

Popillia japonica, nuova emergenza per le colture agrarie

Federico Lessio - Elena Gonella - Alberto Alma

Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari (DiSAFA) – Università degli Studi di Torino – Grugliasco (TO)

Riassunto

Il coleottero giapponese *Popillia japonica* Newman, presente in America settentrionale dall'inizio del '900, è stato ritrovato in Italia nel 2014 nella zona del Parco del Ticino ed è attualmente in forte espansione. Questa temuta specie alloctona è estremamente polifaga: le larve si nutrono e si sviluppano a spese delle radici di piante erbacee, in particolare graminacee da prato e tappeto erboso, mentre gli adulti, molto mobili, provocano intense defogliazioni su numerose specie arboree e arbustive. Il campionamento è basato su carotaggi del terreno per le larve, e sull'impiego di trappole per gli adulti. Inoltre, per lo studio della dispersione mediante il volo, in Lombardia è stata applicata la tecnica della marcatura e cattura. I metodi di lotta sono di tipo chimico e biologico (microrganismi e nematodi entomopatogeni). Fra le strategie innovative di

lotta è presente la tecnica "attract and kill" con l'impiego di trappole impregnate di insetticidi, mentre in prospettiva lo studio del microbioma di *P. japonica* potrebbe fornire metodi di lotta alternativi.

Parole chiave: Coleoptera; specie alloctona; rischio biologico; dispersione; monitoraggio; lotta integrata

Summary

Popillia japonica, a new emergency for agriculture

The Japanese beetle, *Popillia japonica* Newman, which is present in North America since the beginning of Twentieth Century, has been recorded in Italy in 2014 in the Ticino Park and is at present spreading strongly. This threatening alien species is highly polyphagous: grubs feed and develop on roots of grasses, particularly in meadows and turfs, whereas the highly mobile adult beetles cause severe defoliations on many trees and shrubs. Sampling consists in soil coring for grubs and in trapping for adults. Moreover, for studying flight dispersal, a mark-capture technique has been used in Lombardy. Pest management means are chemical and biological (e.g. micro-organisms and entomopathogenic nematodes). Novel tools and strategies include attract and kill using insecticide-treated nets, whereas an interesting future perspective comes from the study of microbioma.

Key words: Coleoptera; alien species; biological risk; dispersal; monitoring; integrated pest management.

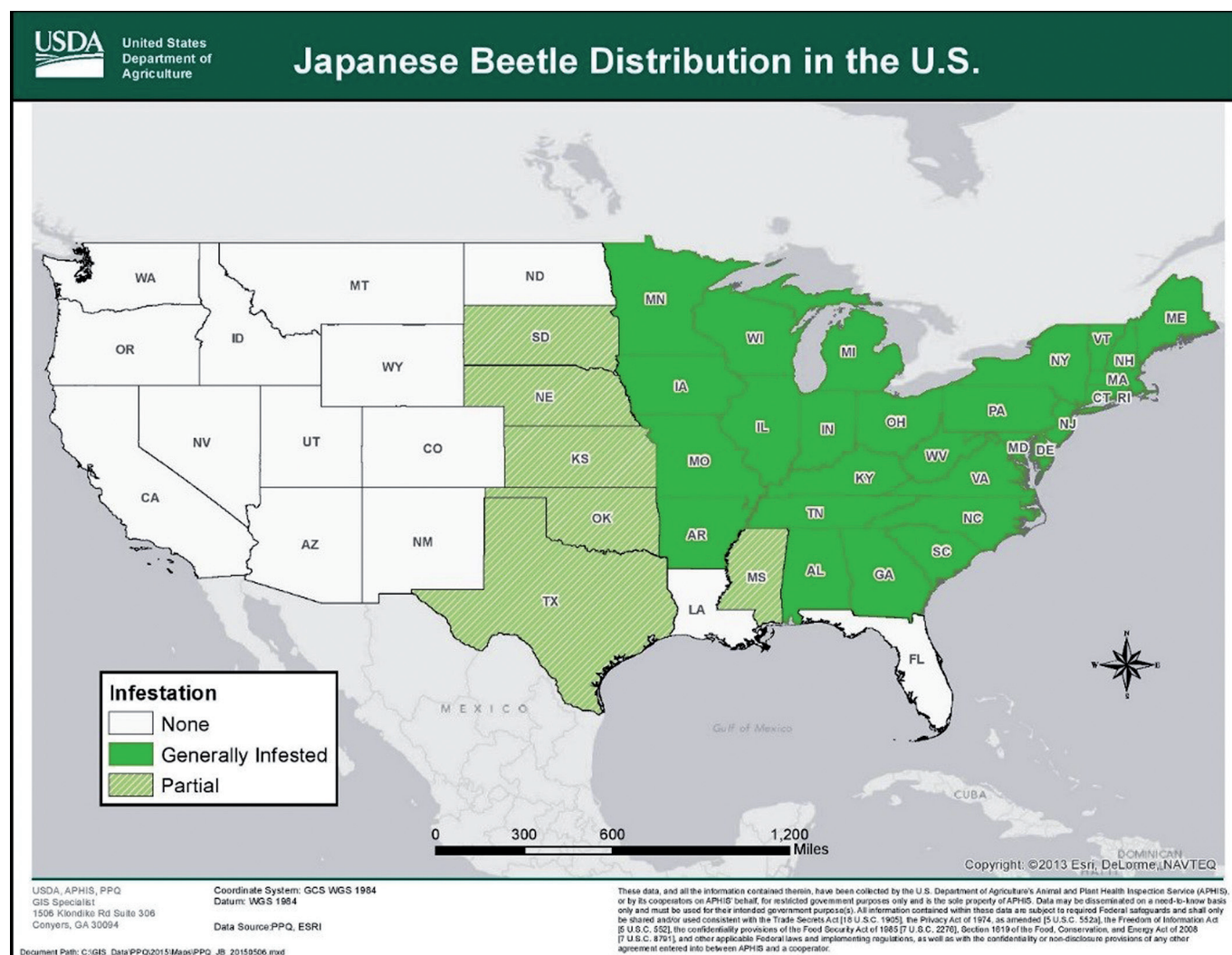


Figura 1 - Distribuzione di *Popillia japonica* negli USA (fonte: USDA APHIS PPQ 2013).
Figure 1 - Distribution of *Popillia japonica* in the USA (by USDA APHIS PPQ 2013).



Figura 2 - Distribuzione di *Popillia japonica* in Italia nel 2017 (fonte: ERSAF, Regione Lombardia). Rosso: zona infestata; giallo: zona cuscinetto.

Figure 2 - Distribution of *Popillia japonica* in Italy in 2017 (by ERSAF, Regione Lombardia). Red: infested zone; yellow: buffer zone.

Introduzione

Popillia japonica Newman (Coleoptera: Rutelidae) è una specie di origine giapponese, introdotta negli USA all'inizio del Novecento probabilmente con piante di *Iris japonica* Thun. (Dickerson e Weiss, 1918). Nell'areale neartico è causa di ingenti danni alle colture e di severissime misure restrittive di carattere fitosanitario. Quasi 100 anni dopo, adulti di questo coleottero sono stati ritrovati in Lombardia, nella zona del Parco del Ticino (Pavesi, 2014), e ne rappresentano la prima segnalazione nell'Europa continentale. Il presente contributo ha lo scopo di riassumere lo stato dell'arte sulla diffusione, biologia, metodi di lotta, disposizioni di legge e attività di ricerca su *P. japonica*, con particolare riguardo alla situazione italiana.

Origine e diffusione

ASIA

In Giappone il coleottero è presente nelle quattro isole principali, oltre che nella vicina isola di Kunashir, in territorio russo (Bragard *et al.*, 2018). In particolare, è diffuso in tutta l'isola di Hokkaido e nella parte settentrionale di Honshu, mentre a Shikoku e Kyushu è comune ma non particolarmente abbondante. Dapprima considerata una specie poco dannosa per l'economia giapponese, *P. japonica* sta cominciando a diventare un

problema in seguito all'aumento dei campi da golf (Potter e Held, 2002).

AREALE NEARTICO

Nell'areale neartico, *P. japonica* è diffusa sulla costa atlantica mentre a ovest è presente solo in modo puntiforme. In Canada è segnalata, in modo frammentario, in New Brunswick, Prince Edward Island, Quebec (sud), Ontario (sud-est) e Nuova Scozia, oltre che nella Columbia Britannica (segnalazione di pochi individui). Molto più ampia è invece la sua distribuzione negli USA, essendo segnalata in 39 Stati su 50 (Fig. 1). L'insetto è diffuso in tutti gli Stati del nord-est e in quasi tutti quelli del sud a eccezione di Louisiana e Florida (assente), e Oklahoma e Texas (parzialmente presente). Nel Midwest risulta diffuso da est a ovest fino al Minnesota, Iowa e Missouri, mentre è presente in modo limitato in Sud Dakota, Nebraska, Kansas e Oklahoma. La specie è invece assente negli Stati dell'Ovest, nonché in Alaska e nelle Hawaii. I programmi di eradicazione hanno avuto successo in Oregon, Nevada e California (Potter e Held, 2002).

AZZORRE

La prima segnalazione di *P. japonica* nell'area EPPO riguarda le Azzorre, dove l'insetto è giunto probabilmente in una base aerea statunitense nell'isola di Terceira. Successivamente è stato ritrovato anche nelle isole di Faial (1996), e Pico e San Miguel (2006), risultando quindi presente in quattro isole su 10 dell'arcipelago. Attualmente risulta insediato a Terceira e Faial, mentre nelle altre due isole sono in corso programmi di eradicazione (Bragard *et al.*, 2018).

EUROPA CONTINENTALE

La prima segnalazione nell'Europa continentale è avvenuta nel 2014 e riguarda l'Italia: adulti di *P. japonica* sono



Figura 3 - Adulto (maschio) di *Popillia japonica* (foto DISAFA).
Figure 3 - Adult (male) of *Popillia japonica* (by DISAFA).



Figura 4 - Larva matura di *Popillia japonica* (foto DISAFA).
Figure 4 - Mature grub of *Popillia japonica* (by DISAFA).

stati segnalati a Turbigo (MI), lungo il Naviglio Vecchio nell'area del Parco del Ticino. Si ritiene che l'introduzione sia avvenuta a partire dalla zona aeroportuale di Malpensa (Pavesi, 2014). Attualmente, *P. japonica* è presente in Piemonte e in Lombardia, un'area circoscritta attorno al bacino idrografico del Ticino, che approssimativamente si estende da nord a sud dalla parte meridionale del Lago Maggiore (Comuni di Arona e Ispra sulle sponde piemontese e lombarda) fino a Vigevano, e da ovest a est da Romagnano Sesia fino alle porte di Milano (Fig. 2). Il coleottero è tuttavia in rapida espansione, dato che dal 2015 al 2017 i Comuni in zona focolaio sono passati da 11 a 233 in Lombardia, e da 6 a 88 in Piemonte (Regione Lombardia, 2018; Regione Piemonte, 2018).

Secondariamente, alcuni adulti sono stati ritrovati in Svizzera, nel Canton Ticino, in una trappola a feromoni in prossimità del confine con l'Italia (EPPO Reporting Service, 2017). Allo stato attuale, la specie in Svizzera è dichiarata come transiente, in corso di eradicazione (EPPO Reporting Service, 2017). Infine, un individuo erratico era stato ritrovato a Padenborn, Germania, nel 2014 e inizialmente attribuito a *Phyllopertha horticola* (L.), una specie autoctona affine; solo un successivo esame dell'esemplare, conservato in una scatola entomologica, l'ha riconosciuto come *P. japonica* (Urban, 2018). A oggi, si tratta della prima e unica segnalazione di questa specie alloctona in territorio tedesco.

Morfologia

L'adulto (Fig. 3) ha una forma ellittica e misura 8-12 mm in lunghezza e 5-7 mm in larghezza. Il capo, le zampe (fino alla tibia) e il torace (pro e mesonoto) sono di colore verde metallizzato, mentre le elitre hanno una livrea dorata e i tarsi sono di colore nero, così come tutta la parte ventrale del corpo. Sull'addome, non completamente coperto dalle elitre, sono presenti 12 ciuffi di peli bianchi, di cui otto sui due lati e due all'estremità, che mancano invece nelle specie di coleotteri europei affini e rappresentano quindi un importante carattere distintivo. Il dimorfismo sessuale riguarda il primo paio di zampe: nei maschi la tibia presenta un processo appuntito in posizione distale, che è invece più arrotondato nelle femmine; inoltre, nei maschi i tarsomeri 1-4 hanno tut-

ti la stessa lunghezza, mentre nelle femmine il primo è tre volte più lungo degli altri (Fleming, 1972).

Le uova sono di forma ovoidale, bianche, traslucide, con diametro di circa 1,5 mm. Sulla superficie esterna è presente un reticolo a maglie esagonali (Fleming, 1972). Le larve sono oligopode (zampe presenti, pseudozampe assenti) e cirtosomatiche, come nella maggior parte degli Scarabeoidea (Fig. 4). Il capo è di color nocciola, mentre il resto del corpo è bianco perlaceo traslucido. Nella parte terminale dell'addome è spesso visibile una colorazione grigio scura, dovuta all'accumulo di materiale fecale. L'ultimo urite presenta due file di 6-7 spine ciascuna, disposte secondo un motivo a "V" (*raster*), caratteristico della specie. Sono presenti tre stadi larvali: le prime due età sono simili per dimensioni, misurando circa 15 mm di lunghezza del corpo, mentre quella matura (III età) misura fino a 32 mm, ovvero più del doppio. Tuttavia, per distinguerle ci si riferisce alle misure del capo, che non si accresce fra una muta e l'altra: 1,2 x 0,7 mm nella I età, 1,9 x 1,2 mm nella II età, e 3,1 x 2,1 mm nella III età (Fleming, 1972). Le pupe, di tipo exarato, hanno dimensioni di 14 x 7 mm e una colorazione inizialmente gialla che tende poi al verde metallico (Fleming, 1972).

Biologia

P. japonica svolge, di norma, una generazione l'anno. Tuttavia in condizioni climatiche ed ambientali particolari, riscontrate alle latitudini più alte (parte settentrionale dell'isola di Hokkaido in Giappone, New Hampshire e Canada) una parte della popolazione completa il ciclo vitale in due anni. In questo caso, sverna come larva di II età il primo anno, e di III età l'anno successivo (Fleming, 1972).

Gli adulti sono presenti dalla tarda primavera fino ai mesi di agosto o settembre, con un picco compreso tra la metà di giugno e la metà di agosto. I primi individui fuoriescono dal suolo tra la seconda decade di maggio e la seconda decade di giugno, in funzione della stagione e dell'altitudine, con i maschi che sfarfallano qualche giorno in anticipo rispetto alle femmine (Fleming, 1972; Régnière *et al.*, 1981a). Queste ultime vengono fecondate non appena emergono dal suolo e iniziano immediatamente a ovideporre, ancor prima di nutrirsi, e proseguono per circa 72 ore (Régnière *et al.*, 1979). Successivamente si spostano sulle piante ospiti, preferendo quelle già colonizzate, per nutrirsi e riaccoppiarsi (Fleming, 1972; Loughrin *et al.*, 1996). L'attività trofica è più intensa dalla tarda mattinata sino al tardo pomeriggio, ma alcuni adulti si nutrono anche durante la sera e, in misura più contenuta, durante la notte e nelle prime ore del mattino, purché la temperatura non scenda sotto i 15°C (Potter e Held, 2002).

Le femmine alternano quindi periodi in cui si nutrono a periodi di ovideposizione, infrattandosi nel suolo almeno una dozzina di volte e deponendo complessivamente una media di 40-60 uova, con punte di 133 uova (Fleming, 1972). Queste sono deposte singolarmente, di solito entro i primi 8 cm del suolo. Se possibile, le femmine tendono ad ovideporre nelle vicinanze delle proprie fonti alimentari (Dalthorp *et al.*, 2000; Fleming, 1972); in caso contrario, possono disperdersi alla ricerca di siti più adatti (Régnière *et al.*, 1983). La bontà di un sito di ovideposizione è determinata da diversi fattori, sia abiotici sia biotici: solitamente si tratta di aree irradiate dal sole, ricoperte da

cotiche erbose basse, con un'umidità del terreno medio-alta ma non superiore alla capacità di campo e una tessitura tendenzialmente sabbiosa o comunque sciolta (Fleming, 1972; Régnière *et al.*, 1979, 1981b; Allsopp *et al.*, 1992; Potter e Held, 2002).

La parte preponderante del ciclo è svolta allo stadio larvale. La schiusa inizia di norma 10-14 giorni dopo l'ovideposizione, mentre il primo e il secondo stadio hanno una durata di 3 e 4 settimane, per cui alla metà di settembre la maggior parte delle larve ha raggiunto il terzo stadio (Fleming, 1972). Le uova e i primi stadi giovanili sono sensibili a condizioni di temperatura e umidità estreme: in particolare soffrono la siccità (Fleming, 1972; Régnière *et al.*, 1981b; Allsopp *et al.*, 1992). Le larve mature risultano meno suscettibili, grazie anche alla loro capacità di spostarsi più in profondità (Villani e Nyrop, 1991). Le larve si nutrono fino ad ottobre, raggiungendo la loro dimensione massima prima dell'inizio dell'inverno. Data la loro sensibilità al gelo, in autunno si insinuano nel terreno per svernare, generalmente a una profondità media di 5-15 cm, con valori massimi fino a 20-25 cm (Potter e Held, 2002).

Lo stadio prepupale è presente nel mese di marzo e dura circa 10 giorni, mentre quello pupale dura 7-17 giorni. Le larve cominciano a spostarsi in superficie quando la temperatura del suolo supera i 10°C (Fleming, 1972). Si nutrono per altre 4-6 settimane, quindi si costruiscono una cella di terra per impuparsi. Dopo lo sfarfallamento, in condizioni climatiche sfavorevoli, alcuni adulti possono rimanere nella cella per un periodo compreso tra i 2 ed i 14 giorni prima di emergere dal suolo (Fleming, 1972).

Comportamento sessuale

Le femmine vergini, appena abbandonato il suolo, sono altamente attrattive per i maschi, specialmente all'inizio dell'estate. La loro attrattività è dovuta all'emissione di un feromone sessuale estremamente volatile, in cui la sostanza attiva principale è l'enantiomero R (destrogiro) dello (Z)-5-(1-decenil)-diidro-2(3H)-furanone, che prende il nome di "Japonilure" (ovvero *Japanese Beetle Lure*, esca per il coleottero giapponese) (Potter e Held, 2002). L'emissione del feromone si interrompe poco dopo l'accoppiamento, e riprende una volta terminata la prima ovideposizione (Potter e Held, 2002). Inoltre, è massima nelle femmine fino a 6-15 giorni dallo sfarfallamento (Fleming, 1972).

I maschi tentano l'accoppiamento con le femmine vergini che hanno appena lasciato il suolo. Queste si riaccoppiano poi sulle piante di cui si nutrono, alternando periodi dedicati all'ovideposizione. Il liquido seminale derivante dall'ultimo accoppiamento viene utilizzato per fecondare le uova fino al successivo accoppiamento, e gli spermatozoi provenienti da un singolo accoppiamento rimangono utilizzabili per diverse settimane. Dal momento che non sono necessari ripetuti accoppiamenti per la fecondazione, la poliandria in *P. japonica* serve a incrementare la variabilità genetica piuttosto che ad aumentare le riserve di sperma nelle femmine (Potter e Held, 2002; Held *et al.*, 2003).

Comportamento alimentare e piante ospiti

Gli adulti di *P. japonica* sono polifagi: si nutrono delle foglie, dei frutti e dei fiori di più di 300 specie sia spontanee sia coltivate, appartenenti a 79 famiglie, tra



Figura 5 - Adulti di *Popillia japonica* in attività trofica su *Parthenocissus* sp. (foto DISAFA).

Figure 5 - Adults of *Popillia japonica* feeding on *Parthenocissus* sp. (by DISAFA).

cui Aceraceae, Anacardiaceae, Ericaceae, Fagaceae, Gramineae, Hippocastanaceae, Juglandaceae, Lauraceae, Leguminosae, Liliaceae, Lythraceae, Malvaceae, Onagraceae, Plantanaceae, Polygonaceae, Rosaceae, Salicaceae, Tiliaceae, Ulmaceae e Vitaceae (Fleming, 1972; Potter e Held, 2002). Negli Stati Uniti, le colture di pieno campo più colpite risultano il mais e la soia, data la sovrapposizione del loro ciclo colturale con la massima presenza stagionale degli adulti (giugno-luglio) (Hodgson *et al.*, 2011). Gli alberi da frutto (pomacee, drupacee e vite) vengono invece utilizzati in modo quasi indiscriminato, così come molte specie forestali (acero, olmo, quercia) e ornamentali (tiglio, rosa) (Fleming, 1972).

La defogliazione avviene in genere a partire dalla pagina fogliare superiore, fino a interessare tutto il lembo lasciando intatte le nervature (Fig. 5). A parità di adulti presenti, risente dello spessore e dell'età delle lamine fogliari. Gli adulti non si limitano comunque alle foglie: infatti possono essere interessati anche i fiori e i boccioli florali (es. rosa). Sul mais, spesso si concentrano sulle setole causando notevoli perdite per mancata allegagione (Fleming, 1972).

In alcune specie (acero, melo selvatico) foglie già danneggiate risultano più attrattive nei confronti degli adulti rispetto alle foglie integre. Inoltre, l'attrattività aumenta se la defogliazione è avvenuta nella giornata precedente (Loughrin *et al.*, 1996). Le sostanze responsabili sono composti alifatici e terpenoidi emessi dalle piante, che agiscono come veri e propri kairomoni, mentre è stata smentita l'esistenza di feromoni di aggregazione emessi dagli adulti (Loughrin *et al.*, 1996). In ogni caso, l'azione congiunta dei kairomoni emessi dalle piante e dai feromoni sessuali delle femmine presenti è la causa delle intense defogliazioni a carico della stessa pianta, mentre spesso le piante adiacenti mostrano danni molto più lievi (Fleming, 1972; Potter e Held, 2002).

Di norma, gli adulti in attività trofica si concentrano sulle parti più alte della chioma e tendono a preferire le piante in pieno sole. Nel primo caso, si tratterebbe semplicemente di un fattore visivo: la localizzazione della pianta ospite avverrebbe cioè grazie alla sua sagoma più evidente. Nel secondo, le piante in pieno sole hanno una concentrazione di zuccheri più elevata dovuta a una maggiore attività fotosintetica (Fleming, 1972; Potter e Held, 2002).



Figura 6 - Trappole a feromoni per la cattura di *Popillia japonica*. a: modello Trecé®; b: modello Rescue® (foto DISAFA).
 Figure 6 - Pheromone traps for capturing *Popillia japonica*. a: Trecé® model; b: Rescue® model (by DISAFA).

Nonostante la sua spiccata polifagia, *P. japonica* evita però di nutrirsi su alcune specie. Alla base di tale comportamento vi sono sostanze fagodeterrenti quali: la cucurbitacina, un triterpene dal sapore amaro presente nelle cucurbitacee; la neriifolina, un cardenolide contenuto nelle foglie dell'oleandro; e alcuni glicosidi fenolici presenti nelle foglie dei salici (*Salix* spp.). Una certa variabilità nella suscettibilità a *P. japonica* dovuta alla presenza o meno di fagodeterrenti è stata notata anche fra cultivar della stessa specie (Potter e Held, 2002).

L'applicazione di sostanze deterrenti emesse da alcune piante è stata tentata per ridurre la presenza degli adulti sulle rose. Sono stati impiegati estratti di menta, ginepro, finocchio, pepe e *Ginkgo biloba* L. Tuttavia, tale pratica non si è rivelata solo inefficace, ma addirittura controproducente, attraendo un maggior numero di adulti rispetto alle parcelle non trattate (Held *et al.*, 2003).

Anche le larve sono polifaghe, ma tendono a comportarsi come monofaghe poiché la loro scarsa mobilità le obbliga a permanere vicino alle radici delle piante presso le quali le uova sono state deposte (Fleming, 1976). Sono infatti capaci di movimenti sia orizzontali sia verticali, ma la distanza percorsa dipende dalla disponibilità della fonte alimentare: di norma, percorrono distanze maggiori in condizioni di scarsa copertura radicale, e sono più attive in tarda primavera che non in autunno (Fleming, 1972). Il primo aspetto è dovuto alla necessità di reperire le fonti di cibo, mentre il secondo è semplicemente la conseguenza delle dimensioni maggiori e della necessità di raggiungere la superficie per l'impupamento. In effetti, le larve sarebbero capaci di percorrere distanze maggiori, ma i loro

movimenti a zig-zag le portano a rimanere relativamente confinate nello stesso punto. Le piante ospiti elettive sono le graminacee, con una predilezione particolare per le specie presenti nei prati stabili e nei tappeti erbosi. Fra le piante poco appetite vi sono numerose leguminose (*Trifolium* spp., *Glycine max* (L.), *Melilotus indica* L.), il grano saraceno (*Fagopyrum esculentum* Moench), e anche alcune graminacee come l'erba mazzolina (*Dactylis glomerata* L.) (Fleming, 1976).

Attività di volo

Gli adulti di *P. japonica* sono ottimi volatori: nel corso della giornata si spostano costantemente da un punto all'altro della stessa pianta, e cambiano pianta con elevata frequenza (Fleming, 1972). Generalmente, i primi individui ad arrivare su una fonte alimentare (i cosiddetti pionieri) sono femmine con un elevato numero di uova mature, seguite successivamente da maschi e da femmine prive di uova. Inoltre, i maschi di taglia maggiore sono più propensi a raggiungere le piante colonizzate di recente (Kowels e Switzer, 2011).

Il volo è fortemente influenzato dal ciclo circadiano e da fattori abiotici. Generalmente ha inizio nella tarda mattinata e prosegue fino al tramonto. La temperatura ideale è compresa tra 21 e 35°C, mentre un'umidità relativa superiore al 60% ha un effetto negativo. In caso di cielo nuvoloso diminuisce drasticamente, e in caso di pioggia cessa del tutto (Fleming, 1972).

Prove di marcatura-rilascio-cattura hanno dimostrato che gli adulti sono limitati nei movimenti dall'alternanza culturale es. soia/sorgo, oltre a essere capaci di volare per



Figura 7 - Trappole per *Attract & Kill*. a: trappola Trinet® (foto DISAFA); b: trappola a ombrello (foto L. Marianelli, CREA).
Figure 7 - Traps for *Attract & Kill*. a: Trinet® trap (by DISAFA); b: umbrella trap (by L. Marianelli, CREA).

150 metri (Holmes e Barrett, 1997). Una prova effettuata su piccola scala con polveri fluorescenti ha dimostrato che gli adulti possono percorrere una distanza media di 300-500 metri, e che i loro movimenti avvengono prevalentemente in favore di vento, ma diminuiscono all'aumentare della velocità del vento (Polivka, 1949).

Attualmente, sono in corso prove di marcatura e cattura per lo studio della dispersione di *P. japonica* in Lombardia con l'impiego di due tecniche: le già citate polveri fluorescenti applicate agli adulti (marcatura diretta) e l'impiego di proteine alimentari quali latte e albume, applicate direttamente sulle piante ospiti (marcatura indiretta). La seconda tecnica, già utilizzata in Piemonte per tracciare i movimenti di *Scaphoideus titanus* Ball, vettore della Flavescenza dorata (Lessio *et al.*, 2014), ha il vantaggio di non interferire con l'attività degli adulti e poter essere applicata in grandi quantità. Le prove sono in corso dal 2017 nell'ambito di un programma finanziato dalla Regione Lombardia e affidato al DISAFA-Università degli Studi di Torino.

Monitoraggio

Per quantificare la presenza delle larve è necessario un campionamento del suolo per mezzo di carotatori o di semplici vanghe, seguito da un passaggio al vaglio con setacci a maglie fini. Il periodo utile, così come la profondità di prelievo, sono quelli che coincidono con la presenza spazio-temporale delle larve, in base al ciclo biologico e al comportamento delle larve stesse illustrato in precedenza. Allo stesso modo, il campionamento è effettuato preferibilmente nei siti più adatti all'ovideposizione. Il numero di campioni necessari è invece un problema più complesso: da un lato occorre ottenere un campione rappresentativo per non sottostimare la popolazione, dall'altro un numero troppo elevato è economicamente poco sostenibile oltre a essere distruttivo per la coltura stessa, in particolare su tappeti erbosi ricreazionali quali i campi da golf. Esistono metodi di campionamento sequenziale basati sulla distribuzione binomiale negativa, e altri che sfruttano l'autocorrelazione spaziale con metodologie geostatistiche quali il kriging, che però sono poco utilizzati nella pratica perché considerati troppo onerosi (Dalthorp *et al.*, 1999; Potter e Held, 2002).

Il campionamento degli adulti è basato sull'impiego di trappole innescate con un doppio attrattivo: la miscela di sintesi analoga al feromone sessuale per attirare i maschi, e un'esca alimentare per attirare le femmine (una miscela di fenetil propionato, eugenolo e geraniolo in proporzioni 3:7:3) (Potter e Held, 2002). La combinazione delle due esche risulta più efficace rispetto al loro impiego in trappole separate (Potter e Held, 2002). Non meno importante è la trappola vera e propria, ovvero il contenitore di stoccaggio degli insetti catturati, che deve essere sufficientemente capiente ma non tale da accumulare troppi adulti morti al suo interno (Alm e Dawson, 2003). Infatti, le trappole sono più efficienti nella cattura se svuotate regolarmente, dato che le sostanze emesse dagli adulti in decomposizione risultano repellenti o comunque mascherano le tracce olfattive delle esche (Alm *et al.*, 1996) (Fig. 6).

Le trappole sono state e sono tuttora utilizzate anche per la cattura massale degli adulti. Tuttavia, la loro efficacia in tal senso è controversa. Generalmente questa tecnica funziona in caso di bassa densità della specie bersaglio (el-Sayed *et al.*, 2006). Infatti, applicata su larga scala e integrata con altri interventi fitosanitari, è risultata efficace in California, dove *P. japonica* è già stata più volte intercettata ed eradicata (Potter e Held, 2002). A livello locale o comunque su piccola scala, prove effettuate su tappeti erbosi e su alberate negli USA hanno invece dato esito negativo, determinando addirittura un aumento dell'infestazione (Wawrzynski e Ascerno, 1998; Potter e Held, 2002).

Infatti, non tutti gli adulti attirati vengono intrappolati nel contenitore: questo fenomeno è noto come *spillover* (spreco, perdita), e si ritiene sia causato soprattutto da femmine che si fermano in prossimità della trappola e che successivamente attirano esemplari maschi (Switzer *et al.*, 2009). La conseguenza è che spesso il posizionamento di una trappola attira molti più adulti di quanti non riesca a eliminarne, con un aumento dei danni alla vegetazione circostante. Per questo motivo, non è consigliabile utilizzare le trappole per ridurre le popolazioni di *P. japonica* su scala locale, dove al contrario risulta più efficace la rimozione manuale degli adulti (Switzer e Cumming, 2014).

Lotta

MEZZI CHIMICI

Negli USA i principi attivi utilizzati contro le larve comprendono organofosforati (es. trichlorfon), carbammati, neonicotinoidi, regolatori di crescita (halofenozide), antranilammidi (clorantropolo) e piretroidi (Potter e Held, 2002; Oliver *et al.*, 2017). Occorrono applicazioni estremamente mirate, per colpire le larve quando queste si trovano più in superficie. Nei vivai, spesso le piante in vaso o in pani di terra vengono trattate per immersione (Oliver *et al.*, 2017). Contro gli adulti, vengono impiegati prevalentemente piretroidi (Baumler *et al.*, 2007), mentre il Carbaryl (carbammato), di largo impiego in passato, sta cadendo in disuso per la sua scarsa azione residuale e l'elevata tossicità nei confronti delle api (Potter e Held, 2002).

In Italia, fino al 2018 i p.a. espressamente autorizzati contro *P. japonica* erano deltametrina e imidacloprid, impiegabili su un certo numero di colture. In ogni caso, diversi p.a. indicati contro altri fitofagi possono avere effetto sugli adulti di *P. japonica* e sono impiegabili sulle colture su cui sono registrate e nei limiti imposti in etichetta (Regione Piemonte, 2018). Fra questi, in Italia e nel resto dell'unione Europea, i neonicotinoidi clothianidin, imidacloprid e thiamethoxam, non potranno più essere utilizzati a partire dal 2019 a causa dei comprovati effetti collaterali nei confronti degli impollinatori (UE, 2018).

La lotta chimica tradizionale nei confronti degli adulti è comunque problematica data la loro elevata polifagia e la notevole distanza che possono percorrere in volo (Ciampitti *et al.*, 2018). In alternativa, possono essere impiegate reti impregnate di insetticidi a lento rilascio (generalmente deltametrine) innescate con feromoni sessuali ed esche alimentari in modo da attirare entrambi i sessi, secondo la strategia "Attract & Kill" (Sabbatini-Perevieri *et al.*, 2017; Kuhar *et al.*, 2017; Marianelli *et al.*, 2018a). Un modello a struttura piramidale, alto circa 120 cm, è utilizzato in Lombardia a partire dal 2018; in Piemonte sono stati invece sperimentati ombrelli modificati (Fig. 7).

L'impiego di sostanze naturali ad azione insetticida o fagoderrente è stato ampiamente sperimentato ma non ha fornito risultati soddisfacenti. L'olio di neem (p.a. azadiractina) è risultato tossico per le larve e repellente per gli adulti in laboratorio, ma la sua applicazione in campo non si è dimostrata altrettanto efficace (Potter e Held, 2002). Allo stesso modo, le piretrine naturali, gli estratti di aglio e di pepe della Caienna non sono riusciti a ridurre in modo apprezzabile le defogliazioni ad opera degli adulti (Potter e Held, 2002).

BATTERI, FUNGHI E NEMATODI

Paenibacillus popilliae e *P. lentimorbus* sono batteri gram+ che ingeriti dalle larve causano degenerazione dei corpi grassi seguita dalla morte. Le larve colpite assumono una colorazione latte, da cui deriva il nome anglosassone della malattia (*milky disease*). Il loro impiego in lotta microbiologica è stato tentato in passato, ma successivamente abbandonato per scarsa efficacia e problematiche nella fase di propagazione *in vitro* (Potter e Held, 2002). *Bacillus thuringiensis* serovar *japonensis*, strain Buibui (*Btj*), isolato da campioni di suolo giapponesi, è risultato altamente tossico per le larve. Tuttavia, la sua commercializzazione è stata frenata dalla scarsa competitività nei confronti degli insetticidi di sintesi (Potter e Held, 2002).

Molto più promettente in prospettiva è invece *Ovavesicula popilliae*, un altro microrganismo letale per le larve. La sua particolarità è data dal fatto che le spore possono essere diffuse dagli adulti, e successivamente depositate nel terreno dove vengono ingerite dalle larve della generazione successiva (Smitley *et al.*, 2011; Petty *et al.*, 2012b). Data l'elevata mobilità degli adulti, la diffusione del batterio sembrerebbe avvenire a un tasso di circa 400 m all'anno dalla prima inoculazione. Inoltre, *O. popilliae* agirebbe in sinergia con *Paenibacillus* spp. (Smitley *et al.*, 2011). Popolazioni naturali di *Paenibacillus* spp. e *O. popilliae* possono essere presenti in larve e adulti di *P. japonica*, ma la loro efficacia di norma è trascurabile (Petty *et al.*, 2012a).

Fra i funghi, sono segnalati *Beauveria bassiana* e *Metarhizium anisopliae*: il più studiato è senza dubbio il secondo, che infetta sia le larve sia gli adulti (Potter e Held, 2002). Questi ultimi dopo l'infezione sopravvivono ancora per 3-4 giorni e non mostrano riduzioni nell'attività di volo (Lacey *et al.*, 1995). Tale aspetto può essere sfruttato per la diffusione delle spore, utilizzando trappole appositamente modificate (Klein *et al.*, 1999). Nel suolo, l'efficacia di *M. anisopliae* sulle larve è influenzata dalla temperatura e dal contenuto idrico (Potter e Held, 2002). Inoltre, le larve tendono a evitare zone di suolo con elevata concentrazione di *M. anisopliae*, e l'ingestione di ife da parte degli adulti sembrerebbe aumentare l'ovideposizione (Potter e Held, 2002). Infine, sono da considerare anche eventuali effetti collaterali sulle api, benché il fungo sembri essere tossico solo a concentrazioni elevate, superiori a $1,0 \times 10^{10}$ conidi/mL (Zimmermann *et al.*, 2007).

Fra i nematodi, le specie più studiate sono *Steinernema* spp. (es. *S. glaseri*, *S. carpocapsae*) e *Heterorhabditis bacteriophora*, impiegati per la lotta alle larve sia in pieno campo, in particolare su tappeti erbosi, sia su piante in vaso in vivaio (Potter e Held, 2002; Marianelli *et al.*, 2018b). In particolare, *H. bacteriophora* è risultato estremamente efficace in alcuni suoli piemontesi, in seguito a prove condotte sia in laboratorio sia in pieno campo (Marianelli *et al.*, 2018b). D'altra parte, i nematodi sono estremamente sensibili a fattori abiotici (alte temperature, umidità del suolo, luce solare) e biotici (collemboli). Inoltre, sono costosi e hanno una conservabilità relativamente breve. In questo senso, una nuova specie, *S. kushidai*, sembra essere particolarmente promettente per l'impiego su tappeti erbosi (Potter e Held, 2002).

Anche le popolazioni naturali di nematodi possono incidere sulla presenza di *P. japonica*. Di norma, data la sedentarietà delle loro vittime, le specie più mobili sono le più efficaci, a scapito di quelle che mettono in atto strategie di appostamento. I kairomoni utilizzati dai nematodi entomopatogeni comprendono la CO₂, sostanze volatili varie, feci e contenuto intestinale oltre al contatto diretto. Da parte loro, le larve del coleottero mettono in atto varie strategie difensive di tipo sia biochimico sia comportamentale (Potter e Held, 2002).

MICROORGANISMI SIMBIONTI

La forte influenza che le associazioni simbiotiche tra microrganismi e insetti hanno sulla biologia di questi ultimi ha recentemente aperto nuovi scenari di lotta che traggono vantaggio dalle simbiosi, secondo la strategia definita controllo simbiotico (Alma *et al.*, 2010). Le attuali

conoscenze in merito alla composizione del microbioma di *P. japonica* sono estremamente limitate, tuttavia studi mirati a chiarire le interazioni che intercorrono tra questo insetto e i suoi simbionti, con particolare riferimento al sistema intestinale, potrebbero fornire un valido contributo alla creazione di protocolli di lotta innovativi e a basso impatto ambientale. L'impiego di simbionti intestinali come agenti di lotta è stato proposto per diversi insetti; tra i coleotteri, recentemente è stata suggerita per il curculionide *Lissorhoptrus oryzophilus* Kuschel l'applicazione di tecniche di paratransgenesi, vale a dire la trasformazione genetica di microrganismi simbionti al fine di rilasciare molecole effettrici in grado di alterare la biologia dell'insetto target (Huang *et al.*, 2017).

Un aspetto ancora poco indagato è la relazione tra il microbioma e la pianta ospite dell'insetto. È noto infatti che la composizione della comunità microbica intestinale di un insetto è spesso correlata alla sua capacità di nutrirsi su substrati diversi (Chandler *et al.*, 2011; Franzini *et al.*, 2016; Liu *et al.*, 2018), potenzialmente influenzando il livello di polifagia dell'ospite. L'alterazione del microbioma intestinale di *P. japonica* potrebbe interferire con la sua capacità di nutrirsi su una vasta gamma di piante ospiti, inoltre, lo sbilanciamento delle comunità microbiche di un organismo, detto disbiosi, può avere effetti fortemente negativi sullo stato di salute dell'ospite (Crotti *et al.*, 2012). In aggiunta, l'alterazione sperimentale del microbioma intestinale offre ulteriori opportunità in relazione all'interazione tra *P. japonica* e gli organismi entomopatogeni, in quanto un simile sbilanciamento è facilmente ipotizzabile per l'interazione diretta tra funghi entomopatogeni e la comunità microbica intestinale, oppure, nel caso dei nematodi, per il rilascio di batteri simbionti del nematode che esercitano un effetto patogeno nei confronti dell'insetto colonizzato (Goodrich-Blair e Clarke, 2007). Lo studio degli effetti degli organismi (funghi e nematodi) con attività entomopatogena in seguito al contatto con il microbioma delle larve infestate può indirizzare le attività di contenimento con l'obiettivo di favorire le condizioni di disbiosi, oltre a fornire potenziali nuovi elementi su cui orientare la lotta. Ad esempio, nel caso degli elateridi del genere *Agriotes*, è stata dimostrata la capacità di diversi batteri simbionti con note proprietà antimicrobiche di sopprimere il fungo entomopatogeno *Metarhizium brunneum* (Kabaluk *et al.*, 2017). L'eliminazione di questi simbionti rappresenta un fondamentale obiettivo per l'impiego di agenti di lotta microbiologica contro gli elateridi.

PREDATORI E PARASSITOIDI

Nel secolo scorso, numerosi parassitoidi di *P. japonica* originari del Giappone sono stati introdotti negli USA: fra questi, *Tiphia vernalis* (Rohwer) e *T. popillivora* Rohwer (Hymenoptera: Tiphidae) e *Istocheta aldrichi* (Mesnil) (Diptera: Tachinidae) sono stati fra i pochi a essersi insediati, e comunque la loro azione di contenimento si è rivelata trascurabile (Fleming, 1968). Fra i predatori generalisti, formiche, stafilinidi e carabidi possono predare le larve ma anche questi non sono risolutivi. Anche diversi mammiferi possono nutrirsi delle larve, ma oltre a non essere utili causano spesso danni ulteriori alla cotica erbosa con la loro azione fossoria (Fleming, 1968; Potter e Held, 2002). Allo stesso modo, diverse specie di uccelli insettivori possono

cibarsi di larve e adulti, ma non possono essere considerati un fattore limitante (Fleming, 1968).

Legislazione

STATI UNITI E CANADA

Negli USA, il *Domestic Japanese Beetle Harmonization Plan* (U.S. DJBHP, 2016) stabilisce le misure fitosanitarie relative alla commercializzazione del materiale vivaistico. Presso il Dipartimento dell'Agricoltura (*United States Department of Agriculture*, USDA) è attivo l'*Animal and Plant Inspection Service* (APHIS) che fra le altre attività si occupa anche di ispezione e disinfestazione nelle zone aeroportuali, considerate ad altissimo rischio (Hamilton *et al.*, 2007). In Canada, l'ente preposto è invece la *Canadian Food and Inspection Agency* (CFIA, 2018).

EUROPA

La *European Plant Protection Organization* (EPPO) ha inserito *P. japonica* al numero 40 della lista A2, ovvero "organismo presente nell'area ma non diffuso e in fase di controllo" (EPPO Global database, 2018). Inoltre, definisce le procedure per il monitoraggio e la lotta all'insetto (EPPO, 2016).

In Italia vige dal 2016 un decreto di lotta obbligatoria "Misure d'emergenza per impedire la diffusione di *Popillia japonica* Newman nel territorio della Repubblica italiana", che nella sua ultima versione è stato pubblicato sulla GU serie generale no. 72 del 26/03/2018 pp. 26-31. Il decreto fornisce la definizione di zona infestata e di zona cuscinetto (Art. 3), regola le condizioni per la movimentazione di piante con terra e zolle erbose (Art. 6-8), e indica le misure di contenimento da adottare (Art. 9-12). In Piemonte e in Lombardia, i Servizi Fitosanitari aggiornano su base annuale l'elenco dei Comuni classificati come zona infestata o zona cuscinetto. Alla prima categoria appartengono attualmente 233 Comuni della Lombardia (provincia di Como 16, Milano 76, Monza e Brianza 7, Pavia 33 e Varese 101) (Regione Lombardia, 2018) e 88 del Piemonte (provincia di Novara 72, Biella 1, Vercelli 15) (Regione Piemonte, 2018), mentre la seconda categoria è costituita da 177 Comuni lombardi (provincia di Como 49, Milano 21, Monza e Brianza 26, Pavia 46, Varese 35) e 108 piemontesi (province di Novara 17, Verbano-Cusio-Ossola 22, Biella 31, Vercelli 38).

Conclusioni

La presenza di *P. japonica* in Piemonte e Lombardia rappresenta sia una minaccia immediata all'agricoltura e al verde pubblico e privato, sia un pericoloso focolaio da cui potrebbe diffondersi in gran parte dell'Europa continentale. Secondo un'indagine basata su indici climatici condotta negli USA in tempi non sospetti, le possibilità di successo nell'insediamento di *P. japonica* in Europa sarebbero del 60-70% in diverse località della Francia, in Svizzera, Austria e Ungheria, nella valle del Reno in Germania, in Belgio, nella parte meridionale delle Isole Britanniche (Galles e Sud Irlanda), in gran parte dell'ex Jugoslavia, in Bulgaria, sulle coste del Mar Nero e nell'Italia centro-settentrionale (Allsopp, 1996). Pertanto, ogni possibile sforzo deve essere messo in atto da parte dei servizi fitosanitari, degli enti di ricerca, delle aziende agricole e della cittadinanza stessa per fermare l'avanzata di questo pericoloso insetto alloctono.

Lavori citati

- ALLSOPP P. G. (1996) - Japanese beetle, *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae): rate of movement and potential distribution of an immigrant species. The Coleopterist Bulletin, 50, 81-95.
- ALLSOPP P. G., KLEIN M. G., MCCOY E. L. (1992) - Effect of soil moisture and soil texture on oviposition by Japanese beetle and rose chafer (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Economic Entomology, 85, 2194-2200.
- ALM S. R., DAWSON C. G. (2003) - Evaluation of two prototype traps and existing trap designs for captures of Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of Economic Entomology, 96, 453-455.
- ALM S. R., YEH T., DAWSON C. G., KLEIN M. G. (1996) - Evaluation of trapped beetle repellency, trap height, and string pheromone dispensers on Japanese beetle captures (Coleoptera: Scarabaeidae). Environmental entomology, 25, 1274-1278.
- ALMA A., DAFFONCHIO D., GONELLA E., RADDADI N. (2010) - Microbial symbionts of Auchenorrhyncha transmitting phytoplasmas: a resource for symbiotic control of phytoplasmoses. In: Phytoplasmas - genomes, plant hosts and vectors (Weintraub P. G., Jones P. coord.), CAB International, Wallingford, UK, 272-292.
- BAUMLER R. E., POTTER D. A. (2007) - Knockdown residual, and antifeedant activity of pyrethroids and home landscape bioinsecticides against Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae) on linden foliage. Journal of economic Entomology, 100, 451-458.
- BRAGARD C., DEHNEN-SCHMUTZ K., DI SERIO F., GONTHIER P., JACQUES M.-A., JACQUES MIRET J. A., FEJER JUSTESEN A., MAGNUSSON C. S., MILONAS P., NAVAS-CORTES J. A., PARNELL S., POTTING R., REIGNAULT P. L., THULKE H.H., VAN DER WERF W., CIVERA A. V., YUEN J., ZAPPALÀ L., CZWIENCZEK E., MACLEOD A. (2018) - Pest categorization of *Popillia japonica*. EFSA Journal, 16, 5438.
- CHANDLER J. A., LANG J. M., BHATNAGAR S., EISEN J. A., KOPP A. (2011) Bacterial communities of diverse *Drosophila* species: Ecological context of a host-microbe model system. PLoS Genet, 7(9), e1002272.
- CIAMPITTI M., PASQUALINI S., BERGAGLIO S., MORI N., CAVAGNA B. (2018) - Verifica dell'efficacia di insetticidi per il controllo degli adulti di *Popillia japonica*: procedura e primi risultati. "Giornate Fitopatologiche" (sessione poster), Chianciano Terme (SI), 6-9 Marzo.
- CROTTI E., BALLOI A., HAMDI C., SANSONNO L., MARZORATI M., GONELLA E., FAVIA G., CHERIF A., BANDI C., ALMA A., DAFFONCHIO D. (2012) - Microbial symbionts: a resource for the management of insect-related problems. Microbial Biotechnology, 5(3), 307-317.
- DALTHORP D., NYROP J., VILLANI M. G. (1999) - Estimation of local mean population densities of Japanese beetle grubs (Scarabaeidae: Coleoptera). Environmental Entomology, 28, 255-265.
- DALTHORP D., NYROP J., VILLANI M. G. (2000) - Spatial ecology of the Japanese beetle, *Popillia japonica*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 96, 129-139.
- DICKERSON E. L., WEISS H. B. (1918) - *Popillia japonica* Newmn., a recently introduced Japanese pest. Canadian Entomologist, 50, 217-21.
- EL-SAYED A. M., SUCKLING D. M., WEARING C. H., BYERS J. A. (2006) - Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. Journal of economic Entomology, 99, 1550-1564.
- EPPO Reporting Service (2017) - First report of *Popillia japonica* in Switzerland. EPPO Reporting Service, 2017, 160.
- EPPO (2016) - PM 9/21(1) *Popillia japonica*: procedures for official control. OEPP/EPPO Bulletin, 46 (3), 543-555
- FLEMING W. E. (1968) - Biological control of the Japanese Beetle. USDA Technical Bulletin, 1383, 78 pp.
- FLEMING W. E. (1972) - Biology of the Japanese Beetle. USDA Technical Bulletin 1449, 129 pp.
- FLEMING W. E. (1976) - Integrating control of the Japanese beetle—a historical review. USDA Technical Bulletin, 1545, 65 pp.
- FRANZINI P. Z. N., RAMOND J. B., SCHOLTZ C. H., SOLE C. L., RONCA S., COWAN D. A. (2016) - The gut microbiomes of two *Pachysoma* MacLeay desert dung beetle species (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) feeding on different diets. PLoS ONE 11(8): e0161118.
- GOODRICH-BLAIR H., CLARKE D. J. (2007) - Mutualism and pathogenesis in *Xenorhabdus* and *Photorhabdus*: two roads to the same destination. Molecular Microbiology, 64, 260-268.
- HAMILTON R. M., FOSTER R. E., GIBB T. J., SADOF C. S., HOLLAND J. D., ENGLE B. A. (2007) - Distribution and dynamics of Japanese beetles along the Indianapolis airport perimeter and the influence of land use on trap catch. Environmental Entomology 36: 287-296.
- HELD D. W., GONSISKA P., POTTER D. A. (2003) - Evaluating companion planting and non-host masking odors for protecting roses from the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). Journal of economic entomology, 96, 81-87.
- HODGSON E. W., KUNTZ C., O'NEAL M., VAN NOSTRAND G. (2011) - Japanese beetle biology and management in corn and soybean. Atti del 23rd Annual Integrated Crop Management Conference, Iowa State University Digital Repository, pp. 63-66.
- HOLMES D. M., BARRETT G. W. (1997) - Japanese beetle (*Popillia japonica*) dispersal behavior in intercropped vs. monoculture soybean agroecosystems. The American Midland Naturalist Journal, 137, 312-19.
- HUANG Y., HUANG X., JIANG M. (2017) - Transformation, proliferation, and influence on host performance by three gut bacteria in the rice water weevil (Coleoptera: Curculionidae). Annals of the Entomological Society of America, 110, 294-301.
- KABALUK T., LI-LEGER E., NAM S. (2017) - *Metarhizium brunneum* - An enzootic wireworm disease and evidence for its suppression by bacterial symbionts. Journal of Invertebrate Pathology, 150, 82-87.
- KLEIN M. G., LACEY L. A. (1999) - An attractant trap for autodissemination of entomopathogenic fungi into populations of the Japanese Beetle *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). Biocontrol Science and Technology, 9, 151-158.
- KOWELS K. A., SWITZER P. V. (2011) - Dynamics of aggregation formation in Japanese beetles, *Popillia japonica*. Journal of Insect Behavior, 25, 207-221.
- KUHAR T. P., SHORT B. D., KRAWCZYK G., LESKEY T. C. (2017) - Deltamethrin-incorporated nets as an integrated management tool for the invasive *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae). Journal of economic entomology 110: 543-545.
- LACEY L. A., AMARAL J. J., COUPLAND J., KLEIN M. G., SIMOES M. (1995) - Flight activity of *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) after treatment with *Metarhizium anisopliae*. Biological control, 5, 167-172.
- LESSIO F., TOTA F., ALMA A. (2014) - Tracking the dispersion of *Scaphoideus titanus* Ball (Hemiptera: Cicadellidae) from wild to cultivated grapevine: use of a novel mark-capture technique. Bulletin of entomological research, 104, 432-443.

- LIU D., LIAN B., WU C., GUO P. (2018) - A comparative study of gut microbiota profiles of earthworms fed in three different substrates. *Symbiosis*, 74, 21–29.
- LOUGHRIN J. H., POTTER D. A., HAMILTON-KEMP T. R., BYERS M. E. (1996) - Role of feeding-induced plant volatiles in aggregative behavior of the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Environmental Entomology*, 25, 1188–91.
- MARIANELLI L., PAOLI F., SABBATINI PEVERIERI G., BENVENUTI C., BARZANTI G., BOSIO G., VENANZIO D., GIACOMETTO E., ROVERSI P. F. (2018a) - Long-lasting insecticide-treated nets: a new integrated pest management approach for *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Integrated Environmental Assessment and Management*, doi: 10.1002/ieam.4107.
- MARIANELLI L., PAOLI F., TORRINI G., MAZZA G., BENVENUTI C., BINAZZI F., SABBATINI PEVERIERI G., BOSIO G., VENANZIO D., GIACOMETTO E., PRIORI S., KOPPENHÖFER A. M., ROVERSI P. F. (2018b) - Entomopathogenic nematodes as potential biological control agents of *Popillia japonica* (Coleoptera, Scarabaeidae) in Piedmont Region (Italy). *Journal of applied Entomology*, 142, 311–318.
- OLIVER J. B., RANGER C. M., REDING M. E., YOUSSEF N. N., MOYSEENKO J. J. (2017) - Insecticides and their combinations evaluated as regulatory immersion treatments for third-instar Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) in field-grown and containerized nursery plants. *Journal of Entomological Science*, 52, 274–287.
- PAVESI M. (2014) - *Popillia japonica* specie aliena invasiva segnalata in Lombardia. *L'Informatore Agrario*, 32, 53–55.
- PETTY B. M., JOHNSON D. T., STEINKRAUS D. C. (2012a) - Survey of pathogens and parasitoids of *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) in northwest Arkansas. *Journal of Invertebrate Pathology*, 111, 56–59.
- PETTY B. M., JOHNSON D. T., STEINKRAUS D. C. (2012b) - *Ovavesicula popilliae* (Microsporida: Ovavesiculidae) spore production in naturally infected adult Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 111, 255–256.
- POLIVKA J. B. (1949) - The use of fluorescent pigments in a study of the flight of the Japanese beetle. *Journal of economic Entomology*, 42, 818–821.
- POTTER D. A., HELD D. W. (2002) - Biology and management of the Japanese beetle. *Annual review of Entomology*, 47, 175–205.
- REGIONE LOMBARDIA (2018) - Aggiornamento dell'area delimitata per la presenza di *Popillia japonica* Newman in Lombardia. D.d.s 2 novembre 2018-n15810 Regione Lombardia, serie Ordinaria numero 45, 7/11/2018.
- REGIONE PIEMONTE (2018) - Aggiornamento delle aree delimitate per la presenza di *Popillia japonica* Newman in Piemonte. BU 32 della RP del 9/8/2018. D.D. 6/8/2018 no. 885.
- RÉGNIERE J., RABB R. L., STINNER R. E. (1979) - *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae): a mathematical model of oviposition in heterogeneous ecosystems. *Canadian Entomologist*, 111, 1271–80.
- RÉGNIERE J., RABB R. L., STINNER R. E. (1981a) - *Popillia japonica*: simulation of temperature-dependent development of the immatures, and prediction of adult emergence. *Environmental Entomology*, 10, 290–296.
- RÉGNIERE J., RABB R. L., STINNER R. E. (1981b) - *Popillia japonica*: the effect of soil moisture and texture on survival and development of eggs and first instar grubs. *Environmental Entomology*, 10, 654–660.
- RÉGNIERE J., RABB R. L., STINNER R. E. (1983) - *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) distribution and movement of adults in heterogeneous environments. *Canadian Entomologist*, 115, 287–294.
- SABBATINI-PEREVIERI G., BINAZZI F., MARIANELLI L., ROVERSI P. F. (2018) - Lethal and sublethal effects of long-lasting insecticide-treated nets on the invasive bug *Halyomorpha halys*. *Journal of Applied Entomology*, 142, 141–148.
- SMITLEY D. R., YOUNG K.-J., HUDSON I. (2011) - Association of *Ovavesicula popilliae* (Microsporida: Ovavesiculidae) with winter mortality of larvae and reduced fecundity of female Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Environmental Entomology*, 40, 589–596.
- SWITZER P. V., ENSTROM P. C., SCHOENIK C. A. (2009) - Behavioral explanations underlying the lack of trap effectiveness for small-scale management of Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of economic Entomology*, 102, 934–940.
- SWITZER P. V., CUMMING R. M. (2014) - Effectiveness of hand removal for small-scale management for Japanese beetles (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of economic Entomology*, 107, 293–298.
- UE (2018) - Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea L 132, 30 maggio 2018, pp. 31–44.
- URBAN P. (2018) - Scoperto il coleottero giapponese *Popillia japonica* (Newman, 1841) (Coleoptera, Scarabaeidae, Rutelinae) nei pressi di Paderborn-Sennelager (Nordreno-Westfalia), primo ritrovamento di questo genere in Germania e in Mitteleuropa. *Mitteilungen der Arbeitsgemeinschaft westfälischer Entomologen* 34 (Online Earlier).
- VILLANI M. G., NYROP J. P. (1991) - Age dependent movement patterns of Japanese beetle and European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) grubs in soil-turfgrass microcosms. *Environmental Entomology*, 20, 214–251.
- WAWRZYNSKI R. P., ASCERNO M. E. (1998) - Mass trapping for Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) suppression in isolated areas. *Journal of Arboriculture*, 24, 303–307.
- ZIMMERMANN G. (2007) - Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17, 879–920.

Siti web consultati

- Canadian Food and Inspection Agency, 2018. D- 96-15: Phytosanitary requirements to prevent the spread of Japanese beetle, *Popillia japonica*, in Canada and the United States. <http://www.inspection.gc.ca/plants/plant-pests-invasive-species/directives/horticulture/d-96-15/eng/1323854808025/1323854908041> (visitata il 23/11/2018).
- EPPO Global database (2018) - (European and Mediterranean Plant Protection Organization) online. <https://gd.eppo.int/> (visitata il 23/11/2018)
- Regione Lombardia, Ente Regionale per i Servizi all'Agricoltura e alle Foreste (ERSAF), Servizio Fitosanitario, 2018. Organismi nocivi: *Popillia japonica*. <http://www.ersaf.lombardia.it/servizi/Menu/dinamica.aspx?idSezione=16969&idArea=17296&idCat=36545&ID=36545&TipoElemento=categoria> (visitata il 23/11/2018).
- Regione Piemonte, 2018. Coleottero scarabeide del Giappone (*Popillia japonica* Newman). Regione Piemonte, Agricoltura e Sviluppo Rurale. http://www.regione.piemonte.it/agri/area_tecnico_scientifica/settore_fitosanitario/vigilanza/popillia.htm (visitata il 23/11/2018).
- U.S. Domestic Japanese Beetle Harmonization Plan (DJBHP), 2016. http://nationalplantboard.org/wp-content/uploads/docs/jbhp_2017_update.pdf (visitata il 23/11/2018).