

## Ricerche su un metodo di conteggio delle popolazioni di Afidi

(Studi del Gruppo di lavoro del C.N.R. per la lotta integrata  
contro i nemici delle piante. XXXVIII)

## GENERALITÀ

Le ricerche intraprese, per mettere a punto un metodo di campionamento atto a dare un indice, con buona approssimazione, del grado di infestazione di Afidi (nel nostro caso *Aphis pomi* De G. e *Dysaphis plantaginea* Pass.) dannosi al Melo, hanno messo in evidenza la necessità di ricorrere ad un sistema di conteggio semplice, rapido e il più esatto possibile per determinare il numero di Afidi presenti sulle parti di piante prese in esame. Infatti l'attendibilità dei dati relativi è, evidentemente, funzione delle dimensioni del campione esaminato e, soltanto disponendo di un metodo che presenti contemporaneamente le suddette caratteristiche, è possibile esaminare campioni abbastanza grandi.

I diversi metodi adottati dai vari Autori per risolvere questo problema sono i seguenti:

a) determinazione volumetrica degli Afidi; b) determinazione ponderale; c) determinazione con griglia di Strickland (1954) (conteggio parziale); d) conteggio diretto (totale); e) conteggio effettuato mediante contatori elettronici.

I risultati ottenibili con tali metodi sono da noi discussi comparativamente per scegliere quello più rispondente a criteri di rapidità, semplicità ed esattezza.

Incominciamo ad esaminare il metodo volumetrico, il cui principio è quello di porre in relazione il numero degli individui col volume in cui sono contenuti. Tale metodo, sperimentato da Strickland (1954), consiste nel porre gli Afidi (*Brevicoryne brassicae* L.), preparati in modo non precisato dall'Autore, in alcool al 95%, nel versarli in un cilindro graduato ed infine nel leggere il volume quando gli Afidi si siano completamente depositati, cioè dopo 5 minuti. L'Autore poi, contando gli individui, rileva che in 1 cc possono essere contenuti rispettivamente 2.500 piccole « ninfe » <sup>(1)</sup>, 600 « ninfe » <sup>(1)</sup> di terza età e 250 adulti. In seguito a ciò egli afferma che sarebbe

(1) Secondo la terminologia proposta da Grandi (1945) si intenda « neanidi ».



necessaria, per ottenere dati omogenei con questo metodo, una proporzionalità costante nei vari periodi dell'anno fra i diversi stadi di vita degli Afidi; ma ciò è naturalmente impossibile poiché lo sviluppo di questi insetti è intimamente legato al clima e al vigore vegetativo delle piante. Pielou (1961) ripropone tale metodo per conteggiare le popolazioni di *Aphis pomi* De G., e indica un procedimento rapido per asportare gli Afidi dal campione: quest'ultimo va posto in ambiente confinato assieme ad una spugna imbevuta di 4 metil-2 pentanone, i cui vapori fanno sì che gli Afidi estraggano gli stilette boccali dai tessuti vegetali, rendendo in tal modo enormemente più agevole la raccolta in un recipiente con alcool a 70%. Inoltre egli suggerisce di usare, anziché semplici cilindri graduati, coni di sedimentazione Imhoff, perché tali recipienti, a bocca larga, consentono un più facile travaso degli Afidi, ed una più rapida sedimentazione in confronto di contenitori graduati di esiguo diametro.

Anche per il metodo ponderale, semplicemente indicato da Lamb (1958), possiamo ripetere le considerazioni già fatte per il metodo volumetrico, e cioè che in ogni grammo di Afidi il numero di individui contati varia in rapporto al loro stadio di sviluppo, mentre, come si è già accennato, nelle varie popolazioni che si susseguono nel tempo, la proporzione numerica tra gli individui nei diversi stadi può variare notevolmente.

Strickland, sempre nel 1954, propone un metodo per stimare sia il numero degli Afidi in toto che, se necessaria, la proporzione fra i diversi stadi presenti al momento del campionamento, contando una porzione definita del campione di Afidi raccolti. A tale scopo usa una griglia circolare da lui stesso progettata e realizzata, dividendo in modo particolare un disco di celluloidi di 15 cm di diametro in sub-settori di area uguale distribuiti non a caso ma sistematicamente. L'operazione pratica di conteggio si effettua illuminando dal di sotto, per trasparenza, la griglia, sulla quale, poi, si appoggia la capsula Petri nel cui fondo sono stati distribuiti uniformemente gli Afidi. La percentuale di errore nella valutazione numerica della popolazione è inversamente proporzionale al numero di sub-settori considerati, e dipende sempre anche dall'operatore. Il sistema non ci è sembrato soddisfacente per i nostri scopi.

Tralasciato il conteggio diretto che comporta un eccessivo dispendio di tempo, passiamo a quello effettuato mediante appositi contatori.

Esaminando il conta-Afidi elettronico messo a punto in Nuova Zelanda da Lowe e Dromgoole (1958), siamo stati attratti dalla rapidità e precisione ( $\pm 3\%$ ) che con questo apparecchio si potevano ottenere. Vista poi anche la possibilità di poterlo impiegare per il calcolo indiretto dell'indice di mortalità, ove si volesse valutare l'efficienza di un trattamento insetticida, si ritenne opportuno procedere alla sua realizzazione.



DESCRIZIONE DELL'APPARECCHIO CONTA-AFIDI ELETTRONICO DI LOWE E DROMGOOLE CON LE MODIFICHE DA NOI APPORTATE (TAV. I).

Il progetto originario comprendeva una unità di conteggio elettronica che è stata sostituita nel nostro modello con un conta-impulsi elettromeccanico, per ragioni di economia. In questo modo si è ottenuta una minore velocità di conteggio (25 impulsi al secondo), che però è risultata sufficiente allo scopo.

In base all'esperienza dei due Autori citati, si è costruito in un primo tempo un prototipo, in cui l'impulso di conteggio è ottenuto tramite la variazione di resistenza fra due elettrodi di platino inseriti diametralmente nella sezione più sottile di un tubo di vetro sagomato opportunamente. Entro tale tubo scorre una corrente d'acqua che trasporta gli Afidi. Al passaggio di ciascuno di essi fra gli elettrodi si ha la variazione di resistenza summenzionata. Nell'applicazione pratica del metodo di conteggio mediante elettrodi, si sono presentati notevoli inconvenienti:

- a) le difficoltà incontrate per una perfetta realizzazione dell'allineamento dei due elettrodi su uno stesso piano;
- b) l'eccessiva sensibilità alle impurità contenute nell'acqua di trasporto;
- c) la formazione sugli elettrodi di depositi che ne alterano il funzionamento.

Tali inconvenienti hanno sconsigliato di proseguire nell'uso di tale metodo di conteggio, per cui si è giunti alla progettazione di un dispositivo di conteggio fotoelettronico.

**Principio di funzionamento e contatore elettronico.** Gli impulsi elettrici, che comandano il contatore, sono ottenuti per mezzo di un raggio di luce che passa attraverso un tubo di vetro e colpisce un fotodiodo (fig. I).

Ogni Afide che passa lungo il tubo, provoca una variazione di intensità di luce e conseguentemente una diminuzione della corrente nel fotodiodo. A ogni passaggio di un Afide tra sorgente luminosa ed elemento sensibile si ha, quindi, un impulso negativo di tensione ai capi della resistenza di carico. Tale impulso costituisce il segnale di entrata per il contatore elettronico.

L'intensità luminosa della lampada è regolabile, mediante il comando « Lamp » posto sul pannello, in modo da ottenere il massimo di sensibilità in relazione alla lampada usata e ai valori scelti per la resistenza di carico e le tensioni di alimentazione del fotodiodo.

Il montaggio meccanico del sistema è stato realizzato con un blocco unico di ottone cromato, le cui dimensioni sono riportate nella fig. II. In detto blocco è stato praticato un foro longitudinale in cui viene collocato il tubo di vetro entro il quale passano gli Afidi avviati al conteggio.

In rapporto alle dimensioni degli artropodi da contare, il tubo di vetro può essere sostituito con altri di diametro interno differente.



Un altro foro praticato nel blocco di ottone, perpendicolarmente, di diametro minore di un millimetro, serve per ottenere un pennello luminoso concentrato sull'elemento sensibile.

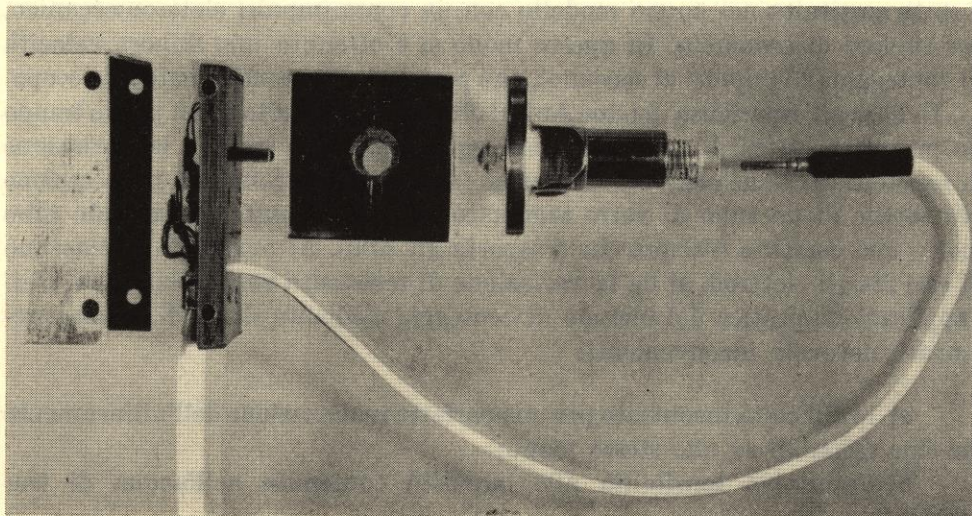


FIG. I.

Fotografia « esplosa » dell'apparato fotosensibile. Da sinistra a destra si notano in ordine: coperchio di protezione; placca di bakelite sulla quale è fissato il fotodiode (visibile a destra della stessa) e i relativi contatti; blocco per mezzo del quale avviene il montaggio meccanico del sistema; portalamпада con lampada e portacontatto avvitato nella parte opposta di quest'ultima; contatto.

Il contatore elettronico è costituito da un alimentatore di tensione stabilizzato, da un amplificatore di impulsi e da un conta-impulsi elettromeccanico a sei cifre, munito di azzeramento manuale, in grado di contare, come già detto, 25 impulsi al secondo.

Gli impulsi presenti ai morsetti d'ingresso « input » sono amplificati dal pentodo  $V_1$ , quindi vi è un discriminatore a basso livello  $V_2$ , che lascia passare soltanto i picchi positivi degli impulsi, eliminando le eventuali irregolarità dovute a disturbi.

Il livello di « tosatura » viene regolato per mezzo del comando 1 Discr., posto sul pannello dello strumento. Questo impulso positivo è di nuovo amplificato da  $V_3$  e invertito. Il condensatore di accoppiamento con  $V_4$  attenua notevolmente il ronzio e le altre componenti a bassa frequenza.  $V_4$  opera un'ulteriore amplificazione con la quale si ottiene un impulso positivo di notevole ampiezza, che viene filtrato da un filtro passa-banda ed applicato ad un secondo discriminatore  $V_5$ , il cui livello è regolato dal comando 2 Discr., posto sempre sul pannello, in base alle dimensioni degli Insetti (particolarmente Afidi) da contare.

Si ottengono così degli impulsi di ampiezza adatta a pilotare un circuito multivibratore « Trigger di Schmitt »  $V_6$ , che produce degli impulsi di 60



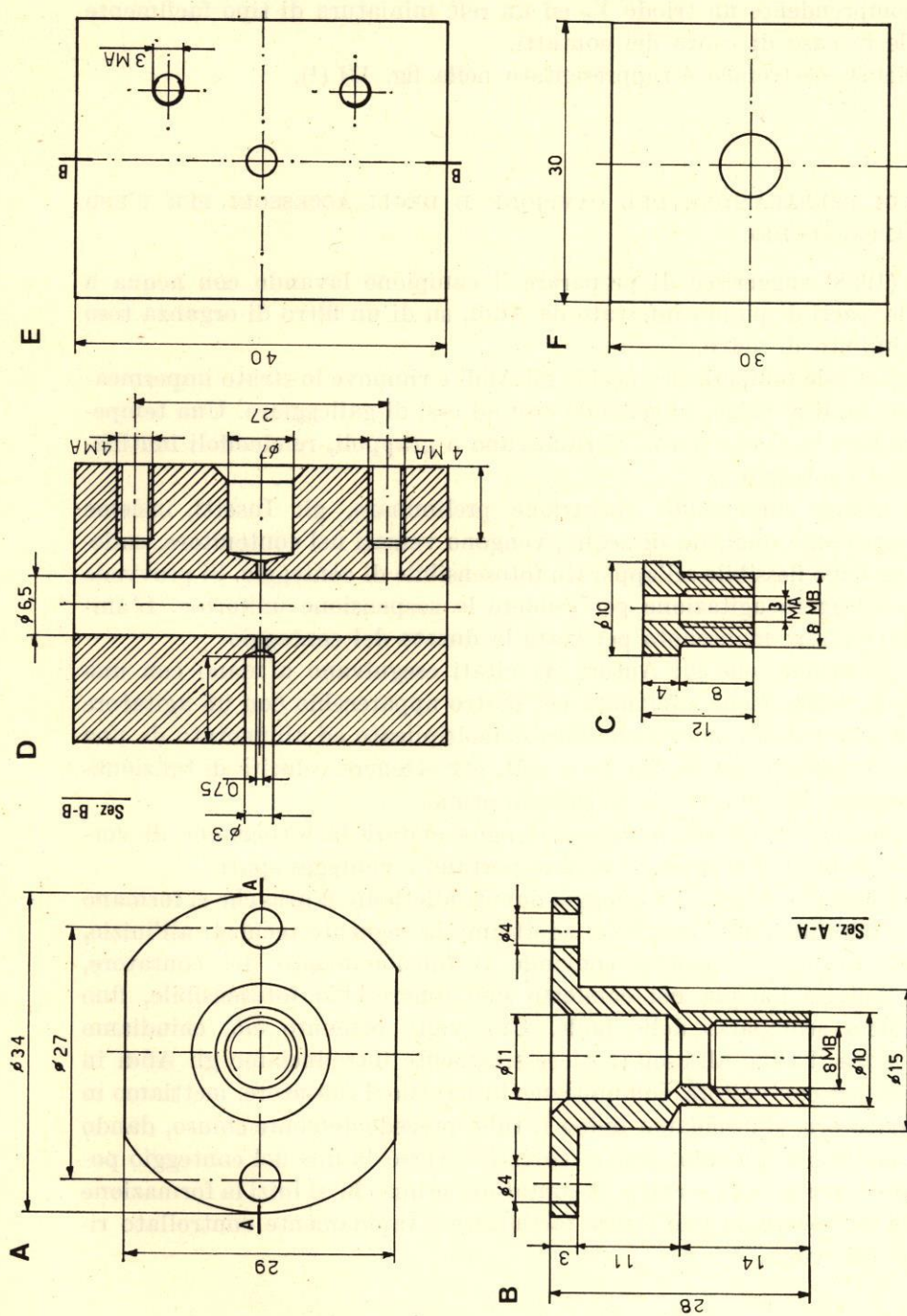


FIG. II.

Tavola analitica delle varie parti per il montaggio meccanico del sistema fotosensibile: A) portalamпада visto in proiezione ortogonale; B) lo stesso visto in sezione (nella parte superiore è avvitata la lampada in quella inferiore il portacontatto C); C) portacontatto; D) sezione del blocco di montaggio in cui sono visibili da sinistra a destra rispettivamente: l'alloggiamento per il fotodiodo, quello del tubo entro il quale scorrono gli Afidi per il conteggio e quello per la lampadina; E) prospetto frontale; F) prospetto laterale. Le dimensioni riportate in figura sono in millimetri.



volt. Per il comando del conta-impulsi elettromeccanico si è progettato un circuito comprendente un triodo  $V_7$  ed un relè miniatura di tipo facilmente sostituibile in caso di usura dei contatti.

Lo schema elettronico é rappresentato nella fig. III (1).

#### METODO DI PREPARAZIONE DEL CAMPIONE E DEGLI ACCESSORI PER L'USO DELL'APPARECCHIO.

Lowe (1958) suggerisce di preparare il campione lavando con acqua a 70-75° C le parti di pianta infestate da Afidi, su di un filtro di organza teso su di un imbuto di vetro.

L'acqua a tale temperatura uccide gli Afidi e rimuove lo strato impermeabile ceroso che li avvolge, impedendo così ad essi di galleggiare. Una temperatura più alta fa sì che questi si riuniscano a grappoli, rendendoli inutilizzabili per il conteggio.

Dopo questa importante operazione preliminare, gli Insetti, insieme con una opportuna quantità di acqua, vengono versati nel contenitore, collegato con un tubo flessibile all'apparato fotosensibile di conteggio. Si provvede poi ad una leggera agitazione per rendere la sospensione uniforme. L'uniformità deve essere mantenuta per tutta la durata del conteggio.

Tale operazione, che gli Autori già citati eseguivano a mano con una bacchetta di vetro, viene effettuata nel nostro apparecchio con un agitatore azionato da un piccolo motore elettrico demoltiplicato ed alimentato da una sorgente a tensione variabile fra 2 e 4 volt, per ottenere velocità di funzionamento comprese fra 30 e 80 giri al minuto primo.

Naturalmente in questa manovra bisogna evitare la formazione di vortici, perchè le bolle d'aria che si creano portano a conteggi spuri.

Per evitare, poi, errori di conteggio dovuti alle bolle d'aria che si formano all'inizio e alla fine dell'operazione, adottiamo la seguente tecnica: all'inizio, escludendo mediante apposito comando il funzionamento del contatore, facciamo defluire l'acqua nel condotto dell'apparecchio fotosensibile, fino alla completa scomparsa delle bolle. Una volta ottenuto ciò, chiudiamo con una pinza il tubo all'uscita; successivamente introduciamo gli Afidi in sospensione nel contenitore, commutiamo in servizio il contatore, mettiamo in azione l'agitatore, sblocciamo infine il tubo precedentemente chiuso, dando inizio al conteggio. Quando, poi, ci troviamo verso la fine del conteggio poniamo nuovamente fuori servizio il contatore, prima che si inizi la formazione delle bolle. Il conteggio può essere facilmente e rapidamente controllato ripetendolo più volte.

---

(1) Alla progettazione e alla realizzazione dell'apparecchio ha contribuito il Sig. Primo Forlivesi di Cesena.







Naturalmente il risultato dipende dall'accuratezza con cui si eseguono tutte le operazioni già descritte.

Un pregio indiscutibile dello strumento è la rapidità con cui si può passare al conteggio di Artropodi di grandezza diversa, sostituendo semplicemente il tubo di vetro con altri di diametro interno opportuno.

Naturalmente occorrerà anche una regolazione dei comandi di sensibilità (1 e 2 Discr.) dell'apparecchio.

#### CONCLUSIONI

Il conta-Afidi elettronico da noi realizzato differisce dal progetto originale di Lowe e Dromgoole (1958) nei seguenti punti:

1) L'unità di conteggio non è più elettronica, ma sostituita con un conta-impulsi elettromeccanico parimenti funzionale, ma più economico.

2) L'impulso di conteggio non è più ottenuto per variazione di resistenza fra due elettrodi, ma per mezzo di variazione di intensità luminosa in un sistema fotoelettronico.

3) Adozione di un agitatore a motore per rendere più uniforme la sospensione degli Afidi nel contenitore, dal quale vengono inviati al conteggio.

Con le modifiche di cui al n. 2 il nostro apparecchio ha acquistato, a nostro avviso, una elevata gamma di possibilità, per cui può essere adattato rapidamente per conteggio di Insetti e di altri Artropodi di dimensioni assai varie.

Nel contempo il complesso delle modifiche hanno reso l'apparecchio di più facile realizzazione e molto più economico, mentre viene conservata la precisione di conteggio ( $\pm 3\%$ ) propria dell'apparecchio originale.

#### Researches on a method of counting the Aphid populations.

#### CONCLUSIONS

The electronic counter for recording the number of Aphids realized by us, differs from the original project proposed by Lowe and Dromgoole (1958) in the following points:

1) The counting unit is no longer electronic, but it is substituted by an electromechanical impulse counter likewise working, but of lower cost.

2) The counting impulse is no longer obtained by variation of resistance between two electrodes, but by variation of light intensity in a photoelectronic system.

3) Use of a motor agitator to make more uniform the suspension of Aphids in the container from which they are sent to the counter.

Our apparatus, after the changes according to the point (2), has gained, in our opinion, a high range of possible uses, so that it can be rapidly adapted for counting insects and arthropods very various in size.



At the same time, the whole of changes has made the apparatus more easily realizable and cheaper, while it keeps precision of counting ( $\pm 3\%$ ) peculiar to the original apparatus.

PUBBLICAZIONI CITATE

- GRANDI G., 1945. - Nuove proposte nella terminologia zoologica. - *Mem. Accad. Scienze, Bologna*, 10, 2, 1944-45: 111-115.
- LAMB K. P., 1958. - Aphid Sampling - *The New Zealand Entom.*, 2: 6-11.
- LOWE A. D., DROMGOOLE W. V., 1958. - The development of an electronic Aphid-Counter. - *N. Z. J. Agr. Res.*, 1: 903-912.
- PIELOU D. P., 1961. - Note on a volumetric method for the determination of numbers of Apple Aphid, *Aphis pomi* Deg., on samples of Apple foliage. - *Canad. J. Pl. Sci.*, 41: 442-443.
- STRICKLAND A. H., 1954. - An Aphid counting grid. - *Plant Pathology*, 3: 73-75.



SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

TAV. I.

Apparecchio conta-Afdi visto frontalmente; da sinistra a destra: alimentatore a tensione variabile del motore che aziona l'agitatore; al centro dall'alto in basso: complesso agitatore, contenitore per gli Afdi che vengono inviati al conteggio; apparato fotosensibile, bevuta entro la quale vengono raccolti gli Afdi dopo il conteggio; contatore elettronico.



