



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAAF

XIX.

ENTOMOCECIDI: GENESI, SVILUPPO, ECOLOGIA, UTILITÀ E INFESTAZIONI



Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Rendiconti Anno LVIII - 2010



Tavole Rotonde sui maggiori problemi
riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia
Sotto gli auspici del MIPAAF

XIX.

ENTOMOCECIDI: GENESI, SVILUPPO, ECOLOGIA, UTILITÀ E INFESTAZIONI

Estratto da:
ATTI DELLA
ACCADEMIA NAZIONALE
ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
Rendiconti Anno LVIII - 2010

© 2010 Accademia Nazionale Italiana di Entomologia
50125 Firenze - Via Lanciola 12/a

ISBN 978-88-96493-03-8

PRESENTAZIONE

Il simposio su «Entomoceidi, genesi, sviluppo, ecologia, utilità e infestazioni» fa parte delle attività culturali che l'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia promuove ogni anno per un aggiornamento continuo degli operatori del settore agrario e forestale. Queste attività hanno un duplice scopo: da un lato servono al monitoraggio dello stato dell'entomofauna nazionale per eventuali interventi in difesa delle colture agrarie e/o forestali; inoltre, esse rappresentano un valido metodo per promuovere ulteriori studi e ricerche allo scopo di conoscere sempre più approfonditamente il problema riguardante il rapporto pianta-ospite.

Il tema oggetto del simposio è di grande interesse perché gli entomoceidi, le galle prodotte da insetti ed acari, rappresentano il risultato di una complessa interazione fra l'agente galligeno, un

*artropode, e la pianta. L'argomento trattato non è facile, perché prevede sia una serie di adattamenti sia da parte dell'insetto o acaro che della pianta. A tale scopo il simposio si articola in due tempi: una seduta pubblica dedicata ad un argomento più generale riguardante la formazione e lo sviluppo della galla, che verrà affrontata dalla Dr. O. Rohfritsch, direttore del laboratorio di Cecidologia del CNRS di Strasburgo (Francia); ed una seconda seduta pubblica dedicata, invece, a tematiche più strettamente di Entomologia agraria, per un aggiornamento sulla diffusione e i danni arrecati dal cinipide galligeno del castagno (*Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu*).*

ROMANO DALLAI

Presidente Accademia Nazionale Italiana di Entomologia

INDICE

Tavola rotonda su

ENTOMOCECIDI: GENESI, SVILUPPO, ECOLOGIA, UTILITÀ E INFESTAZIONI

MARIO SOLINAS – <i>Introduzione</i>	Pag. 51
ODETTE ROHFRIEHSCH – <i>Genesis and development of dipterocecidia</i>	» 55
GIUSEPPINA PELLIZZARI – <i>Galle della flora italiana. Rassegna iconografica</i>	» 67
ENRICO DE LILLO – <i>Acarocecidi della flora italiana (Eriofioidei galligeni)</i>	» 73

Tavola rotonda su

IL CINIPIDE ORIENTALE DEL CASTAGNO

AMBRA QUACCHIA, CHIARA FERRACINI, ALBERTO ALMA – <i>Origine, diffusione e misure adottate per il contenimento in Europa del cinipide del castagno</i>	» 87
ROBERTO ROMANI, GABRIELE RONDONI, LORENZO GRAGNOLI, PAOLO PERGOLARI, CLAUDIA SANTINELLI, MARCO VALERIO ROSSI STACCONI, CARLO RICCI – <i>Indagini bio-etologiche e morfologiche su Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu</i>	» 97
ROBERTO BOTTA, CHIARA SARTOR, DANIELA TORELLO MARINONI, FRANCESCA DINI, GABRIELE LORIS BECCARO, MARIA GABRIELLA MELLANO, AMBRA QUACCHIA, ALBERTO ALMA – <i>Risposta di genotipi di castagno al cinipide galligeno e strategie di lotta basate su meccanismi di resistenza</i>	» 105
GIACINTO SALVATORE GERMINARA, ANTONIO DE CRISTOFARO, GIUSEPPE ROTUNDO – <i>Sostanze volatili coinvolte nella localizzazione della pianta ospite in Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera, Cynipidae)</i>	» 109
EMILIO GUERRIERI, UMBERTO BERNARDO, LUIGI IODICE, MARCO GEBIOLA – <i>Identificazione morfo-bio-molecolare ed interazioni trofiche degli antagonisti autoctoni di Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu in Campania: metodologia e risultati preliminari</i>	» 115
ALBERTO ALMA – <i>Considerazioni sulle attuali conoscenze inerenti il cinipide orientale del castagno</i>	» 121

SEDUTE PUBBLICHE, FIRENZE 20 FEBBRAIO E 4 GIUGNO 2010

Giornate culturali su:

ENTOMOCECIDI:
GENESI, SVILUPPO, ECOLOGIA, UTILITÀ E INFESTAZIONI

Coordinatore:
MARIO SOLINAS, Accademico

ENTOMOCECIDI: GENESI, SVILUPPO, ECOLOGIA, UTILITÀ E INFESTAZIONI INTRODUZIONE

MARIO SOLINAS (*)

(*) Accademia Nazionale Italiana di Entomologia.
Introduzione alla tematica annuale. Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 20 febbraio 2010.

Nello spirito dello Statuto dell'Accademia, come puntualmente illustrato dal nostro Guido Grandi a conclusione del suo magistrale discorso presidenziale all'inaugurazione dell'Accademia (1950), come attività culturale principale per le Sedute Pubbliche dell'anno, viene solitamente scelto un argomento di particolare importanza ed attualità sia sul piano delle conoscenze scientifiche che su quello delle applicazioni alla soluzione di problemi pratici di Entomologia.

Per il 2010 la scelta è caduta sulla tematica sopra enunciata degli Entomocecidi *sensu lato*, ossia delle galle prodotte da Insetti ed Acari.

Gli entomocecidi, come è noto, rappresentano il risultato di una peculiare interazione tra una determinata specie di insetto e la sua pianta ospite, arborea od erbacea, quasi sempre in termini di monofagia od oligofagia, non esclusa la polifagia, da parte del galligeno a spese di determinati organi vegetali (gemme, foglie, fiori, frutti, rametti, radici), al posto dei quali si sviluppa per induzione un determinato cecidio.

Si tratta di formazioni vegetali che hanno tutte in comune la produzione alle pareti della cavità interna di un "tessuto di nutrizione" per il galligeno, e che nei casi più semplici (pseudo galle) si limitano esteriormente al parziale arrotolamento del lembo fogliare o ad una minuta pustola fogliare o corticale, ma che possono arrivare a costituire strutture più o meno complesse e vistose, dall'aspetto multiforme e variamente colorato, tali da potersi scambiare talora per frutti e come tali essere attaccati anche da uccelli ed altri animali, insetti compresi.

Le galle più comunemente note sono quelle delle querce, le quali hanno richiamato fino dall'antichità l'interesse non solo dei naturalisti (già TEOFRASTO, DIOSCORIDE e PLINIO) ma anche dell'uomo comune, che le ha raccolte e spesso utilizzate, fin dal quinto secolo a.C., per il

ben noto elevato contenuto in tannini, nella concia delle pelli, nella tintura di tessuti e a scopi medicinali.

Ma sul significato biologico delle galle non fu fatto quasi niente fino agli studi sperimentali di Marcello MALPIGHI, considerato a buon diritto il padre della Cecidologia, per i suoi fondamentali contributi (di indiscutibile valore anche per la storia della Storia Naturale) alla conoscenza della struttura e dello sviluppo delle galle, come del ruolo dei rispettivi insetti ed acari galligeni; contributi da lui riportati nel capitolo principale, *De Gallis*, del suo celebre trattato "*Anatomes Plantarum*", pubblicato nel 1679 dalla Royal Society di Londra. Le interpretazioni malpighiane sul significato biologico delle galle sono rimaste praticamente isolate per oltre due secoli, e risultano notevolmente vicine alle vedute attuali.

Studi cecidologici successivi a quelli di Malpighi compaiono solo nel XIX secolo e si tratta di opere più o meno importanti, tutte sostanzialmente descrittive e legate ai celebri nomi di naturalisti, come BOSH, FROGGATT, KIEFFER, Martin LICHTENSTEIN, Franz LÖW, MAYR, OLIVIER, RÜBSAAMEN, SASAKI, SCHLECHTENDAL, TAVARES, THOMAS e TROTTER, nomi particolarmente familiari agli Entomologi.

Essenzialmente descrittivi sono anche i rinomati trattati di J. DARBOUX & C. HOUARD del 1901 ("*Catalogue systematique des zoocecidies de l'Europe et du bassin Méditerranéen*") e di C. HOUARD del 1908 ("*Les Zoocécidies des Plantes d'Europe et du Bassin de la Méditerranée*"). Tuttavia, l'importanza della Cecidologia per la Biologia Generale era già ben nota ed apprezzata, come attesta la frase lapidaria con cui Alfred GIARD conclude la prefazione al sopra citato *Catalogue systematique*, e che lo stesso HOUARD riporta emblematicamente sul frontespizio del suo trattato appena menzionato. Tale

frase infatti recita: “*Nulle partie de la Biologie n’est plus propre que la Cécidiologie à inspirer des recherches passionnantes dans des directions plus diverses et où l’on soit sûr d’arriver rapidement à des résultats d’une haute importance général*”.

Anche le numerose opere cecidologiche che seguirono nel XX secolo, continuano ad essere soprattutto descrittive, ma la consapevolezza della grande portata della tematica va sempre più affermandosi, come attesta chiaramente la presentazione dei Proceedings dell’International Symposium (14-19/08/1997, Mátrafüred, Ungary) dal titolo *The biology of gall-inducing arthropods* (Gen. Tech. Rep. NC-199. St. Paul, MN: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. North Central Research Station. Eds. Csòka. Gyuri; Mattson, William i.; Stone. Graham N.; Price. Peter W. 1998): “*This proceedings explores many facets of the ever intriguing and enigmatic relationships between plants and their gall-forming herbivores. The research reported herein ranges from studies on classical biology and systematics of galling to molecular phylogeny, population genetics, and ecological and evolutionary theory. Human kind has much to learn and gain from understanding the fine details of how plants and their gallers interact*”.

Pur senza volere entrare nel merito dei singoli argomenti qui menzionati, si capisce bene che gli studi sulle galle e sugli insetti galligeni, ma soprattutto quelli sulle peculiari interazioni tra questi ultimi e le rispettive piante ospiti, entrano sempre più profondamente nei grandi temi della Biologia come la Biodiversità, l’Evoluzione e l’Ecologia.

Certamente ciò è dovuto anche alla diffusione delle formidabili acquisizioni conoscitive accumulate nel vasto campo delle Interazioni Insetti-Piante, i cui celebri Simposi Internazionali hanno ormai una storia di 50 anni (l’anno prossimo si terrà in Olanda il 14esimo: SIP14, Vageningen, 13-18/08/2011), coinvolgendo un numero sempre crescente di studiosi e ricercatori impegnati nelle più varie discipline a tutti i livelli dell’organizzazione biologica, dai geni agli ecosistemi.

Tornando al sopra menzionato Simposio “*The biology of gall-inducing arthropods*”, un contributo dal titolo particolarmente emblematico: *Reprogramming plant development: two approaches to study the molecular mechanism of gall formation* (SCHÖNRÖGGE K., BROOKS S.E., SHORTHOUSE J.D., LICHTENSTEIN C.P., pp 153-160) mi ha fatto accostare i meccanismi di induzione della galla da parte del galligeno qui

ipotizzati, a certe interazioni bitrofiche e tritrofiche tra insetti fitofagi e piante ospiti, dove è stato dimostrato che l’azione trofica del fitofago induce la pianta attaccata a produrre *ex novo* (ovvero per attivazione di geni “dormienti”, ossia ordinariamente non attivi) sostanze di vario tipo, che ingerite dal fitofago producono in esso effetti tossici che ne pregiudicano lo sviluppo e/o la riproduzione; ed inoltre, la stessa pianta è talora contemporaneamente indotta a produrre *ex novo* sostanze volatili capaci di richiamare specificamente i regolatori demografici naturali (parassitoidi e predatori) del fitofago in questione.

Nell’articolo appena citato viene evidenziato un meccanismo di induzione della galla da parte del galligeno, analogo a quello più studiato e meglio conosciuto dell’induzione dei “noduli” da parte dei *Rhizobium* azotofissatori nella ben nota simbiosi con le leguminose; per la quale è stato appurato che detto meccanismo di induzione consiste nell’attivazione di geni “dormienti” mediante stimoli/segnali (*Nod Factors*) trasmessi alla pianta bersaglio dal Batterio.

È interessante notare anche il fatto che un meccanismo analogo è stato evidenziato per spiegare l’induzione di galle radicali da parte di Nematodi sulla pianta ospite (Ravisha R. WEERASINGHE, David McK. BIRD, and Nina S. ALLEN, 2005 - *Root-knot nematodes and bacterial Nod factors elicit common signal transduction events in Lotus japonicus*. Edited by Maarten J. Chrispeels, University of California at San Diego, La Jolla, CA).

Ma purtroppo, questo aspetto così avvincente (davvero *intriguing!*) della cecidologia non è stato più ripreso nelle successive edizioni di detti Simposi, dei quali il quinto e più recente si è svolto appena qualche anno fa in Brasile (Serro do Cipo, Brazil, 9-14 August 2009).

Non è intenzione dell’Accademia affrontare quest’anno né tutta né gran parte della vasta tematica degli Entomocecidi. Il nostro intento sarebbe unicamente quello di mettere a fuoco l’importanza generale della tematica, presentandone alcuni argomenti di particolare interesse sul piano delle conoscenze naturalistiche e su quello dell’Entomologia applicata, onde stimolare e promuovere ulteriori studi e ricerche in merito.

Si terranno pertanto due Sedute Pubbliche per trattare nella prima (04/06/2011) argomenti di carattere più generale come genesi, sviluppo e diffusione in natura delle galle; e nella seconda (18/11/2011) per affrontare un grave problema

di Entomologia agraria dovuto ad un Cinipide galligeno (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu), secondo il seguente programma:

4 GIUGNO 2010 - Seminario presentato dalla celebre Cecidologa francese, Dr Odette ROHFRITSCH (Direttore di Ricerca CNRS, già Direttore del Laboratorio di Cecidologia dell'Università "Louis Pasteur", Strasbourg, France) dal titolo:

Genesis and development of Dipterocecidia
cui seguiranno due presentazioni a carattere eminentemente iconografico sugli *Entomocecidi*

e sugli *Acarocecidi* della flora italica, ad opera dei ben noti Studiosi italiani, Professoressa Giuseppina PELLIZZARI dell'Università di Padova, e Prof. Enrico DE LILLO dell'Università di Bari.

19 NOVEMBRE 2010 - Tavola Rotonda su:

Il Cinipide Orientale del Castagno
coordinata dall'Accademico Alberto ALMA che si è interessato fin dall'inizio di questo grave problema per la castanicoltura italiana ed europea, rappresentato dalle infestazioni sempre più estese e nefaste del Galligeno in questione.

GENESIS AND DEVELOPMENT OF DIPTEROCECIDIA

ODETTE ROHFRI TSCH (*)

(*) Director of Research, retired former director of the Cecidology laboratory; C.N.R.S. – Université Louis Pasteur, Strasbourg, France. 6 rue des Arquebusiers 67000 Strasbourg France; o.rohfritsch@aliceadsl.fr
Lettura tenuta durante la Seduta pubblica dell'Accademia. Firenze, 4 giugno 2010.

Genesis and development of dipterocecidia

The basic study of gall formation or cecidogenesis, focuses on the interface between the plant and the gall inducer, especially on how the affected cells escape the plant's morphogenetic field and become organizers of new growth. Gall midges (Diptera, Cecidomyiidae) induce both simple and highly complex galls and so present a range of models for the study of early larval behavior and the earliest plant responses. The first larval stage is the gall inducer, wounding with sclerified mandibles and feeding by sucking. Wounding and feeding behaviors, the composition of the mid gut fluids as well as the salivary secretions are specific to each species of larva. Cell dedifferentiation (or metaplasia) is the first reaction of the host and it involves all leaf cells in the attacked area. The rejuvenated cells, disconnected from the normal growth pattern of the leaf, attract nutrients. These cells are then engaged in gall growth or in resistance reactions. The feeding behavior of the larva stimulates gall growth, and induces the extension of the nutritive layer. The metabolically active nutritive cells constitute an important nutrient sink and allow the larva to have indirect access to the vascular tissues of the host. Through an epigenetic manipulation of the nutritive cells, the gall midge larva controls plant responses. With the examples of two gall midges, *Physemocecis hartigi* and *Didymomyia tiliacea*, attacking lime leaves (*Tilia*) at the same time, it is shown how the early wounding behavior conditions gall morphogenesis. The early wounding as well as the later feeding behaviors are components of the life strategy evolved by the midge during its adaptation to the host's defense reactions. As usually strict specialists, the gall midges have had to face many constraints imposed by the host and the environment. As a result, a great variety of life strategies are adopted and complex larval behaviors are responsible for many different gall structures.

KEY WORDS: Gall midges, Cecidomyiids, gall morphogenesis, plant-insect interactions, plant wounding, nutritive tissues.

INTRODUCTION

A gall or cecidium is a manifestation of abnormal tissue growth and tissue differentiation induced on a plant by the feeding activity of a parasite (MEYER and MARESQUELLE, 1983). Gall inducers are present in widely unrelated groups of organisms such as: viruses, bacteria, fungi and animals (cecidozoa), including nematodes, mites and insects. They are generally host specific and gall-inducing species can be identified by their particular galls. The process of gall induction (cecidogenesis) by parasitic organisms has always intrigued scientists. Once thought to be caused by specific gall-inducing stimuli contained in secretions of the parasite (maternal secretions injected during oviposition by *Pontania* sawflies or salivary secretions from gall midge larvae), cecidogenesis is now understood to be the result of highly specific and specialized plant defense reactions to the injury and to the feeding behavior of the parasite (MAGNUS, 1914; ZWEIGELT, 1931; ROHFRI TSCH, 1992; HARRIS *et al.*, 2010). The development of a gall involves factors that release the cells of the host from their normal morphogenetic coordinating influences (MANI,

1964). The host plant is provoked into surrounding the feeding site of the insect with highly nutritious cells. The modes of feeding and the influences that the gall inducing insects (aphids, gall wasps and various groups of flies) have on host-plant cells vary within the different groups (MEYER and MARESQUELLE, 1983; ROHFRI TSCH, 1992; BRONNER, 1992). Gall midges belong to the family Cecidomyiidae in the insect order Diptera and are widely distributed on most herbaceous and woody plants. Many gall midge larvae feed externally, initiate covering galls and induce a large variety of structures. The gall midge larvae inhibit or stimulate growth and induce new tissue differentiation and their target is access, usually indirectly, to the vascular tissues of their host. Piercing-sucking mouthparts (SOLINAS, 1968) together with simplification of the intestinal tract enabling extra-intestinal digestion were considered important prerequisites for the gall midges to switch from fungivory to phytophagy, and to gall induction (MAMAEV, 1975; ROSKAM, 2005). Gall midges of the tribes Lasiopterini and Asphondyliini still feed on fungal mycelium growing in the larval chamber. The fungus not only provides food but also plays

an essential role in gall induction and gall development (ROHFRITSCH, 2008). All other gall midges have evolved intimate and unique interactions with their host plants. These relationships are species specific, and that explains the great diversity of gall structures. The earliest gall midge larva-host plant interactions have been analyzed in the case of simple galls (*Hartigiola annulipès* Hartig on *Fagus sylvatica* L. and *Geocrypta galii* Loew on *Galium mollugo* L.) and in a highly complex covering gall [*Didymomyia tiliacea* Loew on *Tilia* (*T. cordata* Mill. x *T. platyphyllos* Scop.)] (ROHFRITSCH, 1980; ROHFRITSCH and SHORTHOUSE, 1982; ROHFRITSCH, 1992). The first instar wounds the host cells and often secretes saliva onto the host during migration to the selected feeding site and during feeding (GROVER, 1995 ; HARRIS *et al.*, 2006). By puncturing or wounding the epidermal cells, saliva and juices of the mid-gut containing lytic enzymes (MAMAEV, 1975) are exuded onto the plant tissues or injected into the epidermal cells. Together with hydrolyzing enzymes secreted by the larva, host defense molecules may be present in the partially lysed epidermal cell walls and in the regurgitated material. In wounded cells, chitinases become active and chitin, chitin oligomers and chitosan can elicit diverse plant-cell responses, such as modification of cell permeability, of cell pH of mRNA expression, cell activation, cell divisions and synthesis of metabolites that characterize stress (HARDWIGER *et al.*, 1986). The chitinous mandibles are able to elicit a host defense response too (BRONNER *et al.*, 1989; WESTPHAL and MANSON, 1996). With one or several of these elicitors each species of gall midge has its specific mode of interaction with its host plant (ROHFRITSCH, 1990). By removing the larva at different stages of gall development we were able to analyze the succession of the host's responses to larval feeding behavior (ROHFRITSCH, 1992), and we observed that larval activity is necessary throughout gall development. The metabolically active nutritive tissue cells continuously support larval activity. Early larval wounding and feeding behaviors play essential roles in gall morphogenesis, gall structure, and gall development, as they translate the life strategy evolved by the gall midge on its host.

WOUNDING BEHAVIOR AND GALL INITIATION

Gall midge attack - Emergence of gall midges is synchronized with the active growth period of their host plants when food quality and quantity

are highest and plant defenses lowest (YUKAWA and ROHFRITSCH, 2005). The imago selects the right host, the right organ and the specific, precise site to lay the eggs. Upon hatching, the larva must locate the feeding site, and during this dispersal stage the larva is agile and resistant to desiccation. Once the larva, for example, *Hartigiola annulipès* Hartig on *Fagus sylvatica* L., locates a feeding site it ceases moving about and instead wriggles on a small area of cells, attacking epidermal cells of the host according to a specific pattern. After a few hours (6-8h) the larva ceases all movements, its body enlarges, flattens, becomes transparent and adheres tightly to the plant tissue (Plate I, 1, 2, 3). The only motion detectable in this early stage of initiation is a sucking motion of the pharynx. The larva is difficult to move at this stage, is susceptible to desiccation and is often unable to initiate a new gall when moved (ROHFRITSCH, 1980). The methods and manner of this early wounding behavior, first discovered in the case of *H. annulipès*, have been observed in the case of 6 other gall midge species. The pattern of this initial wounding behavior is specific to each species and plays an essential role in gall morphogenesis (ROHFRITSCH and SHORTHOUSE, 1982; OLLERSTAM *et al.*, 2002; HARRIS *et al.*, 2010). Wounding and feeding behaviors, the composition of the mid gut fluids and of the salivary secretions are specific to each species of gall midge. Such characteristics equip a gall midge with specific means for it to interact with its host-plant cells in a determined pattern, according to its specific life strategy evolved on the host.

Host reaction - Gall induction starts when the neonate larva wounds a certain number of cells at the selected site. The cells attacked by the gall midge larva and the cells around the attacked cells in the host organ present the earliest sub-cellular response, before the events of cell hypertrophy and cell proliferation. The cells punctured by the larval mandibles can be ruptured or they may accumulate a deposit of callose around the wounded site (Plate I, 3, 4). Wounded cells as well as the cells of the different adjacent cell layers show evidence of cell activation, there is a homogenization of the tissue and cell types appear identical (Plate I, 5a, b). A large nucleus with large nucleoli and modified plastids are in the center of the cell, the cytoplasm swells concurrently with a reduction in the vacuoles. The intercellular spaces are reduced. Such cell modifications occurring within 24 h of the interaction are referred to as either cell dedifferentiation, or metaplasia (MEYER and MARESQUELLE, 1983). The early

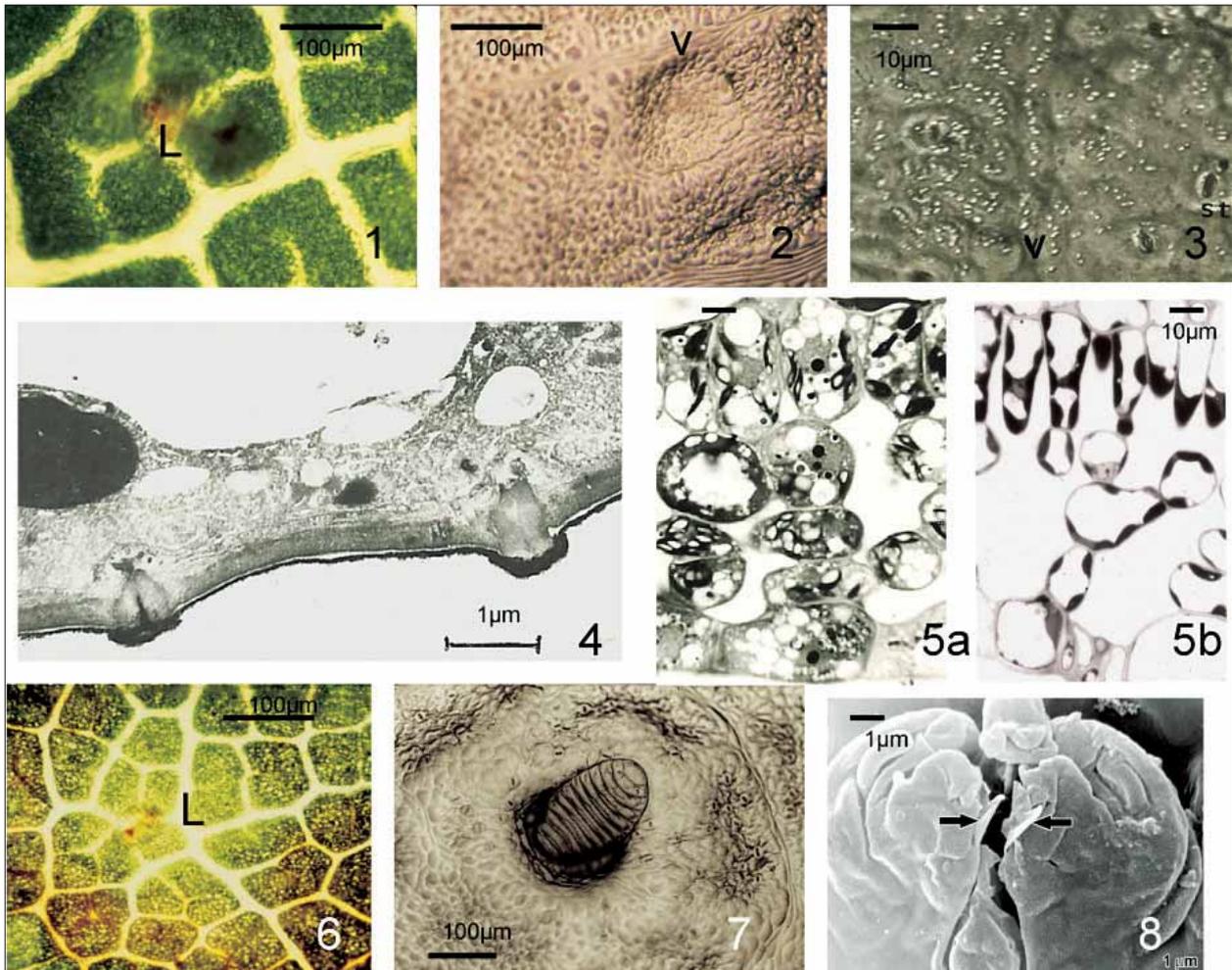


Plate I

Figs. 1-7: Early gall development of *Hartigiola annulipès* Htg. on the lower epidermis of the leaf of *Fagus sylvatica* L. Fig. 1: At the end of the first day of the interaction, the larva (L), its body tightly adhering to the plant tissue, begins to feed. Fig. 2: Print of the leaf surface, from the lower epidermis of the leaf of *F. sylvatica* which has been influenced by the larva of *H. annulipès* during one day. The larva was near a vein (V) in a depression, on a field of punctured cells, cell growth forms a wall around the larva. Fig. 3: Detail of the leaf shown in Fig. 2 with the punctured cells, beneath the larva. The epidermal cells have been attacked by the larva during the first 6 hours of the interaction. st : stomata. Fig. 4: Section of a leaf epidermis cell viewed under the electron microscope. The larval mandibles crossed the cell wall, the plasma membrane reacts with membrane proliferation and callose deposit in the wounded area. The cells are never ruptured nor killed. Fig. 5: Section of the leaf of *F. sylvatica* showing the earliest modifications (cell metaplasia) after the first day of attack by the larva (Fig. 5a) compared to the non attacked cells of the same leaf (Fig. 5b). Note the richness in modified cytoplasm and nucleoplasm of the cells influenced by the larva. The pecto-cellulosic cell wall and the cuticle are thin. The enlarged cells reduce the inter cellular space. Fig. 6: The still feeding larva (L) is unable to induce new growth, instead phenolics progressively invade the attacked area. Fig. 7: Beginning of covering growth over the anterior end of the larva. Imprint of the larva on the third day of gall development, (according using Schoch's technique of rhodoid imprinting, see ROHFRIE, 1980). Fig. 8: Mandibles (arrows) and head of the first instar larva of *Mayetiola destructor* (Say) (from HARRIS *et al.*, 2006).

wounding behavior of the gall midge larva and the plant reaction were observed for the first time on beech (*F. sylvatica* L.) attacked by *H. annulipès* Hartig but are characteristic of most gall midge-host plant interactions. By removing the gall inducer at this early stage it has been shown that metaplasia is an unstable phenomenon. The cytological characteristics described above are lost within 24 h and a number of defense metabolites (thick, lignified cell walls, anthocyanines and phenolics) accumulate in the attacked cells (Plate I, 6). From this early point in gall growth, a large

number of cells become “disconnected” from the normal growth pattern of the leaf. Normal growth polarity and cell differentiation remain definitively disturbed. The earliest gall induction is cell metaplasia and normal growth inhibition in the attacked area. On the following days, proliferating cells around the feeding site begin to envelop the larva, the direction of this new growth is first perpendicular to the normal leaf growth. The larva, its body in intimate contact with the earlier attacked cells, feeds now on new cells at the base of the enveloping sides of the gall (Plate I, 7, 8). Feeding by sucking on the

extended cell wall stresses the cells along the larval cavity and keeps these cells in a dynamic state, thus constituting the gall as a sink for plant nutrients (KIRST and RAPP, 1974).

FEEDING BEHAVIOR AND GALL STRUCTURE

Simple covering galls - Each gall midge species has evolved a specific mechanism to gain access to the host's soluble substances. Neonate larvae of some species attack the cells in a non-inva-

sive way and wound without killing the cells ; those of other species attack more aggressively, produce an extended wound and generate an intense plant reaction and a complex gall structure. *Geocrypta galii* Loew induces a simple covering gall on the stem of *Galium mollugo* L. (Plate II, 1, 2). The first instar is mobile and punctures a number of epidermal cells along the young, fast-growing stem. On the second day the gall growth starts and the larva feeds on all cells along the new growing tissues, as on earlier attacked cells (Plate II, 2, 3, 4). The gall shape is

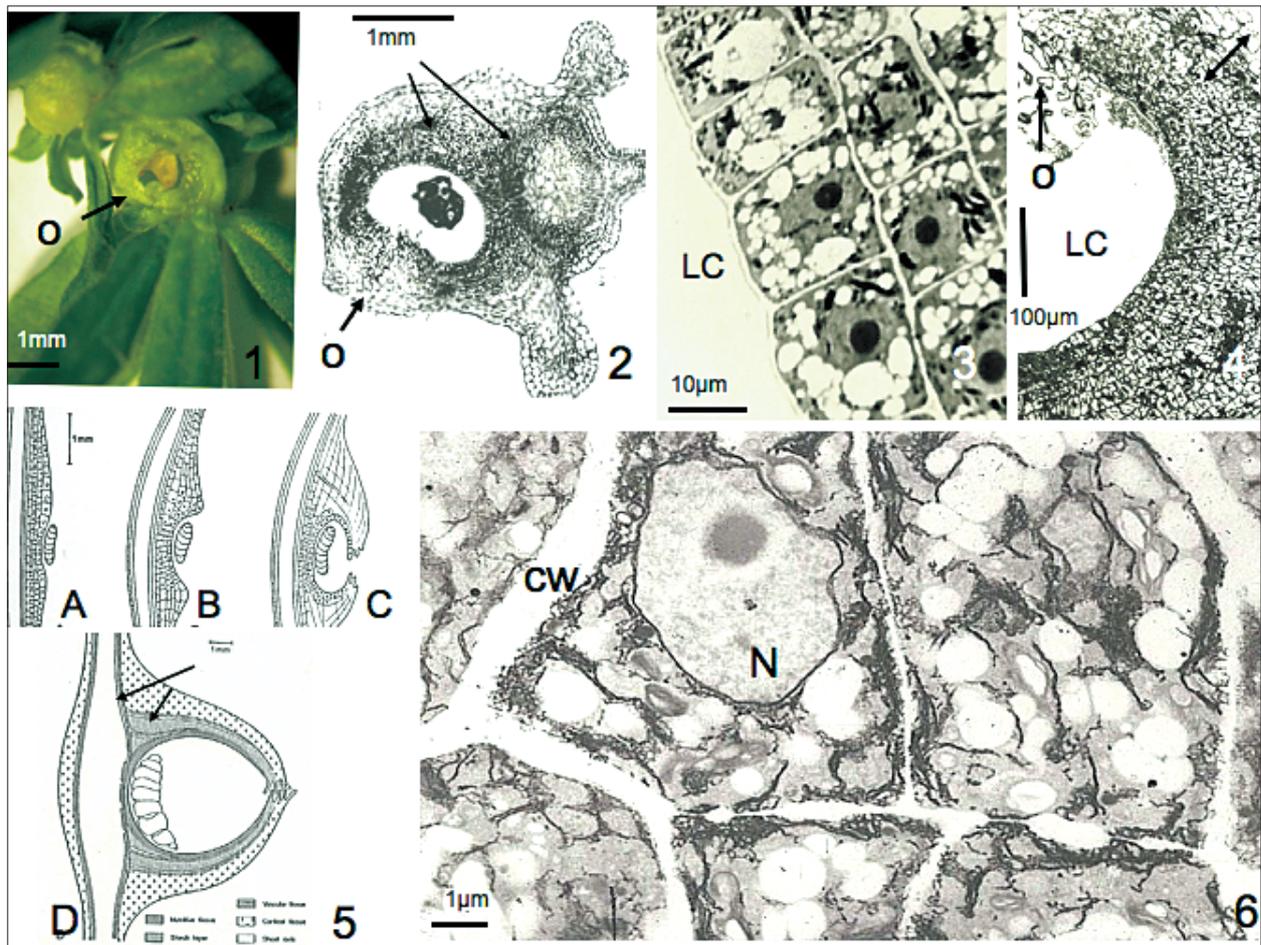


Plate II

A simple gall midge covering gall, *Geocrypta galii* Loew, on the stem of *Galium mollugo* L. The larvae feed on a nutritive tissue grafted onto the host vascular tissue. Fig. 1: Longitudinal section of a half grown stem gall, the ostiole (o) allows air entrance into the larval cavity. Fig. 2: Transversal section of a half grown stem gall. The vascular tissues are continuous with the vascular tissue of the stem (arrows). Between the vascular tissues and the larval cavity, the nutritive tissue is composed of small cells with a dense cytoplasm. Fig. 3: Modified stem cells after 2 days of larval feeding. Cells along the larval cavity (LC) are punctured but never ruptured. These cells are enriched in cytoplasm and nucleoplasm, the flexuous plastids are gathered around the nucleus. Note the large nucleolus and the thin cell wall of the epidermal cells. Fig. 4: Transversal section of a nearly mature gall. Around the nutritive tissue an important vascular tissue is present (double arrow). Fig. 5: Schematic representation of early stages in gall development of *G. galii* on the stem of *G. mollugo*, only the attacked side is represented (from Rohfritsch 1992). (A) Shows the larval action after the first day of interaction with its host, cell growth is inhibited beneath the larva, cell hypertrophy is observed around the larva. (B) Gall after 2 days of larval activity, the stem bends because of unilateral growth inhibition. New tissues are formed around the larva and the new cell growth polarity is perpendicular to the normal growth polarity of the stem. (C) Gall after 3 days of larval feeding, the growth polarity is now oblique and the larva is enveloped. The larva feeds on all cells of the enveloping wall, a nutritive tissue is now well established, vascular tissue appears in the growing cell mass and joins that of the stem. (D) The mature gall is large, clean and the large clean and larval cavity opens to the outside through an ostiole. The gall entrance is protected by numerous hairs. The well developed phloem (arrows) lies behind the 4 to 5 layers of nutritive tissue cells. Fig. 6 Cells of the first and second layer of the nutritive tissue of a half grown gall. The cells have a large nucleus (N) and an abundant endoplasmic reticulum, essentially located along the cell wall (CW), it communicates from cell to cell through numerous plasmodesmata, gathered in large pit fields.

due to the larva feeding evenly over the inner surface of the chamber. This feeding behavior shapes a large and clean larval cavity, with an ostiolar opening (Plate II, 4, 5). The nutritive tissue covers the inner wall of the larval cavity and is grafted onto the host vascular tissue through newly formed vascular strands. The punctured epidermal cells react with a thickening of the wall, and the deposit of callose around the feeding puncture. The major cytological characteristics of these nutritive tissue cells include a large nucleus with a large nucleolus, small, flexuous plastids in a perinuclear position and numerous mitochondria. An abundant endoplasmic reticulum is mainly located along the irregularly thick cell walls (Plate II, 3, 6). The different cell layers between the larval cavity and the vascular bundles communicate through the endoplasmic reticulum via numerous plasmodesmata, preferentially oriented and gathered in pit fields (Plate II, 6). An important symplastic transport occurs between the vascular tissue of the gall and the larval cavity (Plate II, 2, 4). These nutritive tissue cells present characteristics of transfer tissue cells (ROHFRITSCH, 1988; 1992). The same kind of transport along a short distance pathway is observed in nectaries of *Abutilon* (Günning, 1976). *Dasineura ulmariae* Br. develops a pouch gall on the leaf of *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim, and in that case the gall midge larva feeds only on a small group of cells, located at the top of the larval cavity (Plate III, 1, 4B₁, 5, 6). The nutritive tissue cells are in direct contact with the phloem cells of the attacked leaf. These cells are never ruptured; they do not show cell wall thickenings along the larval cavity, and the larva feeds by sucking through a thin cell wall (Plate III, 7). During early developmental stages of the galls induced by *H. annulipès* on leaves of beech, wall puncturing is so subtle that no cell is killed. Around the active, earlier attacked cells, turgid epidermal cells extend beyond the leaf surface. The 48 h old larva feeds on these turgid cells, its body closely applied against the punctured cells which are inhibited in their growth. Gall growth (cell enlargement and cell divisions) occurs around the stationary larva, resulting in a covering growth enveloping the larva. The larva feeds now only on the lateral walls of the minute larval cavity and a disc shaped gall develops (Plate III, 3, 4B₃). From these examples it becomes apparent that there is a direct relationship between the position of the feeding larva in the growing gall and the direction of growth

taken by the layers of cells which envelop the larva. Covering galls may be relatively simple structures, however each gall midge species can be characterized by a specific gall structure and by specific histo- cytological features of its nutritive tissue.

Atypical covering galls - A "leaf mining" gall midge. The imago of *Physemoecis bartigi* Liebel deposits the eggs between the trichomes along the main veins of the lime leaf (*T. cordata* Mill. x *T. platyphyllos* Scop.). The mobile first instar locates the feeding site and attacks the leaf by wounding and killing 10-12 epidermal cells oriented in a circular outline. The cells in the center of the circle are partly dedifferentiated and activated to synthesize proteins, cell enlargement is induced along the wounded line although no cell division occurs, and trichomes (enlarged, lignified epidermal cells) cover the larva (Plate IV, 1, 2, 3). In galls aborted at this early stage, all cells of the attacked epidermis are transformed into trichomes (Plate IV, 4). The first instar lies in intimate contact with the dedifferentiated cells of the host epidermis and feeds without rupturing the nutritive cells. The second instar penetrates into the leaf lamina through the line of cells killed earlier and with the help of cell wall maceration (ROHFRITSCH, 1999).

The larva moves like a miner along the vascular tissues of the attacked area (Plate IV, 5, 6, 7, 8). Without rupturing any cell, it feeds on mesophyll and on perivascular cells transformed into nutritive tissue cells. These modified cells are not easy to find in the large larval cavity of the second instar. The nutritive tissue of the maturing larva is well developed and easy to observe. The hypertrophied round cells are rich in cytoplasm and proteins, they have irregular cell walls and numerous plasmodesmata allowing rapid transport of soluble food from the sieve tubes to the larva. The turgid, cytoplasm-rich cells are regularly punctured by the larva. The punctures are large and reach deep inside the cells, the cell wall and the plasma membrane along the feeding puncture are not disrupted, no cell death is observed (Plate IV, 6). At the periphery of the nutritive tissue, starch accumulates and further away phenolics and mucilaginous substances. The tiny pustule gall matures within 10 days (Plate IV, 7, 8) and the mature larva leaves the gall to pupate in the soil (ROHFRITSCH, 1999).

A complex covering gall - Didymomyia tiliacea attacks the same *Tilia* leaf as *P. bartigi*, at exactly the same place at the same time; the gall midge

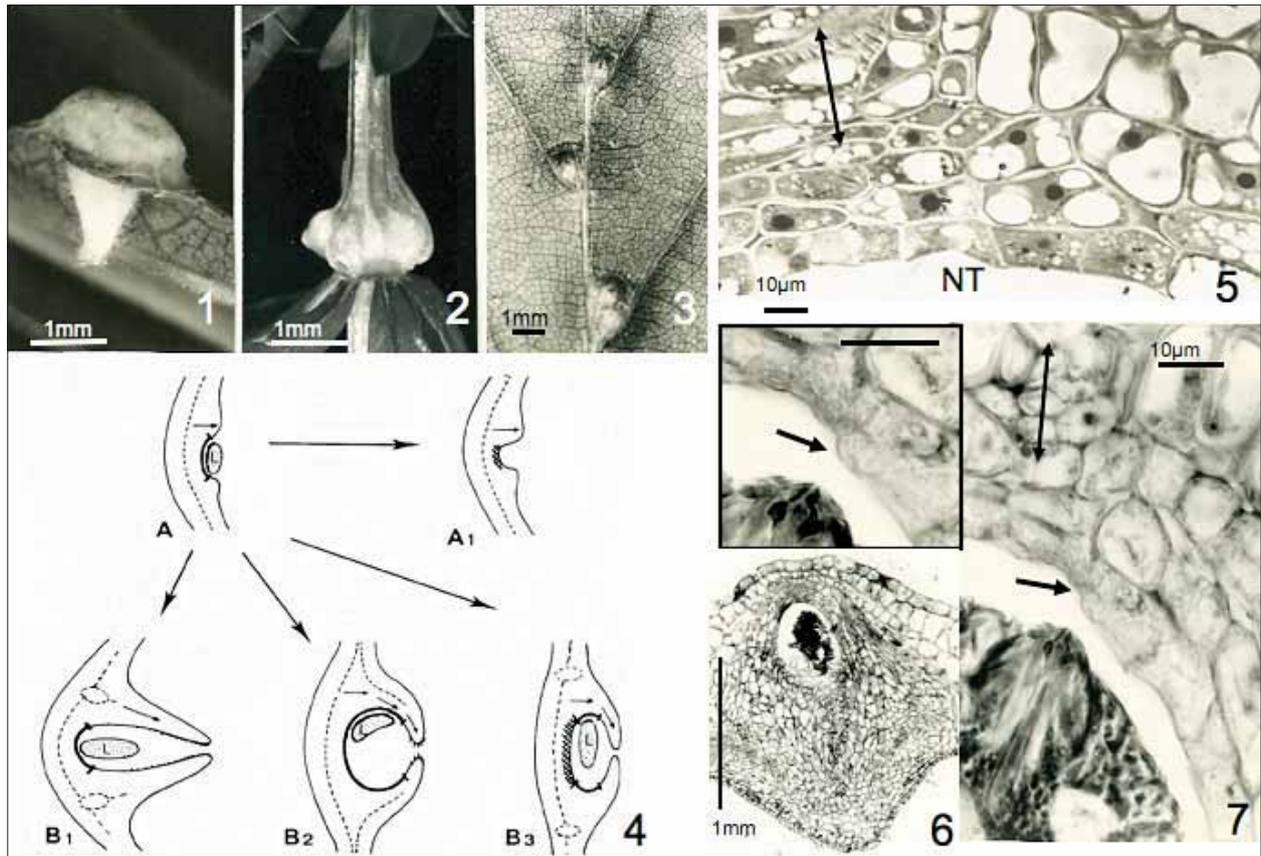


Plate III

Developmental morphology of simple gall midge covering galls. Fig. 1: *Dasineura ulmariae* Br. induces a cone shaped gall on *Filipendula ulmariae* (L.). Fig. 2: *Geocrypta galii* Loew induces spherical galls on the stem of *Galium mollugo* L., the stem shown presents 3 galls on the same internode. Fig. 3: *Hartigiola annulipès* Htg. induces lenticular galls on the leaf of *Fagus sylvatica* L. Fig. 4: Schematic representation of morphogenetic types of covering galls. The stimulation of feeding of the larva (L) determines the location of the nutritive tissue (—). Stimulation of the nutritive tissue cells also directs growth of gall tissues (→ →) and growth of the vascular bundles (-----). Feeding at the top of the chamber induces a cone shaped gall (B1), feeding all around the surface of the chamber, a spherical gall (B2), and along the lateral surface of the chamber, a lenticular gall (B3). A1 represents a gall from which the larva has been removed after 2 days of feeding. Growth of the gall has continued only by cell hypertrophy, (xxxx) indicates abandoned nutritive cells, often invaded by phenolics and lignine (from ROHFRI TSCH and SHORTHOUSE, 1982). Figs. 5-7: Sections of a half grown gall of *D. ulmariae* on *F. ulmaria*. Fig. 5: The nutritive tissue (NT), in continuity with the vascular tissue of the leaf (double arrow), is composed of a small number of cells localized at the top of the larval cavity. The cells have a large nucleolus, and they are enriched in cytoplasm, along the larval cavity the cell walls are extremely thin but no cell destruction is observed. Fig. 6: A sagittal section of the gall, showing the localization of the nutritive tissue, in front of the larval head. Fig. 7: Detail of the nutritive tissue, in contact with the vascular tissues of the leaf. The arrow points toward a feeding site, it shows a trace of sucking formed by a conical projection on the cell surface in front of the larval mouth parts.

larva, before leaving the eggshell, kills a large number of cells (Plate V, 1). The target of the larva is the vascular tissue in the leaf lamina and on the way a large number of epidermal and mesophyll cells are ruptured (ROHFRI TSCH, 1987; 1990). Around this extended and deeply wounded area, cell metaplasia and cell proliferation are immediately induced even before the larva has completely left the eggshell (Plate V, 2, 3). Compared with *P. hartigii*, *D. tiliacea* has evolved the opposite strategy during the earliest interaction with the host: it destroys a large number of cells and induces a very strong host reaction, namely major cell proliferation. From the second day on, all of the leaf layers are definitively modified and an important growth

process is induced. The new growth envelops the larva and often the larva is crushed by the growth reaction of the host (ROHFRI TSCH, 1992). During early gall development (4-6 days) the feeding larva vigorously attacks the cells lining the small larval cavity, some cells are killed but most cell walls are pushed inwards by the larva using its ventral spines and its mouthparts. The wounded cells react with an important deposit of wall material around the feeding puncture (Plate V, 4, 5b). Most punctured cells, at the bottom of the larval cavity, contain nucleolar material, similar to the nucleolus still present in the same cell (Plate V, 5a, b, c), once considered to be nucleolar material discharged into the cytoplasm by the attacked cell (MEYER, 1957;

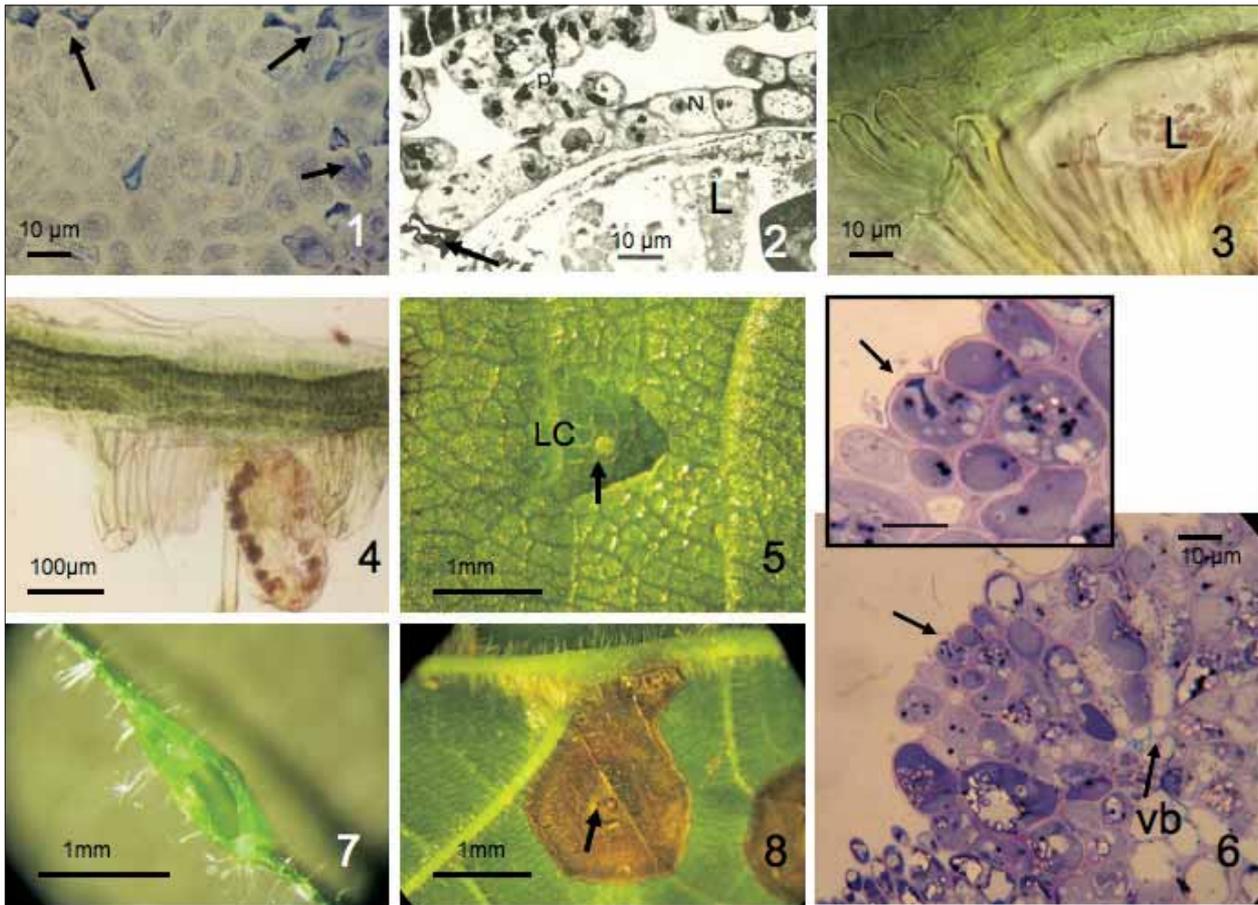


Plate IV

Interactions of *Phytomyza hartigi* Liebel with the leaf of *Tilia* (*T. cordata* Mill. x *T. platyphyllos* Scop.). Fig. 1: Lower epidermal cells after the first day of larval attack showing the early nutritive tissue with the killed cells, one in the center and a few cells (arrows) in a circle all around. Fig. 2: Section of the lime leaf on the third day of the interaction, the larva is now completely covered by hypertrophic cell growth. The early nutritive tissue is composed of modified epidermis and spongy parenchyma cells, no real metaplasia is induced, the different cell layers of the leaf keep their characteristics. The earlier killed cells, at the gall periphery (arrow) will help the second instar larva to penetrate into the lamina. Fig. 3: A 3 day old gall, the trichomes cover the first instar larva (L) which is in close contact with the nutritive tissue cells. Fig. 4: A 3 day old larva unable to keep contact with the nutritive tissue, all modified epidermal cells grow perpendicularly to the leaf surface, the trichomes keep the larva away from the leaf. Fig. 5: A nearly mature gall. The lower epidermis and the spongy parenchyma have been removed to reveal a large larval cavity (LC) inside with the gall initiation site (arrow). Fig. 6: Nutritive tissue cells of a mature gall composed of modified vascular tissues (vb) and modified mesophyll cells. Note the punctured cell (arrow), the cell wall is never disrupted. Fig. 7: Section through a nearly mature gall. Fig. 8: The mature larva has left the gall through the ostiole (arrow), the tissues of the gall die rapidly.

ROHFRITSCH,1987). It now appears more likely that it is introduced material, of larval or of plant origin (ROHFRITSCH, unpublished data). The presence of this nucleolar material is associated with early gall growth and with the first larval instar. The second instar feeds without rupturing the nutritive tissue cells, and no more nucleolar material is introduced into the cells (Plate V, 6). The larva has its body in intimate contact with earlier attacked cells. In reaction to the destructive larval feeding behavior, a regenerative cell layer develops within the mass of actively dividing cells (Plate V, 7, 8, 9). A complex and relatively large gall structure is induced around a very small larval cavity. The gall is fully developed within 6 weeks

and is composed of a parenchymatous outer gall containing defense metabolites, which is connected to the vascular tissue of the leaf, and an inner gall with the larva and the nutritive tissue surrounded by a thick sclerenchyma layer (Plate VI, 1, 5, 6, 7). At gall maturity an abscission layer will appear between both structures: the growing outer gall pushes the inner gall out of the leaf (Plate VI, 3, 4) (ROHFRITSCH, 1990). The second instar larva of *D. tiliacea* is located in a small cavity, isolated from the vascular tissues of the host by a mass of small undifferentiated parenchyma cells, and a few cells are enriched with cytoplasm near the larva. Before gall maturation the inner gall tissues are growing by cell hypertrophy and the

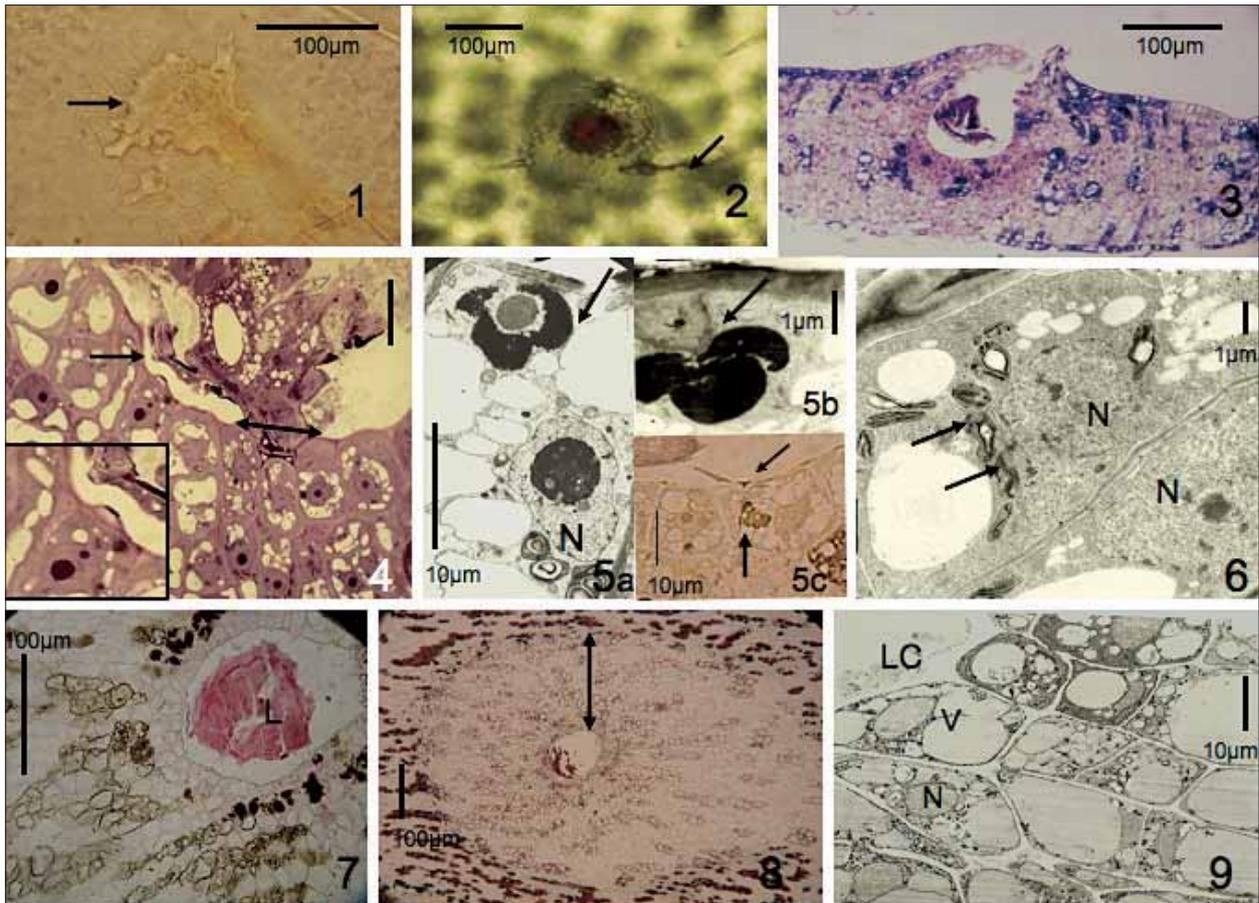


Plate V

Early stages in gall development of *Didymomyia tiliacea* Loew on the leaf of *Tilia* (*T. cordata* Mill. x *T. platyphyllos* Scop.). Fig. 1: The first interaction is violent, a large number (50-80) of the epidermal and mesophyll cells are destroyed before the larva has left the egg shell. Cell hypertrophy is observed around the wound. Fig. 2: On the third day of the interaction the larva has left the egg chorion (arrow) and, head downwards, becomes enveloped by a wall of rapidly growing cells. Fig. 3: A section of a three day old gall. The larva is covered by the growing tissues. A large portion of the leaf is modified and, excepted beneath the larva, all cell growth is oriented perpendicular to the leaf lamina. Fig. 4: Nutritive tissue of a five day old gall. The larva feeds without killing the cells. The larval skin is in intimate contact with a number of cells (double arrow), where as the larva feeds by sucking along the activated cells rich in cytoplasm, nucleoplasm, with large nucleolus. The arrow points to the larval mouth, near a cell with a sucking cone in its cell wall (see the higher magnification). Fig. 5: Cells of the nutritive tissue after five days of larval feeding. These cells are all in the first layer of the nutritive tissue around the larval cavity. The cell wall of these cells has been partially ruptured and "nucleolar material" has been introduced. Fig. 5a The arrow points to the introduced material in a cell containing a large nucleolus. Fig. 5 b, The arrow points to cell wall thickening in reaction to a feeding puncture and partial cell wall destruction, "nucleolar material" is observed in contact with the wall ingrowth. Fig. 5c. The same kind of material is present in the nutritive tissue cell (large arrow) as in the larval cavity (thin arrow). Fig. 6: A nutritive tissue cell of a 6 day old gall. The plastids are disposed around a large nucleus (N) in the center of the cell. The cytoplasm is dense and, it contains an abundant rough endoplasmic reticulum, numerous small vacuoles are present. Fig. 7: A 10 day old gall. The larva (L) is enclosed in a small cavity with intense cell proliferation all around. The nutritive tissue is not well differentiated, phenolics are present in some cells. Fig. 8: A 3 week old gall. The nutritive tissue and future sclerenchyma cells develop now with their own growth polarity against a huge outer gall rich in phenolics. In between an abscission layer will appear just before gall maturation. Fig. 9: Nutritive tissue cells of a 3 week old gall. The nucleus (N) is still in the center of the cell, the nucleolus is small, vacuolisation (V) is important. The endoplasmic reticulum as the dictyosomes are around the nucleus and along the cell wall.

nutritive tissue cells are induced to an active proteosynthesis (Plate VI, 5, 6, 8, 9, 10). The third instar larva is actively feeding, the cell content becomes hydrolyzed from the centrally located nutritive tissue toward the hard layer. As the larva matures and enlarges, layers of activated cells progress toward the periphery of the nutritive tissue. The nutritive tissue around the third larval instar is composed of layers of depleted cells followed by cells rich in protein substances. These cells have a small nucleus, discrete plastids gathered in the cytoplasm,

small lipid droplets, the cell walls are thin, the most important structure of these cells is the reticulum endoplasmic, there is an important elongation and a stacking of the cisternae (Plate VI, 8, 10). The protein rich cells contain hydrolytic enzymes supposed to be responsible for the solubilisation of the cell layers nearest to the larval cavity. The solutes migrate through the depleted cell layers toward the larval cavity. *D. tiliacea* uses a feeding strategy which is relatively uncommon in gall midge induced galls. The physiological and cytological features of this

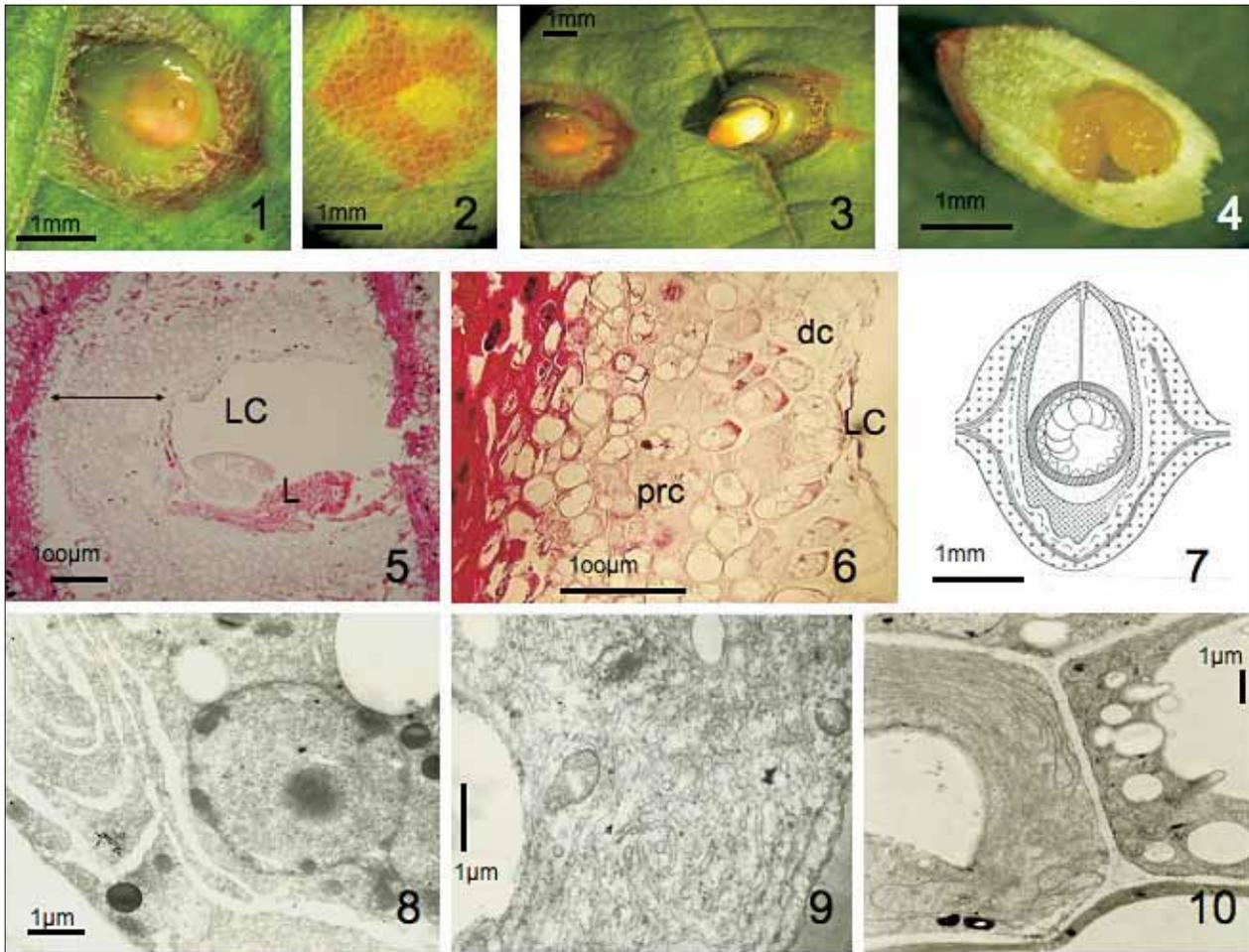


Plate VI

The mature gall of *Didymomyia tiliacea* Loew on the leaf of *Tilia* (*T. cordata* Mill. x *T. platyphyllos* Scop.). Fig. 1: A mature gall. A ring of anthocyanin rich cells indicates the limit of the normal leaf and the gall tissue. Fig. 2: An aborted gall, on the third day of the interaction, the larva has left the gall. All cells earlier engaged in future gall growth will no more return to normal leaf growth, instead they accumulate defense metabolites and anthocyanins. Fig. 3: Two mature galls are observed: the gall on the left, before inner gall abscission, the gall on the right shows the ejection of the inner gall. Fig. 4: Longitudinal section of a mature gall. The voluminous larva is enclosed in a cavity of just the same size, protected by a strong sclerenchyma sheath. The larva will spent 10 months in this structure. Fig. 5: A maturing gall. The larva (L) has its body firmly attached to the depleted nutritive tissue cells. The nutritive tissue (double arrow) is delimited by a thick sclerenchyma layer, LC: larval cavity. Fig. 6: The nutritive tissue of a maturing gall. Around the larval cavity (LC) a mass of depleted cells (dc) is in direct contact with the larva. Behind the depleted cells are cells rich in hydrolytic enzymes and soluble metabolites. Cell activation to protein synthesis occurs progressively through the different cell layers (prc) of the inner gall. Fig. 7: Schematic representation of the mature gall, before ejection of the inner gall. The outer gall contains the vascularisation of the gall and is delimited by the actively growing cells of the abscission layer (the dotted line). Figs. 8-10: The protein rich cells are rich in cytoplasm, the endoplasmic reticulum is well developed, mitochondria and dictyosomes are relatively abundant, the nucleus and nucleolus are small. The swollen cisternae of the reticulum endoplasmic are stacked (figs 8 or 10) or vesiculated like as in fig. 9. The pecto-cellulosic cell walls of the cell are thin (as shown in Fig. 10).

nutritive tissue are similar to the endosperm cells during embryonic development, as described for wheat (SMART and O'BRIEN,1983). In both cases, there is first a stage of active growth and tissue development. The tissue functions first as food attractor, and in a second stage the reserves and even the protoplasm of these cells are hydrolysed in favour of the larva or the embryo (ROHFRITSCH, 1987). *Didymomyia tiliacea* presents an alternative model of gall development and feeding strategy among cecidomyiids.

DISCUSSION - CONCLUSION

With the example of 3 univoltine gall midges on trees, with *G. galii* on *Galium mollugo* and with *Mayetiola destructor* on wheat (HATCHETT and KREITNER, 1988; HARRIS *et al.*, 2006) it is demonstrated that the first instar wounds the epidermal cells of the host and sometimes kills host cells. The interaction of the mandibles and the saliva with the host epidermis cells is of different intensity and generates different kinds of cell stress.

The neonate larva has a strong inhibitory action on normal growth, this effect is common to all galls and is dramatic when young plant organs are attacked (Plate III, 4 A₁). Growth inhibition is not a consequence of food withdrawal by the feeding larva but results from cell dedifferentiation, the earliest plant response to larval attack. Cells around the attacked cells and sometimes cells of a large area of the leaf are disconnected from the normal growth pattern of the leaf. These cells experience modifications in their growth polarity, cell permeability, cytoskeleton, and cell wall capabilities; if the larva is killed they accumulate different defense metabolites, and they are not able to return to their normal growth pattern (Plate VI, 2). Cell proliferation, which generally follows this previously described event, is more or less intense, related to the feeding pattern of each species. Gall growth is continuously stimulated and controlled by the larval feeding sites (Plate III, 4). Larval feeding action that involves sucking and wounding activates growth, induces tissue differentiation, which constitutes a sink attracting the solutes from the vascular strands of the attacked organ to the nutritive cells. The enveloping growth around the larva, stimulated by larval feeding, is partially inhibited by larval skin (spines and cuticle) intimately applied against the earlier wounded cells. The local growth inhibition fashions the larval cavity, and prevents the larva from being rejected or crushed by cell growth (ROHFRIE, 1992). The nucleolar material observed in some cells at the bottom of the larval cavity in young galls of *D. tiliacea* could help the larva to control the enveloping growth. This nucleolar material, introduced into wounded cells, may result from earlier broken cells, organelles of which were released into the gall chamber. The larva continuously solicits the plant's reactions but keeps control over these reactions by manipulating the cells bordering the larval cavity. The nutritive cells acquire dominance over other cells in protein synthesis, and in the localization of amino acids and soluble sugars, they play the gall-organizing role as long as a larva exerts feeding pressure. This influence, however, occurs in a gradient, the greatest in the nutritive cells, which generally line the larval chamber (Plate II, 2, 4). The method and manner of mechanical wounding as well as the precise composition of digestive and salivary enzymes as well as the feeding behavior are species specific.

The behavior of the first instar has evolved as

a component of the specific life strategy that each gall midge species has evolved on its host plant. Different tactics avoid interspecific competition and create niche subdivision if two species share the same host. Inconspicuous appearance on the host and fast development are the tactics used by *P. hartigi* to escape later parasitoids and predators, with a minimum food withdrawn from the host. *D. tiliacea* has evolved an opposite strategy, that of being always conspicuously apparent on the host; the midge then has to invest in highly effective and quantitative defenses (anthocyanins, phenolic substances, sclerenchyma layer, abscission layer). The species derives a large amount of food from the host to build such a defensive structure. Less than half of *D. tiliacea* induced galls reach maturity, many aborted galls appear during gall development, but in the case of *P. hartigi* parasitized or aborted galls are unusual. *Mikiola fagi* Htg. on leaves of *F. silvatica* has two different larval populations and two different gall structures (COUTIN and RIOM, 1967). The larvae of males are in small, discrete, green galls, they develop in June whereas the female larvae are in large, red coloured galls investing in important defense structures, and they mature in autumn. The male galls derive little food from the host at the end of spring and they attract a number of early parasites, so that the minute female larva is protected in a huge, well protected larval cavity. The female larva needs a greater amount of nutrients, and it develops in the fall at a time that an important movement of solutes occurs in the leaf. Selection imposed by the host, by natural enemies and by intra- and inter-specific competition could explain both the evolution and the maintenance of such a gall diversity. Gall morphogenesis and the structure of the nutritive tissue must be considered as the extended phenotypes of gall midge genes. These genes allow the gall midge to manipulate host plant defense genes, the behavior of the larva has an epigenetic action in the host cell. We are far from "the cecidogenetic substance": the gall midge–host plant interaction is situated in a cecidogenetic program.

ACKNOWLEDGEMENTS

I am grateful to Keith Harris, Surrey UK, for help in the preparation of the manuscript. Many thanks to Jérôme Mutterer (IBMP, Strasbourg, France) for his valuable advice and technical assistance.

RIASSUNTO

GENESI E SVILUPPO DI DITTEROCECIDI

Lo studio fondamentale della formazione della galla, o *cecidogenesi*, si focalizza sull'interfaccia tra la pianta e l'agente galligeno, e specialmente sul come le cellule vegetali attaccate sfuggono al normale campo morfogenetico della pianta e divengono organizzatrici di un nuovo tipo di sviluppo. I Cecidomiidi (Diptera, Cecidomyiidae) inducono sia galle semplici che molto complesse, e così offrono una serie di modelli di studio del comportamento iniziale della larva e delle primissime risposte della pianta. Il primo stadio larvale è l'induttore della galla, mediante microlesioni prodotte con le mandibole sclerificate, e l'azione di succhiamento. Comportamento trofico, composizione dei succhi mesenteriali e salivari sono caratteristici delle singole specie larvali. Il dedifferenziamento cellulare (*metaplasia*) è la prima reazione dell'ospite e coinvolge tutte le cellule fogliari dell'area attaccata. Le cellule ringiovanite, disconnesse dalla linea normale di sviluppo della foglia, richiamano sostanze nutritive. Queste cellule vengono quindi impegnate nello sviluppo della galla oppure in reazioni di resistenza della pianta. L'attività trofica della larva stimola lo sviluppo della galla e induce l'estensione dello strato cellulare nutritivo. Quest'ultimo costituisce un importante mezzo di assorbimento di sostanze nutritive e permette alla larva di avere accesso indiretto ai tessuti vascolari dell'ospite. Mediante manipolazione epigenetica delle cellule nutritive, la larva del cecidomiide regola le risposte della pianta. Con due esempi di cecidomiidi, *Physemocecis hartigi* e *Didymomyia tiliacea*, che inducono contemporaneamente la formazione di galle fogliari sul tiglio (*Tilia sp.*), viene illustrato come l'attività trofica iniziale della larva condiziona la morfogenesi della galla. Le prime lesioni, come il successivo comportamento trofico, sono componenti della strategia biologica sviluppata dal cecidomiide durante il suo adattamento alle reazioni difensive della pianta ospite. Come di norma stretti specialisti, i cecidomiidi hanno dovuto affrontare molti condizionamenti imposti dall'ospite e dall'ambiente. Come risultato, una grande varietà di strategie biologiche messe in atto e comportamenti larvali complessi sono responsabili delle numerose e differenti strutture delle galle.

REFERENCES

BRONNER R., 1992 - *The Role of Nutritive Cells in the Nutrition of Cynipids and Cecidomyiids*. In: *Biology of Insect-Induced Galls*, Shorthouse J. D., Rohfritsch O. Eds., Oxford University Press N.Y. USA, pp. 118-140.
 BRONNER R., WESTPHAL E., DREGER F., 1989 - *Chitosan, a component of the compatible interaction between Solanum dulcamara L. and the gall mite Eriophyes cladophthirus Nal.* - *Physiol. Mol. Pl. Pathol.* 34 : 117-130.
 COUTIN R., RIOM J., 1967 - *Dimorphisme des galles provoquées par Mikiola fagi Hartig (Dipt. Cécid.) sur Fagus sylvatica L. Androcécidies et Gynocécidies.* - *C.R.Acad. Sci., Paris* 265 : 975-978.
 GROVER P., 1995 - *Hypersensitive response of wheat to the Hessian fly.* - *Entomol. Exp. Appl.*, 74: 283-294.
 GÜNNING B.E.S., 1976 - *The role of plasmodesmata in short distance transport to and from the phloem.* In : *Intercellular communication in plants : studies on plasmodesmata*, Günning & Roberts, Eds., Springer, Berlin-Heidelberg, New York, pp 204-227.
 HARDWIGER L.A., KENDRA D.F., FRISTENSKY B.W.,

WAGONER W., 1986 - *Chitosan both activates genes in plants and inhibits RNA synthesis in fungi.* In : *Chitin in nature and Technology*, Muzzarelli R.M., Jeuniaux C., Gooday G.W., Eds., Plenum Press, New York, pp 209-214.
 HARRIS M.O., FREEMAN T.P., ROHFRTSCH O., ANDERSON K.G., PAYNE S.A., MOORE J.A., 2006 - *Virulent Hessian Fly (Diptera: Cecidomyiidae) Larvae induce a Nutritive Tissue during compatible interaction with wheat.* - *Ann. Entomol.Soc.Am.*, 99 (2): 305-316.
 HARRIS M.O., FREEMAN T.P., MOORE J.A., ANDERSON K.G., PAYNE S.A., ANDERSON K.M., ROHFRTSCH O., 2010 - *H Gene-Mediated Resistance to Hessian Fly exhibits Features of penetration resistance to Fungi.* - *Phytopathology*, 100-3: 279-289.
 HATCHETT J.H., KREITNER G.L., ELZINGA R.J., 1990 - *Larval mouthparts and feeding mechanism of the Hessian fly (Diptera : Cecidomyiidae),* - *Ann.Entomol. Soc. Am.*, 83 : 1137-47.
 KIRST G.O., RAPP H., 1974 - *Zur Physiologie der Galle von Mikiola fagi Htg. Auf Blättern von Fagus sylvatica L. 2. Transport C14 markierter Assimilate aus dem Befallenen Blatt und aus Nachbarblätter in die Galle.* *Biochem. Physiol. Pflanzen*, 165 : 445-455.
 MAGNUS W., 1914 - *Die Entstehung der Pflanzengallen verursacht durch Hymenopteren.* G. Fischer, Jena, 160 pp.
 MAMAEV B.M., 1975 - *Evolution of gall forming insects-gall midges* (translated by A. Crozy), British Library, Boston Spa, West Yorkshire, U.K., pp 316.
 MANI M. S., 1964 - *Ecology of Plant Galls.* Junk W.,The Hague, The Netherlands, 434 pp.
 MEYER J., 1957 - *Cécidogenèse comparée de quelques galles d'Arthropodes et évolution cytologique des tissus nourriciers.* Ph.D.Thèse, Univ.Louis Pasteur, Strasb, F. 321 pp.
 MEYER J., MARESQUELLE H.J., 1983 - *Anatomie des Galles.* In: *Handbuch der Pflanzenanatomie*, Gebrüder Borntraeger, Stuttgart, 662 pp.
 OLLERSTAM O., ROHFRTSCH O., HÖGLUND S., LARSSON S., 2002 - *A rapid hypersensitive response associated with resistance in the willow Salix viminalis against the gall midge Dasineura marginemtorquens.* *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102 : 153-162.
 ROHFRTSCH O., 1980 - *Relations hôte-parasite au début de la cécidogenèse de Hartigiola annulipès sur le Hêtre.* - *Bull. Soc. Bot. Fr. (Actual. Bot.)* 127 (1): 199-207.
 ROHFRTSCH O., 1987 - *Gall development and feeding strategy of Didymomyia reaumuriana F. Lw. (Cecidomyiidae) on Tilia (T. cordata Mill. x T. platyphyllos Scop.).* - *Phytophaga*, 1: 1-20.
 ROHFRTSCH O., 1988 - *Food supply mechanism related to gall structure with the example of Geocrypta galii Lw. (Cecidomyiidae, Oligotrophini) on Galium mollugo L.* - *Phytophaga*, 2: 1-17.
 ROHFRTSCH O., 1990 - *Two gall midges (Diptera: Cecidomyiidae) on Tilia: two different patterns of interaction with their host tree.* - *Phytophaga*, 3: 13-21.
 ROHFRTSCH O., 1992 - *Patterns in gall development.* In: *Biology of Insect-Induced Galls*, Shorthouse J. D., Rohfritsch O. Eds., Oxford University Press N.Y. USA, pp.60-86.
 ROHFRTSCH O., 1999 - *A so called «rudimentary gall» induced by the gall midge Physemocecis hartigi on leaves of Tilia intermedia.* - *Can. J. Bot.* 77: 460-470.
 ROHFRTSCH O., 2004 - *Resistance responses induced by gall midges on their hosts.* 12 th Sympos. *Insect-Plant Relationships.* Berlin.
 ROHFRTSCH O., 2008 - *Plants, gall midges and their fungi:*

- a three-component system*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 128: 208-216.
- ROHFRTSCH O., SHORTHOUSE J.D., 1982 – *Insect Galls*. In : Molecular Biology of Plant Tumors, Kahl G., Schell J. Eds., Academic Press, N.Y., pp 131–152.
- ROSKAM H.C., 2005 – *Phylogeny of Gall Midges (Cecidomyiidae)*. In : Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods, Raman A., Schaefer C.W., Withers T.M. Eds., Science Publishers. Inc. Enfield (NH), USA, (1) pp 305-319.
- SMART M.G., O'BRIEN T. P., 1983 – *Development of the wheat embryo in relation to the neighbouring tissues*. - Protoplasma 114 : 1-13.
- SOLINAS M., 1968 – *Morfologia, anatomia e organizzazione funzionale del capo della larva matura de Phaenobremia aphidimyza (Rondani)*. - Entomologica 4 : 7- 44.
- WESTPHAL E., 1992 – *Cecidogenesis and Resistance Phenomena in Mite-Induced Galls*. In: Biology of Insect-Induced Galls, Shorthouse J.D., Rohfritsch O. Eds., Oxford University Press N.Y. USA, pp.141-156.
- WESTPHAL E., MANSON D. C.M., 1996 – *Feeding Effects on Host Plants: Gall Formation and Other Distortions*. In :Eriophyoid Mites (6), Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J. Eds., Elsevier Science B.V. pp 231- 242.
- YUKAWA J., ROHFRTSCH O., 2005 – *Biology and Ecology of Gall-inducing Cecidomyiidae (Diptera)*. - In: Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods, Raman A., Schaefer C.W., Withers T. Eds., Science Publish, Inc., Enfield (NH) USA, (1) pp. 273-304.
- ZWEIGELT F., 1931 – *Blattlausgallen*– Parey, Berlin, 684 pp.

GALLE DELLA FLORA ITALIANA RASSEGNA ICONOGRAFICA

GIUSEPPINA PELLIZZARI (*)

(*) *Università degli Studi di Padova. Dipartimento Agronomia Ambientale e Produzioni Vegetali - Viale dell'Università 16, 35020 Legnano*
Lettura tenuta durante la Seduta pubblica dell'Accademia. Firenze, 4 giugno 2010.

A short iconographic review on Italian galls

Plant galls have been a fascinating study subject for naturalist since the 17th century, when the famous physician, naturalist and poet Francesco Redi described and illustrated several plant galls.

This paper gives information to beginners on the most important books, papers and websites useful for galls identification, based both on host plant or genus of pertinence of the gall makers. A short iconographic review of the most common Italian galls is also given.

KEY WORDS: Insecta, Himenoptera Cynipidae, Aphidoidea Pemphidae, Diptera Cecidomyiidae, Psylloidea Triozidae

Le galle delle piante, con le loro forme e colori peculiari, con la loro genesi, per lungo tempo oscura, hanno fin da tempi remoti attirato l'attenzione di studiosi e naturalisti, tra i quali gli italiani Federico Cesi e Francesco Redi, che ne lasciarono una documentazione; Francesco Redi dedicò un manoscritto, illustrato da belle tavole a colori, alle galle (SANTINI, 2006; SANTINI *et al.*, 1981; BERNARDI *et al.*, 1997).

Costruite dalle piante, ma secondo un progetto e la guida di un altro organismo, le galle presentano forma, struttura e colore costanti a seconda dell'organismo che le ha indotte e che si assicura così cibo e protezione. Benché la genesi delle galle e il ciclo dei galligeni coinvolgano fenomeni biologici complessi, risulta invece relativamente facile, e spesso facilissimo, identificare l'organismo autore della galla dalla semplice osservazione della sua forma su una determinata pianta ospite. Gli organismi galligeni, siano essi insetti, acari o anche funghi, sono strettamente specifici: inducono infatti su una ben determinata specie di pianta ospite, e solo su quella, una caratteristica galla, di forma e colore e costanti, e quindi facilmente identificabile anche quando il galligeno l'abbia abbandonata, al termine del suo sviluppo.

Il modo più semplice per aiutare a riconoscere le galle, e quindi identificare l'organismo galligeno che le ha indotte, è quello di presentarle secondo la loro pianta ospite (es. le galle presenti sulle querce, le galle dell'olmo, le galle del frasinio, ecc.). Questo metodo è stato seguito da

autorevoli studiosi di galle quali il MASSALONGO (1893), HOUARD (1908), BUHR (1964), è stato applicato nelle collezioni cecidologiche sia dal Trotter che da altri eminenti cecidologi del suo tempo (PELLIZZARI, 1995) ed è tuttora ritenuto come il più consono ad un approccio immediato ed aperto anche agli amatori.

Un approccio più scientifico e impegnativo, prevede invece la trattazione delle galle seguendo la sistematica dei galligeni (es. le galle dei Cynipidae, gen. *Neuroterus*, gen. *Andricus* ecc.) metodo adottato, ad esempio, da IONESCU, (1957) e attualmente da NIEVES ALDREY (2001).

Oltre a lavori scientifici che trattano aspetti generali delle galle (es. MANI, 1964; MAYER & MARESQUELLE, 1983) e importanti monografie "classiche" quali i due volumi del Buhr (1964-1965), vi sono anche pubblicazioni a carattere più divulgativo, che aiutano, con disegni e foto di galle, a identificare l'agente galligeno (es. PELLIZZARI SCALTRITI, 1988; REDFERN M. & SHIRLEY P., 2002). Degni di nota sono i recenti lavori di HELLRIG, (2008; 2010), in tedesco, dove, oltre alle illustrazioni di numerose galle, vengono trattati la morfologia dei galligeni e delle loro galle, il loro sviluppo, l'alternanza di generazione nei Cinipidi; inoltre, ampio spazio viene dato a una parte storica sul commercio, un tempo fiorente, delle galle delle querce e sugli entomologi che hanno descritto galle e galligeni, da Linneo fino al Mayr.

Per gli amanti dei lavori storici, il manoscritto sulle galle di Francesco Redi e le accurate tavole

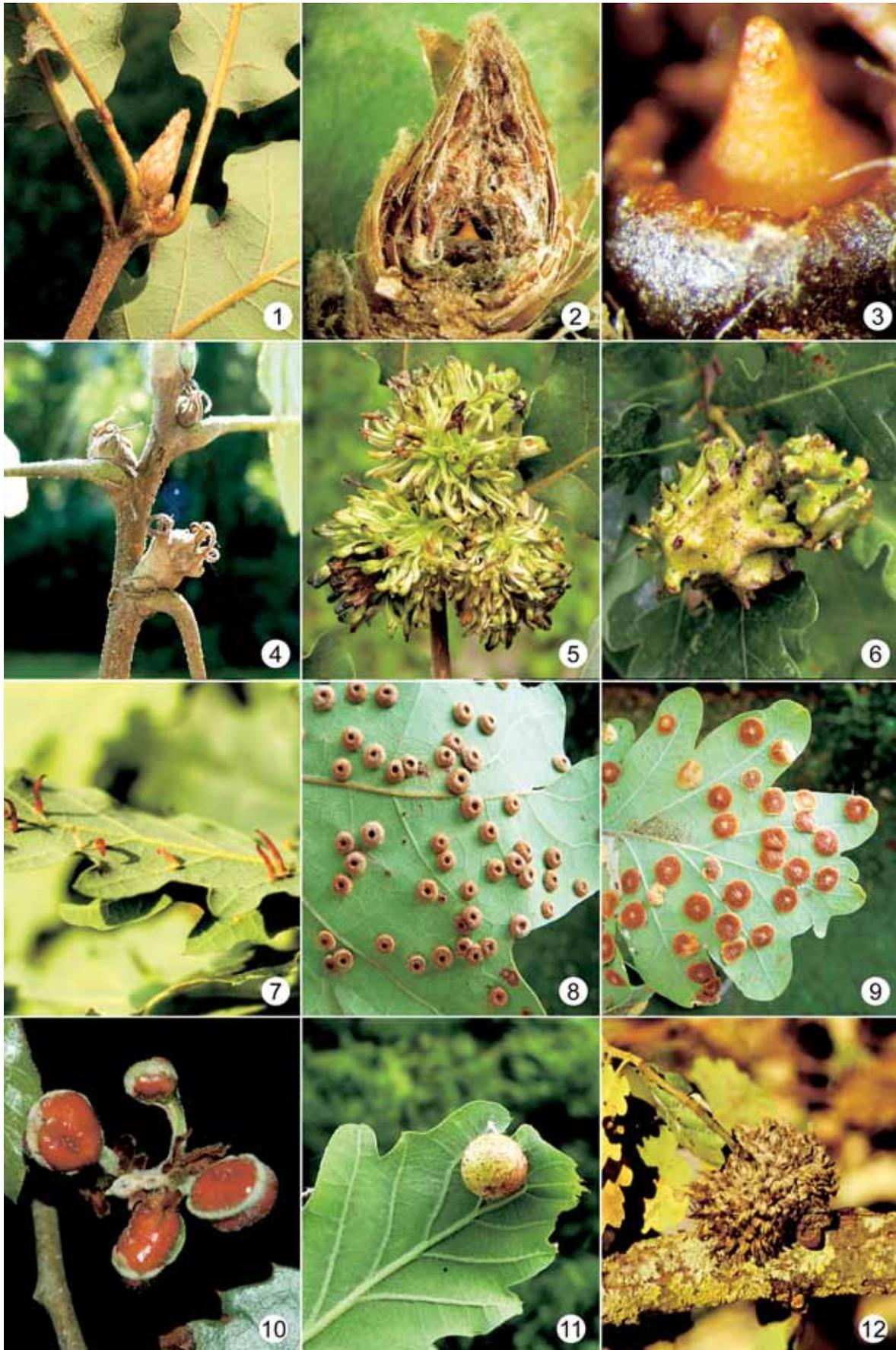


Tavola 1

Galle di Hym. Cynipidae su quercia. 1) *Andricus foecundatrix* (Hartig): gemma trasformata in galla; 2) sezione della galla; 3) camera di sviluppo del galligeno; 4) *Andricus galeatus* (Giraud) ♀♀; 5) *Andricus grossulariae* Giraud ♀♀; 6) *Andricus quercuscalicis* (Burgsdorff) ♀♀; 7) *Cynips cornifex* Hartig ♀♀; 8) *Neuroterus numismalis* (Fourcroy) ♀♀; 9) *Neuroterus quercus-baccarum* (Linnaeus) ♀♀; 10) *Plagiotrochus quercusilicis* (Fabricius) ♀♀; 11) *Cynips quercusfolii* Linnaeus ♀♀; 12) *Andricus hartigi* Hartig ♀♀.

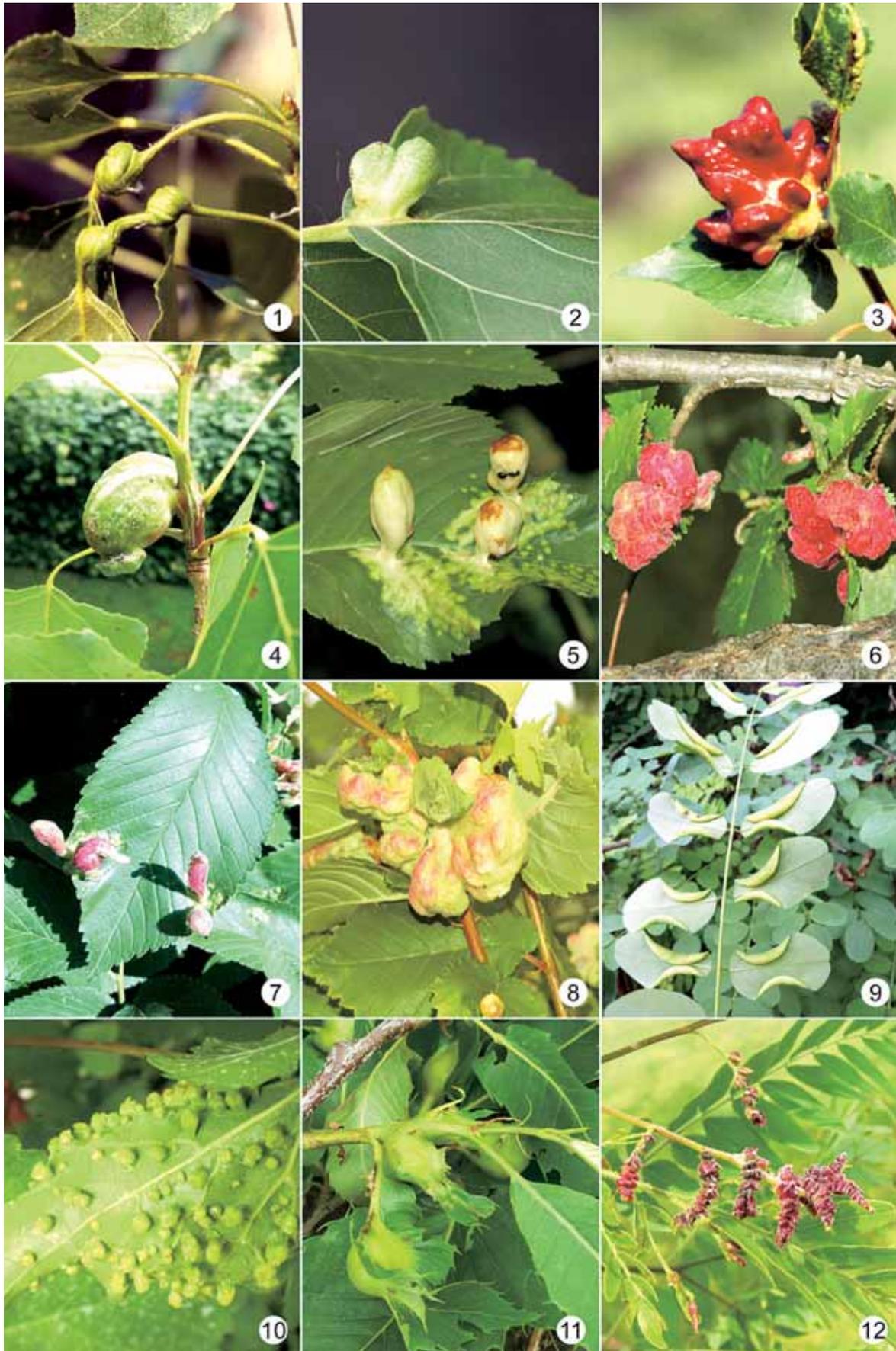


Tavola 2

Galle su pioppo (Aphidoidea, Pemphigidae). 1) *Pemphigus spirothecae* Pass. ; 2) *Pemphigus populi* Courchet; 3) *Pemphigus vesicarius* Pass.; 4) *Pemphigus bursarius* (Linnaeus) . Galle su olmo (Aphidoidea, Pemphigidae). 5) *Tetraneura ulmi* (Linnaeus) (Aphidoidea); 6) *Tetraneura coerulescens* (Pass.); 7) *Tetraneura nigriabdominalis* (Sasaki); 8) *Eriosoma lanuginosum* Hartig. Galle esotiche. 9) *Obolodiplosis robiniae* (Haldeman) (Diptera, Cecidomyiidae) su robinia (provenienza: America); 10) *Viteus vitifoliae* (Fitch) (Phylloxeridae) su vite americana (provenienza: America); 11) *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hym. Cynipidae) su castagno (provenienza: Asia); 12) *Dasineura gleditchiae* (Osten Sacken) (Diptera, Cecidomyiidae) su Gleditschia (provenienza: America).

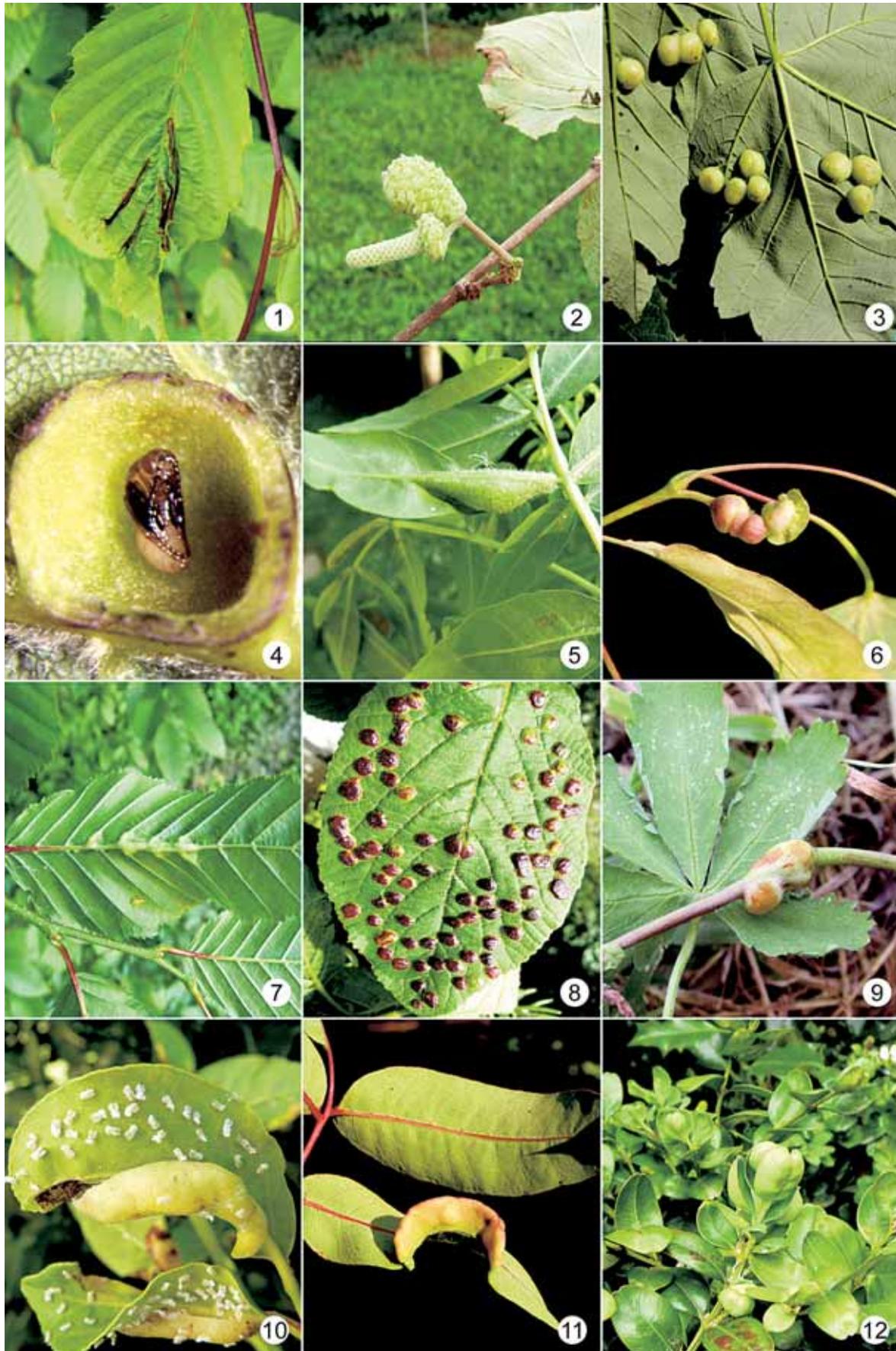


Tavola 3

1) *Contarinia carpini* Kieffer (Diptera, Cecidomyiidae) su carpino; 2) *Contarinia coryli* (Kaltenbach) (Diptera, Cecidomyiidae) su nocciolo; 3) *Pediaspis aceris* (Gmelin) (Hym. Cynipidae) ♀♂ su acero; 4) Sezione di galla con pupa di *P. aceris* all'interno; 5) *Dasineura fraxini* Kieffer (Diptera, Cecidomyiidae) su frassino; 6) *Contarinia tiliarum* (Kieffer) (Diptera, Cecidomyiidae) su tiglio; 7) *Zygiobia carpini* (F. Low) (Diptera, Cecidomyiidae) su carpino; 8) *Pblyctidobia solmsi* (Kieffer) (Diptera, Cecidomyiidae) su *Viburnum lantana*; 9) *Xestophanes potentillae* (Retz.) (Diptera, Cecidomyiidae); 10) *Lauritrioza alacris* Flor. (Psylloidea, Triozidae) su alloro; 11) *Forda formicaria* Von Heiden (Aphidoidea, Fordinae) su terebinto; 12) *Psylla buxi* L. (Psylloidea, Psyllidae) su bosso;

a colori che le illustrano, sono stati riprodotti e commentati in uno splendido libro edito nel 1997 (BERNARDI *et al.*, 1997).

Ai giorni attuali Internet offre infinite possibilità di studiare e identificare le galle: sono numerosi i siti, soprattutto nordamericani, dedicati a questo argomento. Da segnalare, per quanto riguarda le galle europee, il sito di H.J. Bhur, con decine e decine di foto di galle, suddivise per pianta ospite, oppure quello della British Plant Gall Society, che pubblica anche la rivista Cecidology. Le connessioni a questi siti sono riportate nella bibliografia.

Nelle tre tavole a colori vengono presentate le immagini di alcune tra le più comuni galle reperibili nel nostro territorio su piante spontanee e coltivate. Sono incluse anche alcune specie galligene esotiche arrivate in Italia in tempi più o meno recenti.

Questa limitata rassegna iconografica intende stimolare lo studio di uno dei più affascinanti settori della biologia, che coinvolge botanici, fisiologi vegetali, entomologi, acarologi e naturalisti.

Per le specie di Hymenoptera Cynipidae riportate nelle Tavole 1 e 2, i simboli ♀♀ o ♀♂ vicino al nome indicano se la galla illustrata è stata formata dalla generazione partenogenetica (♀♀) oppure da quella bisessuale (♀♂) della specie.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- BERNARDI W., PAGLIANO G., SANTINI L., STRUMIA F., TONGIORGI TOMASI L., TONGIORGI P., 1997 - *Natura e immagine. Il manoscritto di Francesco Redi sugli insetti delle galle.* Edizioni ETS, Pisa, 251pp.
- BRITISH PLANT GALL SOCIETY - <http://www.british-galls.org.uk/index.htm>
- BUHR H., 1964-1965 - *Bestimmungstabellen der Gallen (Zoo- und Phytocecidien) an Pflanzen Mittel- und Nordeuropas.* G. Fisher, Jena, 2 vols. 1572pp
- BUHR H.J. - <http://www.pflanzengallen.de/index.html>
- HELLRIG K., 2008 - *Faunistik der Gallenwespen von Sudtirol-Trentino (Hymenoptera Cynipoidea).* - Forest Observer, provincia Autonoma Bolzano- Alto Adige, 4: 1-247.
- HELLRIG K., 2010 - *Pflanzengallen und Gallenkunde - Plant galls and Cecidology.* - Forest Observer, provincia Autonoma Bolzano- Alto Adige, 5: 207-328.
- HOULARD C., 1908-1909 - *Les Zoocécidies des Plantes d'Europe et du Bassin de la Méditerranée.* Paris, 2 Vols, 1247 pp.
- IONESCU M.A., 1957 - Cynipinae. In: Fauna republicii populare Romine. Insecta, IX-II: 246pp.
- MANI M.S., 1964 - *Ecology of plant galls.* - W.Junk-The Hague: 434pp.
- MASSALONGO G.B., 1893 - *Le galle nella flora italiana (entomocecidii).* Memorie Accademia Agricoltura, Arti e Commercio, Verona, vol. LXIX, ser. iii: 229-525.
- MAYER J., MARESQUELLE N.J., 1983 - *Anatomie des galles.* - Gebruder Borntraeger, Berlin-Stuttgart: 662 pp.
- NIEVES ALDREY J.L., 2001 - *Hymenoptera Cynipidae. Fauna Iberica XVI.* Museo Nacional de Ciencias Naturales, Madrid; 636pp
- PELLIZZARI G., 1995 - *La Cecidoteca.* in Minelli A. (editor) L'Orto botanico di Padova 1545-1995: 277-281.
- PELLIZZARI SCALTRITI G., 1988 - *Guida al riconoscimento delle più comuni galle della flora italiana.* Patron Ed., Bologna, 181pp.
- SANTINI L., 2006 - *Le galle indotte da insetti raffigurate nei codici di Federico Cesi.* In (Graniti A. editor) Federico Cesi: un principe naturalista. Atti dei Convegni Lincei, 225: 585-601.
- SANTINI L., TONGIORGI TOMASI L., TONGIORGI P., 1981 - *Francesco Redi e il problema delle galle: un manoscritto inedito e la relativa iconografia.* - Redia, LXIV: 349-388.

ACAROCECIDI DELLA FLORA ITALIANA (ERIOFIOIDEI GALLIGENI)

ENRICO DE LILLO (*)

(*) *Dipartimento di Biologia e Chimica Agro-forestale ed Ambientale, Università degli studi di Bari.*
Lettura tenuta durante la Seduta pubblica dell'Accademia. Firenze, 4 giugno 2010.

Acarocecidia of the Italian flora (Italian Eriophyoid gall-mites)

The acarocecidia of the Italian Flora can be related to the feeding activity of the Eriophyoidea. They display high morphological and biological adaptations to the life in protected host microhabitats. This intimate relationship has been allowing a strict co-evolution between host and mite symbionts which is often addressed to the induction of architecturally intricate plant deformations. Some of the most common galls on the Italian flora are described herein.

KEY WORDS: Eriophyoidea, trophic specialization, vagrant, bud galls, stem galls, inflorescence galls, pouch galls, blister galls, leaf rolling galls, erineae.

PREMESSA

A parte pochissime specie di tenuipalpidi diffusi nelle regioni tropicali, i cecidi indotti dagli acari possono essere attribuiti all'azione trofica degli Eriophyoidea (OLDFIELD, 2005) la cui storia zoologica ha avuto inizio proprio a partire dallo studio di queste fasciose e vistose deformazioni vegetali (TROTTER, 1902).

CENNI SULLE PRINCIPALI CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE, BIOLOGICHE ED ECOLOGICHE DEGLI ACARI ERIOFIOIDEI

Gli eriofioidei sono dotati di un rilevante adattamento morfologico e biologico alla vita entro spazi ristretti. Alcune specie occupano le aree più protette della pianta (nelle gemme, presso le nervature fogliari, nel calice dei frutti, tra guaina fogliare e stelo, ecc.) poiché queste forniscono microhabitat caratterizzati da ottimali condizioni abiotiche, ampia disponibilità alimentare e protezione dai nemici naturali. Altre specie sono in grado di orientare lo sviluppo degli organi verdi della pianta ospite verso architetture di varia complessità che offrono ricoveri altrettanto efficaci oltreché, talora, substrati più idonei per il loro nutrimento.

La miniaturizzazione degli eriofioidei favorisce indubbiamente l'accesso e il movimento in spazi molto angusti. Di fatto, questi acari sono tra i più piccoli fitofagi e gli adulti sono lunghi mediamente intorno ai 200 µm, variando tra 80 e 500 µm nei diversi stadi attivi e nelle oltre 4000

specie attualmente note (DE LILLO e SKORACKA, 2010). Posseggono, inoltre, aspetto vermiforme e la forma del loro corpo è prevalentemente subcilindrica, affusolata o depressa dorso-ventralmente. Infine, tutti gli stadi attivi sono provvisti di solo due paia di zampe disposte nella regione antero-ventrale del corpo, subito posteriormente allo gnatosoma, agevolando una sorta di trascinarsi del corpo.

Anche le parti boccali degli eriofioidei sono notevolmente specializzate per la suzione di fluidi cellulari (NUZZACI, 1979; NUZZACI e ALBERTI, 1996; DE LILLO *et al.*, 2002) (fig. 1). Entrambi i diti chelicerali appaiono stilettiformi, esili, lunghi al massimo 70-80 µm. Altri due paia di stilette si originano dai pedipalpi e persino il labrum assume aspetto allungato, a lancetta (fig. 2). Proprio la delicatezza e la ridotta lunghezza del complesso stilette portano gran parte degli eriofioidei a preferire siti di alimentazione caratterizzati da cellule giovani e a pareti sottili, proprio come quelle dei tessuti meristemati, delle zone di differenziazione e distensione cellulare.

Le osservazioni istologiche hanno rilevato che gli eriofioidei si nutrono principalmente di cellule dello strato epidermico su foglie e organi verdi maturi, mentre possono sfruttare anche le cellule del mesofillo su foglie od organi verdi giovani (PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a). Da questo modello, differiscono gli eriofioidei della famiglia Diptilomiopidae i cui stilette, di maggiore dimensione e robustezza, possono perforare anche i tessuti sottoepidermici delle foglie mature. Spesso, in corrispondenza della pun-

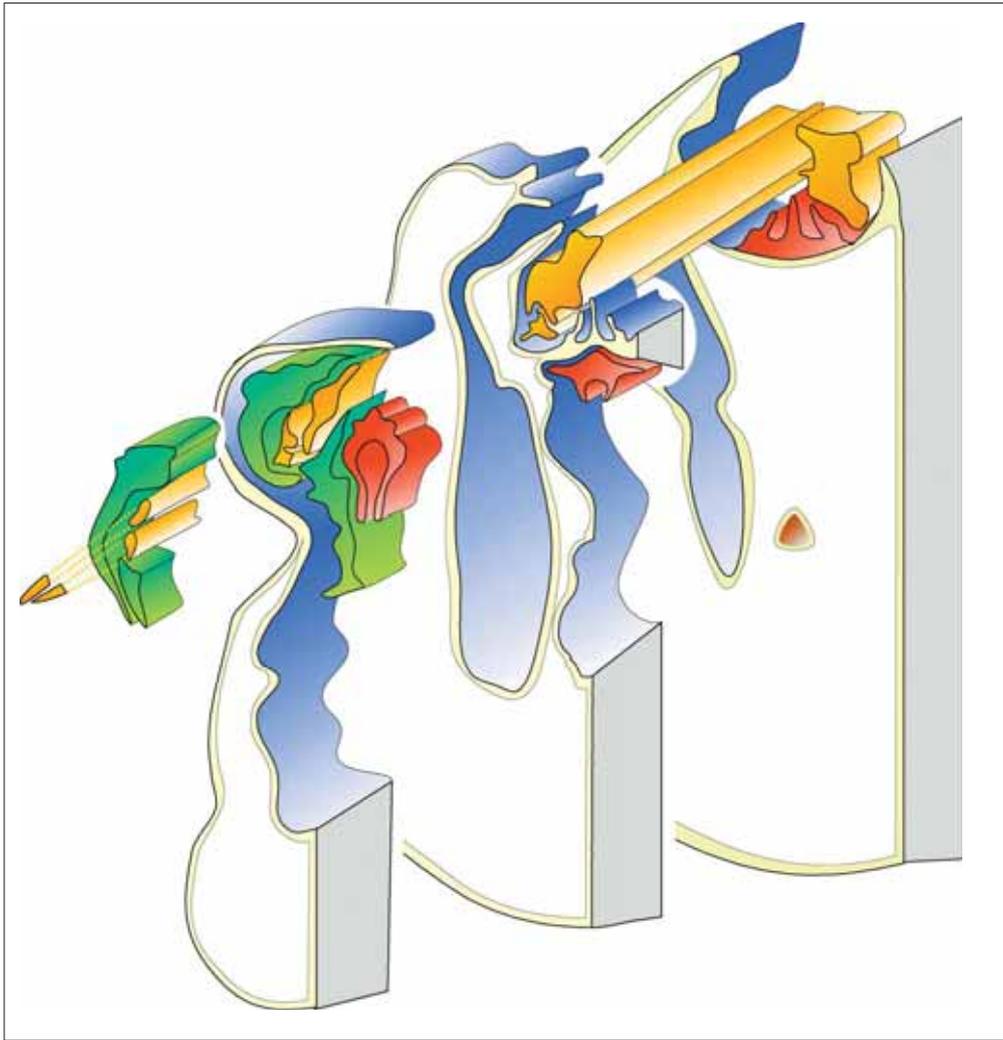


Fig. 1 – Gnatosoma degli eriofioidi: rappresentazione schematica dell'organizzazione degli stiletti e relativi annessi (cheliceri in arancione, stiletti subcapitulari in verde, labrum in rosso).

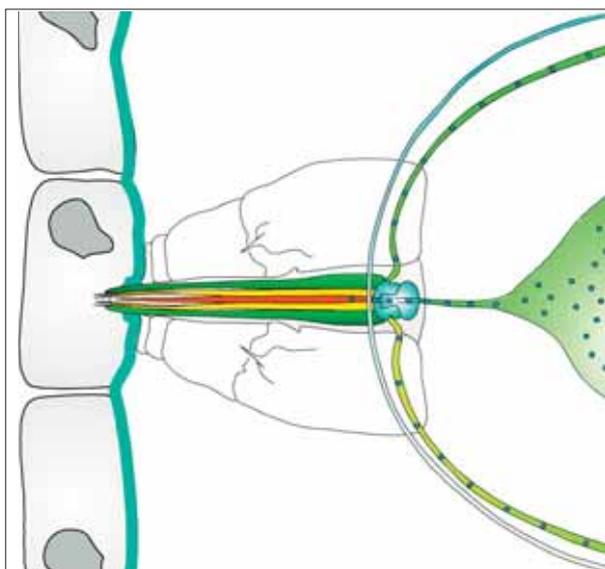


Fig. 2 – Gnatosoma degli eriofioidi: rappresentazione schematica del tipo di relazione che si stabilisce tra lo gnatosoma e la cellula vegetale perforata (cheliceri in giallo, stiletti subcapitulari in verde, labrum in rosso).

tura, le pareti cellulari tendono ad accumulare callosio e chitosano a funzione protettiva oppure divengono fortemente lignificate e ispessite (ROYALTY e PERRING, 1996; PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a). A questa prima generica reazione della parete cellulare seguono risposte di tipo citologico che coinvolgono i vacuoli, la permeabilità delle membrane, l'ingrossamento del nucleo, la dispersione della cromatina e l'aumento della densità del citoplasma (WESTPHAL, 1982; BRONNER *et al.*, 1989). Inoltre, l'accumulo di chitosano può stimolare una reazione anche nelle cellule adiacenti a quelle punte dall'eriofioido inducendo eventualmente la differenziazione di cellule nutrici, iperplasie e ipertrofie delle cellule epidermiche e del mesofillo (WESTPHAL e MANSON, 1996; PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a). Comunque, le considerevoli modificazioni fisiologiche, citologiche, istologiche e strutturali delle piante infestate sono

correlate dalla continua stimolazione determinata dai secreti delle ghiandole salivari associate agli stiletti e questo potrebbe fornire anche una spiegazione dell'elevata specificità verso l'ospite (DE LILLO e MONFREDA, 2004; MONFREDA e SPAGNUOLO, 2004; MONFREDA e DE LILLO, 2006; DE LILLO e SKORACKA, 2010; PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a; SKORACKA *et al.*, 2010).

Le funzioni della vita di questi organismi e i relativi organi (NUZZACI e ALBERTI, 1996) sono altrettanto adattati alla nicchia ecologica e al microhabitat che essi occupano. Infatti, la respirazione è solo tegumentale, l'apparato digerente è semplificato ed esibisce soluzioni di continuità, l'inseminazione è indiretta e avviene mediante spermatofore, deposte dal maschio, dalle quali la femmina preleva la sola massa spermatica, eccetera.

INTERAZIONI PIANTA OSPITE - ERIOFIOIDEI: SPECIFICITÀ

La maggior parte (80%) degli eriofioidei sono strettamente monofagi (SKORACKA *et al.*, 2010) su Pteridophyta e Spermatophyta. Un numero ristretto di specie sono oligofaghe e infestano essenze vegetali appartenenti allo stesso genere o comprese nella stessa famiglia. Gli eriofioidei rinvenuti su ospiti appartenenti a più famiglie sono, invece, pochissimi. Questo è il caso di *Calacarus citrifolii* Keifer, eriofide economicamente importante sugli agrumi in Sud Africa, il quale è stato segnalato su specie vegetali appartenenti a 21 famiglie diverse (SKORACKA *et al.*, 2010). Inoltre, dalla consultazione della letteratura appare evidente, in prima approssimazione, che le specie oligofaghe infestano solitamente piante coltivate e ad ampia distribuzione geografica. In generale, però, rimangono dubbi sull'effettiva consistenza dell'*host range* degli eriofioidei in quanto i dati disponibili sono basati molto raramente su dati sperimentali (SMITH *et al.*, 2009; 2010), in molti casi il rinvenimento su un determinato ospite potrebbe essere solo occasionale e in relazione alla strategia di dispersione naturale mediante le correnti d'aria, oppure lo studio morfometrico è stato incompleto e non ha consentito di evidenziare minute differenze.

Alcuni autori hanno valutato la possibilità che l'evoluzione dell'oligofagia-polifagia possa essere stata favorita anche dalla scarsa disponibilità nel tempo e nello spazio delle piante ospiti come ritenuto per *Aceria tosichella* Keifer, *Abacarus bystrix* (Nalepa) e altre specie infeu-

date su poacee annuali (SKORACKA *et al.*, 2010). Bisogna, però, osservare come lo studio morfologico, biologico e molecolare abbia recentemente consentito di evidenziare la presenza di una prima specie distintiva (*Abacarus lolii* Skoracka) entro un potenziale complesso di specie criptiche riunite proprio sotto il nome di *A. bystrix* (SKORACKA, 2009).

Anche se una più alta tendenza verso l'oligofagia è apprezzabile per gli eriofioidei che infestano le piante annuali, l'analisi dei dati bibliografici non conferma una stretta relazione tra la longevità della pianta ospite (piante perenni) e la monofagia degli eriofioidei. Inoltre, non sono state chiaramente determinate le strategie che gli eriofioidei adottano quando infestano le piante erbacee poliennali caratterizzate da produrre organi epigei solo in limitati periodi di tempo. In alcuni casi gli eriofioidei alternano ospiti annuali ad altri perenni (SKORACKA *et al.*, 2010). Una possibile strategia potrebbe essere quella di conservarsi in gemme radicali, come recentemente segnalato per *Aceria malherbae* Nuzzaci su convolvulo (Littlefield, com. pers. in SMITH *et al.*, 2010). Altra strategia conservativa della monofagia potrebbe essere quella applicata da *Paraphytoptus pannolus* Keifer: alcuni esemplari penetrano attraverso l'apertura stigmatica e si mantengono sotto la capsula del seme dell'asteracea annuale *Ambrosia trifida* L. (AMRINE e STASNY, 1989).

Viceversa, molti eriofioidei associati a piante arboree decidue hanno sviluppato strategie che prevedono la comparsa di femmine specializzate, dette deutogine, le quali possiedono morfologia distintiva rispetto a quelle estive, dette protogine, e una diversa biologia e fisiologia riguardanti principalmente la ricerca dei ricoveri e la resistenza ai fattori ambientali avversi (MANSON e OLDFIELD, 1996). Questa condizione è sicuramente più favorevole all'affermazione di un'interazione specifica tra i due simbionti. Anche in questo caso, però, si segnalano specie ampiamente oligofaghe come *Aculus fockeui* (Nalepa & Trouessart).

Risultati incoerenti, infine, sono stati ottenuti dallo studio della letteratura nel tentativo di sostenere l'ipotesi che una forte e intima interazione con la pianta ospite, come quella responsabile dell'induzione di galle, sia il prodotto di un percorso evolutivo orientato verso la monofagia (SKORACKA *et al.*, 2010). Questi risultati, però, non possono essere ritenuti esaustivi in quanto provengono da una semplicistica elaborazione delle segnalazioni disponibili in bibliografia

mentre nessuna sperimentazione è stata mai condotta in tal senso. A riguardo è opportuno osservare come le numerose raccolte faunistiche hanno portato spesso all'ampliamento delle specie ospiti di numerosi eriofidi solo sulla base della somiglianza della sintomatologia e senza aver provveduto a un'accurata identificazione morfologica dell'acaro. Un esempio di quanto esposto riguarda la definizione dei *Cecidophyopsis* spp. responsabili di malformazioni simili su diversi *Ribes* spp. (AMRINE *et al.*, 1994; FENTON *et al.*, 1995).

INTERAZIONI PIANTA OSPITE - ERIOFIOIDEI: RILEVANZA ECOLOGICA

L'importanza ecologica degli eriofioidei negli ecosistemi naturali e coltivati è indiscutibile (DE LILLO e SKORACKA, 2010; SKORACKA *et al.*, 2010). Molto spesso, però, si tiene conto del solo impatto economico diretto che questi acari possono avere sulle colture agrarie, sulle piante ornamentali e sulle essenze di interesse forestale (CASTAGNOLI *et al.*, 2010; DUSO *et al.*, 2010) ma, in realtà, la rilevanza di questi fitofagi può ritenersi ben più ampia.

In parte, essa riguarda la loro capacità di trasmettere virus alle piante (DE LILLO e SKORACKA, 2010), mentre scarse informazioni sono disponibili sul ruolo che gli eriofioidei giocano nella trasmissione e nell'affermazione di fitoplasmii (PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010b) e di funghi patogeni (GAMLIEL-ATINSKY *et al.*, 2010), sebbene alcune associazioni sembrano essere molto strette e con effetti amplificati sulla pianta ospite (es.: *Aceria mangiferae* Sayed e *Fusarium mangiferae* Britz *et al.* su mango) (GAMLIEL-ATINSKY *et al.*, 2009).

Proprio traendo vantaggio dalla larga monofagia, alcuni eriofioidei (*Aceria chondrillae* (Canestrini), *A. genistae* (Nalepa), *A. malherbae* Nuzzaci, *Aceria* sp. [boneseed leaf buckle mite (BLBM)], *Aculus hyperici* (Liro), *Cecidophyes rouhollabi* Craemer, *Floracarus perrepae* Knihinicki and Boczek) sono stati selezionati e inseriti in programmi di controllo biologico classico di piante invasive. A queste vanno aggiunti pochi altri eriofioidei introdotti accidentalmente [*Aceria anthocoptes* (Nalepa), *Acalitus odoratus* Keifer] e molti altri [*A. lantanae* (Cook), *A. salsolae* de Lillo & Sobhian, *A. sobhiani* Sukhareva, *A. solstitialis* de Lillo *et al.*, *A. tamaricis* (Trotter), *A. thalgi* Knihinicki *et al.*, *A. thessalonicae* Castagnoli, *Leipothrix dipsacivagus* Petanovi & Rector and *L. knautiae* (Liro)] per i

quali è in corso un'attenta valutazione della specificità e dell'efficacia nel controllo biologico delle piante infestanti (SMITH *et al.*, 2010). Particolare è il caso di *Phyllocoptes fructiphilus* Keifer il quale non è stato mai autorizzato come agente di controllo su *Rosa multiflora* Thunb., pianta aliena per gli Stati Uniti, sebbene sia ritenuto il mezzo più efficace per il suo controllo. In questo caso, il suo efficiente impatto è da attribuirsi alla trasmissione del virus responsabile della rose rosette disease (RRD).

Inoltre, di notevole rilievo è anche il ruolo degli eriofioidei, vaganti e galligeni, nel costituire un valido alimento per la conservazione di predatori sulla vegetazione (DE LILLO, 1987; SABELIS e BRUIN, 1996; DUSO *et al.*, 2003; SABELIS *et al.*, 2008). In alcuni casi sono state osservate interazioni pianta ospite – fitofago – predatore particolarmente complesse dove la pianta infestata reagisce all'azione dell'eriofide in modo tale che il predatore possa avere facile accesso alle sedi di infestazione (SABELIS *et al.*, 2007).

Recentemente, infine, alcuni studiosi hanno cercato di utilizzare questi acari come indicatori biologici di condizioni ambientali alterate (KORICHEVA *et al.*, 1996; KIELKIEWICZ *et al.*, 1997).

INTERAZIONI PIANTA OSPITE - ERIOFIOIDEI: ALTERAZIONI ASSOCIATE AGLI ERIOFIOIDEI E ACAROCECIDI DELLA FLORA ITALIANA

Classificazione degli eriofioidei su base ecologica

Gli esiti dell'attività trofica degli eriofioidei sulla fisiologia e sulla morfologia delle piante ospiti derivano dalla risposta specifica e intima della pianta ad alcune componenti delle secrezioni salivari iniettate dall'acaro nei tessuti vegetali. Il sintomo indotto e la severità con cui questo si manifesta dipendono dal genotipo dell'acaro, dalla sua densità di popolazione, dal genotipo della pianta ospite, dall'organo infestato e dallo stato fisiologico dell'ospite (OLDFIELD, 1996; SMITH *et al.*, 2010). In alcuni casi, i sintomi possono essere simili a quelli provocati da altri agenti come virus, fitoplasmii, o da carenze nutrizionali e disordini fisiologici.

Convenzionalmente, sulla base del tipo di risposta dell'ospite (JEPPSON *et al.*, 1975; KEIFER *et al.*, 1982; SABELIS e BRUIN, 1996; SKORACKA *et al.*, 2010), gli eriofioidei possono essere ecologicamente classificati in: a) *free-living mites* o vaganti, cioè a vita libera sulla superficie vegetale; b) *refuge-seeking mites*, anch'essi a comportamento vagante ma in grado di utilizzare i rifugi che la pianta ospite offre loro con i suoi organi

(spazi tra gli aghi delle conifere, tra il fusto e la guaina fogliare, sotto perule e brattee delle gemme, tra le scaglie dei bulbi, ecc.); c) *refuge-creating* o *gall-making mites* o galligeni. Per quanto noto, le specie galligene corrispondono a circa un quarto delle specie attualmente descritte (SKORACKA *et al.*, 2010) e oltre il 60% della fauna mondiale è composta da specie vaganti.

La fauna italiana degli eriofioidei è attualmente composta da 293 entità (giugno 2010) aggiornando la check-list della fauna italiana (232 specie riportate in BERNINI *et al.*, 1995; 289 riportate in DE LILLO, 2004) e includendo *Cecidophyopsis hendersoni* (Keifer) segnalata in questo contributo. Fra queste, 221 sono comprese nelle classi *refuge-seeking* e *refuge-creating*; inoltre, 84 specie sono state descritte proprio da materiale rinvenuto nei nostri confini geografici (105 specie hanno località tipo in Italia e 21 di queste sono vaganti).

Il censimento degli acarocecidi in Italia si deve principalmente all'enorme passione e all'impegno del professor Alessandro Trotter (DI STEFANO, 1967; TOMASI, 1996). L'illustre studioso, oltre che fondatore e anima della rivista *Marcellia: rivista internazionale di cecidologia*, ha lasciato dei documenti unici e quasi introvabili di notevole pregio storico e scientifico come la *Cecidotheca Italica o raccolta di Galle italiane determinate, preparate e illustrate* (1900-1918), composta da 575 campioni di galle indotte da diversi agenti eziologici riuniti in 23 fascicoli. Questa raccolta contiene 169 alterazioni attribuite a 87 eriofioidei. A questa va aggiunta anche la sua collezione, composta da 43 pacchi, e la cecidotheca Trotter-Cecconi costituita da altri 20 pacchi, tutti conservati presso l'Erbario di Padova del Museo botanico e in attesa di essere catalogati e studiati (Marcucci, com. pers.). Poco antecedente al Trotter è Giovanni Canestrini il quale ha dato un consistente contributo alla conoscenza degli eriofioidei e delle alterazioni da loro indotte.

Negli anni più recenti, la prof. Pellizzari Scaltriti (1988) ha curato una guida per il riconoscimento dei galligeni italiani che documenta, tra gli altri, i sintomi indotti da 35 acarocecidi su piante della flora italiana e, infine, Ettore Tomasi ha avviato, con immensa passione e tenacia, la realizzazione di una *Cecidotheca* del Friuli-Venezia Giulia presso il Museo civico di Storia naturale di Trieste, pubblicando i risultati delle sue indagini faunistiche (TOMASI, 1996; 2002a, b, c; 2006; 2007; TOMASI e DE LILLO, 2002; ecc.).

La fauna italiana comprende entità responsabili di un'ampia varietà di alterazioni. In questo contributo e a titolo di esempio, vengono illustrate quelle di cui l'autore si è occupato direttamente durante le sue attività.

Vaganti sensu lato

Per semplicità di esposizione, i *free-living* e i *refuge-seeking mites* sono riuniti nel gruppo dei vaganti. Il comportamento vagante è ampiamente diffuso tra gli Eriophyoidea e comprende tutti i Diptilomiopidae e la maggior parte dei fillocoptini della famiglia Eriophyidae.

Gli eriofioidei vaganti vivono sulla superficie vegetale degli organi dell'anno e la presenza di molte di queste specie è spesso asintomatica anche come conseguenza di popolazioni poco numerose. Altre specie possono causare sintomi poco appariscenti, non distorsivi e scarsamente specifici che interessano l'epidermide degli organi infestati. Per molte altre entità, infine, si assiste a reazioni di ipersensibilità con la morte della cellula punta la quale imbrunisce rapidamente e collassa, mentre le cellule adiacenti non sembrano essere danneggiate. L'acaro non resta per molto tempo sullo stesso sito di alimentazione, si sposta e si nutre su altre cellule che subiscono la stessa sorte. Procedendo in questo modo e in presenza di una consistente popolazione, gli organi infestati mostrano un fine reticolo di cellule necrotiche e brune intorno alle cellule sane. Nel caso di infestazione su foglie giovani, le cellule morte che circondano le venature ostacolano la distensione della lamina con la conseguenza di causare un raggrinzimento della foglia in seguito alle tensioni che si stabiliscono fra i territori sani e quelli danneggiati dall'acaro. Nel caso di foglie già distese, l'acaro induce clorosi, arrossamenti e argentature che possono evolversi in rugginosità, imbrunimenti e bronzature di varia estensione. Queste reazioni dell'ospite possono interessare qualsiasi altro territorio della pianta (gemme, frutti, infiorescenze, ecc.).

A questo gruppo appartiene il *Cecidophyopsis hendersoni* (Keifer) il quale, curiosamente, non è stato mai segnalato in Italia anche se può capitare di incontrare questo eriofide con facilità sul nostro territorio¹. Le foglie di yucca, soprattutto quelle più giovani e centrali, possono accogliere popolazioni dell'eriofide principalmente nella

¹ Questa specie è stata frequentemente osservata su piante in vaso in interni oppure in giardini pubblici e padronali a Bitetto e Molfetta (provincia di Bari).

zona basale della lamina. Le aree densamente ricoperte assumono un aspetto biancastro che, a prima vista, possono essere confuse con gli esiti di un'infezione fungina. Ciò è conseguenza della massiva presenza di individui e della produzione di fini particelle di cera. L'attività trofica dell'acaro porta gradualmente alla clorosi dell'area interessata che evolve in un imbrunimento e nel decadimento completo della foglia che avvizzisce. L'infestazione può estendersi all'intera pianta la quale gradualmente deperisce.

Altrettanto rilevante è *Aceria ficus* (Cotte) il quale è presente in tutte le aree di coltivazione del fico e può essere classificato ecologicamente sia come *free-living* che come *refuge-seeking mite*, in quanto utilizza le gemme come ricovero durante il periodo invernale. In primavera-estate, l'eriofide è sulla superficie degli organi vegetali (in particolare sulla pagina inferiore delle foglie, preferendo quelle apicali). I sintomi causati dall'acaro consistono principalmente in clorosi. Nei casi più gravi si assiste a distorsioni e rugginosità delle foglie, mentre dense popolazioni sui tratti terminali dei germogli possono causare anche una crescita stentata dei rametti e la caduta delle foglie terminali (BAKER, 1939; EBELING e PENCE, 1950). La dannosità di questa specie, però, deriva dalla trasmissione dell'agente causale del mosaico del fico. Purtroppo, la distinzione dei sintomi causati propriamente dall'eriofide rispetto a quelli indotti dal virus non è agevole. Sulla superficie inferiore delle foglie di fico è comune osservare anche la presenza di *Rhyncaphytoptus ficifoliae* Keifer. Si tratta di una specie vagante durante il periodo primaverile-estivo che sfrutta ogni possibile rifugio per superare le avverse condizioni invernali. Tipicamente le forme giovanili sono ricoperte da una fine polvere cerosa e non si segnalano sintomi di particolare rilievo.

Altra specie di interesse economico è l'*Aculus fockeui* (Nalepa & Trouessart), detto eriofide delle drupacee, il quale è associato a numerose rosacee coltivate e selvatiche. Questa combinazione specifica accoglie alcune sinonimie accertate nel corso degli anni e conseguenza della considerevole variabilità morfologica dell'eriofide (BOCZEK *et al.*, 1984), della sua oligofagia e del suo polimorfismo stagionale. L'eriofide causa tossiemie quando si nutre su tessuti verdi in fase di sviluppo (maculatura clorotica fogliare in primavera) a cui seguono una graduale argentatura e successiva rugginosità/bronzatura della lamina (falso mal del piombo) quando si nutre sui tessuti epidermici di foglie mature. Quest'ultima manifestazione si verifica al picco

di densità della popolazione il quale avviene generalmente a luglio nelle aree frutticole meridionali. A questi sintomi cromatici si associano, talora, il ripiegamento verso l'alto del margine fogliare in senso longitudinale. Infine, sui frutti delle nettarine si può sviluppare una suberosi anulare in corrispondenza della zona peduncolare che le deprezza.

L'eriofide rugginoso del pomodoro, *Aculops lycopersici* (Tryon), vive e si riproduce elettivamente su pomodoro anche se si comporta da oligofago su numerose altre solanacee tra cui melanzana, patata, peperone, petunia e tabacco. L'attività trofica dell'acaro sulle cellule epidermiche comporta una reazione di ipersensibilità spesso violenta. Ne consegue lo sviluppo di rugginosità su foglie e steli di pomodoro, spesso associata a un ripiegamento a doccia della lamina fogliare, come anche rugginosità e suberificazione delle bacche. I sintomi sugli organi verdi compaiono inizialmente sulle foglie e sui germogli più vicini al suolo. Quelli sui frutti si manifestano con forti densità di popolazione.

In questo gruppo bisogna comprendere anche l'agente dell'acariosi della vite, *Calepitrimerus vitis* (Nalepa), il quale causa manifestazioni decisamente più rilevanti che vanno da una clorosi puntiforme delle foglie, a distorsioni e alterazioni cromatiche delle stesse, fino a necrosi e morte delle gemme invernali, ad un accrescimento irregolare per dimensione e forma del tralcio, e ad altri sintomi riconducibili all'attività delle tossine salivari (BARNES, 1970; DUSO e DE LILLO, 1996), per citare i sintomi meglio noti. La sua presenza sulla pianta ospite è ampia e non risparmia nessun organo verde (DE LILLO *et al.*, 2005).

Galligeni

Gli eriofioidei sono tra i principali agenti di zoocidi e molte specie galligene tendono a infestare una singola pianta ospite. Essi inducono lo sviluppo di una galla distintiva per forma, dimensione, aspetto e distribuzione (altamente sito-specifiche su organi verdi della pianta con esclusione delle radici) sulla pianta e nel tempo. La specificità dell'alterazione e la specializzazione dell'ospite consentono un'identificazione preliminare dell'agente eziologico, cosa da tempo nota (CANESTRINI, 1890, cfr. pag. 8) e che ha permesso di produrre collezioni e cataloghi di galle.

Purtroppo, specie congeneri di eriofioidei spesso possono causare alterazioni simili su piante ospiti appartenenti a specie diverse dello stesso genere botanico (PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010b). Allo stesso modo, un differente tipo di alterazione può

essere indotto dalla stessa specie di eriofioideo su diversi ospiti vegetali (PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a). Queste particolarità hanno prodotto una certa confusione riguardo gli eriofioidei associati al *Quercus* spp., al *Salix* spp., a *Tilia* spp. e alle asteracee.

La tipologia delle malformazioni vegetali indotte dagli eriofioidei è alquanto varia e in molte occasioni si è tentata una loro classificazione (MASSALONGO, 1891; MANI, 1964; WESTPHAL, 1977; WESTPHAL e MANSON, 1996). Di seguito vengono descritti alcuni tra i più comuni acarocedici della flora italiana.

L'acaro delle gemme del nocciolo, *Phytoptus avellanae* Nalepa, noto in Campania come Bufone, causa un tipico ingrossamento delle gemme apicali e di quelle laterali, anche oltre i 10 mm di larghezza, in seguito all'ispessimento delle perule e delle brattee che appaiono più carnose e ricche in tessuti teneri. A questo livello sono riconoscibili cellule nutrici disposte a palizzata. La tipologia della galla rientra tra quelle definite "*bud galls – big buds*" secondo Westphal e Manson (1996). Le gemme infestate possono schiudere e produrre esili, corti e deboli germogli oppure possono disseccare. Le piante fortemente infestate, soprattutto se giovani, tendono a deperire mostrando rami secchi e un accrescimento complessivamente stentato. Queste vistose malformazioni e gli effetti dannosi sono stati ampiamente osservati anche precedentemente alla definizione dell'agente causale (CANESTRINI, 1892). Una simile alterazione è riscontrabile sul bosso, nelle gemme del quale possono rinvenirsi più specie di eriofidi tra le quali spicca *Eriophyes canestrinii* (Nalepa). Anche in questo caso si assiste a un ingrossamento anormale e vistoso delle gemme (*bud galls*) accompagnato dalla deformazione delle foglioline che divengono spesse, carnose e strettamente aderenti tra loro. In aggiunta, si osservano l'accorciamento dei germogli e la mancata fioritura.

L'acaro delle meraviglie, *Aceria sheldoni* (Ewing), è infeudato agli agrumi e in particolare al limone. Questo eriofide è responsabile di distorsioni dei germogli, foglie e fiori accompagnati comunemente da un'eccessiva e bizzarra deformazione dei frutti (*fruit galls*) a cui talora si associano anche possibili decolorazioni. Sicuramente quest'alterazione non è passata inosservata anche in epoche nelle quali questi acari non erano affatto conosciuti ed esempio in tal senso è quanto riportato dal botanico Battista Ferrari (RAGUSA, 2002).

Molto inusuale è lo sviluppo di galle (*stem galls*) sui germogli della chenopodiacea spontanea perenne, legnosa, *Suaeda vera* Gmelin per opera di *Aceria caulobia* (Nalepa). L'eriofide infesta

le gemme apicali e induce lo sviluppo di un ispessimento localizzato del germoglio, cavo, le cui pareti interne accolgono popolazioni spesso molto dense dell'acaro. Le galle cominciano a manifestarsi in autunno e assumono inizialmente una forma ellissoidale-sferica. Con la crescita, le galle si allungano nel verso dell'asse dello stelo e assumono un diametro compreso fra i 2 e i 10 mm in senso trasversale. La superficie della galla è inizialmente di colore verde-violaceo, successivamente bruno con il passaggio dalla consistenza erbacea a quella legnosa e tende a produrre corti germogli. Le galle giungono al massimo sviluppo in primavera e ospitano l'eriofide fino a maggio-giugno quando l'acaro ricerca i germogli dell'anno per indurre la formazione di nuove galle (MONACO, 1971).

Un'ulteriore alterazione delle gemme è associata ad *Acalitus phloeoceptes* (Nalepa) che sul susino e altre rosacee causa galle di aspetto irregolare, di circa 2 mm di dimensione, proprio in corrispondenza delle gemme (*bud galls*). Tali proliferazioni diventano legnose e sono associate anche a deformazioni degli speroni fruttiferi. Queste gemme tendono a non germogliare con la conseguenza che la pianta si debilita e perisce nell'arco di 3-6 anni. Su mandorlo, invece, l'alimentazione costante causa lo sviluppo di tessuti legnosi irregolari.

Tra le essenze di interesse forestale, il frassino e l'orniello sono quelle che mostrano maggiormente i segni dell'azione degli eriofidi. L'*Aceria fraxinivora* (Nalepa) interagisce con il normale sviluppo delle gemme fiorali. In seguito a un non ancora chiarito meccanismo di accecamento e induzione delle gemme, l'acaro determina lo sviluppo di una struttura ad architettura complessa e irregolare, larga anche alcuni centimetri, spesso organizzata in un'aggregazione a grappolo, inizialmente verde che successivamente imbrunisce, dissecca e assume aspetto legnoso per divenire molto manifesta alla caduta autunnale delle foglie. In tal caso si può parlare di una galla fiorale (*inflorescence galls*) in quanto le infiorescenze sono trasformate in strutture verdi simili a foglie e caratterizzate da ridotta superficie e da distorsioni di vario genere che riguardano tutti gli organi fiorali.

Un'alterazione frequente sul salice piangente in Europa consiste nello sviluppo di consistenti e numerosi grovigli (scopazzi – *witches' brooms*), di aspetto irregolare, derivanti dalla deformazione delle infiorescenze. In questi grovigli si distinguono foglie di ridottissima dimensione, fortemente contorte su se stesse, a diverso spessore, internodi cortissimi, numerosi e strettamente appressati tra loro. Questa struttura così com-

plexa persiste a lungo sulla pianta e il suo colore verde primaverile vira verso un bruno più o meno scuro in autunno, quando assume consistenza legnosa. In questo ammasso sono state rinvenute e segnalate alcune specie di eriofidi, ma il suo agente eziologico non è stato definito con certezza e alcuni autori (WESTPHAL, 1977) ritengono che gli eriofidi si comportino da inquilini. In qualunque modo, in scopazzi di *Salix babilonica* L. raccolti in Puglia è stato rinvenuto lo *Stenacis palomaris* Keifer; in altre aree e su altri *Salix* è stato segnalata la presenza di *S. triradiata* (Nalepa) ma, purtroppo, l'identificazione dell'eriofide è stata eseguita solo su base sintomatologica (CORTI, 1910; TOMASI, 2002a, c).

Una manifestazione molto simile alle precedenti è causata da *Aceria chondrillae* (Canestrini) sull'asteracea *Chondrilla juncea* L. L'eriofide inibisce l'allungamento dei germogli fiorali e delle sue ramificazioni, determina una forte distorsione dell'infiorescenza che assume l'aspetto di un grappolo contorto di capolini e foglie abortite. L'infestazione induce una grande riduzione del numero di fiori e semi prodotti e influenza la rigenerazione delle tipiche rosette fogliari. Alle segnalazioni italiane di questo eriofide in Trentino, Veneto, Lombardia, Puglia e Sicilia si aggiunge anche un reperto rinvenuto in Campania [agro di Ariano Irpino (AV), 13 settembre 1989, legit R. Monaco, su *C. juncea*].

Anche le rubiacee del genere *Galium* vanno incontro ad alterazioni profonde della loro crescita a causa di *Aculus anthobius* (Nalepa). L'eriofide altera completamente l'infiorescenza che appare compatta a seguito della trasformazione dei fiori in organi verdi, simili a piccole foglie, su corti germogli. In aggiunta, l'alimentazione dell'eriofide può causare la distruzione delle cellule epidermiche (PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010a).

Alterazioni di profonda depressione vegetativa e riproduttiva sembrano essere quelle causate da *Aceria salsolae* de Lillo e Sobhian sulla chenopodiacea *Salsola kali* L. La ricerca di questo eriofide in Italia è stata infruttuosa e decisamente poco estesa. La sua presenza è, comunque, fortemente probabile tanto da essere stata importata recentemente dalla vicina Grecia per studi esplorativi sulla specificità dell'ospite (SMITH *et al.*, 2009). La pianta infestata assume una crescita stentata, con taglia ridotta, con una minore produzione di spine che appaiono anche più corte e meno acuminate, la fioritura è povera come anche la produzione di semi. L'effetto esercitato dall'eriofide è sicuramente quello atteso da un potenziale candidato nel controllo biologico della chenopodiacea.

Aceria malherbae Nuzzaci ha avuto un notevole

successo nel controllo biologico classico del convolvolo *Convolvulus arvensis* L. (SMITH *et al.*, 2010). L'eriofide induce l'arrotolamento del margine fogliare, che appare ripiegato verso la nervatura centrale, l'ispessimento e la distorsione della lamina stessa, che diviene verde-giallastra o rossastra, la deformazione dei fiori e dei germogli. Nel complesso la pianta appare deformata e la riproduzione viene considerevolmente ridotta (BOLDT e SOBHIAN, 1993; ROSENTHAL, 1996; LITTLEFIELD, 2004).

Centaurea solstitialis L. subisce l'azione di *Aceria solstitialis* de Lillo *et al.* la quale è associata a un accrescimento stentato dell'asteracea che assume un aspetto cespuglioso, appare provvista di spine morbide ed elastiche, produce capolini più piccoli, leggermente deformi e provvisti di uno scarso numero di fiori.

Classica è proprio la galla fogliare (*pouch galls*) indotta da *Aceria macrorhyncha* (Nalepa) su foglie di numerosi *Acer*. Essa consiste in un'invaginazione della lamina fogliare leggermente allungata, sub-sferica, a fiasco o a borsa, 1-2 mm di lunghezza e 1 mm di diametro, sporgente dalla superficie superiore della lamina. La galla ha solitamente superficie liscia, rossastra o verde pallida ed è provvista di un pertugio ricoperto da una densa massa di peli posto in corrispondenza della superficie inferiore della foglia. La densità delle galle sulla foglia è molto varia.

Un altro tipo di alterazione consiste nel ripiegamento o arrotolamento del margine della lamina fogliare (*leaf roll galls*) sul quale l'acaro si nutre e si moltiplica. Questi tessuti diventano spesso turgidi, si ingrossano, cambiano colore e formano una sorta di cercine del bordo fogliare. In relazione alla specie, l'arrotolamento si può sviluppare sulla pagina inferiore o su quella superiore, può essere limitato solo al margine oppure interessare la lamina in modo più o meno consistente. Molto spesso è accompagnato da distorsioni della foglia stessa in seguito alle tensioni indotte dall'arrotolamento. Specie rinvenute sul territorio nazionale e responsabili di questo tipo di alterazione sono *Aceria granati* (Canestrini & Massalongo) su foglie di *Punica granatum* L., *Stena convolvens* (Nalepa) principalmente associato a *Euonymus europaeus* L., e *Calepitrimerus epimedii* de Lillo rinvenuto su foglie di *Epimedium alpinum* L.

Meno appariscente è l'alterazione indotta da *Eriophyes pseudoinsidiosus* Wilson ed *E. pyri* (Pagestenger), quest'ultimo noto in Italia come l'eriofide vescicoloso o della vaiolatura del pero. In letteratura sono stati segnalati altri eriofidi, spesso attribuiti a varietà dell'*E. pyri*, associati a

un'alterazione simile su altre rosacee pomoidee [*Eriophyes orientalis* (Fockeu) su *Cydonia oblonga* Mill., *E. sorbi* (Canestrini) su *Sorbus aucuparia* L., *E. chamaespili* Nalepa su *Sorbus chamaespilus* Crantz, *E. propinquus* Nalepa su *Cotonestaer tomentosus* Lindl., *E. torminalis* Nalepa su *Sorbus torminalis* (L.) Crantz]. Sicuramente un'indagine accurata è necessaria per accertare il reale pool di piante ospiti di questa specie e di quelle ad essa affini per morfologia e sintomatologia. L'acaro si rinviene nelle gemme terminali durante l'inverno, mentre durante la primavera-estate induce e occupa le vescicole che induce a svilupparsi solitamente sulla lamina fogliare, come talora sui peduncoli, calice florale e frutticini. Le vescicole possono essere definite come galle coprenti (*blister galls* or *pocket galls*) e sono evidenti su entrambe le superfici fogliari. Esse sporgono per 1-5 mm dalla superficie, sono verde giallastro in maggio per virare al rosso, porpora o bruno verso fine estate, e mostrano un foro di accesso sulla pagina inferiore. Nel parenchima fogliare si forma una fine cavità, dovuta ad un'anormale crescita del mesofillo e ad un aumento di volume del lacunoso. Questa cavità è occupata da pochi individui fino all'invecchiamento della vescicola quando questa viene abbandonata per cercare i siti di svernamento.

Una manifestazione molto simile è quella indotta da *Aceria affinis* (Nalepa) su *Artemisia arborescens* L. e da *Aceria brevipes* (Nalepa) sulla chenopodiacea *Atriplex halimus* L. L'alterazione consiste in un piccolo infossamento circolare sulla superficie superiore della foglia a cui corrisponde un'area circolare rilevata sulla superficie inferiore della foglia. Foglie con numerosi infossamenti possono mostrare forti deformazioni.

Altra comune manifestazione indotta dagli eriofidi è la differenziazione di un anormale e fitto ammasso di peli (*erinea*) a formare un feltro solitamente biancastro o giallino, su aree più o meno ristrette, leggermente concave della lamina, nel quale gli eriofidi possono vivere e moltiplicarsi. La superficie fogliare opposta all'erinosi tende ad essere più o meno rilevata e convessa e talora assume una colorazione diversa dal resto della lamina. In alcuni casi le erinosi possono confluire tra loro, coprire più o meno ampiamente la superficie fogliare e, talora, distorcerla. In altri casi, l'erinosi può svilupparsi a livello delle nervature e interessare meno la lamina formando una struttura più o meno compatta. I tricomi anormali possono essere allungati, globulari, lobati, ramificati (WESTPHAL, 1977). Con l'invecchiamento della foglia e

a seconda della combinazione ospite-eriofide, le componenti di entrambe le superfici fogliari dell'erinosi tendono a ingiallire-arrossare con varie tonalità e, poi, a imbrunire. Gli esempi italiani di questo tipo di alterazione sono numerosi alcuni dei quali riguardano le tipiche e diffuse erinosi a bolla del *Colomerus vitis* (Pagenstecher) su vite, di *Aceria ilicis* (Canestrini) prevalentemente su leccio e segnalato in Veneto, Liguria, Toscana, Friuli, Sicilia, Sardegna (a cui aggiungere la segnalazione per la Puglia, Orto botanico di Bari, 2 novembre 1987, in erinosi su foglie di *Quercus trojana* Webb), di *A. carlinae* (Nalepa) sull'asteracea *Atractylis gummifera* L., oppure quelle che riguardano le ipertricosi nervali osservate su susino causate da *Phyllocoptes abaenus* Keifer.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Gli acarocecidi della flora italiana richiedono certamente una maggiore considerazione. Negli ultimi decenni lo studio della morfologia della galla come della morfologia e bio-etologia dell'agente eziologico hanno riguardato quasi esclusivamente quelle combinazioni eriofioideo-pianta ospite di interesse applicativo: eriofioidei delle colture agrarie e potenziali candidati al controllo biologico delle piante infestanti. Gli acarocecidi di interesse più naturalistico sono stati molto spesso trascurati oppure trattati con un approccio faunistico quasi sempre solo su base sintomatologica. Le ragioni di questa tendenza sono molteplici e non possono essere trattate in questa occasione.

Sarebbe opportuna la valorizzazione del materiale cecidologico del Trotter il quale richiederebbe una catalogazione, revisione e identificazione degli eriofioidei associati. A riguardo, si dovrebbe provvedere a corredare tale catalogo anche di una collezione di preparati. Un analogo trattamento andrebbe adottato anche per le raccolte del Tomasi. Queste iniziative hanno bisogno, però, di risorse soprattutto umane.

Va osservato, inoltre, che alcune specie descritte tra la fine dell'800 e l'inizio del '900 da materiale italiano aspettano di essere sottoposte a una descrizione morfologica [es.: *Aceria pseudoplatani* (Corti), *A. rubiae* (Canestrini)] o richiedono supplementi di descrizione [es.: *Aceria affinis* (Nalepa), *A. brevipes* (Nalepa), ecc.].

Infine, la fauna italiana può fornire un valido contributo a definire meglio la posizione di alcuni eriofidi delle asteracee, del *Quercus*, *Salix*, ecc.

RIASSUNTO

I cecidi della flora italiana indotti dagli acari possono essere attribuiti all'azione trofica degli Eriophyoidea. I rilevanti adattamenti morfologici e biologici di questi acari alla vita entro microhabitat protetti della pianta hanno favorito la co-evoluzione tra i simbionti con l'induzione, spesso, di complessi vegetali caratterizzati da architetture spesso alquanto specifiche. L'eriofidiofauna italiana comprende entità responsabili di un'ampia varietà di malformazioni degli organi vegetali infestati e, a titolo di esempio, vengono descritte alcune tra le più comuni.

BIBLIOGRAFIA

AMRINE J.W.JR., STASNY T., 1989 - *The eriophyid mite, Paraphytoptus pannolus K. on giant ragweed, Ambrosia trifida L.* - Proc. West Va. Acad. Sci., 61(1): 23.

AMRINE J.W.JR., DUNCAN G.H., JONES A.T., GORDON S.C., ROBERTS I.M., 1994 - *Cecidophyopsis mites (Acari: Eriophyidae) on Ribes spp. (Grossulariaceae).* - Internat. J. Acarol., 20(3): 139-168.

BAKER E.W., 1939 - *The fig mite Eriophyes ficus Cotte, and other mites of the fig tree, Ficus carica Linn.* - Bull. Calif. Dept. Agr., 28: 266-275.

BARNES M.M., 1970 - *Calepitrimerus vitis (Acarina: Eriophyidae) on grape leaves.* - Ann. Entomol. Soc. Am., 63: 1193-1194.

BERNINI F., CASTAGNOLI M., NANNELLI R., 1995 - *Arachnida Acari.* In: Minelli A., Ruffo S., La Posta S. (eds.), Checklist delle specie della fauna italiana, 24. Calderini, Bologna, 131 pp.

BOCZEK J., ZAWADSKI W., DAVIS R., 1984 - *Some morphological and biological differences in Aculus fockeui (Nalepa and Trouessart) (Acari: Eriophyidae) on various host plants.* - Int. J. Acarol., 10(2): 81-87.

BRONNER R., WESTPHAL E., DREGER F., 1989 - *Chitosan, a component of the compatible interaction between Solanum dulcamara L. and the gall mite Eriophyes cladophthirus Nal.* - Physiol. Mol. Pl. Pathol., 34: 117-130.

BOLDT P.E., SOBHIAN R., 1993 - *Release and establishment of Aceria mahlerbae (Acari: Eriophyidae) for control of field bindweed in Texas.* - Environ. Entomol., 22(1): 234-237.

CANESTRINI G., 1890 - *Ricerche intorno ai Fitoptidi.* - Atti Soc. Veneto-Trent. Sci. Nat., 12(1): 1-26, pls. 6-7.

CANESTRINI G., 1892 - *Prospetto dell'Acarofauna Italiana. Parte V. Famiglia dei Phytoptini (Phytoptidae).* - Atti Soc. Veneto Sci. Nat., Padova, ser. II(1): 543-557, 589-722 + pls 44-59.

CASTAGNOLI M., LEWANDOWSKI M., ŁABANOWSKI G.S., SIMONI S., SOIKA G.M., 2010 - *An insight into some relevant aspects concerning eriophyoid mites inhabiting forests, ornamental trees and shrubs.* - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 169-189.

CORTI A., 1910 - *Le Galle della Valtellina. Terzo contributo alla conoscenza della Cecidologia Valtellinese.* - Atti Soc. Ital. Sci. Nat., 49: 297-354.

DE LILLO E., 1987 - *L'acarocecidio indotto da Aceria caulobius Nalepa su Suaeda fruticosa Forsk., serbatoio naturale del predatore Typhlodromus exhilaratus Ragusa.* - Entomologica, Bari, 22: 5-14.

DE LILLO E., 2004 - *Fauna Europaea: Eriophyoidea.* In: W. Magowski (ed.) Fauna Europaea: Acariformes. Fauna Europaea version 1.1, <http://www.fauaeur.org>

DE LILLO E., MONFREDA R., 2004 - «Salivary secretions» of

eriophyoids (Acari: Eriophyoidea): first results of an experimental model. - Exp. Appl. Acarol., 34(3-4): 291-306.

DE LILLO E., SKORACKA A., 2010 - *What's "cool" on Eriophyoid Mites?* - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 3-30.

DE LILLO E., DI PALMA A., NUZZACI G., 2002 - *Morphological adaptations of mite chelicerae to different trophic activities (Acari).* - Entomologica, Bari, 35(2001): 125-180.

DE LILLO E., BARI G., MONFREDA R., 2005 - *Preliminary study on the distribution of Calepitrimerus vitis (Nalepa) on tendone trained vineyards in Apulia, Southern Italy.* - Phytophaga, XIV (2004): 605-610.

DI STEFANO M., 1967 - *Lineamenti cecidologici di un Maestro (a 4 mesi dalla morte del prof. Alessandro Trotter).* - Marcellia, 34(3-4): 19-133.

DUSO C., DE LILLO E., 1996 - *Grape.* In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J. (eds.), *Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control.* Elsevier. - World Crop Pests, 6: 571-582.

DUSO C., MALAGNINI V., DRAGO A., POZZEBON A., GALBERO G., CASTAGNOLI M., DE LILLO E., 2003 - *The colonization of phytoseiid mites (Acari Phytoseiidae) in a vineyard and the surrounding hedgerows.* - Bull. OILB-SROP, 26(4): 37-42.

DUSO C., CASTAGNOLI M., SIMONI S., ANGELI G., 2010 - *The impact of eriophyoids on crops: recent issues on Aculus schlehtendali, Calepitrimerus vitis and Aculops lycopersici.* - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 151-168.

EBELING W., PENCE R.G., 1950 - *A severe case of an uncommon type of injury by the fig mite.* - Bull. Calif. Dept. Agr., 39: 47-48.

FENTON B., MALLOCH G., JONES A.T., AMRINE J.W.JR., GORDON S.C., A'HARA S., MCGAVIN W.J., BIRCH A.N.E., 1995 - *Species identification of Cecidophyopsis mites (Acari: Eriophyidae) from different Ribes species on countries using molecular genetics.* - Molecular Ecol., 4(3): 383-387.

GAMLIEL-ATINSKY E., FREEMAN S., SZTEJNBERG A., MAYMON M., OCHOA R., BELAUSOV E., PALEVSKY E., 2009 - *Interaction of the mite Aceria mangiferae with Fusarium mangiferae, the causal agent of mango malformation disease.* - Phytopathology, 99(2): 152-159.

GAMLIEL-ATINSKY E., FREEMAN S., MAYMON M., BELAUSOV E., OCHOA R., BAUCHAN G., SKORACKA A., PEÑA J., PALEVSKY E., 2010 - *The role of eriophyoids in fungal pathogen epidemiology, mere association or true interaction?* - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 191-204.

JEPSON L.R., KEIFER H.H., BAKER E.W., 1975 - *Mites injurious to economic plants.* University of California Press, Berkeley, California, U.S.A., 614 pp.

KEIFER H.H., BAKER E.W., KONO T., DELFINADO M., STYER W.E., 1982 - *An illustrated guide to plant abnormalities caused by eriophyoid mites in North America.* USDA - ARS, Agriculture Hand Book, Washington, USA, 573: 178 pp.

KIELKIEWICZ M., TOMCZYK A., SAHAJDAK A., BOCZEK J., 1997 - *The population level of eriophyoid mites in relation to chemical composition of some weed plants growing under industrial pollution.* - Progress in Plant Protection, 37(2): 61-64 (in Polish).

KORICHEVA J., LAPPALAINEN J., VUORISALO T., HAUKIOJA E., 1996 - *Density patterns of gall mites (Acarina: Eriophyidae) in a polluted area.* - Environ. Pollution, 93(3): 345-352.

LITTLEFIELD J.L., 2004 - *Spatial distribution and seasonal life history of Aceria malherbae (Acari: Eriophyidae) on*

- Convolvulus arvensis* in Montana, USA. In: Cullen JM, Briese DT, Kriticos DJ, Lonsdale WM, Morin L, Scott JK (eds) Proceedings of the XI international symposium on biological control of weeds, 4-8 May, 2003, CSIRO Entomology, Canberra, Australia, p 607
- MANI M.S., 1964 – *Ecology of plant galls*. - Monographiae Biol., 12: 1- 434.
- MANSON D.C.M., OLDFIELD G.N., 1996 – *Life forms, deuteroyny, diapause and seasonal development*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J., (eds.), Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 173-183.
- MASSALONGO C., 1891 – *Acaroecidii nella flora veronese*. - Nuovo Giorn. bot. ital., XXIII(I): 68-119.
- MONACO R., 1971 – *Il Cirrospilus suedaegallarum Viggiani predatore dell'acaro Eriophyes caulobius Nalepa*. - Entomologica, Bari, 7: 15-27.
- MONFREDA R., DE LILLO E., 2006 – *Attuali conoscenze sulle secrezioni salivari negli Acari Eriophyoidea*. - Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia. Rendiconti, 53(2005): 379-388.
- MONFREDA R, SPAGNUOLO M (2004) – *Enzyme activity of an eriophyoid 'salivary' secretion: preliminary report of polygalacturonase*. - Phytophaga, 14: 611-614.
- NUZZACI G., 1979 – *Contributo alla conoscenza dello gnatosoma degli eriofidi (Acarina: Eriophyoidea)*. - Entomologica, Bari, 15: 73-101.
- NUZZACI G., ALBERTI G., 1996 – *Internal anatomy and physiology*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J., (eds.), Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 101-150.
- OLDFIELD G.N., 1996 – *Toxemias and other non-distortive feeding effects*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J., (eds.), Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 243-250.
- OLDFIELD G.N., 2005 – *Biology of gall-inducing Acari*. In: Raman A., Schaefer C.W., Withers T.M. (eds), Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods. Science Publishers, Portland, OR, Vol. 1: 35-57.
- PELLIZZARI SCALTRITI G., 1988 – *Guida al riconoscimento delle più comuni galle della flora italiana*. Patron Editore: 1-181.
- PETANOVIĆ R., KIELKIEWICZ M., 2010a – *Plant-eriophyoid mite interactions: cellular biochemistry and metabolic responses induced in mite-injured plants*. Part I. - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 61-80.
- PETANOVIĆ R., KIELKIEWICZ M., 2010b – *Plant-eriophyoid mite interactions: specific and unspecific morphological alterations*. Part II. - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 81-91.
- RAGUSA S., 2002 – *As time goes by: a profile of Italian Acarology*. In: F. Bernini, R. Nannelli, G. Nuzzaci, E. de Lillo (eds.), Acarid Phylogeny and Evolution. Adaptations in mites and ticks. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands: 1-20.
- ROSENTHAL S.S., 1996 – *Aceria, Epirimerus and Aculus species and biological control of weed*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J. (eds.), Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 729-739.
- ROYALTY R.N., PERRING T.M., 1996 – *Nature of damage and its assessment*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J., (eds.), Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 493-512.
- SABELIS M.W., BRUIN J., 1996 – *Evolutionary ecology: life history patterns, food plant choice and dispersal*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J. (eds.), Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 329-366.
- SABELIS M.W., LESNA I., ARATCHIGE N.S., 2007 – *A tritrophic perspective to the biological control of eriophyoid mites*. IOBC/WPRS Bull., 30(5): 91-93.
- SABELIS M.W., JANSSEN A., LESNA I., ARATCHIGE N.S., NOMIKOU M., VAN RIJN P.C.J., 2008 – *Developments in the use of predatory mites for biological pest control*. - IOBC/WPRS Bull., 32: 187-200.
- SKORACKA A., 2009 – *Description of Abacarus lolii n. sp. (Prostigmata: Eriophyoidea: Eriophyidae), a cryptic species within a grass-feeding Abacarus complex*. - Internat. J. Acarol., 35(5): 405-417.
- SKORACKA A., SMITH L., OLDFIELD G., CRISTOFARO M., AMRINE J.W., 2010 – *Host-plant specificity and specialization in eriophyoid mites and their importance for the use of eriophyoid mites as biocontrol agents of weeds*. - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 93-113.
- SMITH L., CRISTOFARO M., DE LILLO E., MONFREDA R., PAOLINI A., 2009 – *Field assessment of host plant specificity and potential effectiveness of a prospective biological control agent, Aceria salsolae, of Russian thistle, Salsola tragus*. - Biological Control, 48(3): 237-243.
- SMITH L., DE LILLO E., AMRINE J.W. JR., 2010 – *Effectiveness of eriophyid mites for biological control of weedy plants and challenges for future research*. - Exp. Appl. Acarol., 51(1-3): 115-149.
- TOMASI E., 1996 – *Primo contributo alla conoscenza e alla distribuzione dei cecidogeni del Friuli-Venezia Giulia*. Atti Mus. civ. Stor. Nat. Trieste, 47: 1-136.
- TOMASI E., 2002a – *Fito-zooceccidi dell'alta Val Torre e Val Ucces (Prealpi Giulie occidentali - Lusevera - Udine)*. - Atti Mus. civ. Stor. Nat. Trieste, 49: 33-48.
- TOMASI E., 2002b – *Fito-zooceccidi del Monte Castellaro maggiore (Italia Nordorientale - Slovenia)*. Atti Mus. civ. Stor. Nat. Trieste, 49: 49-66.
- TOMASI E., 2002c – *Fito-zooceccidi della Val Rosandra (San Dorligo della Valle, Trieste, Italia Nordorientale)*. - Atti Mus. civ. Stor. Nat. Trieste, 49: 67-80.
- TOMASI E., 2006 – *La cecidoteca del Friuli Venezia Giulia. I fito-zooceccidi del Friuli Venezia Giulia nelle collezioni del Museo Civico di Storia Naturale di Trieste*. Cataloghi V, Mus. Civ. Stor. Nat. Trieste: 124 pp.
- TOMASI E., 2007 – *Indagine cecidologica sulle prealpi Giulie occidentali (Friuli Venezia Giulia-Italia)*. - Atti Mus. Civ. Stor. Nat. Trieste, 53: 101-185.
- TOMASI E., DE LILLO E., 2002 – *Secondo contributo alla conoscenza e alla distribuzione dei cecidogeni del Friuli Venezia Giulia: Acari Eriophyoidea*. Atti Mus. Civ. St. Nat. Trieste: 49: 19-32.
- TROTTER A., 1902 – *Progresso ed importanza degli studi cecidologici*. - Marcellia, 1: 5-12.
- WESTPHAL E., 1977 – *Morphogenèse, ultrastructure et étologie de quelques galles d'Eriophyides (Acariens)*. - Marcellia, 39: 193-375.
- WESTPHAL E., 1982 – *Modification du pH vacuolaire des cellules épidermiques foliaires de Solanum dulcamara soumise à l'action d'un acarien cecidogene*. - Can. J. Bot., 60(12): 2882-2888.
- WESTPHAL E., MANSON C.D.M., 1996 – *Feeding effects on host plants: gall formations and other distortions*. In: Lindquist E.E., Sabelis M.W., Bruin J., (eds.), Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. - Elsevier. World Crop Pests, 6: 231-242.

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 19 NOVEMBRE 2010

Tavola rotonda su:

IL CINIPIDE ORIENTALE DEL CASTAGNO

Coordinatore:

ALBERTO ALMA, Accademico

ORIGINE, DIFFUSIONE E MISURE ADOTTATE PER IL CONTENIMENTO IN EUROPA DEL CINIPIDE DEL CASTAGNO

AMBRA QUACCHIA (*) - CHIARA FERRACINI (*) - ALBERTO ALMA (*)

(*) DIVAPRA - Entomologia e Zoologia applicate all'Ambiente "Carlo Vidano", Università degli Studi di Torino, v. L. da Vinci 44, 10095 Grugliasco (TO); ambra.quacchia@unito.it
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Origin, spread and measures adopted to control the chestnut gall wasp in Europe

The biological control protocol concerning the chestnut gall wasp rises from the long-term experience developed by the DIVAPRA of the University of Turin in many research projects.

The approach we propose, strengthened by the positive results achieved until now, consists in the release of couples of *T. sinensis* in areas infested by the gall wasp. Parasitoids come from the rearing of parasitized galls collected in multiplication areas of the region, which are well-managed chestnut wood areas in which these beneficial insects, intentionally introduced, may acclimatize, establish and multiply, providing a self-perpetuating supply. These parasitoids, once released in an infested area, will be able to establish and their population will increase through the years, allowing the control of the population of the cynipid and the re-establishment of an ecological balance.

KEY WORDS: biological control, chestnut gall wasp, *Torymus sinensis*, parasitoid release, multiplication area.

INTRODUZIONE

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), specie galligena di origine cinese infeduta a *Castanea* spp., è stato segnalato in Italia per la prima volta nella primavera del 2002 in areali castanicoli del cuneese (BRUSSINO *et al.*, 2002). È considerato l'insetto più nocivo per il castagno a livello mondiale, a fronte della sua capacità di portare a un veloce deperimento le piante attaccate. Il deperimento è conseguenza del mancato o ridotto sviluppo dei germogli derivanti da gemme che in primavera, a causa della presenza delle larve del cinipide nei tessuti meristematici, si evolvono in galle. Dalla Cina, areale di origine, *D. kuriphilus* è stato introdotto in Giappone (1941), Corea (1963) e USA (Georgia, 1974). Dopo la prima segnalazione in Piemonte nel 2002, il galligeno si è velocemente diffuso in tutta Italia, dove solo due regioni (Basilicata e Puglia) per ora non ne segnalano la presenza. La diffusione ha interessato anche altri Stati europei quali, Slovenia, Francia (Corsica compresa) e Svizzera, dove l'insetto è ormai insediato, e Paesi quali, Ungheria e Olanda dove si hanno segnalazioni di focolaio sottoposti a tentativi di eradicazione (Fig. 1). Diversi tentativi di controllo sono stati sperimentati sia mediante l'utilizzo di varietà resistenti sia mediante prodotti chimici, ma i risultati, fino ad ora, sono stati scarsi o di difficile applicazione (QUACCHIA *et al.*, 2008). Sia in Giappone sia in Corea l'iniziale emergenza è rientrata grazie

all'introduzione dalla Cina del parassitoide specifico *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae), il quale si è adattato e diffuso sul territorio: in dieci anni la popolazione dell'insetto esotico è stata abbattuta e ora, a distanza di quasi vent'anni, le percentuali dei germogli attaccati sono modeste (MORIYA *et al.*, 1989; MURAKAMI *et al.*, 2001).

Malgrado Murakami e coautori (1977) descrivono *T. sinensis* come parassitoide specifico di *D. kuriphilus*, in realtà il suo host range non risulta ancora completamente indagato. Tuttavia risultati di prove di laboratorio e semicampo riguardanti alcuni galligeni tra i quali, *Cynips quercusfolii* L., *Andricus kollari* (Hartig) e *Neuroterus quercusbaccarum* L. (QUACCHIA *et al.*, 2008) uniti all'esperienza dei ricercatori giapponesi che non hanno mai ottenuto *T. sinensis* da galle diverse da quelle di *D. kuriphilus*, supportano la tesi della specificità.

T. sinensis è univoltino, analogamente al suo ospite. L'adulto sfarfalla in primavera dalle galle secche dell'anno precedente, si nutre di sostanze zuccherine e ha una vita media di 30 giorni. Dopo l'accoppiamento la femmina ovidepone all'interno delle celle di galle neo formate, sul corpo della larva o nelle sue vicinanze. Ogni femmina depone in media 70 uova. La larva ectoparassita si nutre della larva del cinipide e in seguito, durante l'inverno, s'impupa all'interno della cella larvale.

Grazie alla positiva e ben documentata esperienza giapponese, in Italia nel 2003 è stato avviato un pro-



Figura 1
Diffusione di *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Europa. Gli stati in grigio chiaro indicano segnalazioni con tentativi di eradicazione (dati aggiornati al 2010).

getto di lotta biologica, finanziato dalla Regione Piemonte e svolto dal DIVAPRA - Settore Entomologia e Zoologia applicate all’Ambiente “C. Vidano” dell’Università degli Studi di Torino, che prevede l’introduzione e la diffusione, mediante il metodo propagativo, del parassitoide *T. sinensis* nelle aree del cuneese infestate dal cinipide. In seguito agli incoraggianti risultati conseguiti (QUACCHIA *et al.*, 2008), sono nate collaborazioni con diverse regioni italiane con il fine di proseguire e ampliare le ricerche e di diffondere il limitatore naturale. Durante gli anni di lavoro è maturata un’esperienza concreta sulle metodologie migliori da adottare e viene quindi qui di seguito proposto un dettagliato protocollo d’attuazione, parte integrante del “Documento di sintesi” del Piano del Settore Castanicolo 2010-2013 del Ministero delle Politiche

Agricole Alimentari e Forestali, con lo scopo di fornire tutte le indicazioni utili per la diffusione del parassitoide e per il ristabilimento dell’equilibrio biologico alterato dall’accidentale introduzione di *D. kuriphilus*.

PROTOCOLLO DI ATTUAZIONE

La lotta biologica al cinipide del castagno è attuata mediante rilascio in pieno campo di adulti di *T. sinensis* ottenuti da aree di moltiplicazione (Fig. 2).

A. area di moltiplicazione

L’area di moltiplicazione è un sito di pieno campo in cui è introdotto il parassitoide *T.*

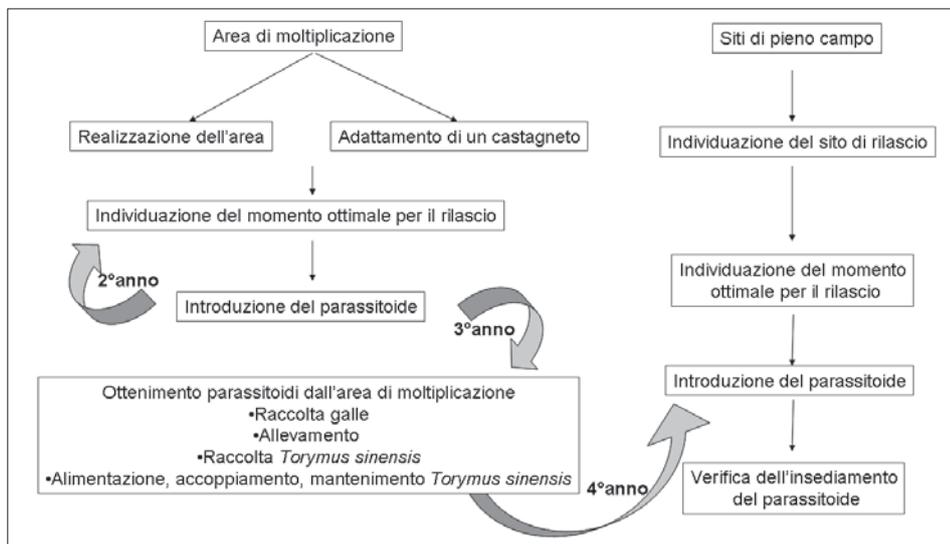


Figura 2
Schema di attuazione della lotta biologica.

sinensis con il fine di ottenere, in modo semplice e continuativo negli anni seguenti, individui da rilasciare in altre aree infestate.

L'area può essere ottenuta da un castagneto preesistente o può essere realizzata *ex novo* (Fig. 3). Nel primo caso occorrerà adattare il sito quanto più possibile alle caratteristiche peculiari dell'area, nel secondo caso basterà seguire le indicazioni riportate.

Adattare e utilizzare un'area già infestata dal cinipide consentirà di ottenere il parassitoide in minor tempo (Fig. 4).

- *Individuazione del sito*: la caratteristica principale dell'area deve essere l'isolamento. Una distanza di almeno 2 Km da altri insediamenti di castagno è raccomandata. L'isolamento promuove la concentrazione del parassitoide nell'area, rallentandone la naturale dispersione. Caratteristiche pedoclimatiche favorevoli al

castagno sono importanti per l'attecchimento e il buono stato vegetativo delle giovani piantine.

- *Dimensione dell'area*: la dimensione dell'area influenza la quantità minima iniziale di parassitoidi da rilasciare e la velocità di ottenimento delle progenie. Un'area di 200 m² può fornire discrete quantità di parassitoide in circa tre anni.

- *Varietà*: tra l'ampio panorama di varietà vanno scelte quelle più suscettibili al cinipide. L'elevato numero di galle permetterà alla popolazione del parassitoide di svilupparsi senza particolari difficoltà. Alcune varietà come la piemontese Madonna e l'ibrido euro giapponese Marsol sono altamente suscettibili e quindi più adatte per la realizzazione dell'area di moltiplicazione (SARTOR *et al.*, 2009) (Fig. 5). I selvatici sono generalmente molto suscettibili, è quindi anche possibile utilizzare piante nate da seme.



Figura 3
Area di moltiplicazione realizzata *ex novo*.

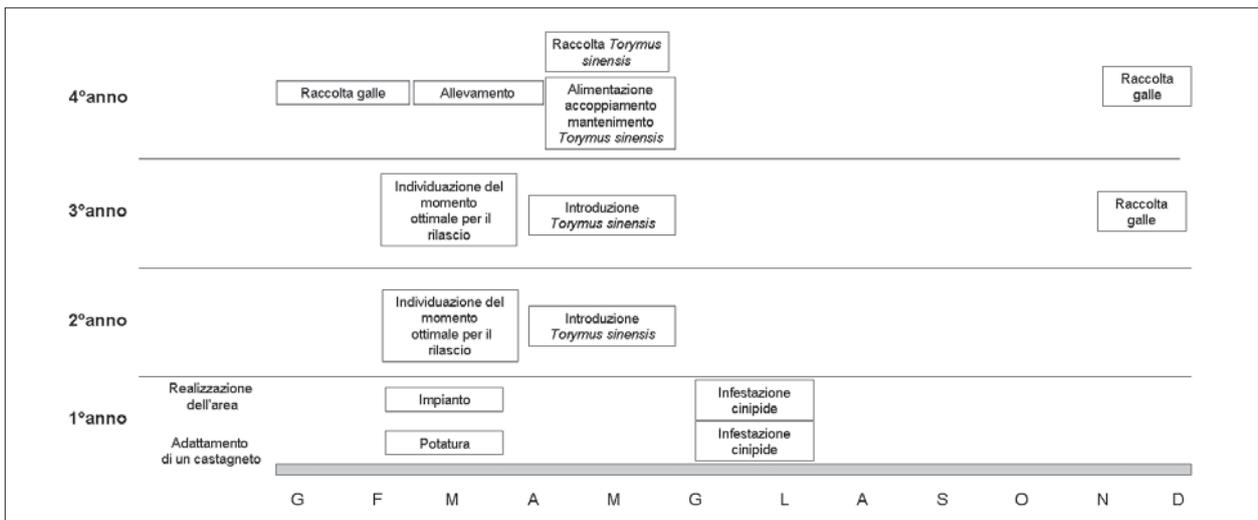


Figura 4
Cronogramma della realizzazione di un'area di moltiplicazione.

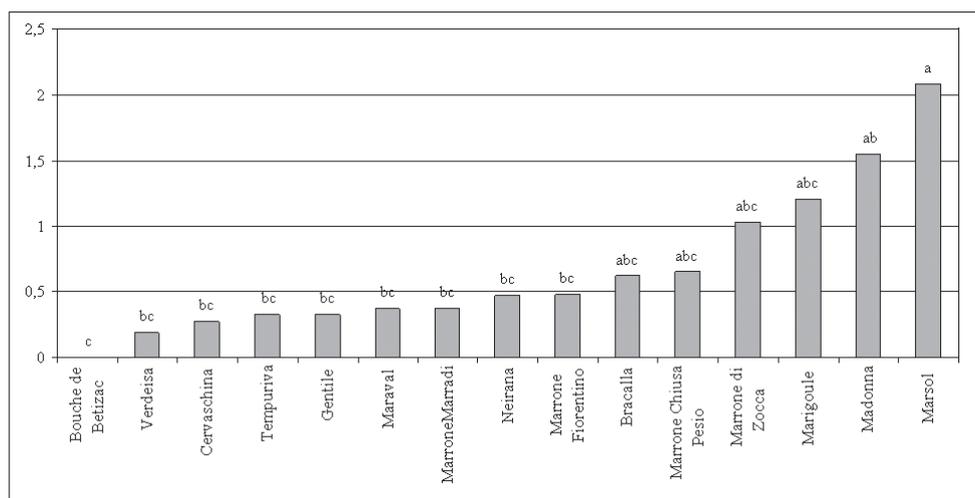


Figura 5
Suscettibilità (n. galle/gemma) di alcune varietà di castagno al cinipide (SARTOR *et al.*, 2009).

- *Sesto d'impianto*: 2 m tra le file e 1 m sulla fila.
- *Manutenzione e cura*: le piante vanno tenute a un'altezza massima di tre metri. La ridotta dimensione delle piante facilita la raccolta, da terra, delle galle. I rami non raggiungibili potranno essere tagliati mediante svettatoio. Le cure da apportare sono quelle tipiche di un castagneto da frutto (irrigazioni, concimazioni, eventuali interventi contro il cancro corticale).
- *Infestazione*: l'impianto può essere infestato (in caso di piantine sane) introducendo rami portanti galle con individui del cinipide prossimi allo sfarfallamento, con tempi variabili secondo i siti considerati.
- *Introduzione del parassitoide*: il rilascio delle coppie di *T. sinensis* deve essere effettuato in presenza di galle ben evidenti (Fig. 6). In condizioni di campo il parassitoide ha una longevità media di 3-4 settimane e quindi, una volta rilasciato, ha il tempo necessario per individuare e parassitizzare le galle allo stadio più



Figura 6
Adulti di *Tormus sinensis* Kamijo su galle neoformate.

- idoneo. Per un'area di 200 m² sono necessarie due introduzioni in due anni consecutivi di almeno 80 coppie per anno.
- *Ottenimento del parassitoide dall'area di moltiplicazione*: nell'area di moltiplicazione possono essere raccolte le galle presenti su tutte le piante fatta eccezione per 1-2 piante (in relazione alla dimensione della pianta e al numero di galle presenti) che fungeranno da inoculo per l'anno successivo. La raccolta delle galle può essere effettuata a partire da dicembre e deve essere conclusa entro la fine di marzo. Le galle possono essere raccolte a mano dai rami più bassi o con l'ausilio di uno svettatoio dai rami più alti. Vanno raccolte le galle formatesi durante la primavera dell'anno precedente, tralasciando quelle più vecchie facilmente riconoscibili per la colorazione più grigia, il legno più sfaldato e la posizione, si trovano di norma sui rami più vecchi. È importante pulire le galle prima di metterle in allevamento. La pulizia può essere fatta direttamente in campo o successivamente, eliminando le foglie e le porzioni di rametto non interessate dalle galle. Le galle pulite e contate (più galle attaccate l'una all'altra vanno considerate come una sola unità) devono essere poste in allevamento all'interno di scatole di cartone provviste di due lucernai con innesto a vite (Fig. 7). I lucernai possono essere realizzati utilizzando dei barattolini di plastica. Il tappo del barattolino deve avere un grosso buco al centro e deve essere fissato alla scatola (preventivamente forata avendo cura che il foro abbia lo stesso diametro del tappo) con colla a caldo. L'interno della scatola non deve avere buchi e fessure. All'interno di ogni scatola il volume di galle



Figura 7

Scatola utilizzata per l'allevamento di *Torymus sinensis* Kamijo.



Figura 8

Particolare del lucernaio, all'interno diversi esemplari di *Torymus sinensis* Kamijo.

non deve superare $\frac{1}{4}$ dell'altezza della scatola, per non rendere difficoltoso lo sfarfallamento del parassitoide. Le scatole vanno mantenute all'aperto, sotto una tettoia, nelle condizioni più simili a quelle di campo.

Gli allevamenti vanno controllati almeno una volta a settimana aprendo il coperchio ed eliminando eventuali predatori, tele e tutto ciò che potrebbe disturbare l'allevamento. Allo sfarfallamento dei primi adulti di *T. sinensis* i coperchi vanno chiusi dall'esterno con il nastro adesivo per evitare possibili perdite e le scatole controllate quotidianamente.

I parassitoidi hanno un fototropismo positivo, si dirigono cioè verso la luce; siccome l'interno della scatola è buio questi, si raccoglieranno nei lucernai (Fig. 8) ma se sono presenti altre fonti di luce (fessure o buchi), l'efficacia dei lucernai potrebbe essere compromessa.

I parassitoidi devono essere raccolti in provettoni di vetro con l'ausilio di un aspiratore entomologico, in numero non superiore a 20 individui per provettone. Dopo vanno separati, in modo da lasciare 10 femmine e 5 maschi per ogni provettone, alimentati con piccole

gocce di miele su di un cartoncino e mantenuti in cella climatica a 15 °C sino al momento del rilascio.

L'identificazione di *T. sinensis* deve essere effettuata da personale con comprovata esperienza in quanto molti e diversi possono essere gli imenotteri che sfarfallano dalle galle in allevamento, comprese specie congeneri molto affini a *T. sinensis* (Fig. 9).

- *Criticità*: l'insediamento potrebbe fallire nel caso in cui il sito scelto sia sottoposto a trattamenti chimici. È quindi raccomandata una gestione biologica dell'area di moltiplicazione. La crescita della popolazione del parassitoide è influenzata da numerose variabili (biotiche e abiotiche) che possono influenzare l'allevamento. Alcune variabili sono rappresentate da:

- *Sex ratio*

In caso di mancato accoppiamento *T. sinensis* si riproduce per partenogenesi arrenotoca, con conseguente sfarfallamento di soli individui maschili. La diminuzione della popolazione femminile porterà a un calo generale della popolazione l'anno successivo. È pertanto essenziale un rapporto corretto fra



Figura 9

Femmina di *Torymus sinensis* Kamijo (sx), femmina di *Torymus flavipes* (Walker) (dx). Foto diversamente ingrandite.

maschi e femmine, in particolare nei primi anni d'insediamento.

- Iperparassitoidi

In ogni ambiente si evolvono biocenosi diverse, determinate dalle specie vegetali presenti (in particolare cupulifere) e dalle interazioni fra le comunità a loro infeudate. Se sono presenti biocenosi, in particolare di cinipidi indigeni, caratterizzate dalla presenza di iperparassitoidi, questi potrebbero effettuare un passaggio dagli ospiti abituali (parassitoidi di cinipidi indigeni) a *T. sinensis* e influire, quindi, negativamente sulla crescita della sua popolazione.

- Condizioni climatiche e ambientali sfavorevoli

Alcune ricerche condotte sulla vitalità di *T. sinensis* hanno dimostrato la sua ampia capacità di adattamento in condizioni sfavorevoli. È stata verificata la sua sopravvivenza in galle marcescenti come in galle colpite da cancro corticale e quindi particolarmente indurite. Come ogni organismo vivente è però suscettibile a cali di popolazione in condizioni avverse (non sempre note) soprattutto pericolose durante i primi anni dal rilascio.

B. sito di pieno campo

Un sito di pieno campo è un luogo dove il parassitoide è rilasciato e dal quale la popolazione insediata si diffonderà in modo naturale.

- *Individuazione del sito*: il sito va individuato attraverso monitoraggi territoriali, appoggiandosi, possibilmente, a personale del luogo. Il sito deve rispondere ad alcune caratteristiche:

- continuità dell'essenza castagno, facilita la diffusione di *T. sinensis*;
- alta infestazione del cinipide, facilita l'inse-

diamento e la rapida crescita della popolazione del parassitoide;

- posizione strategica, un sito in posizione cacuminale favorisce la diffusione su più versanti;
- assenza di interventi chimici.

Durante i primi anni dal rilascio, la popolazione di *T. sinensis* si disperderà molto lentamente mentre, col passare degli anni la diffusione sarà sempre più veloce ed esponenziale.

- *Individuazione del momento per il rilascio*: il rilascio va eseguito nel momento ottimale per la parassitizzazione, ossia in un intervallo di circa tre settimane dall'inizio della formazione delle galle. Al fine di avere un'indicazione sul momento migliore per il rilascio, è opportuno seguire lo sviluppo vegetativo del castagno nelle zone individuate per l'introduzione di *T. sinensis*, eseguendo a cadenza settimanale rilievi fenologici sui castagni (BELLINI *et al.*, 2006) (Figg. 10-11).

Normalmente le galle sono evidenti e idonee alla parassitizzazione nelle fasi fenologiche "d", "e", "f" riportate in Figura 11.

- *Introduzione del parassitoide*: il rilascio del parassitoide avviene aprendo i provettoni contenenti i parassitoidi e dirigendone l'apertura verso la luce. In caso di pioggia occorrerà far uscire gli adulti con leggeri colpi sul provettone in modo da farli cadere direttamente sulle foglie, sotto di cui andranno subito a ripararsi. Il rilascio va fatto su un nucleo ristretto di 2-3 piante. Dalle esperienze finora conseguite è emerso che l'insediamento del parassitoide viene raggiunto rilasciando 100 coppie di *T. sinensis* per ogni sito.

- *Verifica dell'insediamento*: il numero di galle da

SCHEDA FASI FENOLOGICHE CASTAGNO

Scegliere in modo casuale 20 rami (da alberi diversi) all'interno del sito di rilascio. Contare il numero totale di gemme. Inserire nella tabella i valori percentuali delle fasi fenologiche a cui si trovano le gemme.

Esempio:

80 gemme visionate,

14 gemme alla fase c → $100 \cdot 14/80 = 17,5$

30 gemme alla fase d → $100 \cdot 30/80 = 37,5$

.....

SITO1

data	Fasi Fenologiche						Gemme controllate
	a	b	c	d	e	f	
19-apr			17,5	37,5			80
23-apr							
27-apr							

Figura 10
Scheda delle fasi fenologiche del castagno.

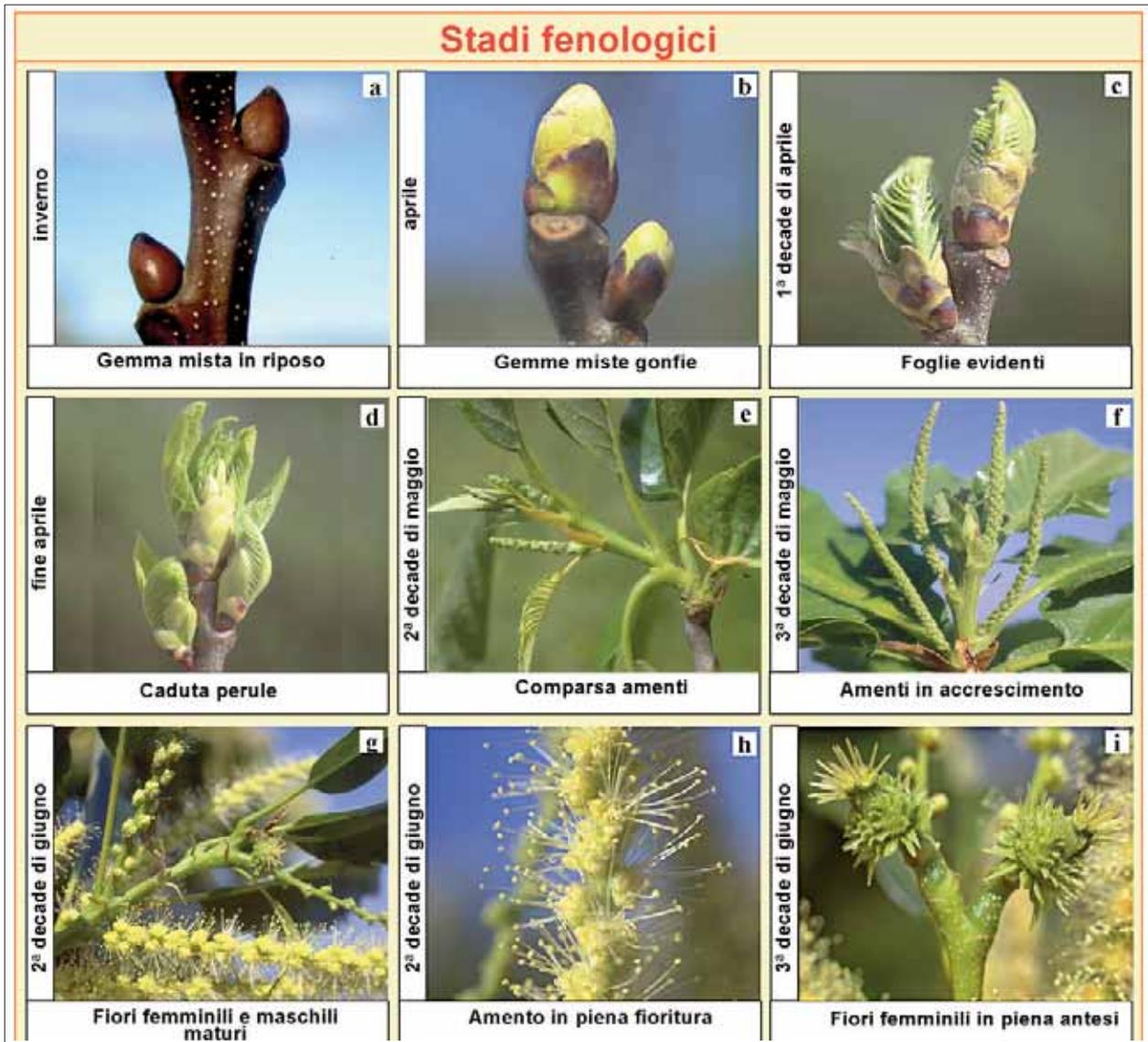


Figura 11
Iconografia delle fasi fenologiche del castagno (modificata da BELLINI *et al.*, 2006).

raccogliere al fine di avere un dato preliminare circa l'insediamento del parassitoide non deve essere inferiore a 10.000 in un'area di circa 15-30 metri di raggio attorno al punto di rilascio (dopo il primo anno). Il numero può variare in relazione alle condizioni particolari del sito di rilascio. La metodologia da seguire è la stessa descritta nella sezione "ottenimento del parassitoide dall'area di moltiplicazione".

- **Criticità:** le stesse descritte nella sezione "criticità" dell'area di moltiplicazione.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il protocollo per la lotta biologica a *D. kuriphilus* nasce dall'esperienza pluriennale del DIVAPRA settore Entomologia dell'Università degli Studi di Torino che dal 2003 segue diversi

progetti di ricerca legati al controllo biologico del cinipide orientale del castagno. Il metodo proposto, schematizzato e codificato, descrive le procedure da adottare, i mezzi necessari e le criticità che si possono incontrare. La realizzazione delle aree di moltiplicazione non è stata una procedura del tutto innovativa; questo metodo era già stato applicato con successo in passato per altri limitatori naturali tra i quali, *Laricobius nigrinus* Fender (KOK e SALOM, 2002) in Virginia (USA) e *Neodryinus typhlocybae* (Ashmead) (ALMA *et al.*, 2005) in Piemonte, limitatori naturali dell'adelfide *Adelges tsugae* Annand e del flatide *Metcalfa pruinosa* (Say), rispettivamente. L'adattamento delle conoscenze, reperite in letteratura e direttamente acquisite con il drinide, al parassitoide del cinipide ha permesso una rapida messa a punto di questo tipo di allevamento.

Il protocollo proposto considera tutte le fasi dalla scelta iniziale del sito all'insediamento di *T. sinensis*, senza tralasciare gli eventuali rischi derivanti dall'introduzione di una specie esotica. Non comportando alcuna ripercussione né sulla salute umana né su altre colture, eventuali rischi sono, infatti, da ricercarsi nell'alterazione degli equilibri delle biocenosi indigene che caratterizzano il variegato e complesso mondo dei cinipidi galligeni. *D. kuriphilus* rappresenta, infatti, solo una delle decine di specie di cinipidi presenti nell'ambiente (STONE e SCHÖNROGGE, 2003). I cinipidi galligeni presenti nei nostri ambienti, principalmente attivi su piante appartenenti al genere *Quercus*, non provocano danni economici poiché le loro popolazioni si mantengono in equilibrio con i limitatori indigeni che ne consentono così un contenimento naturale. Queste popolazioni possono essere in stretta relazione fra loro e passaggi su ospiti alternativi a quelli primari non sono rari, fenomeno dimostrato anche dal veloce, seppur di scarsissimo valore contenitivo, reclutamento di parassitoidi indigeni da parte di *D. kuriphilus* (AEBI *et al.*, 2006). I potenziali rischi ecologici derivanti dall'introduzione del parassitoide esotico in questi ambienti riguardano principalmente l'ibridizzazione con specie affini indigene, fenomeno già riscontrato in Giappone tra le specie congeneri *T. sinensis* e *T. beneficus* Yasumatsu *et* Kamijo (MORIYA *et al.*, 1992), e la parassitizzazione di organismi non target. Per chiarire quali siano i reali rischi di alterazione degli equilibri consolidati nelle biocenosi degli altri cinipidi, alcune ricerche sono già state condotte e altre sono tuttora in corso. Si tratta principalmente di accertare, tramite prove di laboratorio e semicampo, la specificità di *T. sinensis* nei confronti del cinipide. I risultati preliminari finora ottenuti non hanno mai evidenziato fenomeni d'ibridizzazione o attività su organismi non bersaglio; rimane comunque importante proseguire gli studi ampliando il campo di ricerca e seguendo le evoluzioni delle biocenosi potenzialmente interessate. Ulteriori approfondimenti riguarderanno le ricerche a livello molecolare al fine di individuare eventuali alterazioni nelle popolazioni indigene, altrimenti difficilmente rilevabili con i metodi tradizionali (GIBBS *et al.*, 2001).

RINGRAZIAMENTI

Si ringraziano la Regione Piemonte, che ha finanziato il primo progetto di ricerca, ed inoltre le Regioni Liguria, Lombardia, Emilia Romagna,

Sardegna e Toscana. Un sentito ringraziamento al Dott. Seiichi Moriya del National Agricultural Research Center di Ibaraki, Giappone per la costante collaborazione.

RIASSUNTO

Il protocollo per la lotta biologica al cinipide del castagno nasce dall'esperienza pluriennale del DIVAPRA settore Entomologia dell'Università degli Studi di Torino maturata in diversi progetti di ricerca. Il metodo proposto, consolidato dai positivi risultati conseguiti, prevede il rilascio in zone infestate dal cinipide di coppie di *T. sinensis*, provenienti da allevamenti controllati di galle parassitizzate prelevate in aree di moltiplicazione realizzate sul territorio. Le aree di moltiplicazione sono allestite in castagneti con caratteristiche particolari, condotti al fine di concentrare la popolazione del parassitoide e quindi ottenerne grandi quantità. I parassitoidi, una volta rilasciati in un'area infestata, s'insedieranno e la loro popolazione crescerà esponenzialmente negli anni, consentendo di limitare la popolazione del cinipide. La crescita delle popolazioni del parassitoide sarà accompagnata da una progressiva diffusione che porterà alla graduale copertura del territorio e al ristabilimento dell'equilibrio biologico.

BIBLIOGRAFIA

- AEBI A., SCHÖNROGGE K., MELIKA G., ALMA A., BOSIO G., QUACCHIA A., PICCIAU L., ABE Y., MORIYA S., YARA K., SELJAK G., STONE G.N., 2006 – *Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp Dryocosmus kuriphilus*. In: Ecology and evolution of galling arthropods and their associates, (ed. Ozaki K., Yukawa J., Ohgushi T., Price P.W. Eds., Springer-Verlag, Tokyo (JP), pp. 103-121.
- ALMA A., FERRACINI C., BURGIO G., 2005 – *Development of a sequential plan to evaluate Neodryinus typhlocybae (Ashmead) (Hymenoptera: Dryinidae) population associated with Metcalfa pruinosa (Say) (Homoptera: Flatidae) infestation in northwestern Italy*. - Environ. Entomol., 34: 819-824.
- BELLINI E., GIANNELLI G., GIORDANI E., PICARDI E., 2006 – *Fenofasi del Castagno (Castanea sativa Mill.)*. Atti del «IV Convegno Nazionale-Castagno 2005», Montella (AV), 20-22 Ottobre 2005, pp. 138-142.
- BRUSSINO G., BOSIO G., BAUDINO M., GIORDANO R., RAMELLO F., MELIKA G., 2002 – *Pericoloso insetto esotico per il castagno europeo*. - L'Informatore agrario, 37: 59-61.
- GIBBS M., SCHÖNROGGE K., ALMA A., MELIKA G., QUACCHIA A., STONE G.N., AEBI A., 2011 – *Torymus sinensis: a viable management option for the biological control of Dryocosmus kuriphilus in Europe?* Biocontrol (in stampa).
- KOK L.T., SALOM S.M., 2002 – *Possible use of field insectaries to rear hemlock woolly adelgid predators*. In: Proceedings of the Hemlock Woolly Adelgid in the Eastern United States Symposium, Onken B., Reardon R.C., & Lashcomb J. Eds., Rutgers New Jersey Agricultural Experimental Station, New Brunswick, NJ., February 5th-7th 2002, pp. 225-232.
- MORIYA S., INOUE K., ÔTAKE A., SHIGA M., MABUCHI M., 1989 – *Decline of the chestnut gall wasp population, Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera:*

- Cynipidae*) after the establishment of *Torymus sinensis Kamijo* (Hymenoptera: Torymidae). - Appl. Entomol. Zool., 24: 231–233.
- MORIYA S., INOUE K., SHIGA M., MABUCHI M., 1992 – *Interspecific relationship between an introduced parasitoid, Torymus sinensis Kamijo, as a biological control agent of the chestnut gall wasp, Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu, and an endemic parasitoid, T. beneficus Yasumatsu & Kamijo.* - Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 27: 479-483.
- MURAKAMI Y., UMEYA K., OHO N., 1977 – *A preliminary introduction and release of a parasitoid (Chalcidoidea, Torymidae) of the chestnut gall wasp Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu.* - Jpn. J. Appl. Entomol. Zool., 21: 197-203.
- MURAKAMI Y., TODA S., GYOUTOKU Y., 2001 – *Colonization of imported Torymus (Syntomaspis) sinensis Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) parasitic on the chestnut gall wasp (Hymenoptera: Cynipidae). Success in the eighteenth year after release in Kumamoto.* - Proc. Assoc. Pl. Prot. Kyushu, 47: 132–134.
- QUACCHIA A., MORIYA S., BOSIO G., SCAPIN I., ALMA A., 2008 – *Rearing, release and settlement prospect in Italy of Torymus sinensis, the biological control agent of the chestnut gall wasp Dryocosmus kuriphilus.* - BioControl, 53: 829-839.
- SARTOR C., BOTTA R., MELLANO M.G., BECCARO G.L., BOUNOUS G., TORELLO MARINONI D., QUACCHIA A., ALMA A., 2009 – *Evaluation of susceptibility to Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Castanea sativa Miller and in hybrid cultivars.* - Acta Horticulturae, 815: 289-297.
- STONE G.N., SCHÖNROGGE K., 2003 – *The adaptive significance of insect gall morphology.* - Trends Ecol. Evol., 18, (10): 512-522.

INDAGINI BIO-ETOLOGICHE E MORFOLOGICHE SU *DRYOCOSMUS KURIPHILUS* YASUMATSU

ROBERTO ROMANI (*) - GABRIELE RONDONI (*) - LORENZO GRAGNOLI (*) - PAOLO PERGOLARI (**)
CLAUDIA SANTINELLI (***) - MARCO VALERIO ROSSI STACCONI (*) - CARLO RICCI (*)

(*) Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Area Entomologia, Borgo XX giugno, 74, Perugia. rromani@unipg.it

(**) A.R.U.S.I.A., Servizio Tecnico Agronomico - S.F.R. Via Fontivegge, 51, Perugia.

Letture tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Bio-ethological and morphological investigations on Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu

The Chestnut Gall Wasp (*Dryocosmus kuriphilus*) was recorded for the first time in Italy in 2002 in chestnut woods in Piemonte (Italy). So far, this harmful insect has spread in several other regions of Italy. In Umbria this pest was recorded near Terni in 2009. It is parthenogenetic with a short lifespan. Newly hatched females actively search for chestnut buds to oviposit. Buds are inspected by the females using sensory structures (trichoid, placoid, chaetica and coeloconic sensilla) located on the antennae. Once the bud is recognized, the female wasp inserts its ovipositor into the bud structures in order to lay eggs within them. The ovipositor is made up of three pairs of valves. The external valves (i.e. the third pair) are equipped with sensory structures possibly involved in selection/acceptance of the bud. The true ovipositor, consisting of the 1st and 2nd pair of valves, presents sensory structures at its tip, possibly involved in the perception of mechanical stimuli (maybe different densities of the bud layers) and chemical cues from the plant tissues.

KEY WORDS: Chestnut gall wasp; feeding behaviour; oviposition behaviour; antennal sensilla; ovipositor; ultrastructure.

PREMESSA

L'importanza economica del *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu per l'Italia è di particolare rilievo. Il nostro paese è tra i principali produttori ed esportatori mondiali di castagne. Dei 10,5 milioni di ettari occupati da boschi, la frazione investita a castagno rappresenta il 7,53% di quella forestale, per un totale di circa 780.000 ha. In Italia il castagno è presente in tutto il territorio: 64,4% in zone montane, il 34,8% in zone collinari e lo 0,8% in pianura (PERONE PACIFICO *et al.*, 2004).

Il castagno è un elemento di spicco nel paesaggio delle vallate Alpine ed Appenniniche, indispensabile nella tutela del territorio, in quanto contribuisce a conservarne la stabilità e svolge specifiche funzioni di difesa dal dissesto idrogeologico e dagli incendi (BOUNOUS, 2002).

Nei castagneti italiani è racchiusa una grande variabilità genetica: sono presenti numerose varietà di castagne e di marroni, alcune di queste hanno avuto dalla CEE il riconoscimento DOP.

Alla fine dell'Ottocento iniziò il declino della castanicoltura italiana per molteplici cause: l'evoluzione delle abitudini alimentari delle popolazioni, l'introduzione di materiali alternativi quali il metallo e la plastica nell'allestimento di manufatti e opere infrastrutturali, civili e agricole, la crisi dell'industria del tannino, il crescente interesse verso altre essenze forestali da legno

alternativo al castagno, come il ciliegio, la pressione antropica sugli ambienti forestali, le infezioni fungine causate da importanti crittogame (es. *Phytophthora cambivora* Buisman) (ANSELMINI *et al.*, 1999).

A seguito dell'intensa e costante opera di rinaturalizzazione di antichi castagneti malati ed abbandonati per lungo tempo, il castagno è tornato ad avere un ruolo importante sia per i fini produttivi, sia come elemento chiave in ambito paesaggistico, ambientale e culturale in tutte le aree alpine ed appenniniche (DE SIMONE *et al.*, 2005).

Purtroppo questo cinipide cinese, che si evolve a spese delle gemme del castagno si sta diffondendo in tutte le aree castanicole italiane, riducendo drasticamente la produzione di castagne e ostacolando seriamente l'accrescimento delle piante colpite.

L'insetto è stato segnalato per la prima volta in Italia nei castagneti in provincia di Cuneo (BRUSSINO *et al.*, 2002) e recentemente è stato rinvenuto dal Servizio Tecnico Agronomico dell'Agenzia Regionale per lo Sviluppo e l'Innovazione in Agricoltura (A.R.U.S.I.A.) anche in Umbria (EPPO, 2009). L'insediamento del cinipide è stato accertato in tutta la fascia castanicola umbra al confine con il Lazio mentre a nord della Regione sono stati individuati focolai dell'insetto. In ottemperanza delle disposizioni ministeriali e regionali è stato attivato dall'A.R.U.S.I.A. un servizio di monito-

raggio della specie ed imposto il divieto di spostare piantine o parti di pianta da aree infestate in aree ancora indenni. Parallelamente, di concerto con il Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, area Entomologia, Università degli Studi di Perugia, sono iniziate indagini sia in laboratorio sia in campo per approfondire alcuni aspetti bio-etologici dell'insetto e per individuare eventuali antagonisti indigeni adattatisi al cinipide nei castagneti umbri.

La nostra presentazione vuole essere un contributo sperimentale alle conoscenze etologiche e morfologiche delle antenne e dell'ovopositore del *Dryocosmus kuriphilus*, nel contesto delle importanti acquisizioni conoscitive e applicative presentate in questa Tavola Rotonda.

NOTE ETOLOGICHE

Femmine del cinipide, sfarfallate da galle raccolte in maggio 2009 in alcuni castagneti umbri, sono state sistemate in una cella climatica (25°C, 75±5% UR, 15:9 L:B) dell'area Entomologia del Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, e sono state sottoposte a differenti test biologici per studiare il comportamento dell'insetto. In primo luogo è stata chiarita l'attività trofica dell'insetto. Le indagini, condotte su 100 individui (50 alimentati, 50 digiuni) hanno evidenziato che *D. kuriphilus* si alimenta più volte nell'arco della giornata (Fig. 1).

Gli individui alimentati vivono più a lungo rispetto a quelli non alimentati (Fig. 2, log-rank test $P=9.58e-07$), con una probabilità di sopravvivenza a 3 giorni dallo sfarfallamento rispettivamente di 0.6 e di 0.1 ed un tempo massimo di sopravvivenza di circa 4 e 6 giorni. Quest'ultimo dato conferma quanto sia breve la vita dell'insetto anche in condizioni di una buona attività trofica.

La dissezione di 200 femmine neosfarfallate ha confermato la presenza di uova nei loro ovaroli, alcune mature e pronte per essere deposte (Fig. 3a-b). Si tratta di elementi sferici di colore bianco caratteristici per il loro peduncolo appiccicoso che permane anche dopo la deposizione (Fig. 3c). La specie, come è noto, si riproduce per partenogenesi (partenogenesi telitoca) (ZHU *et al.*, 2007). Ogni femmina neosfarfallata, dopo aver disteso le ali e ripulito le antenne, si sposta freneticamente sul rametto alla ricerca delle gemme.

Quest'ultime vengono accuratamente ispezionate dall'insetto mediante tamburellamento delle antenne sulla superficie (Fig. 4a-b) e, individuata la porzione idonea ad accogliere l'uovo, la femmina si mette in posa, estrae l'ovopositore, lo inserisce attraverso le perule (Fig. 4c-d) e, con un movimento sussultorio dell'addome, lo spinge fino a trapassare tutti gli embrioni fogliari e raggiungere il centro della gemma (Tav. 5a-b). Durante l'ovideposizione si può osservare la massa di uova come un rigonfiamento



Fig. 1

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu: femmine in attività trofica su foglia di castagno irrorata con soluzione zuccherina.

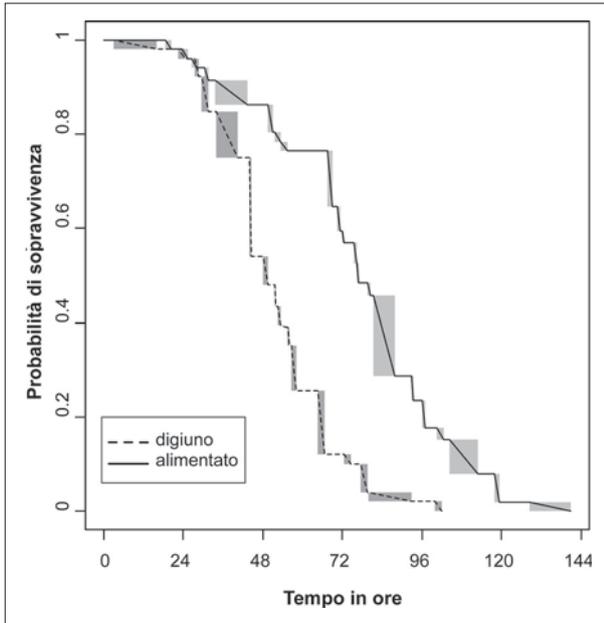


Fig. 2
Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu: prove di sopravvivenza di femmine tenute a digiuno rispetto a femmine alimentate con soluzione zuccherina.

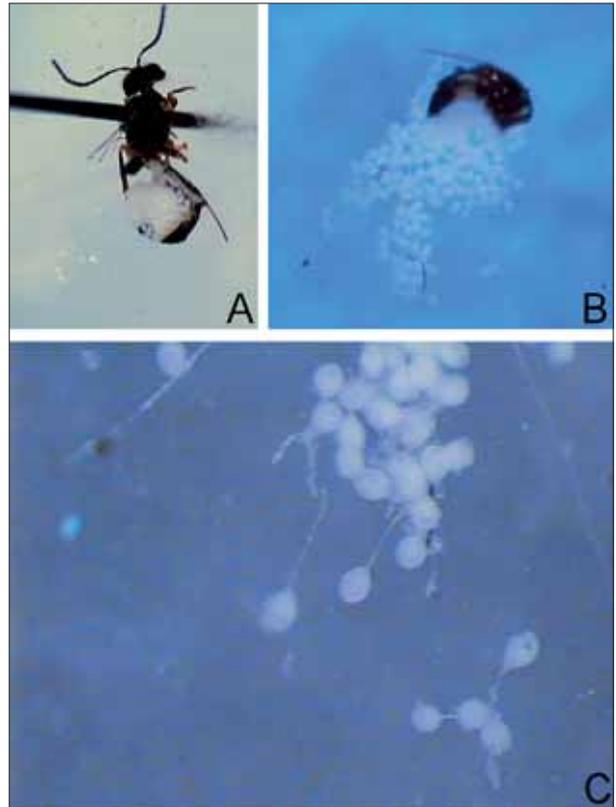


Fig. 3
Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu: a-b) femmina neosfarfallata con addome aperto ad arte e mostrante ovaroli con uova mature; c) particolare di b con uova peduncolate.

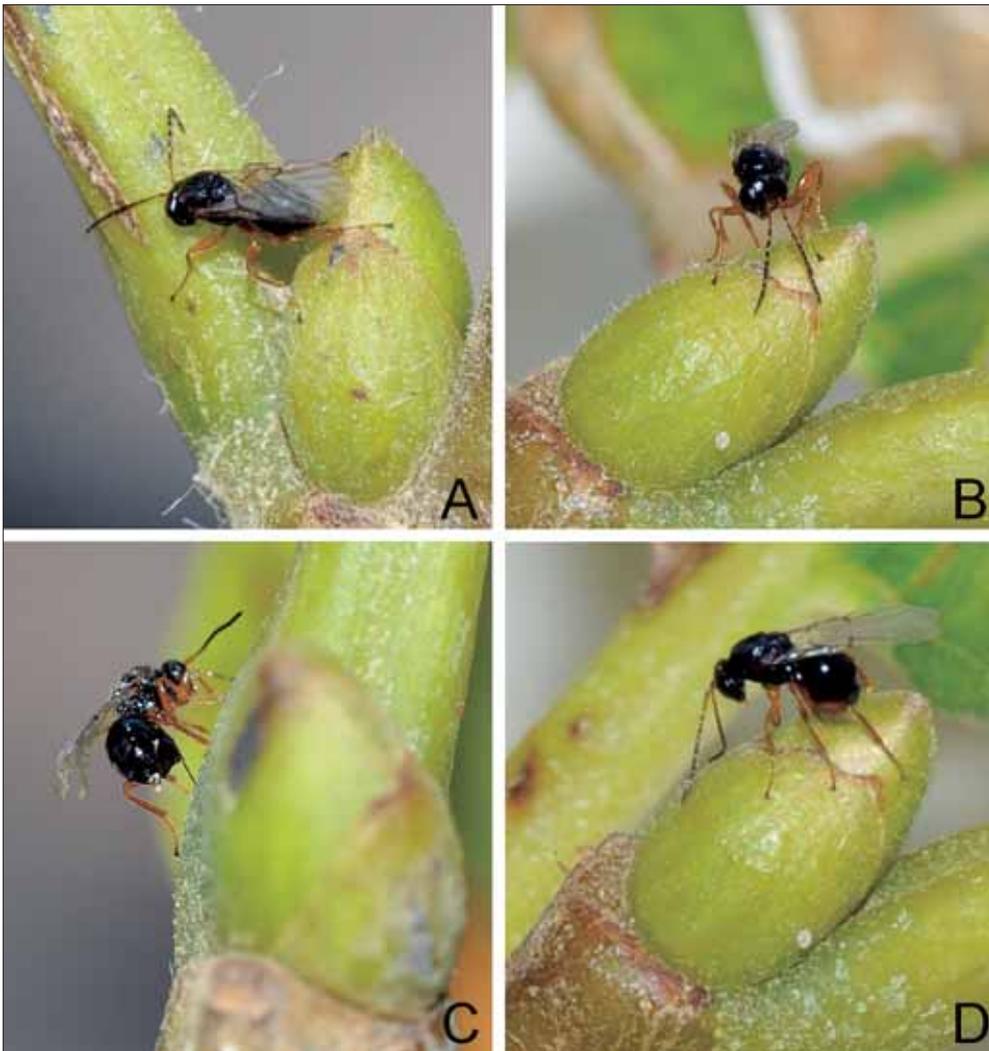


Fig. 4
Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu: a-b) femmina in atto di ispezionare una gemma; c-d) femmina intenta a ovideporre.

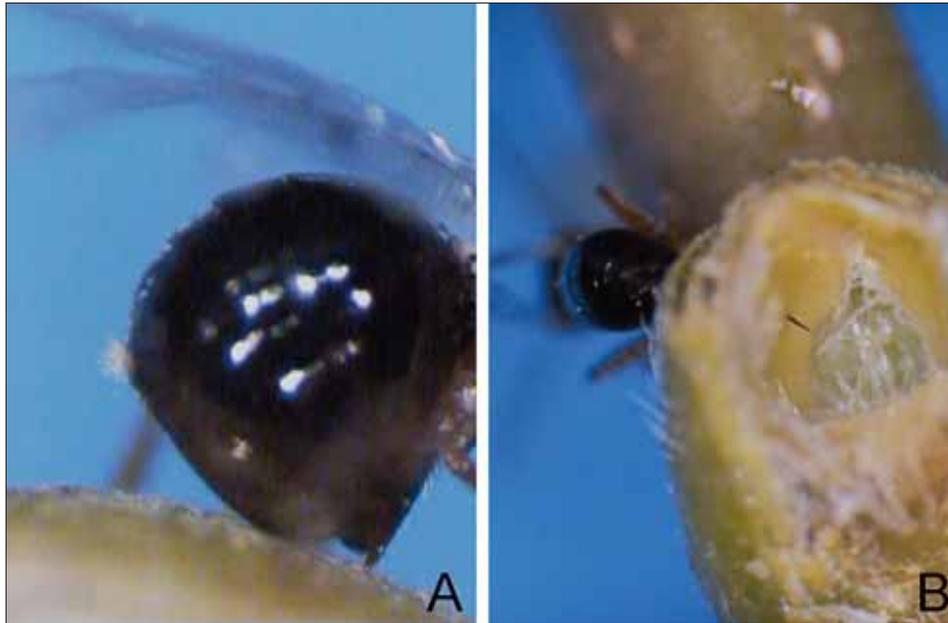


Fig. 5

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu: a) femmina con gastro (visto dal lato destro) particolarmente rigonfio durante l'ovideposizione; b) gemma aperta ad arte per mostrare l'ovopositore inserito fino al centro della medesima.

nella parte terminale dell'addome, sotto la visibile pressione dell'emolinfa e per la distensione delle membrane intersegmentali, cui segue immediatamente la fuoriuscita delle uova. Al termine dell'operazione, l'addome riacquista la propria forma e la femmina ritrae l'ovopositore e lo ripone in posizione di riposo.

La dissezione delle gemme ha evidenziato che le uova vengono deposte in gruppo e rimangono

attaccate con il peduncolo ai peli che ricoprono gli embrioni fogliari (Fig. 6a-b).

Una gemma può essere più volte usata per la deposizione delle uova, sia dalla stessa femmina che da altre. Questo comportamento suggerisce che la femmina del cinipide, dopo l'ovideposizione non marca la gemma ospite. In laboratorio, è stato inoltre osservato che alcune femmine di *D. kuriphilus* hanno mostrato interesse ad ovideporre

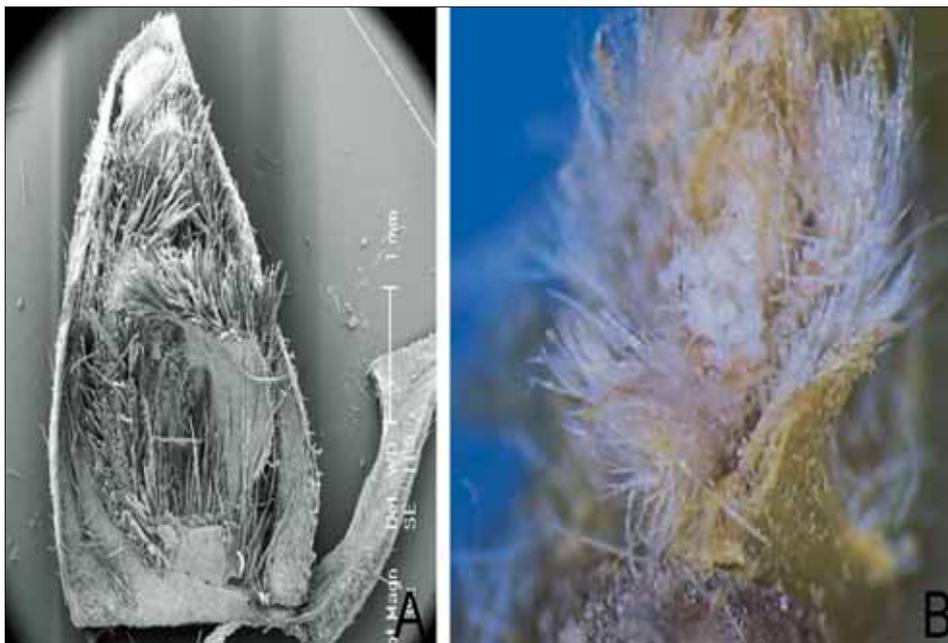


Fig. 6

a) Sezione longitudinale di gemma di castagno osservata al SEM; b) uova di *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu deposte tra i peli degli embrioni fogliari.

sui monconi di peduncoli fogliari per la loro forma rotondeggiante simile a quella delle gemme. Questo conferma che la forma del substrato unitamente a stimoli chimici, presenti nelle gemme, sono entrambi importanti per l'individuazione di tessuti vegetali idonei a ricevere utilmente le uova.

In presenza di più femmine su uno stesso rametto ogni individuo si posiziona su una gemma e la difende vibrando le ali se altre femmine si avvicinano ad essa.

Il cibo più importante sembra essere la melata, prodotta dagli afidi quasi sempre presenti sulle foglie e sui germogli del castagno in contemporanea con il cinipide.

NOTE MORFOLOGICHE SULLE ANTENNE

Le antenne delle femmine di *D. kuriphilus* sono genicolate e composte di 14 antennomeri (Fig. 7a). Mentre la struttura di scapo e pedicello è caratterizzata da una ridotta lunghezza e un maggiore sviluppo in diametro, gli antennomeri che costituiscono il flagello (A3-A14) si presentano isodiametrici, conferendo all'antenna un aspetto piuttosto filiforme. Tuttavia, i flagellomeri prossimali (A3-A8) presentano uno sviluppo in lunghezza maggiore rispetto a quelli distali (A9-A14). La lunghezza complessiva dell'antenna è di circa 1,5 mm. L'osservazione della superficie antennale al SEM ha permesso di evidenziare 4 tipi di sensilli, (tricoidei, placoidei, chetici e celoconici) che verranno qui di seguito descritti in dettaglio.

Sensilli tricoidei lunghi (STL) – Sono caratterizzati da una appendice cuticolare piuttosto allungata e di diametro decrescente verso l'apice, che comunque si presenta arrotondato. Gli STL sono posizionati tipicamente nella parte apicale dell'ultimo segmento antennale (Fig. 7b-c) e nelle regioni distali degli antennomeri A6-A3. La lunghezza dell'appendice è di circa 25-30 µm, ed il diametro alla base è pari a 2 µm. Gli STL sono inseriti nella parete antennale attraverso una base articolata ben differenziata. La loro posizione e l'angolo d'inserzione rispetto alla parete antennale, sufficientemente ampio da consentire un facile contatto con la superficie della gemma, fanno ipotizzare per questi sensilli una funzione chemiorecettiva di contatto (gustativa).

Sensilli placoidei (SPL) (Fig. 7d) – Strutture sensoriali che si riscontrano a livello di tutti i segmenti antennali, ad eccezione di A1 e A2. Dal punto di vista strutturale, la parte cuticolare esterna è costituita da una sorta di placca allungata e appiattita, che si sviluppa longitudinalmente rispetto all'asse

maggiore dell'antenna, spesso occupando gli antennomeri per l'intera lunghezza. Lo sviluppo longitudinale può procedere secondo una linea dritta o leggermente tortuosa, con lunghezze che si attestano attorno a 175 µm. La parte mediale degli SPL presenta una sorta di leggera area a rilievo, più o meno evidente, probabilmente legata ad artefatti della preparazione. Il numero di SPL tende a decrescere passando dagli antennomeri apicali a quelli basali. La loro distribuzione sulla superficie antennale si presenta piuttosto uniforme, essendo presenti sia nelle aree dorsoventrali che su quelle laterali. Dal punto di vista funzionale, tale categoria di sensilli (peraltro piuttosto diffusa all'interno di alcune famiglie di Imenotteri Terebranti) risponde a stimoli chimici volatili. In questo caso le sostanze volatili, emesse dalle gemme, permetterebbero al cinipide di individuare quelle idonee o recettive.

Sensilli chetici (SCH) (Fig. 7e) – Sono rappresentati da setole inserite sulla parete antennale con un angolo inferiore rispetto a quello degli STL. Sono presenti a livello di tutti gli antennomeri e distribuiti sia sulle parti laterali che dorsoventralmente. La parte cuticolare esterna è costituita da un setola (lunghezza 20-25 µm) leggermente solcata e con la parte apicale appuntita. La parte basale si inserisce sulla parete dell'antenna attraverso un socket ben evidente. Per questo tipo di sensilli è ipotizzabile una funzione come meccanorecettori.

Sensilli celoconici (SCO) (Fig. 7f-g) – Rappresentano il tipo sensillare numericamente meno rappresentato dell'intera antenna. Questi sensilli caratteristici sono presenti nella parte distale del flagello, segnatamente a livello degli antennomeri A8-A14, dove sono riscontrabili in numero di uno per antennomero. Caratteristicamente, questi sensilli sono posizionati nella parte distale dei singoli antennomeri, nella parte esterna dell'antenna (considerando la posizione naturale dell'antenna). Solo a livello dell'antennomero apicale il SCO è posizionato nell'area mediale, dove è presente una linea di sutura (probabile residuo di un' ancestrale fusione tra due antennomeri originariamente distinti). Gli SCO hanno il classico aspetto dei cosiddetti «peg in pit», ovvero la parte cuticolare esterna (peg) risiede all'interno di un alloggiamento più o meno infossato (pit) rispetto alla superficie antennale. Contrariamente a quanto osservato in altri gruppi di insetti, l'apertura è di dimensioni cospicue, di forma ellissoidale con un'ampiezza massima pari a 10 µm. Il peg è posizionato in posizione centrale, orientato comunque verso la parte anteriore e risiede interamente all'interno della cavità. Osservazioni a

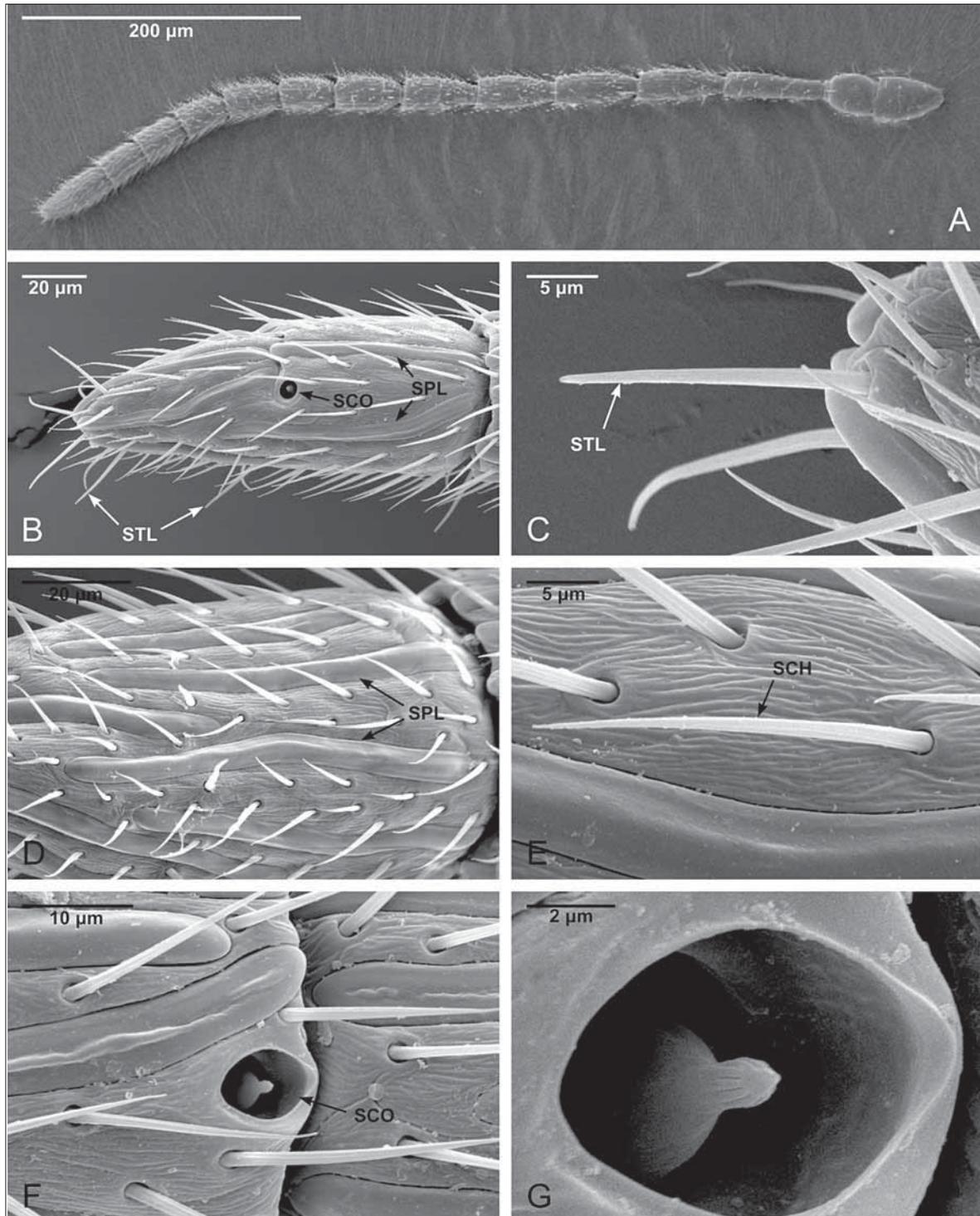


Fig. 7

Dryocosmus kuripbilus Yasumatsu. Osservazioni al SEM delle strutture antenali: a) antenna intera; b) dettaglio dell'antennomero apicale; c) particolare di un sensillo tricoideo lungo (STL); d) numerosi sensilli placodei (SPL); e) dettaglio di un sensillo chetico (SCH); f-g) particolari di un sensillo celoniconico (SCO). Barre di ingrandimento: a=200 µm; b, c, d=20 µm; e=5 µm; f=10 µm; g=2 µm.

maggiore ingrandimento hanno permesso di evidenziare come la parte distale del peg appaia tipicamente solcata secondo l'asse longitudinale e termina con una punta arrotondata. La parte prossimale forma una sorta di ampolla liscia, di dimensioni nettamente superiori alla parte solcata. Questo tipo di sensillo è normalmente privo di

base articolata. La funzione degli SCO potrebbe essere quella di percepire variazioni di temperatura e/o umidità, anche se una possibile funzione olfattiva non può essere esclusa. Nella fattispecie è possibile ipotizzare che venga usato dall'insetto per localizzare sulla gemma il punto dove inserire l'ovopositore.

NOTE MORFOLOGICHE SULL'OVOPOSITORE

Analogamente a quanto osservato in altri Imenotteri Terebranti, in *D. kuriphilus* l'ovopositore (Fig. 8a) è composto da tre valve, due pari (Fig. 8b) e una impari (Fig. 8c). Le tre valve sono connesse tra di loro a formare una struttura unica e altamente specializzata per deporre uova all'interno di substrati vegetali (nello specifico gemme). La connessione tra le valve è assicurata da un sistema di solchi (presenti sul lato

interno delle valve pari) all'interno dei quali scorrono dei bordi in rilievo presenti sulla faccia interna della valva pari (sistema maschio-femmina o tongue-and-groove). L'analisi al SEM ha messo in evidenza come le strutture sensoriali siano localizzate a livello del lato esterno delle due valve pari (Fig. 8d). In particolare in prossimità dell'apice delle valve pari sono individuabili tre fossette (diametro 1,5 μm) occupate da una struttura cuticolare infossata all'interno (Fig. 8e). Queste strutture appaiono solcate e caratterizzate da

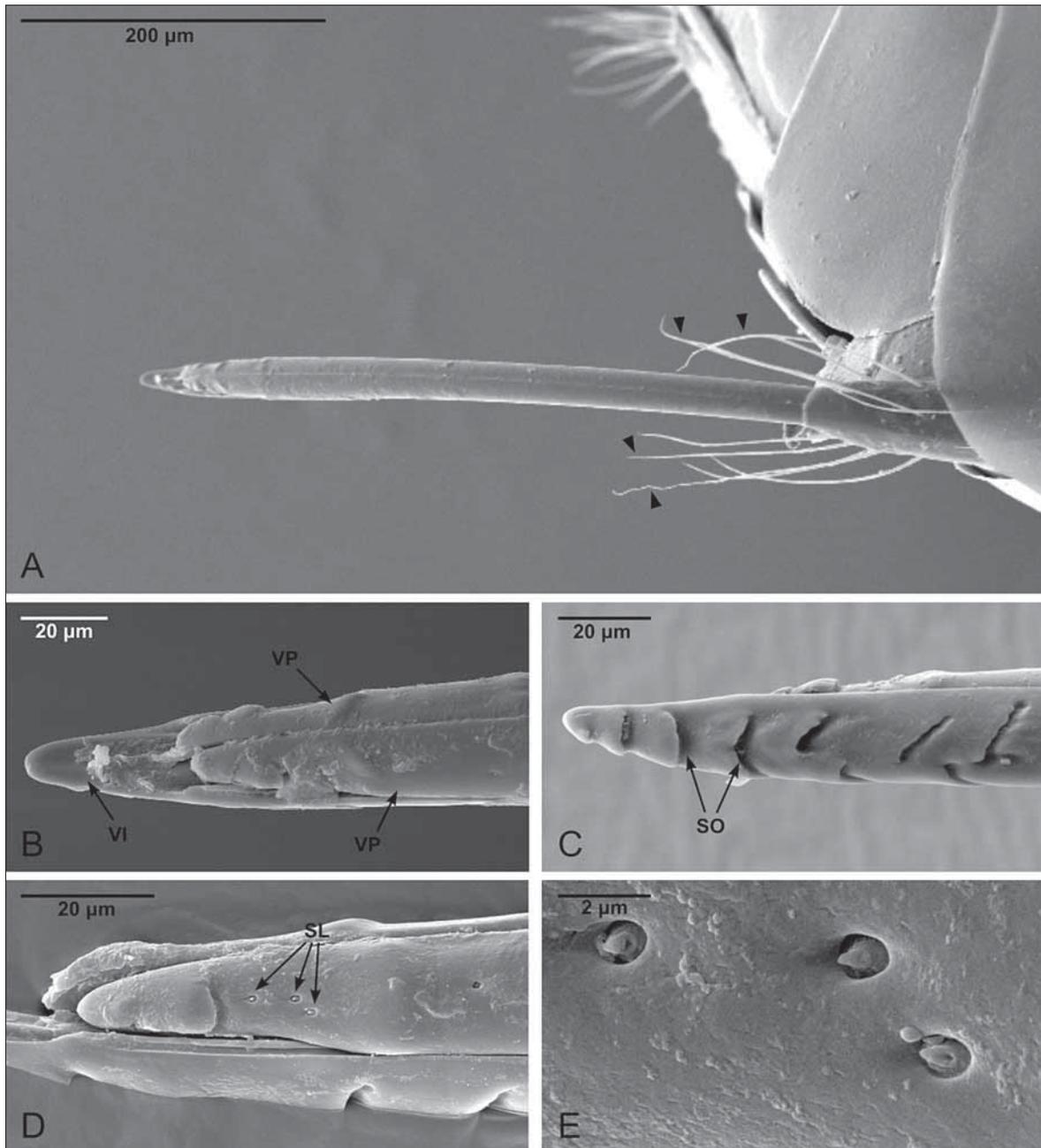


Fig. 8

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu. Osservazioni al SEM dell'ovopositore: a) vista d'insieme dell'ovopositore. Alla base della terebra sono ben visibili le lunghe setole (freccette) situate a livello del terzo paio di valve; b-c) dettagli dell'apice dell'ovopositore con evidenza delle due valve pari (VP) (b), e della valva impari (VI) (c) caratterizzata da profondi solchi (SO); d) Dettaglio della parte apicale di una delle due valve pari, con evidenza dei tre sensilli (SL); e) Ingrandimento della precedente con dettagli dei tre sensilli apicali. Barre di ingrandimento: a=200 μm ; b, c, d=20 μm ; e=2 μm .

un'apertura apicale. Distalmente sono presenti altre strutture sensoriali di dimensioni inferiori. Tali strutture possono essere coinvolte nella percezione di stimoli meccanici (i.e. differente densità degli strati della gemma del castagno) e chimici provenienti dagli embrioni fogliari della gemma. Pertanto potrebbero essere coinvolti nell'individuazione dei ciuffi apicali di peli che ricoprono i primordi fogliari.

A livello della valva impari non sono presenti strutture sensoriali, spicca la particolare struttura della cuticola, caratterizzata da profondi solchi disposti trasversalmente o secondo una disposizione a spina di pesce.

Le valve del terzo paio (che non partecipano alla formazione della terebra) sono caratterizzate dalla presenza di lunghe setole posizionate a vario livello e terminanti tutte allo stesso livello. Questi sensilli possono svolgere un ruolo importante nelle fasi iniziali della discriminazione delle gemme che precede l'inserimento dell'ovopositore.

CONCLUSIONI

In questi ultimi decenni si sta assistendo ad un rinnovato interesse per il castagno per la richiesta da parte del mercato di frutti di pregio e di legname. Purtroppo, la castanicoltura italiana rischia di essere compromessa dalla crescente invasione di *D. kuriphilus*.

Nonostante la sua breve vita immaginale detto cinipide risulta molto dannoso poiché le femmine, con i loro sensilli dislocati sia sulle antenne e sia sull'ovopositore, riescono ad individuare rapidamente ed infestare un gran numero di gemme di castagno, indipendentemente dalla loro grandezza. Come per altre specie di insetti esotici accidentalmente introdotti in Italia, è necessario quanto prima diffondere in tutti i castagneti italiani il suo regolatore demografico naturale *Torymus sinensis* Kamijo, introdotto con successo dal Giappone dal DIVAPRA, Università degli Studi di Torino nelle aree castanicole piemontesi.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori ringraziano vivamente: il Prof. Mario Solinas per una lettura critica del manoscritto, la Dott.ssa Silvia Paiardini, il Sig. Andrea Luchetti, le Sig.re Daniela Fortini e Luciana Bartoli per il fattivo contributo durante la realizzazione di questo lavoro ed il Servizio Tecnico Agronomico dell'A.R.U.S.I.A. per il supporto finanziario.

RIASSUNTO

La vespetta cinese (*Dryocosmus kuriphilus*), segnalata nel 2002 nei castagneti piemontesi, si sta diffondendo rapidamente in tutta Italia mettendo a rischio la castanicoltura italiana. In Umbria è stata individuata nel 2009 in un castagneto in provincia di Terni. Si è insediata in tutta l'area castanicola sita a sud della regione e piccoli focolai sono stati rilevati nella parte nord dell'Umbria al confine con la Toscana. È una specie partenogenetica che ha una vita brevissima: in laboratorio individui neosfarfallati alimentati sono sopravvissuti fino a circa 6 giorni. Le femmine che sfarfallano con gli ovari già provvisti di uova mature ricercano immediatamente le gemme ispezionandole con le antenne munite di sensilli tricoidei, placoidi, chetici, e celoconici. Ogni femmina tamburella la gemma per alcuni secondi per individuare il punto dove inserire l'ovopositore. Al pari di altri Imenotteri l'ovopositore è costituito da tre valve, ma è specializzato per deporre all'interno di tessuti vegetali (gemma). Le valve esterne presentano due tipi di strutture sensoriali che possono essere coinvolte nella percezione di stimoli meccanici come la differente densità degli strati embrionali della gemma e chimici provenienti dagli embrioni fogliari trapassati dall'ovopositore. Le valve del terzo paio (che non partecipano alla formazione della terebra) sono caratterizzate dalla presenza di lunghe setole posizionate a vario livello e terminanti tutte allo stesso livello. Questi sensilli possono svolgere un ruolo importante nelle fasi iniziali della discriminazione delle gemme ospiti che precede l'inserimento dell'ovopositore. La dissezione delle gemme con ferita da ovopositore ha evidenziato che le uova sono deposte in gruppo ed attaccate con il peduncolo ai peli che ricoprono gli embrioni fogliari.

BIBLIOGRAFIA

- ANSELMINI N., VETTRAINO A.M., FRANCO S., CHIAROT E., VANNINI A., 1999 - *Recrudescenze del Mal dell'Inchiostro del castagno in Italia: nuove acquisizioni e suggerimenti di lotta*. - Linea Ecologica, 31: 53-58.
- BOUNOUS G., 2002 - *Il castagno*. - Edagricole.
- BRUSSINO G., BOSIO G., BAUDINO M., GIORDANO R., RAMELLO F., MELIKA G., 2002 - *Pericoloso insetto esotico per il castagno europeo*. - Informatore Agrario, 58: 59-62.
- DE SIMONE G., PROIETTI P., FAMIANI F., 2005 - *Valorizzazione delle valenze turistiche dei castagneti nel comprensorio di Serino (AV)*. - Atti IV Convegno Nazionale sul Castagno, Montella (AV) 20-22 ottobre 2005.
- EPPO, 2009 - *Dryocosmus kuriphilus reported from Abruzzo, Friuli-Venezia Giulia and Umbria regions, Italy*. - EPPO Reporting Service, Pests & Diseases, 8: 4.
- PERONE PACIFICO C., DONO G., FRANCO S., PANCINO B., 2004 - *Studio sulla castanicoltura nella provincia di Viterbo*. - Supplemento speciale di Tuscia Economica.
- ZHU D.H., HE Y.Y., FAN Y.S., MA M.Y., PENG D.L., 2007 - *Negative evidence of parthenogenesis induction by Wolbachia in a gallwasp species, Dryocosmus kuriphilus*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 124: 279-284.

RISPOSTA DI GENOTIPI DI CASTAGNO AL CINIPIDE GALLIGENO E STRATEGIE DI LOTTA BASATE SU MECCANISMI DI RESISTENZA

ROBERTO BOTTA (*) - CHIARA SARTOR (*) - DANIELA TORELLO MARINONI (*)
FRANCESCA DINI (*) - GABRIELE LORIS BECCARO (*) - MARIA GABRIELLA MELLANO (*)
AMBRA QUACCHIA (**) - ALBERTO ALMA (**)

(*) Dipartimento di Colture Arboree, Università degli Studi di Torino, via Leonardo da Vinci 44, 10095, Grugliasco (TO)

(**) DIVAPRA, sezione di Entomologia agraria, forestale e Zoologia, Università degli Studi di Torino, via Leonardo da Vinci 44, 10095, Grugliasco (TO)

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Response of chestnut genotypes to gall wasp infestation and control strategies based on plant resistance

During the last twenty years the interest for the chestnut, in particular as a food commodity, has increased with the consequence of a raised demand for nursery plant material. The plant trade has favoured the introduction from Asia and the spread in Italy of the exotic pest *D. kuriphilus*, a serious threat for *Castanea sativa*.

To cope with the emergency several lines of research were activated in Piedmont (Northwest Italy), including strategies aimed at the control of the gall wasp by breeding resistant genotypes. To this purpose cultivars and wild chestnuts were evaluated for susceptibility to the insect.

During six years of observations, a large variability in the intensity of the infestation (No. galls/bud) across the genotypes was observed in some 60 cultivars from different geographic areas subjected to infestation under controlled conditions. Resistant response was also found in one hybrid cultivar *C. sativa* x *C. crenata* and in *C. sativa*. In addition, seedlings from different European areas planted in an experimental field were evaluated on site for susceptibility across the 6 years. Twelve plants of medium-high vigour showed no infestation and were propagated by grafting for being checked under controlled conditions.

To establish the yield loss due to the infestation by *D. kuriphilus*, 20 trees of cultivar 'Marsol' were chosen to study the relationship between production and infestation level. Data collected in 4 years were elaborated to produce an algorithm that will further be improved with the data of coming years.

KEY WORDS: *Castanea sativa*, *Dryocosmus kuriphilus*, susceptibility, breeding, yield loss

ORIGINE DEL PROBLEMA E POSSIBILI SOLUZIONI

Il castagno (*Castanea sativa* Miller) riveste un ruolo fondamentale su tutto il territorio montano e pedemontano nazionale sia come elemento del paesaggio forestale, sia come specie da frutto. La castanicoltura da frutto è stata oggetto di un notevole rilancio negli ultimi venti anni con la conseguente ricerca di cultivar dotate di caratteristiche di pregio e di buone prestazioni agronomiche. Questo ha portato ad un incremento della richiesta di piante e ad un maggiore interesse da parte dei vivaisti nei confronti di questa coltura.

Recentemente, l'introduzione in Italia di materiale vegetale di castagno proveniente dall'Asia orientale ha causato la diffusione su tutto il territorio nazionale del cinipide galligeno (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu), un insetto esotico reperito per la prima volta in Piemonte nel 2002 (BRUSSINO *et al.*, 2002). Si tratta di un imenottero che provoca danni rilevanti riducendo la produzione di frutti e lo sviluppo vegetativo della pianta.

Il castagno europeo ha mostrato fin dall'inizio sensibilità all'insetto raggiungendo livelli di infestazione anche molto alti. Si è osservata, tuttavia, una certa variabilità nell'intensità degli attacchi a seconda della cultivar.

La selezione di cultivar resistenti da usare come produttori diretti o nel miglioramento genetico può essere una via percorribile capace di agire in sinergia con la lotta biologica (QUACCHIA *et al.*, 2007) migliorando la qualità del materiale usato per gli impianti. In Giappone sono state selezionate cultivar resistenti al *Dryocosmus kuriphilus* (SHIMURA, 1972) sfruttando la presenza di fattori di resistenza di tipo genetico presenti nella specie *Castanea crenata* Sieb. et Zucc. In Italia si trova un vasto patrimonio castanicolo che è estremamente diversificato per quanto riguarda sia le caratteristiche qualitative delle produzioni, sia gli aspetti morfo-fenologici delle piante (BOUNOUS, 2002); è quindi possibile che siano reperibili resistenze all'insetto di tipo verticale od orizzontale.

Obiettivo della ricerca è quello di fornire indi-

cazioni sul rapporto ospite/insetto e sulle prospettive di lotta attraverso il miglioramento genetico a partire da piante resistenti o dotate di bassa sensibilità (bassi livelli di infestazione). Tali informazioni verranno impiegate per le future scelte varietali.

INDAGINE SULLE PREFERENZE DELL'INSETTO

La ricerca è stata svolta negli anni dal 2004 al 2010, presso il vivaio regionale "Gambarello" nel comune di Chiusa Pesio, una zona altamente infestata dal cinipide. Ogni anno, in primavera, sono state introdotte in prova piante in vaso di cultivar di castagno inserite in 4 moduli protetti da rete antiafide. Le cultivar studiate comprendevano varietà di *C. sativa* piemontesi, italiane ed internazionali, oltre ad alcuni ibridi euro-giapponesi. Nei 6 anni sono state valutate 65 cultivar di castagno.

A giugno venivano contate le gemme di ogni pianta rilevandone lo stadio fenologico; successivamente, tra fine giugno e l'inizio di luglio le piante venivano infestate introducendo un numero di insetti pari ad $\frac{1}{5}$ del numero totale di gemme presenti in ciascun modulo.

Nell'anno seguente venivano svolti rilievi sul numero e sulla posizione delle galle per valutare il livello di sensibilità, calcolato dal rapporto tra numero di galle osservate e numero di gemme sottoposte ad infestazione (n. galle/gemma), nell'anno precedente, su ciascuna pianta e cultivar.

I risultati ottenuti hanno rivelato che la maggior parte delle cultivar appartenenti al patrimonio

varietale italiano risulta essere sensibile all'attacco del cinipide. Tuttavia, come si osserva in figura 1, il maggiore livello di sensibilità all'insetto è stato osservato nell'ibrido 'Marsol' (*C. crenata* x *C. sativa*) che raggiunge picchi di infestazione superiori a 2 galle/gemma (SARTOR *et al.*, 2009).

L'ibrido 'Bouche de Bétizac', al contrario, non ha mai presentato sintomi anche nel caso di elevata pressione da parte di *D. kuriphilus* (1 insetto ogni 2,5 gemme). Questa cultivar è stata ottenuta incrociando 'Bouche Rouge' (*C. sativa*) con la selezione C04 dell'INRA di Bordeaux (*C. crenata*).

Le cultivar resistenti, finora isolate in Giappone e Corea, sono tutte *C. crenata* o ibridi di quest'ultima, fatta eccezione per la cultivar 'LM' di origine cinese che appartiene a *C. mollissima* Blume, (ANAGNOSTAKIS, 2000). Questa ricerca, tuttavia, ha dimostrato l'esistenza di resistenza al cinipide in cultivar di castagno europeo (*C. sativa*). Questo materiale è in fase di studio per valutarne l'impiego nel miglioramento genetico.

In generale è stato osservato che il cinipide ovidepone in tutte le cultivar, compresa 'Bouche de Bétizac' ma che in alcune lo sviluppo della larva viene bloccato al primo stadio dando origine alla resistenza; questo fatto porta a pensare che il determinismo genetico della resistenza sia di tipo qualitativo verticale. Nelle cultivar sensibili, inoltre, si osserva una notevole variabilità nell'intensità dell'infestazione probabilmente in relazione a fattori che rendono la pianta più o meno attrattiva nei confronti dell'insetto o adatta ad ospitarne le uova quali: presenza di sostanze volatili nella corteccia (HUANG *et al.*, 1990), stadio fenologico,

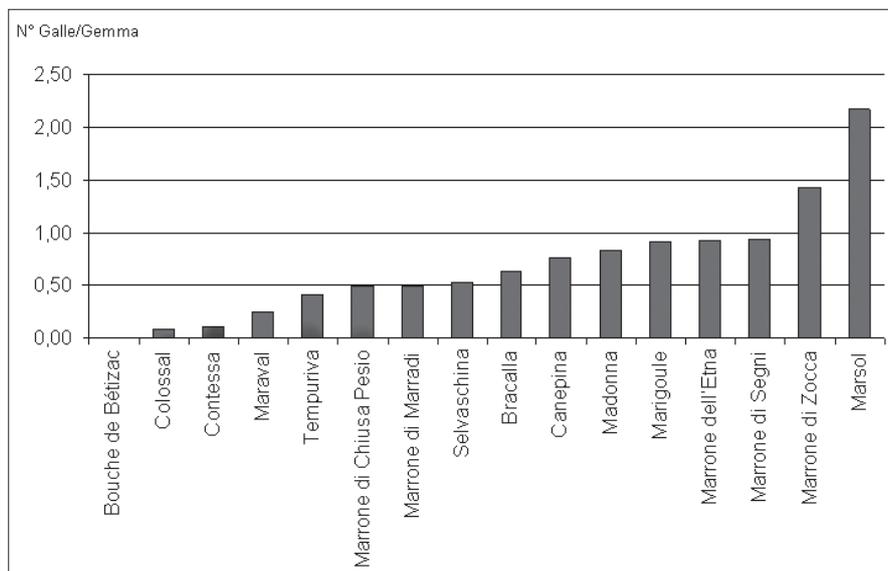


Fig. 1

Livello di sensibilità (N. galle/gemma) osservato in cultivar di castagno sottoposte ad infestazione controllata con il cinipide *D. kuriphilus*.

grandezza, consistenza delle gemme (SHIMURA, 1972). La minore o maggiore sensibilità all'attacco potrebbe quindi dipendere da fattori di tipo quantitativo.

VALUTAZIONE DI SEMENZALI PROVENIENTI DAL GERMOPLASMA DI CASTAGNO EUROPEO

La ricerca di individui dotati di resistenza o ridotta sensibilità è stata effettuata in un campo sperimentale realizzato con semenzali provenienti da diverse aree europee; l'impianto è stato realizzato nel 2001 nell'ambito del progetto CASCADE "Securing gene conservation, adaptive and breeding potential of a model multipurpose tree species (*Castanea sativa*) in a changing environment", su una superficie di 2 ettari. Le piante erano state poste a dimora a sesti ravvicinati (3,3 x 2,5 m), secondo uno schema a blocchi randomizzati (single tree plot), e provenivano da semi raccolti in Grecia, Italia e Spagna.

I dati acquisiti per sei anni (dal 2004 al 2009) hanno evidenziato il rapido progredire dell'infestazione e un deciso incremento dell'aggressività dell'attacco. Questo fatto può essere spiegato dall'effettivo aumento della popolazione dell'imenottero ma anche dalla maggior attrattività delle piante progressivamente più sviluppate, essendo la vigoria correlata positivamente con il livello di infestazione.

Dodici piante di vigore medio-alto sono risultate prive di galle in tutti gli anni di osservazione e sono state propagate per innesto; nel 2010 sono state sottoposte ad infestazione controllata nei moduli allestiti per la valutazione della sensibilità varietale. Se la resistenza verrà confermata, questo materiale potrà essere impiegato in programmi di riforestazione e valutato per le caratteristiche qualitative dei frutti in vista del suo impiego nel miglioramento genetico.

VALUTAZIONE DELLE PERDITE PRODUTTIVE IN CASTAGNETO

Le perdite produttive conseguenti all'infestazione sono state valutate a partire dal 2006 in un frutteto specializzato ubicato nel Comune di Busca (CN), alla base della val Maira ed al limite della pianura cuneese; il cinipide in questa zona è stato segnalato per la prima volta nel 2004. Il castagneto era costituito da alberi di 8 anni delle cultivar 'Bouche de Bétizac', 'Precoce Migoule', 'Marsol' e 'Marrone di Castel del Rio'. L'infestazione era leggera nel 2006 ed interessava principalmente le

zone di bordo dell'impianto. Nel maggio di tale anno sono state selezionate 20 piante appartenenti alla cultivar 'Marsol' situate in diverse zone del frutteto. Alle piante è stata misurata la circonferenza all'inizio della primavera di ogni anno, a 20 cm dal punto d'innesto.

In autunno la produzione di ogni albero è stata raccolta separatamente, pesata e valutata qualitativamente (n. di castagne/Kg); il peso della produzione di ciascuna pianta è stato rapportato all'area del tronco della pianta stessa per avere un indice di produttività che tenesse conto dello sviluppo dell'albero. Infine, i dati produttivi sono stati messi in relazione con il livello di infestazione calcolato come numero di galle/gemma osservato su 10 rami.

Dai dati raccolti si è realizzato un primo modello di previsione delle variazioni produttive in funzione del livello di infestazione. Tale logaritmo verrà migliorato con i dati dei prossimi anni.

Dopo 4 anni di osservazioni si può comunque indicare una soglia di infestazione di 0,3 galle/gemma oltre la quale si osserva una più evidente riduzione di produttività.

PROSPETTIVE E PROGETTI FUTURI

Attualmente è in fase di realizzazione, presso il Dipartimento di Coltive Arboree di Torino, una progenie di 200 individui ottenuta impollinando 'Bouche de Bétizac' con 'Madonna' (*C. sativa*), una cultivar sensibile al cinipide scelta nel germoplasma castanicolo piemontese. Questo consentirà di studiare più dettagliatamente il determinismo genetico della resistenza e di costruire una mappa dove verranno collocati i principali caratteri quantitativi e individuati marcatori molecolari utili per la selezione assistita. Tale mappa diventerà uno strumento fondamentale nel miglioramento genetico dei prossimi anni per individuare semenzali dotati di resistenza e caratteristiche di pregio.

RINGRAZIAMENTI

Ricerca finanziata dalla Regione Piemonte (progetti "Valutazione della sensibilità varietale e meccanismi molecolari di risposta al cinipide galligeno del castagno" e "Valutazione delle perdite produttive del castagneto causate dall'infestazione del cinipide galligeno *Dryocosmus kuriphilus*") e dal programma di cooperazione transfrontaliera Alcotra 2007-2013 (progetto "Salvaguardia dell'ecosistema castagno").

RIASSUNTO

Negli ultimi venti anni il crescente interesse nei confronti del castagno, in particolare come specie da frutto, ha portato ad un incremento della richiesta di piante. Gli scambi commerciali di materiale vegetale hanno favorito l'introduzione e la diffusione in Italia del cinipide galligeno (*Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu), un insetto originario della Cina che rappresenta una grave minaccia per il castagno europeo, risultato sensibile all'infestazione.

Per fronteggiare questa emergenza sono state attivate in Piemonte diverse linee di ricerca volte a chiarire il rapporto ospite-insetto e combattere l'imenottero mediante strategie di miglioramento genetico. In sei anni di rilievi, compiuti su una sessantina di cultivar provenienti da un vasto areale geografico e sottoposte ad infestazione controllata, si è osservato che c'è una notevole variabilità nell'intensità dell'attacco (valutata come numero di galle/gemma) probabilmente in relazione a fattori che rendono la pianta più o meno attrattiva nei confronti dell'insetto. Casi di resistenza sono stati, tuttavia, reperiti sia tra gli ibridi euro-giapponesi, sia nell'ambito del germoplasma di *Castanea sativa*. Inoltre, dal 2004 al 2009 circa 1800 semenzali provenienti da diverse aree europee sono stati valutati per la sensibilità all'imenottero in un campo sperimentale realizzato nel 2001. Dodici piante di vigore medio-alto sono risultate prive di galle in tutti gli anni di osservazione e sono state propagate per innesto per essere valutate in condizioni controllate. Se la resistenza verrà confermata, questo materiale potrà essere impiegato a livello forestale e nel miglioramento genetico.

La quantificazione del danno produttivo arrecato da *D. kuriphilus*, fondamentale per definire i livelli economicamente accettabili di infestazione, è stata condotta per quattro anni consecutivi mettendo in relazione i dati relativi a produzione ed infestazione di 20 piante di 'Marsol'. Da queste

informazioni si è realizzato un primo modello di previsione delle variazioni produttive in funzione dell'intensità dell'attacco. Tale modello verrà migliorato con i dati dei prossimi anni.

BIBLIOGRAFIA

- ANAGNOSTAKIS S.L., 2000 – *Chestnut Cultivar Names*. Department of Plant Pathology and Ecology The Connecticut Agricultural Experiment Station - <http://www.caes.state.ct.us/FactSheetFiles/PlantPathology/fspp063f.htm>
- BOUNOUS G., 2002 – *Il Castagno. Coltura, ambiente ed utilizzazioni in Italia e nel mondo* - Edagricole, 3: 29-45.
- BRUSSINO G., BOSIO G., BAUDINO M., GIORDANO R., RAMELLO F., MELIKA G., 2002 – *Pericoloso insetto esotico per il castagno europeo* - L'Informatore Agrario 37:59-61.
- HUANG H. W., NORTON, J. D., SMITH, D. A., SLAYDEN, P. W. 1990 – *Characteristics of chestnut gall wasp Resistant Chinese chestnut* - Annual report - Northern Nut Growers' Association, 81: 29-32
- QUACCHIA A., MORIYA S., BOSIO G., SCAPIN I., ALMA A., 2007 – *Rearing, release and settlement prospect in Italy of *Torymus sinensis*, the biological control agent of the chestnut gall wasp *Dryocosmus kuriphilus** - BioControl, DOI 10.1007/s10526-007-9139-4
- SARTOR C., BOTTA R., MELLANO M. G., BECCARO G.L., BOUNOUS G., TORELLO MARINONI D., QUACCHIA A., ALMA A., 2009 – *Evaluation of susceptibility to *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in *Castanea sativa* Miller and in hybrid cultivars* - Acta Horticulturae 815: 289-297.
- SHIMURA I., 1972 - *Breeding of chestnut varieties resistant to chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu* - Japan Agricultural Research Quarterly, 6: 224-230

SOSTANZE VOLATILI COINVOLTE NELLA LOCALIZZAZIONE DELLA PIANTA OSPITE IN *DRYOCOSMUS KURIPHILUS* YASUMATSU (HYMENOPTERA, CYNIPIDAE)

GIACINTO SALVATORE GERMINARA (*) - ANTONIO DE CRISTOFARO (**) - GIUSEPPE ROTUNDO (**)

(*) Dipartimento di Scienze Agro-ambientali, Chimica e Difesa Vegetale, Università degli Studi di Foggia, Via Napoli, 25 - 71100 Foggia
(**) Dipartimento di Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente, Università degli Studi del Molise, Via De Sanctis - 86100 Campobasso
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Identification of host plant volatiles involved in host location by Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera, Cynipidae)

Results of behavioural, chemical, and electrophysiological investigations examining the role of plant volatiles for host location by the chestnut gall wasp, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, are presented. Adult wasps were significantly attracted by *Castanea sativa* Miller twigs with at least 1-hr-old mechanical damage while odours of undamaged host seedlings, intact twigs, and twigs with fresh mechanical damage were not attractive. Wasps were repelled by both undamaged and damaged twigs of the non-host *Prunus laurocerasus* L. Fourteen compounds were identified in SPME (solid phase microextraction) extracts from the head-space of attractive host plant twigs by GC-MS (gas chromatography coupled to mass spectrometry). Compounds were 11 general green leaf volatiles (GLVs), 2 terpenoids and 1 aromatic compound. All these compounds elicited dose-dependent antennal responses in adult wasps indicating the capability of the peripheral olfactory system of *D. kuriphilus* to selectively perceive host plant volatiles. A synthetic blend containing all identified compounds in the same ratio as in the attractive host source induced significant positive responses in Y-tube olfactometer bioassays. However, preliminary subtractive assays performed by eliminating groups of compounds belonging to the same chemical class from the complete blend suggest that a subset of the identified compounds is needed for the attraction. Moreover, insect attraction should be elicited by a specific ratio of these volatiles since they are known to be produced by several plant species. Laboratory and field studies examining the behavioral responses of *D. kuriphilus* to various dosages of individual synthetic compounds and their mixtures are in progress to find out those which are crucial in host plant location.

KEY WORDS: Y-tube bioassay, Head-space analysis, SPME, GC-MS, EAG.

INTRODUZIONE

Molte sostanze volatili emesse dalle piante sono utilizzate dagli insetti fitofagi come messaggeri chimici (semiochimici) per localizzare i siti di alimentazione, di accoppiamento e di ovideposizione (VISSER, 1986; AGELOPULOS *et al.*, 1999). Diversi studi suggeriscono, inoltre, che la localizzazione di tali substrati è spesso mediata da miscele di sostanze secondo rapporti ben definiti e caratteristici della pianta ospite (BRUCE *et al.*, 2005).

L'identificazione dei semiochimici interspecifici coinvolti nelle interazioni tra fitofagi e piante ospiti riveste non solo interesse ecologico ma anche pratico; sostanze in grado di modificare il comportamento degli insetti, infatti, sono potenzialmente utilizzabili per la messa a punto di strategie innovative ed ecosostenibili di controllo.

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera, Cynipidae) è tra i principali fitofagi di *Castanea* spp. e risulta attualmente diffuso nei principali

areali di coltivazione del castagno in Italia. La specie è monovoltina e caratterizzata da partenogenesi telitoca (ZHU *et al.*, 2007).

L'efficacia del controllo chimico del fitofago è limitata dallo sviluppo endofitico degli stadi preimmaginali, dal ruolo di serbatoio di infestazione svolto dai castagneti cedui, spesso presenti in prossimità di quelli da frutto, e dai problemi legati all'esecuzione dei trattamenti su piante di elevate dimensioni e/o ubicate in terreni acclivi.

L'identificazione di attrattivi specifici per *D. kuriphilus* potrebbe fornire un valido strumento di monitoraggio da utilizzare per programmare interventi tempestivi di lotta. A tal fine la ricerca di semiochimici coinvolti nel processo di localizzazione dell'ospite assume un ruolo di primaria importanza, in quanto lo sviluppo partenogenetico della specie esclude l'esistenza di un feromone sessuale.

Le interazioni tra cinipidi galligeni e piante ospiti sono caratterizzate da un elevato grado di specificità (RONQUIST & LILJEBLAD, 2001; STONE *et al.*,

2002). Le comunità di cinipidi che vivono sulle diverse specie del genere *Quercus* variano in modo significativo con le caratteristiche chimiche della pianta ospite (ABRAHAMSON *et al.*, 2003). Le diverse fasi del processo di formazione della galla sono controllate dalle secrezioni larvali (STONE & SCHÖNROGGE, 2003) attraverso le quali i cinipidi manipolano i tessuti dell'ospite al fine di renderli più idonei a soddisfare i propri fabbisogni nutritivi e adatti a proteggerli da vari microrganismi (ALLISON & SCHULTZ, 2005). I cinipidi galligeni depongono le uova in specifici tessuti dell'ospite ed in un determinato stadio di sviluppo dimostrando un'elevata capacità di selezionare il substrato. Tuttavia, in tali interazioni, il ruolo svolto dai composti volatili della pianta ospite è ancora poco noto.

In *Antistrophus rufus* Gillette (Hymenoptera, Cynipidae), specie a sessi distinti, è stato dimostrato che il processo di maturazione della galla porta alla formazione di specifici composti volatili che sono utilizzati dal maschio proterandro per localizzare il sito di emergenza della femmina (TOOKER *et al.*, 2002; TOOKER & HANKS, 2004). In saggi olfattometrici, una miscela di α -pinene, (-)-camphene, β -pinene e (+)-limonene è risultata attrattiva verso femmine ovideponenti della stessa specie, indicando un loro probabile coinvolgimento nella localizzazione del sito di ovideposizione (TOOKER *et al.*, 2005). Saggi elettroantennografici hanno dimostrato che il sistema olfattivo degli adulti di *D. kuriphilus* è in grado di percepire un'ampia varietà di composti volatili (GERMINARA *et al.*, 2009) emessi dalle foglie di *Castanea sativa* Miller (ROTUNDO *et al.*, 1987). Di seguito si riportano i risultati di ulteriori indagini chimiche, elettrofisiologiche e comportamentali, condotte allo scopo di meglio definire il ruolo dei composti volatili nelle interazioni tra cinipide e *C. sativa*.

RISPOSTE COMPORTAMENTALI A MATERIALE VEGETALE

Allo scopo di individuare una sorgente attrattiva è stata valutata, in un olfattometro ad Y, la risposta comportamentale di adulti di *D. kuriphilus* agli odori emessi da piantine intere di *C. sativa*, rami integri con foglie e gemme e rami danneggiati meccanicamente durante la prima (danno recente) e la seconda ora (danno non recente) successive al danno. Esperimenti simili sono stati condotti con materiale vegetale di una pianta non ospite (*Prunus laurocerasus* L.).

Dall'analisi delle risposte olfattive è emerso un significativo effetto attrattivo dei composti volatili

emessi dai rami di castagno con danno meccanico non recente verso gli adulti dell'insetto. Piantine intere, rami integri e rami con danno meccanico recente, invece, non sono risultate attrattive. L'importanza dei composti volatili emessi da piante danneggiate nel processo di localizzazione della pianta ospite da parte di insetti fitofagi è stata evidenziata anche in altri studi (BOLTER *et al.*, 1997; RUTHER *et al.*, 2000; VAN TOL *et al.*, 2004). Il significato biologico di tale fenomeno, tuttavia, è ancora poco chiaro. E' probabile che odori emessi da piante danneggiate possano segnalare un substrato più facilmente attaccabile rispetto ad una pianta sana. In alcune specie, inoltre, è stato osservato un comportamento di aggregazione degli adulti in risposta a composti volatili emessi dalla pianta a seguito del danno provocato dall'attività trofica e di ovideposizione di individui conspecifici (LOUGHRIN *et al.*, 1996; BOLTER *et al.*, 1997; SUN *et al.*, 2010).

Gli odori emessi dalla pianta non ospite sono risultati repellenti verso gli adulti di *D. kuriphilus*. Ciò suggerisce la capacità del cinipide di evitare attivamente le piante non ospiti attraverso la percezione di stimoli chimici volatili. Effetti deterrenti e repellenti di composti di piante non ospiti sono stati osservati anche in altri insetti monofagi (BERNAYS *et al.*, 2000; LINN *et al.*, 2005).

IDENTIFICAZIONE DEI COMPOSTI VOLATILI

I composti volatili emessi da rami di *C. sativa* con danno recente (non attrattivi) e non (attrattivi) sono stati collezionati mediante microestrazione in fase solida (SPME) esponendo, per un'ora, una fibra di polidimetilsilossano (100 μ m) nello spazio di testa del campione. Gli estratti sono stati analizzati mediante gascromatografia abbinata a spettrometria di massa (GC-MS) ed i composti sono stati identificati sulla base del confronto degli spettri di massa con quelli riportati in una libreria (NIST 2005). L'identità dei composti è stata confermata confrontando i tempi di ritenzione e gli spettri di massa con quelli di standard sintetici puri. Le percentuali relative delle diverse sostanze negli estratti sono state definite in base alle aree dei rispettivi picchi.

Sono state identificate complessivamente 14 sostanze, di cui 11 composti volatili della foglia verde, noti come green leaf volatiles (GLVs) [(*E*)-2-esenale, acetato di esile, (*Z*)-3-esenil acetato, (*E*)-2-esenil acetato, esanolo, (*Z*)-3-esenolo, (*E*)-3-esenolo, (*E*)-2-esenolo, (*Z*)-3-esenil butirato, (*E*)-2-esenil butirato, (*Z*)-3-esenil esanoato], 2 terpeni [(*E*)-cariofillene, geranil acetato] ed un composto aromatico (metil salicilato).

Sono state evidenziate differenze quali-quantitative tra le miscele di composti emesse durante la prima ora dopo il danno e l'ora successiva. Nella seconda ora, infatti, è stata rilevata la presenza di (*E*)-2-esenale, una significativa riduzione della percentuale di (*Z*)-3-esenil acetato ed un significativo aumento di quella di esanolo e (*E*)-2-esenolo. Tali differenze probabilmente spiegano la diversa attrattività dei rami danneggiati (danno recente e non).

I composti emessi dal materiale attrattivo per *D. kuriphilus* sono ampiamente diffusi nel regno vegetale e sono stati identificati in numerose piante a seguito di danno meccanico o di attacco di fitofagi (VISSER, 1986; LOUGHRIN *et al.*, 1996; TURLINGS *et al.*, 1998; RUTHER *et al.*, 2002; TAKABAYASHI *et al.*, 1994; BOLTER *et al.*, 1997; HOBALLAH & TURLINGS, 2005).

RISPOSTE ELETTROANTENNOGRAFICHE

La tecnica elettroantennografica (EAG) consente di misurare la somma dei potenziali elettrici generati dai neuroni, presenti nei sensilli olfattivi antennali di un insetto, stimolati con una determinata sostanza. Composti EAG attivi verso una specie hanno spesso un significato ecologico e, pertanto, sono potenzialmente in grado di agire come modificatori del comportamento (VAN DER PERS, 1991).

L'EAG è stata utilizzata per valutare la capacità delle sostanze identificate di stimolare il sistema olfattivo degli adulti di *D. kuriphilus* e di evidenziare eventuali differenze nella sensibilità olfattiva dell'insetto ai vari composti. Le risposte EAG degli insetti a dosi crescenti (0,001 - 40 μ M) di ciascuna sostanza sono state utilizzate per calcolare le curve dose-risposta e le soglie di attivazione.

Tutti i composti saggiate sono percepiti dal sistema olfattivo antennale del cinipide avendo essi indotto, almeno ad alcune delle dosi saggiate, risposte EAG misurabili e significativamente maggiori rispetto al solvente (olio minerale). Ciò conferma i risultati di uno studio precedente (GERMINARA *et al.*, 2009) che aveva dimostrato, per la prima volta nella famiglia dei cinipidi, la capacità dell'insetto di percepire un'ampia varietà di composti volatili.

Le sostanze hanno indotto risposte EAG crescenti con la dose. Le soglie di attivazione più basse sono state registrate per (*E*)-2-esenale e (*E*)-2-esenil acetato alla dose di 0,01 M. Le soglie di attivazione degli altri composti sono state di 0,1 M per esanolo, (*Z*)-3-esenolo, (*E*)-cariofillene, geranil acetato, di 1,0 M per esil acetato, (*Z*)-3-esenil ace-

tato, (*E*)-3-esenolo, (*Z*)-3-esenil butirato, (*E*)-2-esenil butirato e metil salicilato. Le differenti soglie di attivazione registrate per i vari composti indicano una diversa sensibilità olfattiva agli stimoli saggiate. In particolare, una bassa soglia di attivazione potrebbe indicare una maggiore capacità dell'insetto di percepire lo stimolo a distanza.

RISPOSTE COMPORTAMENTALI A SOSTANZE SINTETICHE

In olfattometro ad Y, una miscela sintetica, costituita dai composti identificati, negli stessi rapporti con cui erano presenti nello spazio di testa del materiale attivo, è risultata attrattiva per *D. kuriphilus*. Nelle condizioni sperimentali adottate (GERMINARA *et al.*, 2011), la dose ottimale della miscela (0,5 μ M) ha indotto un'attrazione comparabile a quella osservata in risposta al materiale attrattivo di *C. sativa*, a conferma che le sostanze responsabili dell'attrazione sono state correttamente identificate.

In genere, non tutti i composti di un blend attrattivo verso una determinata specie, sebbene elettrofisiologicamente attivi, sono necessari per l'attrazione (ROJAS, 1999; DICKENS, 2000; FRASER *et al.*, 2004) e alcuni di essi possono risultare ridondanti (TASIN *et al.*, 2006). Sono stati condotti ulteriori saggi olfattometrici per valutare l'attività di miscele ottenute sottraendo dal blend completo i composti appartenenti a singole classi chimiche (aldeidi, alcoli, acetati alifatici, acetati butirati, acetati esanoati, terpeni, composti aromatici), ma mantenendo inalterati i rapporti con cui le sostanze erano presenti nell'emissione della pianta. L'attrattività è stata conservata dalle miscele prive dell'aldeide (*E*)-2-esenale e degli alcoli alifatici [esanolo, (*Z*)-3-esenolo, (*E*)-3-esenolo, (*E*)-2-esenolo], indicando per essi un ruolo non determinante ai fini dell'attrazione. Per tutte le altre miscele, invece, è stata osservata una perdita di attrattività, suggerendo che i composti necessari per l'attrazione sono presenti nelle rimanenti categorie chimiche.

I risultati dei saggi comportamentali ed il carattere ubiquitario di tutti i composti identificati indicano che la localizzazione della pianta ospite in *D. kuriphilus* è mediata da un ristretto numero di sostanze volatili generiche in un preciso rapporto, tipico della pianta ospite. Tale osservazione, in una specie monofaga quale *D. kuriphilus*, supporta l'ipotesi secondo cui il meccanismo prevalente nella localizzazione dell'ospite da parte degli insetti fitofagi è basato sull'utilizzo di miscele ospite-specifiche piuttosto che di singole sostanze volatili (VISSER, 1986; BRUCE *et al.*, 2005).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Gli adulti di *D. kuriphilus* sono attratti dagli odori emessi da *C. sativa* a seguito di un danno meccanico. Le sostanze del blend attrattivo sono rappresentate principalmente da composti volatili della foglia verde oltre che da due terpeni ed un composto aromatico. Tali composti non sono specifici del castagno ma sono stati identificati anche nelle emissioni di altre piante. In natura, il rilascio di tali sostanze potrebbe avvenire attraverso ferite e microlesioni causate da fattori biotici e abiotici. Alcuni GLVs, inoltre, possono essere emessi in risposta ai cambiamenti fotoperiodici, durante la transizione dalla fase di luce a quella di buio (GRAUS *et al.*, 2004; CHAMBERLAIN *et al.*, 2006).

Le antenne degli adulti di *D. kuriphilus* percepiscono con diversa selettività e sensibilità i composti identificati; tuttavia, non tutte le sostanze EAG attive sono necessarie per l'attrazione, la cui specificità è determinata dal loro rapporto.

Studi di laboratorio e di campo sono in corso per individuare una miscela attrattiva ottimale che, opportunamente formulata, potrebbe essere utilizzata come semplice e rapido strumento di monitoraggio e contribuire allo sviluppo di strategie innovative di controllo del cinipide.

RINGRAZIAMENTI

Ricerca svolta nell'ambito del progetto "Studio per il controllo ecocompatibile del Cinipide del castagno" - Contributo n. 28/08 della Regione Campania. Coordinatore dott. Emilio Guerrieri, Centro Nazionale delle Ricerche, Istituto per la Protezione delle Piante, Sezione di Portici.

RIASSUNTO

Si riportano i risultati di studi comportamentali, chimici ed elettrofisiologici sul ruolo di composti volatili di origine vegetale nel processo di localizzazione della pianta ospite in *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu. Rami meccanicamente danneggiati di *Castanea sativa* Miller, dopo almeno un'ora dal danno, sono risultati attrattivi per gli adulti del cinipide al contrario di piantine intere e rami integri o appena danneggiati. Effetti repellenti sono stati osservati in risposta agli odori di una pianta non ospite. Dallo spazio di testa della sorgente odorosa attrattiva sono stati identificati 14 composti volatili rappresentati principalmente da odori della foglia verde, due terpeni ed un composto aromatico. Tutte le sostanze sono percepite dal sistema olfattivo antennale del cinipide ma con diversa selettività e sensibilità. Studi comportamentali hanno dimostrato che sebbene una miscela sintetica, contenente i composti identificati e negli stessi rapporti presenti nell'emissione della pianta ospite, sia attrattiva per *D. kuriphilus*, non tutte le sostanze sono necessarie per l'attrazione. Tali osservazioni e la natura ubiquitaria dei

composti suggeriscono che la localizzazione dell'ospite in *D. kuriphilus* è mediata da un ristretto numero di semiochimici secondo uno specifico rapporto.

BIBLIOGRAFIA

- ABRAHAMSON W.G., HUNTER M.D., MELIKA G., PRICE P.W., 2003 - *Cynipid gall-wasp communities correlate with oak chemistry*. - J. Chem. Ecol., 29: 209-223.
- ALLISON S.D., SCHULTZ J.C., 2005 - *Biochemical responses of chestnut oak to a galling cynipid*. - J. Chem. Ecol., 31: 151-166.
- AGELOPOULOS N., BIRKETT M.A., HICK A.J., HOOPER A.M., PICKETT J.A., POW E.M., SMART L.E., SMILEY D.W.M., WADHAMS L.J., WOODCOCK C.M., 1999 - *Exploiting semi-chemicals in insect control*. Pest Sci., 55: 225-235.
- BERNAYS E.A., OPPENHEIM S., CHAPMAN R.F., KWON H., GOULD F., 2000 - *Taste sensitivity of insect herbivores to deterrents is greater in specialists than in generalists: a behavioural test of the hypothesis with two closely related caterpillars*. - J. Chem. Ecol., 26: 547-563.
- BOLTER C.J., DICKE M., VAN LOON J.J.A., VISSER J.H., POSTHUMUS M.A., 1997 - *Attraction of Colorado potato beetle to herbivore-damaged plants during herbivory and after its termination*. - J. Chem. Ecol., 23: 1003-1023.
- BRUCE T.J.A., WADHAMS L.J., WOODCOCK C.M., 2005 - *Insect host location: a volatile situation*. - Trends Plant Sci., 10: 269-274.
- CHAMBERLAIN K., KHAN Z.R., PICKETT J.A., TOSHOVA T., WADHAMS L.J., 2006 - *Diel periodicity in the production of green leaf volatiles by wild and cultivated host plants of stemborer moths, Chilo partellus and Busseola fusca*. - J. Chem. Ecol., 32: 565-577.
- DICKENS J.C., 2000 - *Orientation of Colorado potato beetle to natural and synthetic blends of volatiles emitted by potato plants*. - Agric. For. Entomol., 2: 167-172.
- FRASER A.M., MECHABER L.W., HILDEBRAND J.G., 2004 - *Electroantennographic and behavioural responses of the sphinx moth Manduca sexta to host plant headspace volatiles*. - J. Chem. Ecol., 29: 1813-1833.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2011 - *Chemical cues for host location by the Chestnut Gall Wasp, Dryocosmus kuriphilus*. - J. Chem. Ecol., 37: 49-56.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., PAPERATI B., SPERANZA S., STACCHIOTTI M., ROTUNDO G., 2009 - *Electroantennographic responses of Dryocosmus kuriphilus to Castanea sativa leaf volatiles*. - Acta Hort., 844: 387-394.
- GRAUS M., SCHNITZLER J.-P., HANSEL A., COJOCARIU C., RENNENBERG H., WISTHALER A., KREUZWIESER J., 2004 - *Transient release of oxygenated volatile organic compounds during light/dark transitions in grey poplar leaves*. - Plant Physiol., 135: 1967-1975.
- HOBALLAH M.E., TURLINGS C.J., 2005 - *The role of fresh versus old leaf damage in the attraction of parasitic wasps to herbivore induced maize volatiles*. - J. Chem. Ecol., 31: 2003-2018.
- LINN C. JR., NOJIMA S., ROELOFS W., 2005 - *Antagonistic effects of nonhost fruit volatiles on chemically-mediated discrimination of host fruit by Rhagoletis pomonella flies infesting apple, hawthorn (Crataegus spp.) and flowering dogwood (Cornus florida)*. - Ent. Exp. Appl., 114: 97-105.
- LOUGHRIN J.H., POTTER D.A., HAMILTON-KEMP T.R., BYERS M.E., 1996 - *Role of feeding-induced plant volatiles in aggregative behaviour of the Japanese beetle (Coleoptera: Scarabaeidae)*. - Environ. Entomol., 25: 1188-1191.
- ROJAS C.J., 1999 - *Electrophysiological and behavioural*

- responses of the cabbage moth to plant volatiles*. - J. Chem. Ecol., 25: 1867-1883.
- RONQUIST F., LILJEBLAD J., 2001 – *Evolution of the gall wasp-host plant association*. - Evolution, 55: 2503-2522.
- ROTUNDO G., TONINI C., GUGLIEMETTI G., ROTUNDO A., 1987 – *Identification of volatiles from leaves of Castanea sativa Miller and electroantennogram responses of Cydia splendana (Hübner) (Lep. Tortricidae)* – Annali della Facoltà di Scienze Agrarie dell'Università di Napoli-Portici, Serie IV 21: 20-38.
- RUTHER J., REINECKE A., THIEMANN K., TOLASCH T., FRANCKE W., HILKER M., 2000 – *Mate finding in the forest cockchafer, Melolontha hippocastani, mediated by volatiles from plants and females*. - Physiol. Entomol., 25: 172-179.
- RUTHER J., REINECKE A., HILKER M., 2002 – *Plant volatiles in the sexual communication of Melolontha hippocastani: response towards time-dependent bouquets and novel function of (Z)-3-hexen-1-ol as a sexual kairomone*. - Ecol. Entomol., 27: 76-83.
- STONE G.N., SCHÖNRÖGGE K., 2003 – *The adaptive significance of insect gall morphology*. - Trends Ecol. Evol., 18: 512-522.
- STONE G.N., SCHÖNRÖGGE K., ATKINSON R.J., BELLIDO D., PUJADE-VILLAR J., 2002 – *The population biology of oak gall wasps (Hymenoptera: Cynipidae)*. - Annu. Rev. Entomol., 47: 633-668.
- SUN X.-L., WANG G.-C., CAI X.-M., JIN S., GAO Y., CHEN Z.-M., 2010 – *The Tea Weevil, Myloecrinus aurilineatus, is attracted to volatiles induced by conspecifics*. - J. Chem. Ecol., 36: 388-395.
- TASIN M., BACKMAN A.C., BENGTSSON M., IORIATTI C., WITZGALL P., 2006 – *Essential host plant cues in the grapevine moth*. - Naturwissenschaften, 93: 141-144.
- TAKABAYASHI J., DICKE M., POSTHUMUS M.A., 1994 – *Volatile herbivore-induced terpenoids in plant-mite interactions: variation caused by biotic and abiotic factors*. - J. Chem. Ecol., 20: 1329-1354.
- TOOKER J.F., HANKS L.M., 2004 – *Stereochemistry of host plant monoterpenes as mate location cues for the gall wasp Antistrophus rufus*. - J. Chem. Ecol., 30: 473-477.
- TOOKER J.F., KÖNIG W.A., HANKS L.M., 2002 – *Altered host plant volatiles are proxies for sex pheromones in the gall wasp Antistrophus rufus*. - Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 99: 15486-15491.
- TOOKER J.F., CRUMRIN A.L., HANKS L.M., 2005 – *Plant volatiles are behavioural cues for adult females of the gall wasp*. - Chemoecol., 15: 85-88.
- TURLINGS T.C.J., URS B., LENGWILER U.B., BERNASCONI M.L., WECHSLER D., 1998 – *Timing of induced volatile emissions in maize seedlings*. - Planta, 207: 146-152.
- VAN DER PERS J.N.C., 1981 – *Comparison of electroantennogram response spectra to plant volatiles in seven species of Yponomeuta and in the tortricid Adoxophyes orana*. - Ent. Exp. Appl., 30: 181-192.
- VAN TOL R.W.H.M., VISSER J.H., SABELIS M.W., 2004 – *Behavioural responses of the vine weevil, Othiorhynchus sulcatus, to semiochemicals from conspecifics, Othiorhynchus salicicola, and host plants*. - Ent. Exp. Appl., 110: 145-150.
- VISSER J.H., 1986 – *Host odor perception in phytophagous insects*. - Annu. Rev. Entomol., 31: 121-144.
- ZHU D.-H., HE Y.-Y., FAN Y.-S., MA M.-Y., PENG D.-L., 2007 – *Negative evidence of parthenogenesis induction by Wolbachia in a gallwasp species, Dryocosmus kuriphilus*. - Ent. Exp. Appl., 124: 279-284.

IDENTIFICAZIONE MORFO-BIO-MOLECOLARE ED INTERAZIONI TROFICHE DEGLI ANTAGONISTI AUTOCTONI DI *DRYOCOSMUS KURIPHILUS* YASUMATSU IN CAMPANIA: METODOLOGIA E RISULTATI PRELIMINARI

EMILIO GUERRIERI (*) - UMBERTO BERNARDO (*) - LUIGI IODICE (*) - MARCO GEBIOLA (*)

(*) Istituto per la Protezione delle Piante CNR Via Università 133 - 80133 Portici (NA); guerrieri@ipp.cnr.it
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Autochthonous parasitoides Dryocosmus kuriphilus in Campania

In the last two years, within the framework of a project supported by Regione Campania, the autochthonous parasitoids of *Dryocosmus kuriphilus* have been collected in the region following the accidental introduction of the pest in 2005. The characterization of these parasitoids followed an integrative approach including: morphological, biological and molecular characterization. The material collected in Campania has been compared with that collected in other parts of Italy, allowing to assess the intra- and interspecific variability of the most common and abundant species of parasitoids. The integrated approach lead to either splitting different species otherwise morphologically identical or lumping species considered morphologically different under a single taxonomical entity. Finally, by combining the data of parasitoid species collected from chestnut with those relative to parasitoids collected from oaks, it has been possible to reconstruct the food webs of these important biocontrol agents.

KEY WORDS: Hymenoptera Chalcidoidea, caratterizzazione integrata, reti trofiche, querce.

INTRODUZIONE

Il cinipide galligeno del castagno, *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu, introdotto accidentalmente in Campania nel 2005, risulta ormai largamente diffuso su tutto il territorio regionale. Al fine di mettere a punto una strategia ecocompatibile di controllo di tale specie invasiva, nel 2008 è stato avviato un progetto di ricerca finanziato dalla Regione Campania in collaborazione con l'Università di Torino, l'Università del Molise, l'Università di Foggia ed il Centro per la Ricerca in Frutticoltura (MIPAF) di Caserta. Sulla base di precedenti esperienze internazionali (MURUKAMI 1981, AEBI *et al.* 2006, 2007; COOPER and RIESKE 2007), nell'ambito delle attività previste dal progetto è risultato di particolare importanza il censimento del complesso di parassitoidi "autoctoni" del cinipide, ossia di quelle specie generaliste già presenti sul territorio regionale che hanno trovato nel fitofago un nuovo ospite per il loro sviluppo.

La caratterizzazione di queste specie ha seguito un approccio integrato messo recentemente a punto nel nostro laboratorio (BERNARDO *et al.*, 2008) comprendente:

- caratterizzazione morfologica;
- caratterizzazione biologica;
- caratterizzazione molecolare.

I dati relativi alle specie raccolte dalle galle del cinipide del castagno sono stati confrontati/com-

binati con quelli relativi ai parassitoidi raccolti dalle galle di cinipidi di altre essenze, soprattutto querce. Questo passaggio, consente la ricostruzione delle complesse reti trofiche che sono alla base del controllo naturale del cinipide del castagno. Lo scopo finale è quello di potenziare tale controllo ricostituendo, in zone fortemente infestate dal cinipide del castagno, le combinazioni trofiche più favorevoli ai suoi antagonisti naturali, in modo da mantenere il fitofago al di sotto della soglia di danno economico.

LA CARATTERIZZAZIONE INTEGRATA

Tutti gli insetti da caratterizzare sono stati uccisi in etanolo assoluto e conservati in freezer a -20°C. In questo modo è stato possibile cominciare le operazioni di caratterizzazione anche diversi mesi dopo la raccolta senza alterare la qualità dei risultati.

A) caratterizzazione morfologica preliminare

Utilizzando le chiavi dicotomiche disponibili in letteratura e potendo accedere a collezioni di insetti e materiale tipico delle singole specie, ciascun insetto è stato preliminarmente assegnato ad una "morfo-specie". Tale operazione è stata condotta senza sottoporre l'insetto ad alcun trattamento chimico. In questa fase sono state annotate eventuali peculiarità che riguardano i caratteri dia-

gnostici (come ad esempio, colori o rapporti differenti da quelli riportati in letteratura per ciascuna specie).

B) caratterizzazione molecolare

Un certo numero di esemplari per ciascuna morfospécie è stato selezionato per procedere all'estrazione del DNA genomico. In particolare, sono stati scelti individui che non è stato possibile caratterizzare morfologicamente in modo sicuro, e che quindi potrebbero rappresentare specie nuove per la scienza oppure far parte di complessi di specie criptiche difficili da distinguere esclusivamente sulla base di caratteristiche morfologiche. In questa fase è stato possibile selezionare esemplari raccolti in località diverse allo scopo di valutare la variabilità genetica riferibile a ciascuna morfospécie. L'estrazione del DNA ha seguito un protocollo non distruttivo (vedi GEBIOLA *et al.*, 2009) che, preservando la morfologia esterna dell'esemplare, consente l'uso degli insetti per successive indagini morfologiche. Il DNA estratto può essere conservato in freezer a -20°C per molti anni. Per la caratterizzazione molecolare degli Imenotteri Calcidoidei sono ormai largamente utilizzati tre marcatori che consentono la discriminazione a livello specifico: un frammento del gene mitocondriale che codifica per la Citocromo Ossidasi I (COI), la regione spaziatrice interna trascritta 2 (ITS2) e la regione di espansione D2 del gene ribosomale 28S (28S-D2). La necessità di sequenziare più regioni genetiche si basa su molte evidenze di letteratura che sono state confermate anche dalla nostra attività di laboratorio su altri Imenotteri parassitoidi (vedi GEBIOLA *et al.*, 2009; 2010). Tali ricerche dimostrano che, al fine di caratterizzare correttamente una specie, è necessario evitare possibili influenze dovute alle caratteristiche intrinseche relative ai singoli marcatori utilizzati. Ad esempio, il "selective sweep" (deriva genetica) di un particolare aplotipo mitocondriale può essere indotto da microrganismi endosimbionti o da eventi demografici, i cui effetti, senza il confronto con una filogenesi basata anche sul DNA nucleare, rimarrebbero nascosti. Infatti, avendo modalità di trasmissione diversa e tempi diversi di fissazione delle mutazioni, i due tipi di DNA (nucleare e mitocondriale) hanno una diversa sensibilità nell'evidenziare fenomeni evolutivamente recenti che possono o meno portare a speciazione.

I frammenti sequenziati sono stati prima editati per correggere eventuali ambiguità presenti nei cromatogrammi e poi allineati per evidenziare differenze e similitudini tra individui diversi. Le sequenze di marcatori diversi sono allineate in

modo differente. Ad esempio, 28S-D2 e ITS2 sono allineate in base alla loro struttura secondaria.

C) caratterizzazione morfologica

Una volta estratto il DNA, ciascun esemplare è stato preparato per l'esame morfologico classico, ossia attraverso la preparazione su cartoncino e/o su vetrino (NOYES, 1982). In questa fase sono stati misurati tutti quei caratteri che hanno importanza diagnostica nella tassonomia del gruppo. Infatti, in caso di assenza di caratteri morfologici discreti, può essere necessario l'utilizzo di una serie ampia di caratteri quantitativi (misure tal quali e/o rapporti). Tale matrice è sottoposta ad analisi statistica multivariata al fine di individuare una o più funzioni discriminanti che confermino la suddivisione ottenuta su base genetica. In caso di concordanza tra i dati morfologici e genetici, le decisioni tassonomiche sullo status di specie avranno così maggiore supporto e stabilità.

Nella Fig. 1 è schematizzata la metodologia che porta alla corretta caratterizzazione dei parassitoidi raccolti.

IL COMPLESSO DEI NEMICI NATURALI AUTOCTONI DI *D. KURIPHILUS* IN CAMPANIA: RISULTATI PRELIMINARI

Nel corso dei 3 anni del progetto sono state raccolte in Campania diverse migliaia di parassitoidi la cui caratterizzazione è in corso di completamento (Tab. 1; Fig. 2).

Dall'elenco preliminare riportato nella tabella è possibile calcolare quale siano le specie maggiormente rappresentate in Campania nel biennio di riferimento (Tab. 2).

Tab. 1 – Elenco delle specie e della relativa abbondanza raccolte in Campania nel biennio 2008-2009.

Specie	Numero	Identificazione
1	1	<i>Eupelmus sp A</i>
2	45	<i>Eupelmus sp B</i>
3	1	<i>Eurytoma sp A</i>
4	14	<i>Megastigmus sp A</i>
5	1	<i>Megastigmus sp C</i>
6	4	<i>Mesopolobus sp A</i>
7	3	<i>Mesopolobus sp B</i>
8	1	<i>Mesopolobus sp C</i>
9	1	<i>Mesopolobus sp D</i>
10	1	<i>Mesopolobus sp E</i>
11	1	<i>Mesopolobus sp F</i>
12	109	<i>Mesopolobus sp G</i>
13	2	<i>Torymus sp A</i>
14	59	<i>Torymus sp B</i>
15	1	<i>Torymus sp C</i>
16	2	<i>Torymus sp D</i>
17	1	<i>Torymus sp E</i>
18	13	<i>Torymus sp F</i>

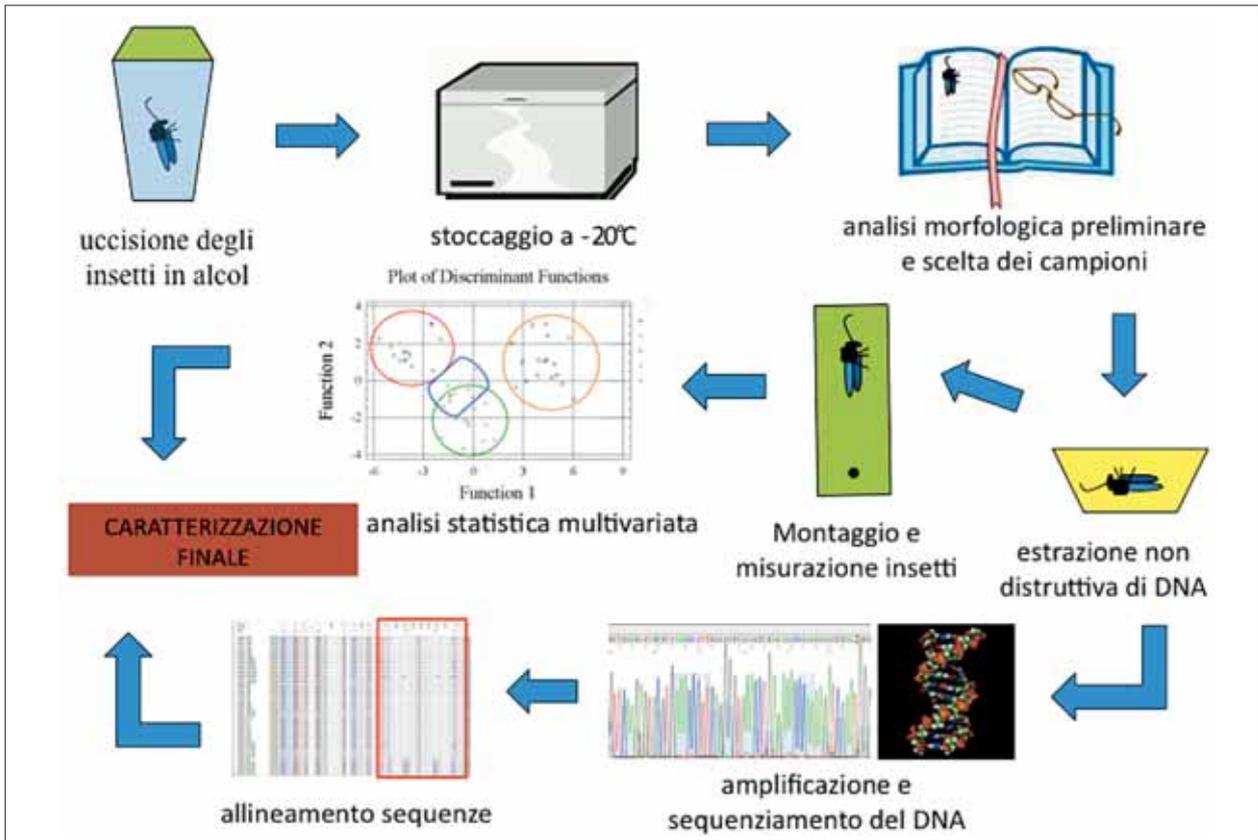


Fig. 1 – Panoramica dei passaggi previsti dall'approccio integrato per la caratterizzazione dei parassitoidi raccolti.

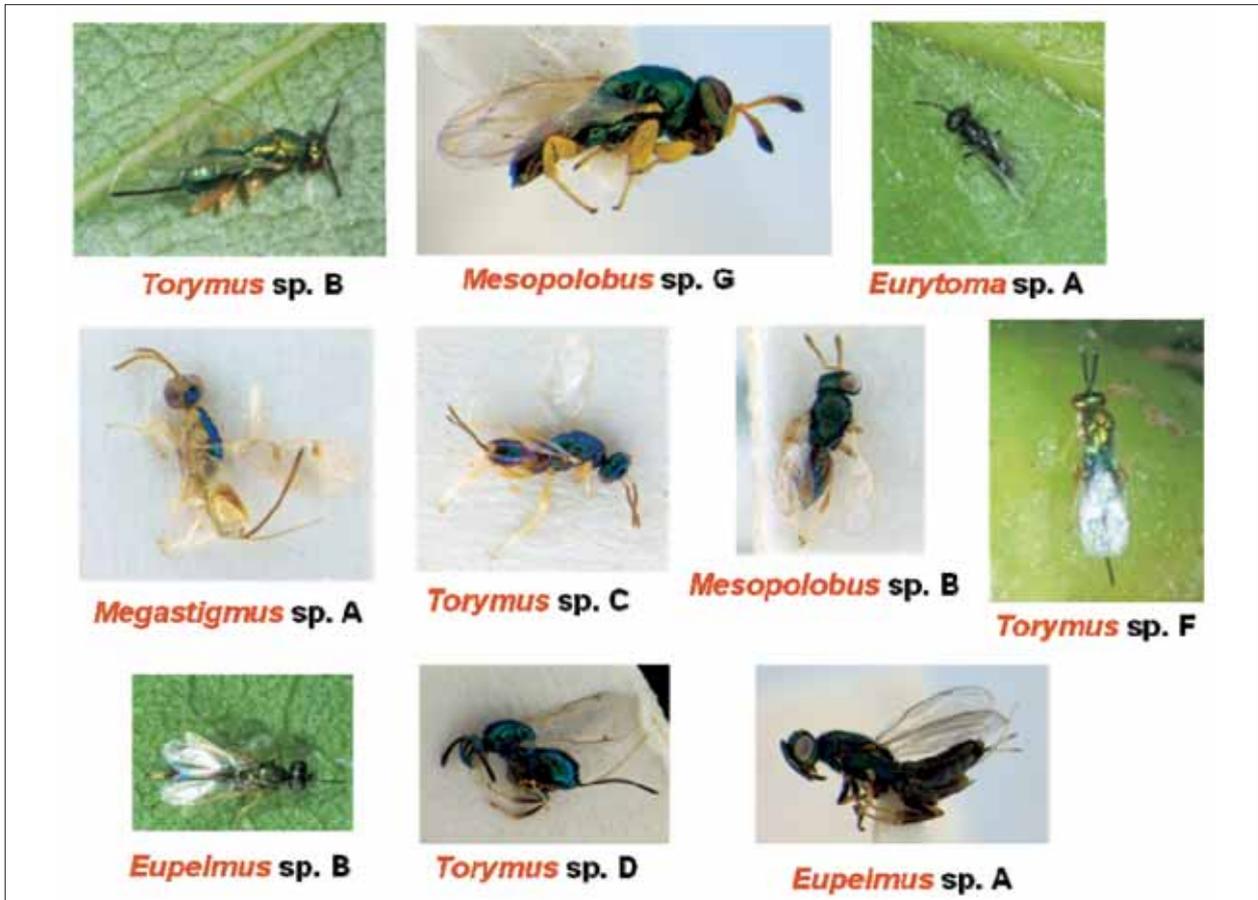


Fig. 2 – Panoramica delle specie di parassitoidi più comuni raccolte in Campania nel biennio 2008-2009.

Tab. 2 – Abbondanza relativa di parassitoidi raccolti in Campania nel biennio 2008-2009.

Specie	Incidenza %
<i>Mesopolobus</i> sp G	42
<i>Torymus</i> sp B	23
<i>Eupelmus</i> sp B	17
<i>Megastigmus</i> sp A	5
<i>Torymus</i> sp F	5
Totale	92

Le analisi integrate hanno permesso di separare specie morfologicamente indistinguibili (Fig. 3). In particolare, la specie *Torymus* sp. B all'analisi molecolare è risultata essere costituita da 2 entità diverse indistinguibili morfologicamente, ma in realtà dis-

criminabili sulla base di accurate misurazioni di caratteri diagnostici, la cui variabilità interspecifica, una volta separati e misurati gli individui appartenenti alle due distinte entità genetiche, risulta essere maggiore e non sovrapposta a quella intraspecifica.

Al contrario, specie morfologicamente diverse, in particolare per la loro colorazione, sono state "raggruppate" sotto un'unica entità tassonomica a seguito dell'analisi molecolare. È questo il caso di *Megastigmus* sp. A e sp. B che sono risultate essere la stessa specie caratterizzata da una elevata variabilità morfologica intraspecifica (Fig. 4).

Infine, dalla caratterizzazione integrata delle specie di parassitoidi raccolte da altri cinipidi, è stato possibile ricostruire alcune catene trofiche e la condivisione di ospiti da parte di specie che gio-

Fig. 3 – "Species-splitting": l'analisi molecolare individua entità nascoste sotto caratteristiche morfologiche simili.

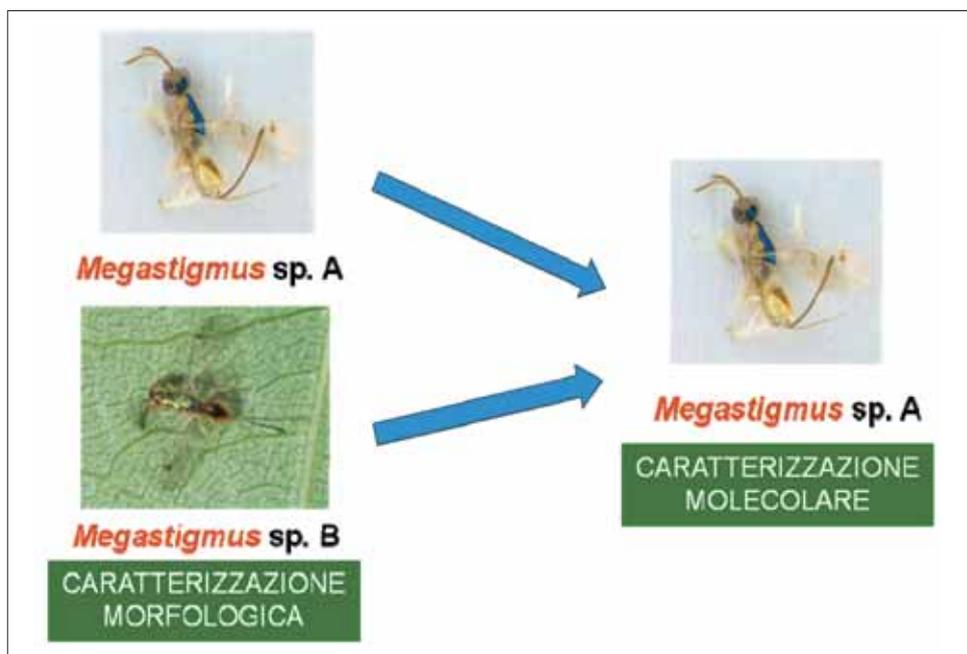
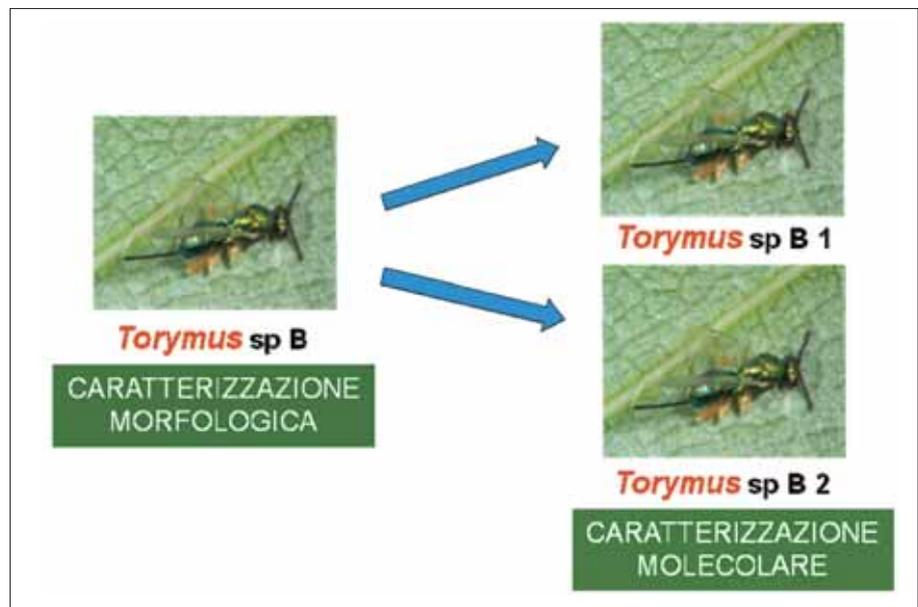


Fig. 4 – "Species lumping": l'analisi molecolare consente di raggruppare sotto un'unica entità tassonomica specie morfologicamente differenti.

cano un ruolo importante nel controllo del cinipide del castagno. Ad esempio *Eurytoma* sp. A è risultato provenire dal cinipide *Andricus kollari* (Hartig) infeudatato sulla quercia (Fig. 5).

Analogamente, *Megastigmus* sp. A è risultato provenire da galle di *Andricus coriarius* (Hartig) sempre su quercia (Fig. 6).

Queste informazioni sono di grande utilità in quanto possono essere utilizzate per ricostruire, in ambienti nei quali il controllo naturale del cinipide del castagno non è efficace, quelle reti trofiche che possano incrementare la biodiversità funzionale.

Ciò può essere realizzato attraverso interventi sul paesaggio quali l'impianto di determinate essenze forestali ai margini dei castagneti. Analogamente, la preservazione dei boschi e delle siepi limitrofi ai campi di castagno può risultare di forte impatto nella preservazione/conservazione del complesso di nemici naturali del cinipide del castagno. In questo senso si sono mossi anche gli Enti regionali attraverso la promulgazione di linee guida atte a potenziare il controllo biologico del *D. kuriphilus* rispetto al controllo chimico, finora rivelatosi del tutto inadeguato.

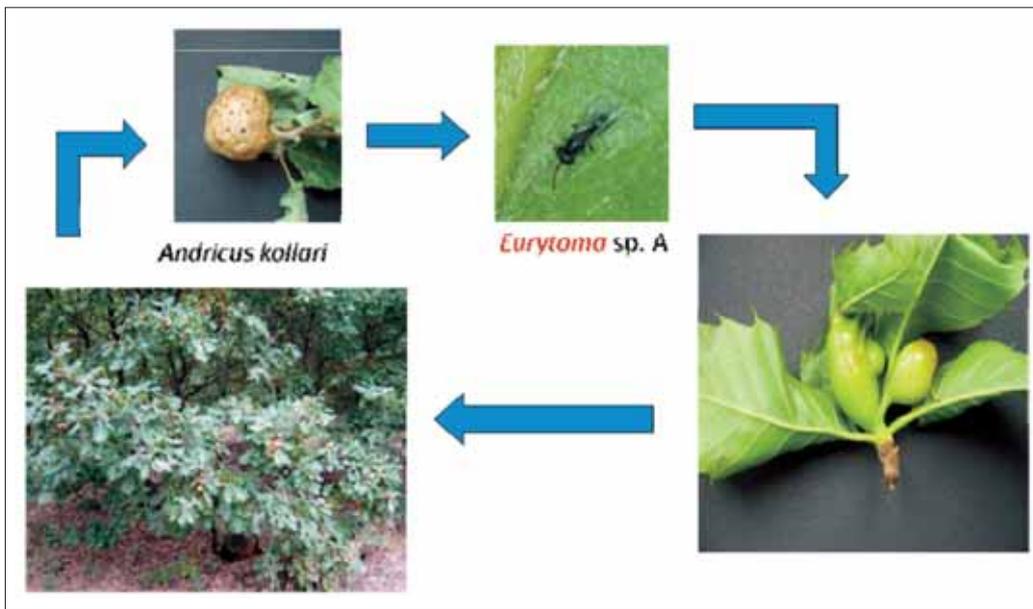


Fig. 5 – Dalla quercia al castagno e viceversa: il caso di *Eurytoma* sp. A

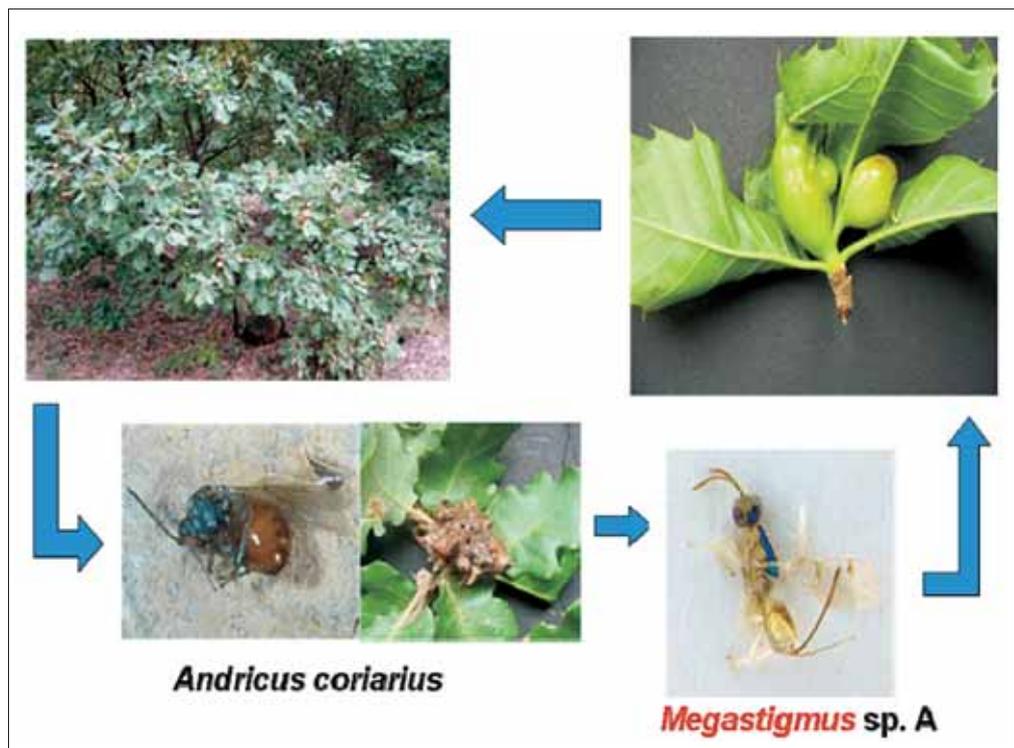


Fig. 6 – Dalla quercia al castagno e viceversa: il caso di *Megastigmus* sp. A

RIASSUNTO

A partire dal 2008, nell'ambito di un progetto triennale finanziato dalla Regione Campania, sono stati raccolti i parassitoidi autoctoni del *Dryocosmus kuriphilus* introdotto accidentalmente in questa regione nel 2005. La caratterizzazione di questi importanti limitatori naturali è avvenuta seguendo un approccio integrato, comprendente: caratterizzazione morfologica, caratterizzazione biologica, caratterizzazione molecolare, caratterizzazione filogenetica. Il materiale raccolto in Campania è stato confrontato con esemplari raccolti in altre zone d'Italia, consentendo di valutare la variabilità intraspecifica delle specie più diffuse. L'approccio integrato, ed in particolare la caratterizzazione molecolare, hanno consentito l'individuazione di specie diverse corrispondenti ad entità morfologiche indistinguibili, così come il raggruppamento di entità morfologicamente diverse sotto un'unica entità tassonomica. Infine, combinando i dati dei parassitoidi raccolti dal cinipide del castagno con quelli relativi alle specie raccolte da cinipidi delle querce, è stato possibile identificare i percorsi trofici che sono alla base dello spostamento di questi importanti limitatori naturali tra querce e castagno.

BIBLIOGRAFIA

- AEBI A., SCHONROGGE K., MELIKA G., ALMA A., BOSIO G., QUACCHIA A., PICCIA L., ABE Y., MORIYA S., YARA K., SELJAK G., STONE G.N., 2006 – *Parasitoid recruitment to the globally invasive chestnut gall wasp Dryocosmus kuriphilus*. In: Ozaki K, Yukwa J, Ohgushi T, Price PW (eds) Ecology and evolution of galling arthropods and their associates. Springer-Verlag, Tokyo, pp 103–121.
- AEBI A., SCHONROGGE K., MELIKA G., QUACCHIA A., ALMA A., STONE G.N., 2007 – *Native and introduced parasitoids attacking the invasive chestnut gall wasp Dryocosmus kuriphilus*. - Bull. OEPP/EPPO 37: 166-171.
- BERNARDO U., MONTI M.M., NAPPO A.G., GEBIOLA M., RUSSO A., PEDATA P.A., VIGGIANI G., 2008 – *Species status of two populations of Pnigalio soemius (Hymenoptera: Eulophidae) reared from two different hosts: An integrative approach*. - Biol. Control, 46: 293-303.
- COOPER W.R., RIESKE L.K., 2007 – *Community associates of an exotic gallmaker, Dryocosmus kuriphilus (Hymenoptera: Cynipidae), in eastern north America*. - Ann. Entomol. Soc. Am. 100: 236-244.
- GEBIOLA M., BERNARDO U., MONTI M.M., NAVONE P., VIGGIANI G. 2009 – *Pnigalio agraulis (Walker) and Pnigalio mediterraneus Ferrière & Delucchi (Hymenoptera: Eulophidae): two closely related valid species*. - J. Nat. Hist., 43: 2465-2480.
- GEBIOLA M., BERNARDO U., BURKS R.A., 2010 – *A reevaluation of the generic limits of Pnigalio Schrank (Hymenoptera: Eulophidae) based on molecular and morphological evidence*. - Zootaxa, 2484: 35-44.
- MURAKAMI Y., 1981 – *The parasitoids of Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Japan and the introduction of a promising natural enemy from China (Hymenoptera: Chalcidoidea)*. - J. Fac. Agric. Kyushu Univ. 25: 167-174.
- NOYES J.S. 1982 – *Collecting and preserving chalcid wasps (Hymenoptera, Chalcidoidea)*. - J. Nat. Hist. 16: 315-334.

CONSIDERAZIONI SULLE ATTUALI CONOSCENZE INERENTI IL CINIPIDE ORIENTALE DEL CASTAGNO

ALBERTO ALMA(*)

(*) DIVAPRA - Entomologia e zoologia applicate all'Ambiente "Carlo Vidano" Università degli Studi di Torino, via L. Da Vinci 44, 10095 Grugliasco (To); alberto.alma@unito.it
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Il Cinipide orientale del castagno". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze - 18 novembre 2010.

Nei contributi scientifici a carattere conoscitivo e applicativo presentati è stato affrontato in modo completo e aggiornato l'importante e preoccupante nuovo problema fitopatologico che grava sulla castanicoltura europea.

Dryocosmus kuriphilus Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae), specie galligena di origine cinese, è considerato l'insetto più nocivo per il castagno a livello mondiale, per la capacità di portare a un rapido deperimento le piante attaccate. Tale deperimento è conseguenza del mancato o ridotto sviluppo dei germogli derivanti da gemme che in primavera, a causa della presenza delle larve del cinipide nei tessuti meristemati, si trasformano in galle. Dopo la prima segnalazione in Piemonte nel 2002, l'insetto si è velocemente diffuso in tutta Italia. Ora ha interessato anche altri Stati europei quali Croazia, Francia (Corsica compresa), Slovenia e Svizzera, dove l'insetto è ormai insediato, e Paesi quali Ungheria e Olanda, dove si hanno segnalazioni di focolai sottoposti a tentativi di eradicazione.

Gli studi condotti sull'etologia e la morfologia dell'adulto hanno permesso di accertare che le femmine sfarfallano con gli ovari già provvisti di uova mature e ricercano immediatamente le gemme ispezionandole con le antenne munite di sensilli tricoidei, placoidei, chetici e celonici. Ogni femmina tamburella la gemma per alcuni secondi per individuare il punto ove inserire l'ovipositore. Al pari di altri Imenotteri l'ovipositore è costituito da tre valve, ma è specializzato per deporre all'interno di tessuti vegetali (gemme). Le valve esterne presentano due tipi di strutture sensoriali che possono essere coinvolte nella percezione di stimoli meccanici, come la differente densità degli strati embrionali della gemma, e chimici, provenienti dagli embrioni fogliari perforati dall'ovipositore. Le valve del terzo paio (che non par-

tecipano alla formazione della terebra) sono caratterizzate dalla presenza di lunghe setole. Questi sensilli possono svolgere un ruolo importante nelle fasi iniziali della discriminazione delle gemme ospiti che precede l'inserimento dell'ovopositore. La dissezione delle gemme con ferita da ovipositore ha evidenziato che le uova sono deposte in gruppo, aderenti con il peduncolo ai peli che ricoprono gli embrioni fogliari.

Gli adulti di *D. kuriphilus* sono attratti dagli odori emessi da *Castanea sativa* Miller a seguito di un danno meccanico. Sono state identificate complessivamente quattordici sostanze, di cui undici sono composti volatili della foglia verde. Le sostanze della miscela attrattiva oppure blend attrattivo sono rappresentate principalmente dagli undici composti volatili della foglia verde oltre che da due terpeni e da un composto aromatico. Tali composti non sono specifici del castagno ma sono stati identificati anche nelle emissioni di altre piante. In natura, il rilascio di tali sostanze potrebbe avvenire attraverso ferite e microlesioni causate da fattori biotici e abiotici. Alcuni composti volatili, inoltre, possono essere emessi come risposta ai cambiamenti fotoperiodici, durante la transizione dalla fase di luce a quella di buio. Le antenne degli adulti di *D. kuriphilus* percepiscono con diverse selettività e sensibilità i composti identificati; tuttavia, non tutte le sostanze attive, misurate con la tecnica elettroantennografica, sono necessarie per l'attrazione, la cui specificità è determinata dal loro rapporto. Studi di laboratorio e di campo sono in corso per individuare una miscela attrattiva ottimale che, opportunamente formulata, potrebbe essere utilizzata come semplice e rapido strumento di monitoraggio e contribuire allo sviluppo di strategie innovative di controllo del cinipide.

Per fronteggiare questa emergenza in particolare in Piemonte sono state attivate linee di ricerca volte a chiarire il rapporto pianta-insetto, utile per sviluppare strategie di miglioramento genetico. I rilievi compiuti su una sessantina di cultivar, provenienti da un vasto areale geografico e sottoposte a infestazione controllata con femmine del cinipide, hanno evidenziato che vi è una notevole variabilità nell'intensità dell'attacco (valutata come numero di galle/gemma) probabilmente in relazione a fattori che rendono la pianta più o meno attrattiva nei confronti dell'insetto. Tuttavia, casi di resistenza sono stati trovati sia tra gli ibridi euro-giapponesi (Bouche de Bétizac), sia nell'ambito del germoplasma di *C. sativa*. Inoltre, circa 1800 semenzali provenienti da diverse aree europee sono stati saggiati per la sensibilità al cinipide. Dodici piante di vigore medio-alto sono risultate prive di galle in tutti gli anni di osservazione e sono state propagate per innesto per essere valutate in condizioni controllate. Se la resistenza sarà confermata, questo materiale potrà essere impiegato a livello forestale e nel miglioramento genetico.

La quantificazione del danno produttivo arrecato da *D. kuriphilus*, fondamentale per definire i livelli economicamente accettabili d'infestazione, è stata condotta per quattro anni consecutivi mettendo in relazione i dati relativi a produzione e infestazione di 20 piante di 'Marsol'. Con queste informazioni è stato realizzato un primo modello di previsione delle variazioni produttive in funzione dell'intensità dell'attacco.

Al fine di individuare le specie di parassitoidi indigeni in grado di passare sul nuovo ospite e di accertarne il potenziale ruolo per il controllo biologico, ricerche sulle diverse biocenosi sono state avviate in numerose regioni italiane recentemente infestate dal cinipide. Sono stati descritti i metodi adottati e presentati i primi risultati delle ricerche condotte in Campania. La caratterizzazione di questi importanti limitatori naturali è avvenuta seguendo un approccio integrato, comprendenti le caratterizzazioni morfologica, biologica, molecolare e filogenetica. Le specie ottenute dalle galle del cinipide orientale del castagno sono state confrontate con esemplari raccolti in altre zone d'Italia, e hanno consentito di valutare la variabilità intraspecifica delle specie più diffuse. L'approccio integrato, e in particolare la caratterizzazione molecolare, hanno consentito l'individuazione di specie diverse corrispondenti a entità morfologiche indistinguibili, così come il raggruppa-

mento di entità morfologicamente diverse sotto un'unica entità tassonomica. Infine, confrontando i dati dei parassitoidi ottenuti dal cinipide del castagno con quelli delle specie sfarfallate dai cinipidi delle querce, è stato possibile identificare i percorsi trofici che sono alla base dello spostamento di questi importanti limitatori naturali tra quercia e castagno.

Diversi tentativi di controllo sono stati sperimentati sia mediante l'utilizzo di varietà resistenti sia mediante prodotti chimici, ma i risultati, fino ad ora, sono stati scarsi. La lotta chimica è fortemente limitata dall'assenza di principi attivi efficaci, dallo sviluppo endofitico degli stadi pre-immaginali del cinipide, dal ruolo di serbatoio d'infestazione svolto dai castagneti cedui, spesso presenti in prossimità di quelli da frutto, e dai problemi legati all'esecuzione dei trattamenti su piante di elevate dimensioni e/o ubicate in terreni acclivi, fattori che aumentano fortemente il rischio di un impatto ambientale negativo.

La risorsa rappresentata dai parassitoidi indigeni, in particolare di cinipidi delle querce, che si stanno adattando al nuovo ospite è importante ma per ora non rappresenta ancora una soluzione per il contenimento delle popolazioni del cinipide che stanno danneggiando i castagneti in Italia e in diversi altri Stati in Europa.

Attualmente, l'unica strada percorribile è rappresentata dalla lotta biologica con il parassitoide *Torymus sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) di origine cinese, già applicata con successo in Giappone e Corea. In Giappone il limitatore naturale, opportunamente introdotto, si è adattato e diffuso sul territorio riducendo in dieci anni la popolazione del cinipide e ora, a distanza di quasi vent'anni, le percentuali delle gemme attaccate sono modeste.

Grazie alla positiva e ben documentata esperienza giapponese, anche in Italia dal 2003 è stato avviato un progetto di lotta biologica, che prevedeva l'introduzione e la diffusione, mediante il metodo propagativo, del parassitoide *T. sinensis*. I risultati ottenuti e l'esperienza maturata in questi anni hanno permesso di realizzare un dettagliato protocollo d'attuazione sulla lotta biologica, che è stato inserito nel "Documento di sintesi" del Piano del Settore Castanicolo 2010-2013 del Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali, con lo scopo di fornire le indicazioni utili per l'ottenimento e la diffusione del parassitoide, al fine di favorire e ottenere nel più breve tempo

possibile, compatibilmente con la bio-etologia di *T. sinensis*, il ristabilimento dell'equilibrio biologico alterato dall'accidentale introduzione di *D. kuriphilus*.

Il protocollo proposto considera tutte le fasi dalla scelta iniziale del sito all'insediamento di *T. sinensis*, senza tralasciare gli eventuali rischi derivanti dall'introduzione di una specie esotica. Infatti, eventuali rischi sono da ricercarsi nell'alterazione degli equilibri delle biocenosi

indigene che caratterizzano il variegato e complesso mondo dei cinipidi galligeni e nel pericolo d'ibridizzazione con specie indigene affini. I risultati preliminari finora ottenuti non hanno mai evidenziato fenomeni d'ibridizzazione o attività su organismi non bersaglio; rimane comunque importante proseguire gli studi ampliando il campo di ricerca e seguendo le evoluzioni delle biocenosi potenzialmente interessate.

