- Trematerra P., Gentile P., Sciarretta A. 2004. Spatial Analysis of Pheromone Trap Catches of Codling Moth (*Cydia pomonella*) in Two Heterogeneous Agro-ecosystems, Using Geostatistical Techniques. *Phytoparasitica*, 32: 325-341.
- Trematerra P., Sciarretta A., Paula M.C.Z., Lazzari S.M.N. 2004. Spatio-temporal analysis of insect pests infesting a paddy rice storage facility in Brazil. *Neotropical Entomology*, 33:469-479.
- Winder L., Alexander C.J., Holland J.M., Symondson W.O.C., Perry J.N., Woolley C. 2005. Predatory activity and spatial pattern: the response of generalist carabids to their aphid prey. *Journal of Animal Ecology*, 74: 443-454.
- Winder L., Alexander C.J., Holland J.M., Woolley C., Perry J.N. 2001. Modelling the dynamic spatio-temporal response of predators to transient prey patches in the field. *Ecology Letters*, 4: 568-576.

Woldewahid G., van der Werf W., van Huis A., Stein A. 2004. Spatial distribution of populations of solitary adult desert locust (Schistocerca gregaria Forsk.) on the coastal plain of Sudan. Agricultural and Forest Entomology, 6: 181-191.

Zhou G., Liebhold A. 1995. Forecasting the spatial dynamics of gypsy moth outbreaks using cellular transition models. Landscape Ecology, 10: 177-189.

Edito dall'ENEA
Unità Centrale Relazioni, Servizio Comunicazione

www.enea.it

Edizione a cura di: Maurizio Matera

Copertina: Cristina Lanari

Stampa: Laboratorio Tecnografico ENEA – Frascati

Giugno 2013



ENEA

Agenzia nazionale per le nuove tecnologie,
l'energia e lo sviluppo economico sostenibile

www.enea.it