

GIOVANNI G. BAZZOCCHI, STEFANO MAINI
Istituto di Entomologia "G. Grandi", Università di Bologna

Ruolo dei semiochimici volatili nella ricerca dell'ospite
da parte del parassitoide
Diglyphus isaea (Hymenoptera Eulophidae)
Prove olfattometriche (*)

INTRODUZIONE

È ormai accertato che i segnali chimici (semiochimici) giocano un ruolo primario per la ricerca della vittima da parte di insetti entomofagi, sia a breve che a lunga distanza (Vinson, 1976, 1981, 1984; van Alphen e Vet, 1986; Nordlund *et al.*, 1988). Gli odori che stimolano il comportamento di ricerca possono provenire dal fitofago, dalla sua pianta ospite o dall'interazione dei due livelli trofici (Takabayashi *et al.*, 1991; Steinberg *et al.*, 1993; Du *et al.*, 1996).

Pochi studi sono stati condotti riguardo la localizzazione di insetti fillominatori da parte di parassitoidi. A breve distanza le vibrazioni prodotte dai movimenti delle larve all'interno delle foglie possono essere percepite e sfruttate dai parassitoidi (Sugimoto *et al.*, 1988a; Meyhöfer *et al.*, 1994). Così come è possibile che siano utilizzati stimoli visivi (Sugimoto *et al.*, 1988a). L'impiego di segnali chimici da parte di parassitoidi di Ditteri Agromizidi è stato evidenziato per alcune specie. *Dapsilarthra rufiventris* (Nees), parassitoide di *Phytomyza ranunculi* Schrank, è attratto dalla pianta ospite del fitofago (*Ranunculus glaber* Makino), ma non distingue foglie danneggiate dal fitofago da foglie integre (Sugimoto *et al.*, 1988b). I Braconidi polifagi *Dacnusa sibirica* Telenga (Dicke e Minkenberg, 1991) e *Opius dissitus* Muesebeck (Petitt *et al.*, 1992) utilizzano, per la localizzazione dell'ospite, semiochimici volatili, emessi, rispettivamente, da foglie di pomodoro infestate da *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) e da foglie di *Phaseolus lunatus* L. infestate da *Liriomyza sativae* Blanchard.

L'Imenottero Eulofide *Diglyphus isaea* (Walker) è un ectoparassitoide paleartico largamente utilizzato, in Europa, nella lotta biologica contro *Liriomyza trifolii* (Burgess) (Diptera Agromyzidae). In studi condotti in una camera di scelta ad aria statica, il parassitoide non mostra preferenze tra due diversi complessi pianta-ospite che coinvolgono l'agromizide *Chromatomyia syngenesiae* (Hardy), e tuttavia

(*) Lavoro accettato il 15 dicembre 2000.

sceglie più frequentemente foglie infestate rispetto a foglie integre (Cheah e Coaker, 1992). Le risposte comportamentali, in un particolare olfattometro lineare, mostrano che il parassitoide risulta attratto da componenti volatili di foglie di fagiolo infestate da *L. trifolii*, ma anche di foglie danneggiate artificialmente (Finidori-Logli *et al.*, 1996).

Il presente studio si prefigge di chiarire se esistono e quali siano, tra le diverse componenti del complesso pianta-ospite fagiolo e *L. trifolii*, le fonti di composti volatili attrattivi per *D. isaea* e l'eventuale ruolo dell'esperienza dell'adulto.

MATERIALI E METODI

Materiale biologico

Le piante di fagiolo (*Phaseolus vulgaris* L., cv. "Taylor's Horticultural Nano") utilizzate nelle prove sperimentali erano coltivate singolarmente all'interno di armadi climatizzati programmati alle seguenti condizioni: temperatura 20-25°C, umidità relativa 70-80%, fotoperiodo L:D=16:8.

L. trifolii proveniva dall'allevamento allestito, sulla stessa pianta ospite e alle stesse condizioni climatiche, presso l'Istituto di Entomologia "G. Grandi" dell'Università di Bologna.

Gli individui di *D. isaea* utilizzati provenivano dalla biofabbrica italiana: Bioplanet (Cesena), dove viene allevato su *L. trifolii* e, come pianta ospite, fagiolo (*P. vulgaris*).

Olfattometro e procedura sperimentale

L'olfattometro a due vie e la procedura di valutazione dei dati comportamentali utilizzati nel presente lavoro, costituiscono una metodologia sperimentale ampiamente impiegata, con poche modificazioni, da diversi ricercatori in tutto il mondo (per esempio: Sabelis e van de Baan, 1983; Steinberg *et al.*, 1992; Potting *et al.*, 1995; Du *et al.*, 1996; Ngi-Song *et al.*, 1996; Bertschy *et al.*, 1997; Bernasconi *et al.*, 1998; Hern e Dorn, 1999).

L'olfattometro è fondamentalmente costituito da un tubo di vetro trasparente a forma di Y (lunghezza parte lineare: 20 cm, lunghezza di ciascun braccio: 15 cm, $\varnothing = 1$ cm, angolo compreso tra i due bracci 75°) e da due "camere degli odori", costituite da beute di vetro del volume di 500 ml, collegate, tramite tubi di teflon ($\varnothing = 0,5$ cm), ai due bracci distali del tubo a Y. Un flusso d'aria, generato da una pompa elettrica e purificato ed umidificato attraverso un filtro costituito da una beuta contenente acqua distillata, attraversa, veicolato da tubi di teflon, le "camere degli odori" e il tubo a Y. Il flusso è regolato attraverso due flussometri (0,1-1 l/min aria) posti a monte delle beute ospitanti le fonti di odore.

Il tubo a Y è illuminato tramite una lampada (100 W) posta ad una altezza di 1,2 m dal piano di appoggio dell'olfattometro, in corrispondenza con la biforcazione del tubo a Y. Allo scopo di diffondere la luce in modo più omogeneo lungo tutto il tubo, il piano di appoggio era rivestito da una superficie di colore bianco.

Gli insetti da saggiare erano posti singolarmente all'estremità del braccio principale del tubo a Y, all'interno di capsule di vetro (1,5 cm; $\varnothing = 5$ mm), chiuse ad una estremità con della rete. Se entro 5 minuti dall'introduzione, l'insetto non raggiungeva la biforcazione del tubo, gli veniva attribuita una "non scelta". Gli insetti che, al contrario, percorrevano tutta la prima parte del tubo (area di "non scelta"), si trovavano di fronte ad una scelta tra le due diverse direzioni possibili (bracci del tubo), corrispondenti a diversi odori. A tali insetti veniva attribuita una "prima scelta", a seconda della direzione intrapresa, e gli venivano assegnati fino ad 8 minuti (a partire dall'introduzione nel tubo a Y) per compiere una "scelta definitiva", raggiungere, cioè, l'estremità di uno dei due bracci dell'olfattometro (Fig. I).

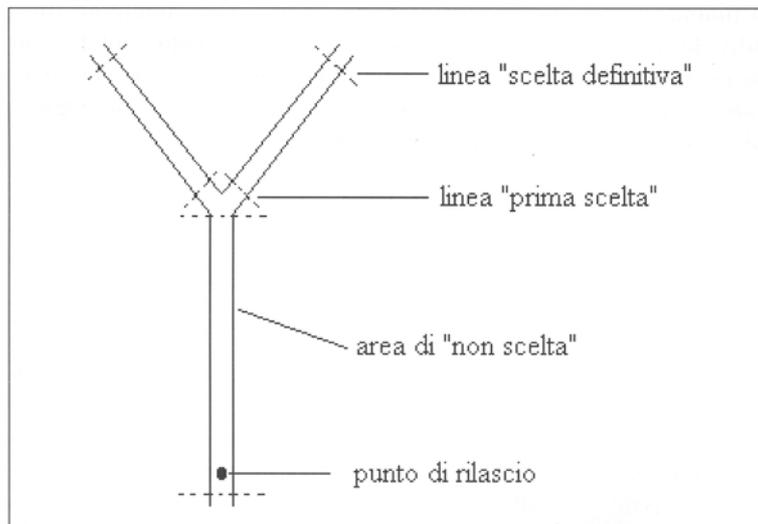


Fig. I. - Rappresentazione del tubo a Y e sua suddivisione funzionale.

Poiché nella zona centrale del tubo, in corrispondenza della biforcazione, si crea una turbolenza a causa della quale i due odori possono mischiarsi (van Alphen e Jervis, 1996), al fine della valutazione delle scelte degli insetti saggiati, sono state prese in considerazione le sole scelte definitive.

Le posizioni relative delle camere degli odori venivano invertite ogni 10 insetti saggiati e il tubo a Y veniva capovolto orizzontalmente in modo tale che a ciascuna fonte di odore corrispondesse sempre lo stesso braccio del tubo. Le fonti di odore erano sostituite ogni 15 insetti saggiati e, a ogni cambio, venivano attesi 10 minuti prima di riprendere la prova allo scopo di permettere alle sostanze volatili di diffondersi. Alla fine di ciascuna prova sperimentale, l'intera apparecchiatura posta a valle dei flussometri (camere degli odori, tubi di teflon, tubo a Y e accessori di raccordo) veniva lavata accuratamente con detergente, alcool etilico (95%) e acqua demineralizzata. L'eventuale influenza di stimoli visivi (Harris e Miller, 1983 e 1984) era evitata schermando, attraverso un foglio bianco, le

camere degli odori. La cattura degli insetti da saggiare, e la loro introduzione nelle capsule, veniva eseguita 20 minuti prima dell'inizio della prova, in modo da evitare che il trauma causato dall'operazione ne condizionasse l'andamento.

In conseguenza dei risultati di alcune prove preliminari gli esperimenti sono stati condotti alle seguenti condizioni sperimentali: flusso d'aria: 2 l/min (1 l/min per ciascun braccio); temperatura: $25\pm 2^\circ\text{C}$; UR: $50\pm 20\%$; intensità della luce: 700-1000 lux; UR dell'aria all'uscita del tubo a Y: $90\pm 10\%$.

Prove sperimentali

Sono stati condotti tredici esperimenti (Tab. 1), in ciascuno dei quali cinquanta femmine inesperte, esperte e, in un caso, maschi del parassitoide avevano la possibilità di scegliere, all'olfattometro a Y, tra una delle componenti del complesso pianta ospite e aria purificata (no odore). Per "femmine inesperte" si intende individui che non hanno, allo stato adulto, mai avuto contatti con l'ospite. Per "femmine esperte", parassitoidi che hanno avuto contatto con il complesso pianta ospite e che hanno effettuato almeno una parassitizzazione. Ogni individuo veniva utilizzato nelle prove sperimentali una sola volta.

Tab. 1. - Protocollo sperimentale

| Esp. | Insetti saggiati | N | Olfattometro a Y | |
|------|-------------------|----|------------------------------------|-----------|
| | | | Braccio 1 | Braccio 2 |
| 1 | Femmine inesperte | 50 | Foglia integra | No odore |
| 2 | Femmine esperte | 50 | Foglia integra | No odore |
| 3 | Femmine inesperte | 50 | Foglia danneggiata artificialmente | No odore |
| 4 | Femmine esperte | 50 | Foglia danneggiata artificialmente | No odore |
| 5 | Femmine inesperte | 50 | Foglia con punture di nutrizione | No odore |
| 6 | Femmine esperte | 50 | Foglia con punture di nutrizione | No odore |
| 7 | Femmine inesperte | 50 | Larve <i>L. trifolii</i> | No odore |
| 8 | Femmine esperte | 50 | Larve <i>L. trifolii</i> | No odore |
| 9 | Femmine inesperte | 50 | Adulti di <i>L. trifolii</i> | No odore |
| 10 | Femmine esperte | 50 | Adulti di <i>L. trifolii</i> | No odore |
| 11 | Femmine inesperte | 50 | Foglia minata con larve | No odore |
| 12 | Femmine esperte | 50 | Foglia minata con larve | No odore |
| 13 | Maschi | 50 | Foglia minata con larve | No odore |

Le fonti di odori saggiate sono state: foglie di fagiolo integre (esperimenti 1 e 2), danneggiate artificialmente tramite uno spillo entomologico (esperimenti 3 e 4), danneggiate dalle punture di nutrizione del fitofago (esperimenti 5 e 6). È stata, inoltre, verificata l'attrattività delle larve di terza età di *L. trifolii* prelevate dalle foglie infestate della pianta ospite e poste su carta bibula imbevuta di acqua (esperimenti 7 e 8) e di adulti dell'agromizide prelevati dalle gabbie di allevamento (esperimenti 9 e 10). Infine, è stato saggiato l'intero complesso pianta

ospite costituito da foglie di fagiolo infestate da larve di terza età del minatore (esperimenti 11, 12). Di quest'ultimo è stata verificata l'attrattività anche nei confronti dei maschi del parassitoide (esperimento 13).

Analisi statistica

Per ciascun esperimento, il confronto statistico tra le due possibili scelte da parte dei parassitoidi è stato effettuato attraverso un test χ^2 per un campione ("frequenze osservate vs frequenze attese"), sul totale degli individui che hanno compiuto una scelta definitiva. Il comportamento relativo dei diversi gruppi di insetti (femmine inesperte, femmine esperte, maschi) saggiati per una stessa fonte di odori è stato valutato attraverso un test χ^2 effettuato con tabelle di contingenza 2x2 (esperimenti 1-2, 3-4, 5-6, 7-8, 9-10) e 2x3 (esperimenti 11-12-13).

RISULTATI

Le foglie di fagiolo non danneggiate o danneggiate artificialmente non sembrano costituire fonte di attrazione per il parassitoide. In nessuna delle prove effettuate con tali fonti di odori (esperimenti 1, 2, 3, 4), infatti, è stata verificata una differenza significativa tra il numero di insetti diretti nei due bracci dell'olfattometro (Fig. II e III).

La foglia di fagiolo danneggiata dalle punture di nutrizione degli adulti di *L. trifolii*, è risultata, al contrario, una fonte di odori fortemente attrattiva sia per le femmine inesperte (72% risposte positive alla fonte di odori, $P < 0,05$) che per quelle esperte (90% risposte positive, $P < 0,01$) (Fig. IV). Sebbene la risposta dei due gruppi di insetti saggiati sia stata qualitativamente dello stesso segno (attrazione da parte della fonte di odori), è stato possibile rilevare una differenza significativa di comportamento tra i due gruppi di insetti ($P < 0,05$), risultando le femmine esperte attratte in numero maggiore rispetto alle femmine inesperte.

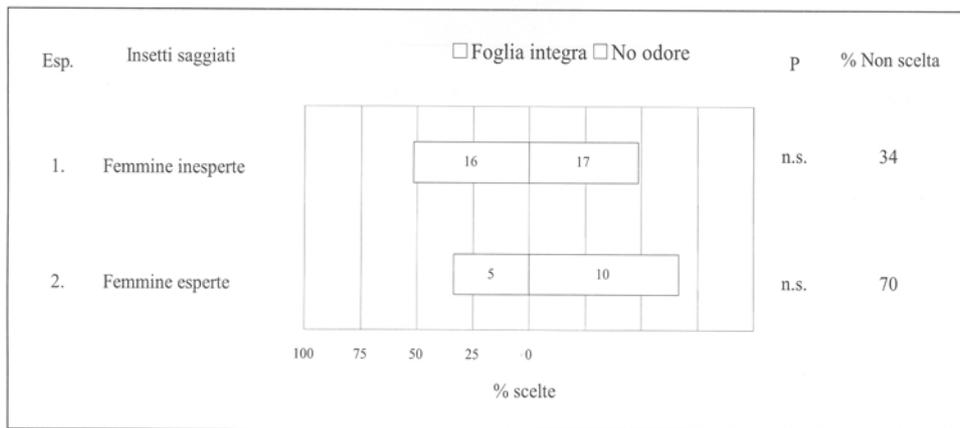


Fig. II. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi da foglie integre di fagiolo.

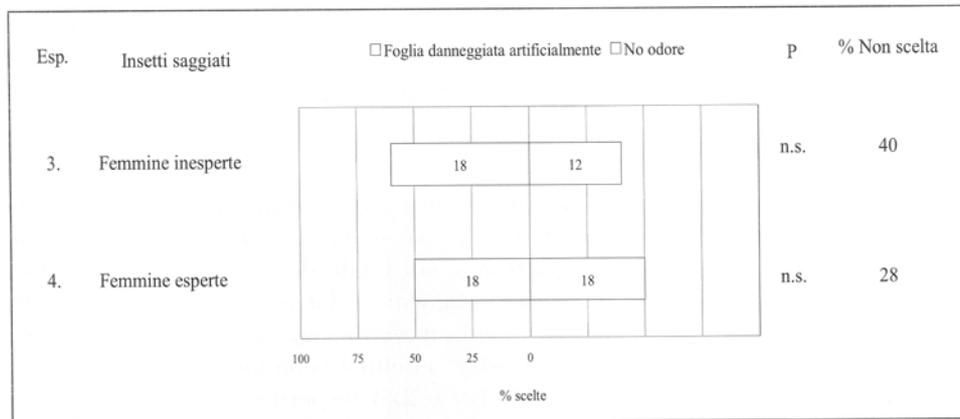


Fig. III. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi da foglie di fagiolo danneggiate artificialmente.

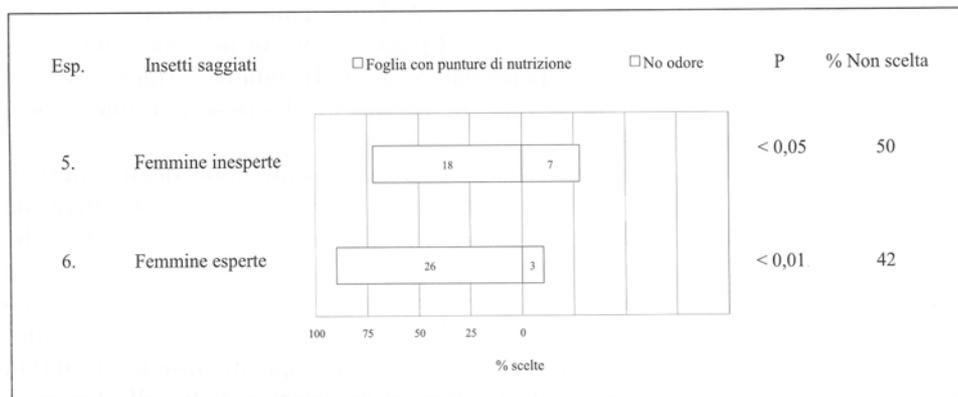


Fig. IV. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi da foglie di fagiolo danneggiate da punture di nutrizione di adulti di *Liriomyza trifolii*.

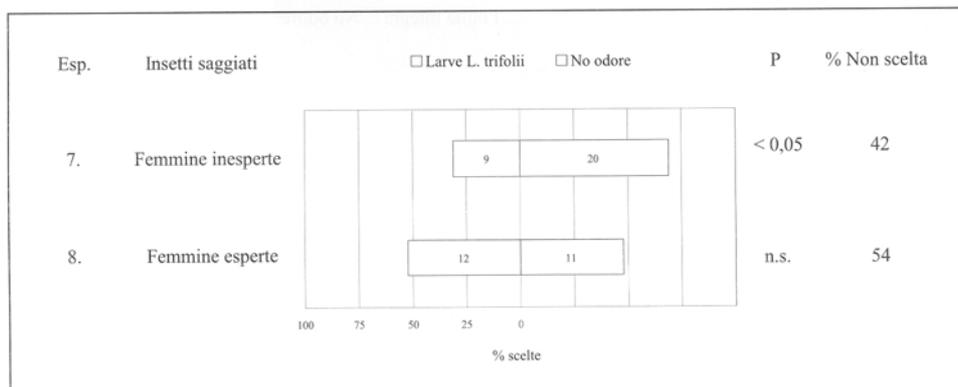


Fig. V. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi da larve isolate di *Liriomyza trifolii*.

Nonostante costituiscono l'ospite idoneo alla parassitizzazione di *D. isaea*, le larve di terza età di *L. trifolii* non sono risultate attrattive per il parassitoide. Nel caso delle femmine inesperte, al contrario, circa il 70% degli insetti si sono diretti in direzione opposta rispetto alla fonte dell'odore (Fig. V).

L'odore emesso dai fitofagi allo stato adulto viene, invece, riconosciuto dalle femmine esperte. L'88% di queste femmine ($P < 0,01$), infatti, risultano attratte dagli adulti di *L. trifolii*. Le femmine inesperte, al contrario, non hanno mostrato attrazione (Fig. VI).

La fonte di odori risultata maggiormente attrattiva è l'intero complesso pianta ospite. Tutti i gruppi di insetti saggiati (femmine inesperte, esperte e maschi) mostrano, all'olfattometro, una marcata preferenza per le foglie minate con larve rispetto ad aria pura. Le femmine esperte, in particolare, hanno risposto in modo estremamente evidente: il 91% dei parassitoidi che hanno compiuto una scelta si è diretto verso il complesso pianta-ospite (Fig. VII). È stato possibile rilevare una differenza (quantitativa) tra il comportamento delle femmine esperte e quello degli altri due gruppi di insetti (femmine inesperte e maschi) ($P < 0,05$).

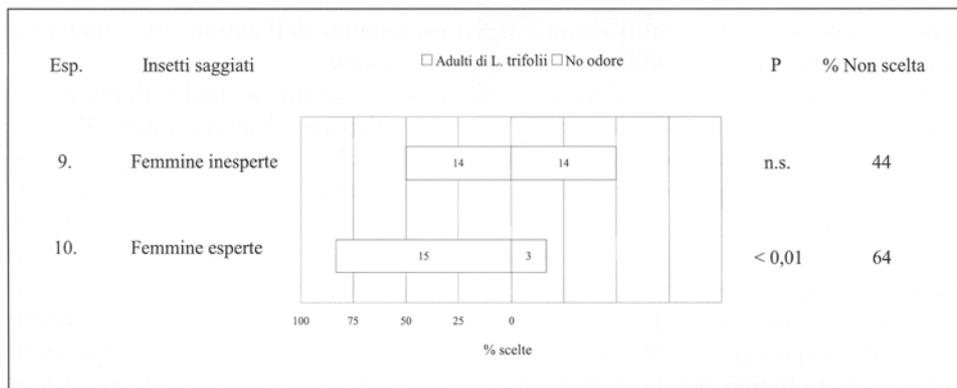


Fig. VI. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi da adulti di *Liriomyza trifolii*.

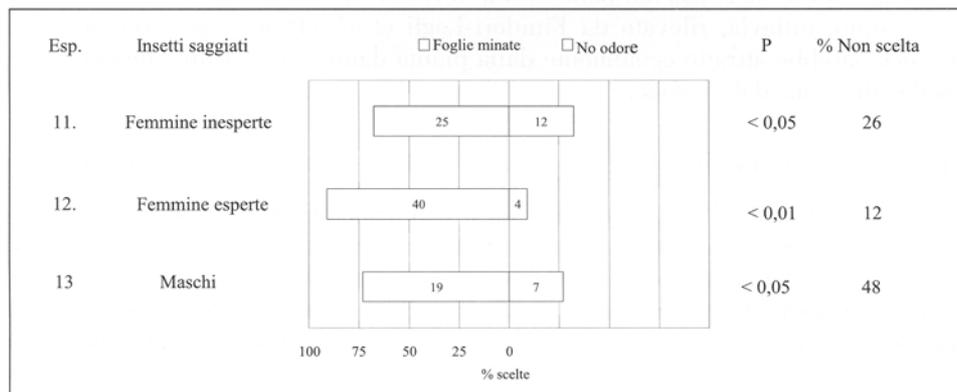


Fig. VII. - Risposte del parassitoide *Diglyphus isaea* ai composti volatili emessi dal complesso pianta ospite: fagiolo - *Liriomyza trifolii*.

DISCUSSIONE

Importanza delle diverse componenti del complesso pianta-ospite

I risultati descritti mettono in evidenza l'importanza dei semiochimici volatili nel comportamento di ricerca dell'ospite da parte di *D. isaea*, così come verificato ormai per decine di parassitoidi (Nordlund *et al.*, 1988; Turlings *et al.*, 1990; Vet e Dicke, 1992; Turlings *et al.*, 1993).

Le due componenti basilari del complesso pianta-ospite: foglie di fagiolo integre e larve di terza età di *L. trifolii*, prese singolarmente, non risultano fonti attrattive per il parassitoide. Tali risultati sono in accordo con quanto riportato da Finidori-Logli *et al.* (1996). Le larve di terza età sono gli effettivi ospiti del parassitoide, tuttavia *D. isaea* è un parassitoide particolarmente polifago e per di più solo recentemente associato a *L. trifolii*. Tali fattori rendono, evidentemente, l'“informazione” derivante dall'odore di un suo specifico ospite relativamente poco importante (Vet e Dicke, 1992). In condizioni naturali, inoltre, le larve di *L. trifolii* vivono all'interno delle foglie della pianta ospite e sono, quindi, percepibili con difficoltà dal parassitoide attraverso gli odori. Tuttavia Finidori-Logli *et al.* (1996) riportano che sostanze volatili estratte dagli escrementi dell'agromizide, anch'essi contenuti nelle mine, risultano attrattivi per *D. isaea*.

Negli esperimenti che costituiscono il presente lavoro, le foglie danneggiate artificialmente non rappresentano una fonte attrattiva per il parassitoide. Mentre, oltre alle foglie contenenti le larve di terza età del minatore, sono risultate attrattive per il parassitoide anche foglie danneggiate dalle sole punture di nutrizione degli adulti. *D. isaea* ha mostrato, dunque, di distinguere perfettamente le foglie attaccate dal fitofago da quelle danneggiate meccanicamente. Un risultato analogo a quello riportato da diversi autori per altri sistemi tritrofici (per una ampia recensione critica, Dicke, 1994). Esiste quindi la possibilità che le piante di fagiolo rispondano attivamente al danno causato dal fitofago producendo sostanze di richiamo per l'entomofago (“sostanze SOS”) (Sabelis e Dicke, 1985; Dicke e Sabelis, 1988; Turlings *et al.*, 1990). L'utilizzo delle piante danneggiate dal fitofago come fonte di “informazione” dovrebbe essere, per altro, particolarmente favorevole nel caso dei parassitoidi di insetti iponomobionti. Tale fenomeno non è stato, tuttavia, rilevato da Finidori-Logli *et al.* (1996), che riportano che *D. isaea* sarebbe attratto egualmente dalla pianta danneggiata artificialmente e da quella attaccata dal fitofago.

Effetto dell'esperienza del parassitoide (precondizionamento)

Coaker e Cheah (1993) riportano che il condizionamento larvale e dell'adulto di *D. isaea* su una data pianta ospite, influenza molto poco la successiva selezione, da parte della femmina, della pianta su cui ricercare il proprio ospite. Non così un altro parassitoide di agromizidi: *O. dissitus*, che appare, invece, influenzato dal complesso pianta-ospite su cui si è sviluppato. Per tale parassitoide un'esperienza di ovideposizione su una diversa pianta ospite, causa, inoltre, un drammatico cambio di preferenze che sembra indicare un fenomeno di “apprendimento associativo” (Petitt *et al.*, 1992). I risultati del presente lavoro mostrano che

l'esperienza acquisita dalle femmine adulte (precedenti incontri con l'ospite e parassitizzazioni) gioca un ruolo importante anche per *D. isaea*. In tutti gli esperimenti in cui il parassitoide ha risposto alle fonti di odori saggiate, infatti, le femmine esperte sono sempre risultate maggiormente stimolate rispetto alle femmine inesperte. Quando la fonte di odori costituita da adulti del fitofago, la risposta dei due gruppi di insetti è risultata addirittura di segno opposto: femmine esperte attratte, femmine inesperte non attratte.

Discussione generale e possibili sviluppi

D. isaea è un parassitoide generalista di endofiti di solito molto polifagi (come anche *L. trifolii*). Tali caratteristiche suggerirebbero una scarsa utilità, dal punto di vista adattativo, dell'utilizzo di allelochimici volatili, e di fenomeni di apprendimento dall'esperienza, a causa della grande varietà di informazioni chimiche coinvolte (Vet e Dicke, 1992). I risultati presentati dimostrano, tuttavia, che, anche in assenza di stimoli visivi o di altro tipo, il parassitoide risulta fortemente attratto dagli odori emessi dal complesso pianta ospite fagiolo e *L. trifolii*. Tanto che si può ipotizzare che sia questo il principale metodo di orientamento utilizzato dal parassitoide nella ricerca dell'ospite.

Molti studi riguardanti l'orientamento mediato da sostanze chimiche volatili hanno messo in rilievo l'importanza del contesto multitrofico nel quale gli entomofagi si trovano ad operare (Price *et al.*, 1980; Bin, 1991; Vet e Dicke, 1992). Anche nel caso di *D. isaea* diverse componenti del complesso pianta ospite sono risultate attrattive, ma l'intero complesso risulta essere di gran lunga la fonte che maggiormente stimola l'attività di ricerca del parassitoide. È, quindi, ipotizzabile una risposta multipla e integrata dell'imenottero a diversi stimoli olfattivi emessi sia dalla pianta attaccata che, per quanto riguarda le femmine esperte, dal fitofago allo stato adulto. Il comportamento dei maschi del parassitoide, anch'essi attratti dalle foglie di fagiolo contenenti larve dell'ospite, è da mettere, probabilmente, in relazione alla ricerca di individui del sesso opposto. La risposta di *D. isaea* ai semiochimici, inoltre, è risultata influenzata quantitativamente e, in un caso, anche qualitativamente, dall'esperienza acquisita dalle femmine. La variazione di comportamento in seguito ad una esperienza di parassitizzazione dimostra un'elevata flessibilità nella risposta ai semiochimici e un potenziale ruolo dell'apprendimento associativo. Tali evidenze dimostrano una notevole plasticità comportamentale nelle strategie di ricerca da parte del parassitoide, caratteristica potenzialmente comune, perché dal punto di vista adattativo premiante, a tutti gli entomofagi polifagi.

Alla luce di tali considerazioni, nuove indagini riguardo eventuali fenomeni di apprendimento in *D. isaea* potrebbero apportare importanti indicazioni anche di carattere generale, in relazione alla dibattuta questione se esista o meno una relazione tra varietà della dieta e capacità di apprendimento negli animali (Vet *et al.*, 1995). L'identificazione chimica delle sostanze volatili coinvolte nell'interazione tritrofica e la valutazione della loro specificità nei confronti dei parassitoidi, così come, la verifica sperimentale dell'eventuale produzione, da parte della pianta danneggiata dal fitofago, di "sostanze SOS" che attirano il parassitoide, e se tale risposta della pianta sia di tipo locale o sistemico (per un

altro esempio riguardo parassitoidi di minatori fogliari Potting *et al.*, 1995), costituisce uno dei possibili sviluppi di questa ricerca.

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano il Dott. Giovanni Burgio per il supporto statistico e critico, Salvatore Armetano e Roberta Bisioli per l'aiuto tecnico.

RIASSUNTO

Allo scopo di verificare il ruolo dei semiochimici volatili nell'interazione tritrofica riguardante piante di fagiolo, il minatore fogliare *Liriomyza trifolii*, e il parassitoide *Diglyphus isaea*, è stata saggiata, in una serie di prove sperimentali all'olfattometro a Y, l'attrattività di sei diverse componenti del complesso pianta ospite nei confronti di femmine esperte ed inesperte del parassitoide. Sono state utilizzate come possibili fonti di semiochimici volatili: foglie di fagiolo integre e danneggiate meccanicamente, foglie con punture di nutrizione degli adulti del fitofago, larve estratte dalle mine e adulti di *L. trifolii*, e l'intero complesso pianta ospite (foglie minate con larve). Le femmine di *D. isaea* sono risultate attratte da piante di fagiolo attaccate da adulti e/o larve *L. trifolii*. Le foglie danneggiate meccanicamente non hanno invece indotto alcuna risposta nel parassitoide. In alcune delle prove effettuate è stato dimostrato il ruolo dell'esperienza immaginale. In particolare femmine esperte del parassitoide, ma non femmine inesperte, sono risultate attratte dagli adulti del minatore. Possibili sviluppi e applicazioni di questa ricerca sono state discusse.

PAROLE CHIAVE: semiochimici, interazioni tritrofiche, olfattometro a Y, *Diglyphus isaea*, *Liriomyza trifolii*.

Role of Volatile Semiochemicals in the Parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera Eulophidae) Host Searching Olfactometer Bioassays

SUMMARY

In order to investigate the role of volatile semiochemicals in the tritrophic interaction involving bean plants, the pest leafminer *Liriomyza trifolii*, and the parasitoid *Diglyphus isaea*, the attractiveness, for naive and experienced parasitoid females, of six different components of the host-plant complex, was checked in a series of Y-tube olfactometer bioassays. Sound and mechanically injured bean leaves, leaves damaged by adult pest feeding punctures, *L. trifolii* larvae extracted from the leaf and adults, and the whole host plant complex (mined leaves with larvae of the pest) were tested as possible odour sources. *D. isaea* females chose odour from bean plant attacked by *L. trifolii* adults and/or larvae. Artificially damaged bean plant did not elicit response on parasitoid females. The role of the imaginal experience was demonstrated. In particular experienced females, but not the naive ones, responded to the odour of *L. trifolii* adults.

KEY WORDS: semiochemicals, tritrophic interactions, Y-tube olfactometer, *Diglyphus isaea*, *Liriomyza trifolii*.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ALPHEN J.J.M. VAN, VET L.E.M., 1986. - An evolutionary approach to host finding and selection. - In: Waage e Greathead (eds.): "Insect parasitoids" Academic Press, London: 23-61.
- ALPHEN J.J.M. VAN, JERVIS M.A., 1996. - Foraging behaviour. - In: Jervis e Kidd (eds.) Insect natural enemies Chapman & Hall: 1-63.
- BERNASCONI M.L., TURLINGS T.C.J., AMBROSETTI L., BASSETTI P., DORN S., 1998. - Herbivore-induced emissions of maize volatiles repel the corn leaf aphid, *Rhopalosiphum maidis*. - *Entomol. Exp. Appl.*, 87 (2): 133-142.
- BERTSCHY C., TURLINGS T.C.J., BELLOTTI A.C., DORN S., 1997. - Chemically-mediated attraction of three parasitoid species to mealybug-infested cassava leaves. - *Florida Entomologist*, 80 (3): 383-395.
- BIN F. (ed.), 1991. - Insect Parasitoids. 4th European Workshop - Perugia 3-5 April, 1991 - Redia, 74 (3) "Appendice": 487pp.
- CHEAH C.A., COAKER T.H., 1992. - Host finding and discrimination in *Diglyphus isaea*, a parasitoid of the chrysanthemum leaf miner, *Chromatomyia syngenesiae*. - *Biocontrol Science and Technology*, 2 (2): 109-118.
- COAKER T.H., CHEAH C.A., 1993. - Conditioning as a factor in parasitoid host plant preference. - *Biocontrol Science and Technology*, 3 (3): 277-283.
- DICKE M., 1994. - Local and systemic production of volatile herbivore-induced terpenoids: their role in plant-carnivore mutualism. - *J. Plant Physiol.*, 143: 465-472.
- DICKE M., SABELIS M.W., 1988. - How plants obtain predatory mites as bodyguards. - *Neth. J. Zool.*, 38: 148-165.
- DICKE M., MINKENBERG O.P.J.M., 1991. - Role of volatile infochemicals in foraging behavior of the leafminer parasitoid *Dacnusa sibirica* (Diptera: Agromyzidae). - *J. Insect Behav.*, 4 (4): 489-500.
- DU Y.J., POPPY G.M., POWELL W., 1996. - Relative importance of semiochemicals from first and second trophic levels in host foraging behavior of *Aphidius ervi*. - *J. Chem. Ecol.*, 22 (9): 1591-1605.
- FINIDORI-LOGLI V., BAGNÈRES A.G., CLÈMENT J.L., 1996. - Role of plant volatiles in the search for a host by parasitoid *Diglyphus isaea* (Hymenoptera Eulophidae). - *J. Chem. Ecol.*, 22 (3): 541-558.
- HARRIS M.O., MILLER J.R., 1983. - Color stimuli and oviposition behavior of the onion fly, *Delia antiqua* (Meigen) (Diptera: Anthomyiidae). - *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 76 (4): 766-771.
- HARRIS M.O., MILLER J.R., 1984. - Foliar form influences ovipositional behaviour of the onion fly. - *Physiol. Entomol.*, 9 (2): 145-155.
- HERN A., DORN S., 1999. - Sexual dimorphism in the olfactory orientation of adult *Cydia pomonella* in response to β -farnesene. - *Entomol. Exp. Appl.* 92 (1): 63-72.
- MEYHÖFER R., CASAS J., DORN S., 1994. - Host location by a parasitoid using leafminer vibrations: characterizing the vibrational signals produced by the leafmining host. - *Physiol. Entomol.*, 19 (4): 349-359.
- NGI-SONG A.J., OVERHOLT W.A., NJAGI P.G.N., DICKE M., AYERTEY J.N., LWANDE W., 1996. - Volatile infochemicals used in host and host habitat location by *Cotesia flavipes* Cameron and *Cotesia sesamiae* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of stemborers on Graminae. - *J. Chem. Ecol.*, 22: 307-323.
- NORDLUND D.A., LEWIS W.J., ALTIERI M.A., 1988. - Influence of plant-produced allelochemicals on host/pray selection behavior of entomophagous insects. - in Barbosa e Letourneau (eds.): Novel aspects of insect-plant interactions. Wiley and Sons, New York: 65-90.
- PETITT F.L., TURLINGS T.C.J., WOLF S.P., 1992. - Adult experience modifies attraction of the leafminer parasitoid *Opius dissitus* (Hymenoptera: Braconidae) to volatile semiochemicals. - *J. Insect Behav.*, 5 (5): 623-634.
- POTTING R.P.J., VET L.E.M., DICKE M., 1995. - Host microhabitat location by stem-borer parasitoid *Cotesia flavipes*: the role of herbivore volatiles and locally and systemically induced plant volatiles. - *J. Chem. Ecol.*, 21: 525-539.
- PRICE P.W., BOUTON C.E., GROSS P., MCPHERON B.A., THOMPSON J.N., WEIS A.E., 1980. - Interactions among three trophic levels: influence of plant on interactions between insect herbivores and natural enemies. - *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 11: 41-65.
- SABELIS M.W., BAAN H.E. VAN DE, 1983. - Location of distant spider-mite colonies by phytoseiid predators. Demonstration of specific kairomones emitted by *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychus, Phytoseiidae). - *Entomol. Exp. Appl.*, 33: 303-314.

- SABELIS M.W., DICKE M., 1985. - Long-range dispersal and searching behaviour. - in Helle e Sabelis (eds.) Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. World Crop Pests. Vol IB, N L-Amsterdam, Elsevier: 141-160.
- STEINBERG S., DICKE-M., VET L.E.M., WANNINGEN R., 1992. - Response of the braconid parasitoid *Cotesia* (= *Apanteles*) *glomerata* to volatile infochemicals: effects of bioassay set-up, parasitoid age and experience and barometric flux. - *Entomol. Exp. Appl.*, 63 (2): 163-175.
- STEINBERG S., DICKE M., VET L.E.M., 1993. - Relative importance of infochemicals from first and second trophic level in long-range host location by the larval parasitoid *Cotesia glomerata*. - *J. Chem. Ecol.*, 19: 47-59.
- SUGIMOTO T., SHIMONO Y., HATA Y., NAKAI A., YAHARA M., 1988a. - Foraging for patchily-distributed leaf-miners by the parasitoid, *Dapsilarthra rufiventris* (Hymenoptera: Braconidae) III. Visual and acoustic cues to a close range patch-location. - *Appl. Entomol. Zool.*, 23 (2): 113-121.
- SUGIMOTO T., KAMEOKA H., KUSATANI S., INUI O., OTSUKA K., 1988b. - Foraging for patchily-distribution leaf-miners by the parasitoid *Dapsilarthra rufiventris* (Hymenoptera: Braconidae) V. Plant odour as a cue to long range patch-location. - *Appl. Entomol. Zool.*, 23 (2): 135-143.
- TAKABAYASHI J., DICKE M., POSTHUMUS M.A., 1991. - Variation in composition of predator-attracting allelochemical emitted by herbivore-infested plants: relative influence of plant and herbivore. - *Chemoecology*, 2: 1-6.
- TUMLINSON J.H., LEWIS W.J., VET L.E.M., 1993. - Come le vespe parassite trovano i loro ospiti. - *Le scienze*, 297: 70-76.
- TURLINGS T.C.J., TUMLINSON J.H., LEWIS W.J., 1990. - Exploitation of Herbivore-induced odors by host-seeking parasitic wasps. - *Science*, 250: 1251-1253.
- TURLINGS T.C.J., MCCALL P.J., ALBORN H.T., TUMLINSON J.H., 1993. - An elicitor in caterpillar oral secretions that induces corn seedlings to emit chemical signals attractive to parasitic wasps. - *J. Chem. Ecol.*, 19: 411-425.
- VET L.E.M., DICKE M., 1992. - Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context. - *Annu. Rev. Ent.*, 37: 141-172.
- VET L.E.M., LEWIS W.J., CARDÉ R.T., 1995. - Parasitoid foraging and learning. - in: Cardé e Bell (eds.): Chemical ecology of insects 2, Chapman & Hall, London: 65-101.
- VINSON S.B., 1976 - Host selection by insect parasitoids. - *Annu. Rev. Entomol.*, 21: 109-133.
- VINSON S.B., 1981. - Habitat location. - in: Nordlund, Jones e Lewis (eds.): Semiochemicals: their role in pest control., Wiley and Sons, New York: 13-28.
- VINSON S.B., 1984. - Parasitoid-hosts relationships. - in: Bell e Cardé (eds.): "Chemical ecology of insects", Chapman & Hall, London: 205-233.

Autore a cui inviare la corrispondenza:

Giovanni G. Bazzocchi, Istituto di Entomologia "G. Grandi", via F. Re, 6, 40126 Bologna
e-mail: gbazzocchi@entom.agrsci.unibo.it