

ATTI
DELLA
ACCADEMIA
NAZIONALE ITALIANA
DI ENTOMOLOGIA

RENDICONTI

Anno LIX

2011



CEREBRO FAVCIBVS VTERO
AB ORBIS ORIGINE
TENENT

ISSN 0065-0757

Direttore Responsabile: *Prof. Romano Dallai*

Presidente Accademia Nazionale Italiana di Entomologia

Coordinatore della Redazione: *Dr. Roberto Nannelli*

La responsabilità dei lavori pubblicati è esclusivamente degli autori
Registrazione al Tribunale di Firenze n. 5422 del 24 maggio 2005

INDICE

Rendiconti

Consiglio di Presidenza	Pag. 5
Elenco degli Accademici	» 6
Verbali delle adunanze del 18-19 febbraio 2011	» 9
Verbali delle adunanze del 13 giugno 2011	» 15
Verbali delle adunanze del 18-19 novembre 2011	» 20

Commemorazioni

GIUSEPPE OSELLA – <i>Sandro Ruffo: uomo e scienziato. Ricordi di un collaboratore</i>	» 29
FRANCESCO PENNACCHIO – <i>Ermenegildo Tremblay</i>	» 35
STEFANO MAINI – <i>Giorgio Celli (1935-2011)</i>	» 51

Tavola rotonda su:

L'ENTOMOLOGIA MERCEOLOGICA PER LA PREVENZIONE E LA LOTTA CONTRO GLI INFESTANTI NELLE INDUSTRIE ALIMENTARI

VACLAV STEJSKAL – <i>The role of urban entomology to ensure food safety and security</i>	» 69
PIERO CRAVEDI, LUCIANO SÜSS – <i>Sviluppo delle conoscenze in Italia sugli organismi infestanti in post-raccolta: passato, presente, futuro</i>	» 75
PASQUALE TREMATERRA – <i>Riflessioni sui feromoni degli insetti infestanti le derrate alimentari</i>	» 83
AGATINO RUSSO – <i>Limiti e prospettive delle applicazioni di lotta biologica in post-raccolta</i>	» 91
GIACINTO SALVATORE GERMINARA, ANTONIO DE CRISTOFARO, GIUSEPPE ROTUNDO – <i>Attività biologica di composti volatili dei cereali verso Sitophilus spp.</i>	» 101
MICHELE MAROLI – <i>La contaminazione entomica nella filiera degli alimenti di origine vegetale: controllo igienico sanitario e limiti di tolleranza</i>	» 107

Giornata culturale su:

EVOLUZIONE ED ADATTAMENTI DEGLI ARTROPODI CONTRIBUTI DI BASE ALLA CONOSCENZA DEGLI INSETTI

ANTONIO CARAPELLI, FRANCESCO NARDI, ROMANO DALLAI, FRANCESCO FRATI – <i>La filogenesi degli esapodi basali, aspetti controversi e recenti acquisizioni</i>	» 119
ALESSANDRO MINELLI – <i>I segmenti degli artropodi, tra evoluzione e sviluppo</i>	» 133
MARCO A. BOLOGNA, ANDREA DI GIULIO – <i>Biological and morphological adaptations in the pre-imaginal phases of the beetle family Meloidae</i>	» 141
MARIO SOLINAS – <i>Cephalic structures and special feeding habits in larvae of Cecidomyiidae (Insecta, Diptera): biodiversity, evolution and ecology in action</i>	» 153

Tavola rotonda su:

STRUTTURA E FUNZIONI DEI TUBULI MALPIGHIANI DEGLI INSETTI

ROMANO DALLAI – <i>Gli organi escretori degli insetti</i>	» 169
BARBARA GIORDANA – <i>Lo studio del ruolo dei Tubuli Malpighiani</i>	» 179
MORENA CASARTELLI – <i>I Tubuli Malpighiani nei processi di detossificazione e difesa</i>	» 183
MARIA GIOVANNA LEONARDI – <i>Strutture cellulari e molecolari dei Tubuli Malpighiani coinvolte nella ione- e osmoregolazione</i>	» 189
BARBARA CONTI, FABIOLA GIUSTI, DAVID MERCATI, MARCO GOTTARDO, ROMANO DALLAI – <i>Le funzioni complementari e alternative dei Tubuli Malpighiani degli insetti</i>	» 193

ANNO ACCADEMICO

2011

CONSIGLIO DI PRESIDENZA

PRESIDENTE

DALLAI Prof. Dott. Romano

VICE-PRESIDENTE

GIORDANA Prof. Dott.sa Barbara

SEGRETARIO

CRAVEDI Prof. Dott. Piero

TESORIERE

NANNELLI Dott. Roberto

ELENCO DEGLI ACCADEMICI

ACCADEMICI EMERITI

ARZONE Prof. Dott. Alessandra	– Torino	1984
BOLCHI SERINI Prof. Dott. Graziella	– Milano	1986 - 2003
BRIOLINI Prof. Dott. Giovanni	– Bologna	1977 - 1982
CELLI Prof. Dott. Giorgio (*)	– Bologna	1978 - 1989
CONCI Prof. Dott. Cesare (**)	– Milano	1969 - 1972
FRILLI Prof. Dott. Franco	– Udine	1978 - 1982
GALVAGNI Dott. Antonio	– Rovereto (TN)	- 2007
MASUTTI Prof. Dott. Luigi	– Padova	1972 - 1977
MELLINI Prof. Dott. Egidio	– Bologna	1962 - 1972
MONACO Prof. Dott. Raffaele	– Bari	1985
OSELLA Prof. Dott. Giuseppe Bartolomeo	– L'Aquila	1983 - 1997
MINEO Prof. Dott. Giovanni	– Palermo	1986
PEGAZZANO Prof. Dott. Fausta	– Firenze	1986 - 2005
PRINCIPI Prof. Dott. Maria Matilde	– Bologna	1953 - 1960
RIVOSCHI Prof. Dott. Leo	– Roma	1987 - 2003
SOLINAS Prof. Dott. Mario	– Perugia	1978
ZANGHERI Prof. Dott. Sergio	– Padova	1970 - 1977

ACCADEMICI ORDINARI

BARBAGALLO Prof. Dott. Sebastiano	– Catania	1982
BIN Prof. Dott. Ferdinando	– Perugia	1998 - 2002
BOLOGNA Prof. Marco	– Roma	2001 - 2008
BONVICINI PAGLIAI Prof. Dott. Anna	– Modena	1983 - 2001
BULLINI Prof. Dott. Luciano	– Roma	1986
CASALE Prof. Dott. Achille	– Sassari	1996 - 2002
COVASSI Dott. Marco Vittorio	– Firenze	1983 - 1997
CRAVEDI Prof. Dott. Piero	– Piacenza	1999 - 2005
DALLAI Prof. Dott. Romano	– Siena	1979 - 1982
DELRIO Prof. Dott. Gavino	– Sassari	1989 - 2000
GIORDANA Prof. Dott. Barbara	– Milano	1997 - 2003
GIROLAMI Prof. Dott. Vincenzo	– Padova	1993 - 2004
LONGO Prof. Dott. Santi	– Catania	1993 - 2000
MALVA Dott. Carla	– Napoli	2001
MAROLI Prof. Dott. Michele	– Roma	2003 - 2010
MAZZINI Prof. Dott. Massimo	– Viterbo	2000
MINELLI Prof. Dott. Alessandro	– Padova	1986 - 1993
NANNELLI Dott. Roberto	– Firenze	1998 - 2005
NUZZACI Prof. Dott. Giorgio	– Bari	1988 - 1994
PENNACCHIO Prof. Dott. Francesco	– Napoli	2001 - 2007
POGGI Dott. Roberto	– Genova	1989 - 1999
RAGUSA DI CHIARA Prof. Dott. Salvatore	– Palermo	1993 - 2000
ROTUNDO Prof. Dott. Giuseppe	– Campobasso	1999 - 2010

(*) † 11 giugno 2011.

(**) † 10 maggio 2011.

ROVERSI Prof. Pio Federico	- Firenze	2008
SANTINI Prof. Dott. Luciano	- Pisa	1993 - 2000
SBORDONI Prof. Dott. Valerio	- Roma	1986
SÜSS Prof. Dott. Luciano	- Milano	1987 - 1993
TRANFAGLIA Prof. Dott. Antonio	- Potenza	1993 - 1999
TURILLAZZI Prof. Dott. Stefano	- Firenze	1989 - 2000
VIGNA TAGLIANTI Prof. Dott. Augusto	- Roma	1986 - 1994

ACCADEMICI ONORARI

ALBERTI Prof. Gerd	- Greifswald (Germania)	2005
ALTIERI Prof. Miguel Angel	- Berkeley (California, USA)	2004
BOUČEK Dott. Zdenek	- Praga (Repubblica Ceca)	2003
DELUCCHI Prof. Dott. Vittorio	- Zurigo (Svizzera)	1998
HARRIS Dott. Keit Murray	- Ripley, Woking (U.K.)	2002
HODEK Prof. Dott. Ivo	- České Budejovice (Repubblica Ceca)	1986
LENTEREN Prof. Dott. Johan Coert van	- Wageningen (Olanda)	2006
STROYAN Dott. Henry L.G.	- Harpenden (U.K.)	1998
TAUTZ Prof. Dott. Jürgen	- Würzburg (Germania)	2006
WILSON Prof. Edward O.	- Birmingham (Alabama, USA)	2011

ACCADEMICI STRAORDINARI

ALMA Prof. Dott. Alberto	- Torino	2007
AUDISIO Prof. Paolo Aldo	- Napoli	2004
BARONIO Prof. Piero	- Bologna	2001
BATTISTI Prof. Andrea	- Padova	2010
BINAZZI Dott. Andrea	- Firenze	1998
BRANDMAYR Prof. Dott. Pietro	- Rende (CS)	2005
COBOLLI Prof. Marina	- Roma	2001
COLUZZI Prof. Dott. Mario	- Roma	1986
DE LILLO Prof. Dott. Enrico	- Bari	2011
DE MARZO Prof. Dott. Luigi	- Potenza	2007
DACCORDI Dott. Mauro	- Verona	1990
FAUSTO Prof. Dott. Anna Maria	- Viterbo	2011
FLORIS Prof. Dott. Ignazio	- Sassari	2011
GASPERI Prof. Dott. Giuliano	- Pavia	2005
LUCIANO Prof. Dott. Pietro	- Sassari	2009
MAINI Prof. Dott. Stefano	- Bologna	2005
MASSA Prof. Dott. Bruno	- Palermo	2011
OLMI Prof. Dott. Massimo	- Viterbo	2002
PELLIZZARI Prof. Dott. Giuseppina	- Padova	2011
RAPISARDA Prof. Dott. Carmelo	- Catania	2005
RUSSO Prof. Dott. Agatino	- Catania	2011
TRIGGIANI Prof. Oreste	- Bari	2001
VANNINI Prof. Dott. Marco	- Firenze	2003

Bianca

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 18 - 19 FEBBRAIO 2011

Presiede il Presidente prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

SEDUTA PUBBLICA

Venerdì 18 febbraio 2011 alle ore 15.00, presso la propria sede in Via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta pubblica.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI;

Straordinari: A. ALMA, P. BARONIO, A. BATTISTI, A. BINAZZI, P. BRANDMAYR, P. LUCIANO, S. MAINI, C. RAPISARDA, O. TRIGGIANI.

Alla Seduta pubblica sono presenti anche numerosi ricercatori e studiosi ospiti dell'Accademia.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, L. MASUTTI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, S. ZANGHERI; *Ordinari:* A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, M. MAZZINI, A. MINELLI, R. POGGI, L. SANTINI, V. SBORDONI, A. VIGNA TAGLIANTI; *Straordinari:* P.A. AUDISIO, M. COBOLLI, M. DACCORDI, G. GASPERI, C. MALVA, M. VANNINI.

Il tema della Tavola Rotonda verte su:

*L'Entomologia merceologica per la prevenzione
e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari*

Il Presidente Romano DALLAI, prima di iniziare i lavori, ricorda la recente scomparsa del Presidente Emerito Baccio BACCETTI e invita i presenti a osservare un minuto di raccoglimento.

Quindi apre la Seduta pubblica e invita l'Accademico Luciano SÜSS a coordinare i lavori.

– Accademico Luciano SÜSS: *Introduzione*

Si susseguono gli interventi:

- Dott. Vaclav STEJSKAL (Crop Research Institute, Praga): *The role of urban entomology to ensure food safety and security.*
- Accademico Piero CRAVEDI: *Sviluppo delle conoscenze in Italia sugli organismi infestanti in post-raccolta: passato, presente, futuro.*
- Prof. Pasquale TREMATERRA (Università degli Studi del Molise): *Riflessioni sui feromoni degli insetti infestanti le derrate.*
- Prof. Agatino RUSSO (Università degli Studi di Catania): *Limiti e prospettive delle applicazioni di lotta biologica in post-raccolta.*
- Dott. Giacinto Salvatore GERMINARA (Università degli Studi di Foggia): *Attività biologica di composti volatili dei cereali verso Sitophilus spp..*
- Accademico Michele MAROLI: *La contaminazione entomologica nella filiera degli alimenti di origine vegetale: controllo sanitario e limiti di tolleranza.*

Segue un'interessante discussione, al termine della quale la Seduta si conclude alle ore 18.00. I testi delle relazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2011 dell'Accademia.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente Prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario Prof. Piero CRAVEDI

Sabato 19 febbraio 2011 alle ore 10.00, presso la propria sede in Via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea ordinaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: G. BRIOLINI, L. MASUTTI, M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI; A. VIGNA TAGLIANTI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, F. FRILLI, A. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI; S. ZANGHERI; *Ordinari:* A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, M. MAZZINI, A. MINELLI.

Prima di iniziare i lavori dell'Assemblea il Presidente ricorda la recente scomparsa del Presidente Emerito Baccio BACCETTI e invita i presenti a osservare un momento di raccoglimento.

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (20 novembre 2010)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Esame e approvazione conto consuntivo anno finanziario 2010
- 4) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE DEL VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (20 NOVEMBRE 2010)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 20 novembre 2010, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che:

- il Consiglio di Presidenza nella seduta del 18/01/11, riconosciutane la piena validità, ha unanimemente accolto la richiesta dell'Accademico Ordinario Raffaele MONACO, di poter anticipare il proprio passaggio nella categoria degli Emeriti, ai sensi dell'Art. 8 dello Statuto, in considerazione delle sue precarie condizioni di salute che non gli consentono la normale partecipazione alla vita ordinaria dell'Accademia;
- a norma dell'Art. 7 del regolamento, la disponibilità di posti nelle diverse categorie di Accademici al 30 aprile 2011 è la seguente:
 - per Accademico Ordinario: posti liberi 9 (8 provenienti dall'entrata in vigore del nuovo

Statuto, e 1 dal menzionato passaggio nella categoria degli Emeriti dell'Accademico Ordinario MONACO;

- per Accademico Onorario posti liberi 1;
- per Accademico Straordinario posti liberi 12 o 13 (10 provenienti dall'entrata in vigore del nuovo Statuto, 2 dal passaggio ad Accademici Ordinari degli ex Straordinari Michele MAROLI e Giuseppe ROTUNDO, e 1 condizionato all'arrivo entro il 30/04/11 della nomina ad Accademico Ordinario della neoeletta Carla MALVA.

3) ESAME E APPROVAZIONE CONTO CONSUNTIVO ANNO FINANZIARIO 2010

Il Presidente invita il Tesoriere Roberto NANNELLI a presentare il Conto consuntivo per l'anno finanziario 2010. Il Tesoriere Roberto Nannelli comunica che il giorno 8 febbraio scorso si è riunito il Collegio dei Revisori dei conti dell'Accademia ed ha espresso parere favorevole sia per il Bilancio preventivo 2011, che era stato presentato con riserva nell'Assemblea del 20 novembre 2010, sia per il Conto consuntivo 2010 che viene quindi dettagliatamente illustrato per la discussione e l'approvazione.

Il Tesoriere evidenzia la modesta entità delle risorse economiche disponibili per la vita dell'Accademia ed esorta tutti ad un maggiore impegno per incrementare le attività che possano portare nuove risorse.

Non essendovi richieste di ulteriori chiarimenti il Presidente pone in votazione il Conto consuntivo per l'anno finanziario 2010, che viene approvato all'unanimità e che verrà conservato agli atti.

4) VARIE ED EVENTUALI

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Stefano TURILLAZZI evidenzia l'importanza di aumentare la visibilità delle attività dell'Accademia tramite il sito web e mediante comunicati alla stampa. Segue una breve discussione da cui emerge l'opportunità di proseguire nella riflessione su possibili iniziative da avviare.

La seduta dell'Assemblea Ordinaria è tolta alle ore 10.50.

SEDUTA PUBBLICA

Alle ore 11.00 il Presidente prof. Romano DALLAI dichiara aperta la Seduta pubblica.

Prima di iniziare i lavori dell'Assemblea il Presidente ricorda la recente scomparsa del Presidente Emerito Baccio BACCETTI e invita i presenti a osservare un momento di raccoglimento.

Oltre agli Accademici presenti all'Assemblea Ordinaria partecipano anche gli Accademici Straordinari e studiosi e ricercatori ospiti dell'Accademia.

Il Presidente Romano DALLAI dà la parola all'Accademico ordinario Giuseppe OSELLA per la commemorazione dell'Accademico emerito Sandro RUFFO.

Il testo della commemorazione verrà pubblicato sugli Atti-Rendiconti dell'Accademia 2011.

La Seduta pubblica si conclude alle ore 12.00.

ASSEMBLEA PLENARIA

Alle ore 12.00 il Presidente Romano DALLAI apre la Assemblea plenaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: G. BRIOLINI, L. MASUTTI, M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI; A. VIGNA TAGLIANTI;

Straordinari: A. ALMA, P. BARONIO, A. BATTISTI, A. BINAZZI, P. BRANDMAYR, M. COBOLLI, P. LUCIANO, S. MAINI, C. RAPISARDA, O. TRIGGIANI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, F. FRILLI, A. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI; S. ZANGHERI; *Ordinari:* A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, M. MAZZINI, A. MINELLI; *Straordinari:* P.A. AUDISIO, G. GASPERI, C. MALVA, M. VANINI.

Prima di iniziare i lavori dell'Assemblea il Presidente ricorda la recente scomparsa del Presidente Emerito Baccio BACCETTI e invita i presenti a osservare un momento di raccoglimento.

Viene discusso il seguente O.d.g:

- 1) Approvazione dei verbali delle sedute precedenti (19-20 novembre 2010);
- 2) Comunicazioni del Presidente;
- 3) Proclamazione e consegna Diploma al nuovo Accademico Straordinario: Andrea BATTISTI;
- 4) Fauna d'Italia;
- 5) XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Genova, 13-16 giugno 2011);
- 6) Premio "Marco Osella 2010";
- 7) Varie ed eventuali.

1) APPROVAZIONE DEI VERBALI DELLE SEDUTE PRECEDENTI (19-20 NOVEMBRE 2010)

Viene esaminato il Verbale dell'Assemblea plenaria del 20 novembre 2010 e delle Sedute pubbliche del 19 e 20 novembre 2010, già inviati a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici. I Verbali vengono approvati all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che la comunità scientifica si è compattamente espressa negativamente alla notizia relativa all'approvazione del progetto per le biotecnologie sostenibili (Geneticamente) della fondazione Diritti Genetici. L'iniziativa viene giudicata priva di garanzie di qualificazione essendo sorta al di fuori dei sistemi di valutazione scientifica. L'Accademia si è associata alle proteste della comunità scientifica italiana con un apposito comunicato.

Il Presidente comunica inoltre che la nota sulla legislazione riguardante le introduzioni di antagonisti naturali, predisposta dall'apposito gruppo di lavoro, è stata inviata in data 18 gennaio 2011 secondo quanto approvato nell'Assemblea plenaria del 20 novembre 2010 al Ministero delle politiche Agricole, Alimentari e Forestali e al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare.

Il Presidente invita l'Accademico Roberto NANNELLI, Responsabile ufficiale, a riferire sull'attività editoriale dell'Accademia.

L'Accademico NANNELLI rende noto che:

- a) è stata attivata la procedura per la comunicazione al Tribunale di Firenze della variazione del Direttore responsabile delle pubblicazioni dell'Accademia che come da Statuto è il Presidente nella sua veste anche di Legale rappresentante;
- b) a riguardo delle pubblicazioni relative al 2010 è in programma la consueta realizzazione del volume degli Atti-Rendiconti, che comprenderà anche la lettura dell'Accademico Luigi DE MARZO sulla figura dei "Due illustri entomologi. Giorgio Fiori e Vincenzo Lupo" e la preparazione di una o due monografie che dovrebbero comprendere i contributi delle Giornate culturali.

Sono già pervenuti i testi delle Giornate culturali di febbraio e giugno 2010 dedicate agli Entomocidi mentre ancora non è pervenuto nessun contributo a riguardo della Giornata culturale di novembre dedicata al Cinipide del Castagno. Viene quindi invitato il Coordinatore della Giornata a sollecitare i relatori a fornire il testo da pubblicare.

Su invito del Presidente l'Accademico Francesco PENNACCHIO comunica che:

- il programma scientifico 2011 del PhD Network in "Insect Science" è in fase di definizione e verrà reso pubblico entro il mese di marzo. Per quanto riguarda il prossimo Annual Meeting, si conferma

che verrà tenuto a Tours (Francia). I colleghi del posto stanno ricevendo un buon supporto economico e logistico, che consentirà di ridurre notevolmente le spese di partecipazione degli studenti.

L'Accademico Roberto NANNELLI, su invito del Presidente illustra il programma di attività per il prossimo triennio.

Anno 2011

Nell'anno 2011, oltre alla Tavola Rotonda su *“L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari”* del 18 febbraio è previsto:

- 13 maggio: Giornata Culturale coordinata dagli Accademici Romano DALLAI e Stefano TURILLAZZI su: *«Evoluzione e adattamenti degli Artropodi; contributi di base alla conoscenza degli Insetti»* (sede, Dipartimento Biologia Evoluzionistica “Leo Pardi”, Univ. Firenze e Museo de “La Specola”, Firenze);
- 13-16 giugno: Genova *«XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia»*;
- 7 ottobre: Giornata di studio in onore dell'Accademico Ermenegildo TREMBLAY proposta dall'Accademico Francesco PENNACCHIO su: *«Interazioni simbiotiche e antagonistiche negli insetti»* (sede Facoltà di Agraria, Università degli studi di Napoli “Federico II”, Portici, Napoli)
- 18 novembre: Giornata di studio coordinata dagli Accademici Romano DALLAI e Barbara GIORDANA su: *«Struttura e funzione dei Tubuli Malpighiani. Contributi alla conoscenza dei meccanismi di controllo funzionale interno, per la messa a punto di strategie alternative di lotta agli insetti nocivi»* (sede Accademia, Firenze, Via Lanciola 12/A).

Anno 2012

Per l'anno 2012, in coincidenza con le Assemblee annuali dell'Accademia, risultano già programmate le seguenti attività:

- 17 febbraio: Tavola Rotonda coordinata dall'Accademico Carmelo RAPISARDA su: *«La Tignola del Pomodoro, Tuta absoluta (Meyrick)»*;
- 18 febbraio: Lettura dell'Accademico Onorario Miguel ALTIERI su: *«Management of invasive species in the frame of an agro-ecological vision: the case study of Tuta absoluta (Meyrick)»* (sede Accademia, Firenze, Via Lanciola 12/A);
- 8 giugno: Tavola Rotonda coordinata dagli Accademici Francesco PENNACCHIO e Barbara GIORDANA su: *«Il controllo degli insetti su base biologica - Bioinsetticidi naturali e loro rilascio»* (sede Accademia, Firenze, Via Lanciola 12/A);
- 16 novembre: Tavola Rotonda coordinata dall'Accademico Piero CRAVEDI su: *«La resistenza agli insetticidi»* (sede Accademia, Firenze, Via Lanciola 12/A).

Anno 2013

Per il 2013 sono previste finora due giornate culturali in concomitanza con le Assemblee di febbraio e novembre, oltre il XXIV Congresso Nazionale italiano di Entomologia con sede e data da definire.

L'Accademico Gavino Delrio, chiesta e ottenuta la parola, comunica che il prestigioso *«Premio dei Premi per l'Innovazione Universitaria»* per il 2009 (con un contributo finanziario di 60.000 Euro) è stato assegnato e consegnato dal Presidente della Repubblica Giorgio Napolitano (Quirinale, 8/06/2010) ad un ricercatore (dott. Luca Ruiu) della Sezione di Entomologia del Dipartimento di Protezione delle Pianta dell'Università di Sassari, in competizione con ricercatori di vari settori scientifico disciplinari (Medicina, Scienze della Vita, Biotecnologie, Ingegneria, ICT, etc.) delle principali Università italiane e di altre Istituzioni di Ricerca internazionali. Le ricerche premiate, condotte in collaborazione con le Università Statunitensi di Berkeley, Stanford e Santa Clara, hanno portato alla scoperta di un ceppo batterico entomopatogeno agente di controllo biologico della mosca domestica.

Dette ricerche sono alla base di uno “Spin Off” (Bioecopest) per la ricerca e lo sviluppo di agenti di controllo biologico di insetti nocivi, sostenuto dall'Università degli Studi di Sassari, presso il Parco Scientifico e Tecnologico della Sardegna.

3) PROCLAMAZIONE E CONSEGNA DIPLOMA AL NUOVO
ACCADEMICO STRAORDINARIO ANDREA BATTISTI

Il Presidente consegna il diploma di Accademico Straordinario al Prof. Andrea BATTISTI.
L'Assemblea si congratula con il neo-Accademico, accogliendolo con un caloroso applauso.

4) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente DALLAI, l'Accademico Augusto VIGNA TAGLIANTI, Presidente del comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, riferisce che non vi è nulla di nuovo da segnalare rispetto alla situazione illustrata nell'Assemblea del 20 novembre 2010.

5) XXIII CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA (GENOVA 13-16 GIUGNO 2011)

L'Accademico Roberto POGGI, invitato dal Presidente a prendere la parola, riferisce sullo stato organizzativo del XXIII CNIE.

Egli comunica in particolare che, nel rispetto dei tempi previsti, i 275 riassunti pervenuti alla Segreteria del Congresso sono stati tutti trasmessi in esame ai 33 colleghi componenti il Comitato Scientifico, i quali entro breve dovrebbero riferire sull'accettazione dei singoli lavori e sulle modalità della loro presentazione (comunicazione orale o poster).

Come già concordato, nel corso del Congresso i lavori procederanno in sessioni parallele; inoltre si terranno tre letture plenarie ed una serie di riunioni e tavole rotonde proposte da alcuni dei partecipanti. Nel pomeriggio di lunedì 13 giugno ci sarà spazio, come di consueto, per le Assemblee dell'Accademia in ambito congressuale, nel corso della quale l'Accademico Francesco PENNACCHIO commemorerà l'Accademico emerito Ermenegildo TREMBLAY. La sera dello stesso giorno il Congresso si aprirà al pubblico genovese con la collaborazione degli Accademici Luciano SÜSS e Santi LONGO che tratteranno il tema degli "Insetti in città".

Il programma dettagliato verrà pubblicato sul sito: entomologia2011@comune.genova.it, non appena verranno definiti i tempi delle relazioni e delle riunioni.

6) PREMIO OSELLA 2010

L'Accademico Marco Vittorio COVASSI, Presidente dell'apposita commissione giudicatrice, su invito del Presidente Romano DALLAI riferisce che la Commissione, composta dagli Accademici Stefano TURILLAZZI e Pio Federico ROVERSI (Segretario) ha concluso i lavori il 1 febbraio 2011. Dopo aver attentamente valutato la domanda e la documentazione presentata dall'unico candidato, dott. Fabio SGOLASTRA, la Commissione, dopo accertamento del possesso dei requisiti di partecipazione e l'accurato esame dei titoli presentati, ha ritenuto il dott. SGOLASTRA pienamente meritevole dell'assegnazione del "Premio Marco Osella 2010".

L'Accademico Marco Vittorio COVASSI legge la motivazione della concessione del Premio.

Il Presidente proclama il dott. Fabio SGOLASTRA vincitore del "Premio Osella 2010" e gli consegna il relativo diploma, unitamente all'assegno come contributo per le spese di partecipazione al XXIII CNIE.

L'Accademia si congratula con il vincitore accogliendolo con un caloroso applauso.

7) VARIE ED EVENTUALI

Nessuna

La Seduta dell'Assemblea plenaria è tolta alle ore 13:00.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 13 GIUGNO 2011

Presiede il Presidente prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

SEDUTA PUBBLICA

Lunedì 13 giugno 2011 alle ore 18:00, a Genova presso il Museo Civico di Storia Naturale “G. Doria”, Via Brigata Liguria 9, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta Pubblica.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: A. ARZONE, F. FRILLI, L. MASUTTI.

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A. CASALE, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, S. LONGO, C. MALVA, M. MAROLI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Straordinari: A. ALMA, P.A. AUDISIO, A. BATTISTI, P. BRANDMAYR, M. COBOLLI, P. LUCIANO, C. RAPISARDA.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* G. BRIOLINI, A. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M. M. PRINCIPI, M. SOLINAS. *Ordinari:* M.V. COVASSI, B. GIORDANA, M. MAZZINI. *Straordinari:* P. BARONIO, G. GASPERI, S. MAINI.

Alla Seduta pubblica sono presenti anche numerosi ricercatori e studiosi ospiti dell'Accademia e convenuti a Genova in occasione del XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia.

Prima di iniziare i lavori il Presidente Romano DALLAI ricorda la recente scomparsa degli Accademici Emeriti Cesare CONCI e Giorgio CELLI e invita i presenti a osservare un momento di raccoglimento.

Il Presidente Romano DALLAI dà la parola all'Accademico ordinario Francesco PENNACCHIO per la commemorazione dell'Accademico emerito Ermenegildo TREMBLAY.

L'Assemblea accoglie con viva partecipazione il caloroso discorso sull'illustre Scomparso presentato dal discepolo che degnamente ed affettuosamente lo commemora.

Il testo della commemorazione verrà pubblicato sugli Atti-Rendiconti dell'Accademia 2011.

La Seduta pubblica si conclude alle ore 18:30.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA PLENARIA

Alle ore 18:30 il Presidente Romano DALLAI apre l'Assemblea plenaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: A. ARZONE, F. FRILLI, L. MASUTTI.

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A. CASALE, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, S. LONGO, C. MALVA, M. MAROLI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Straordinari: A. ALMA, P.A. AUDISIO, A. BATTISTI, P. BRANDMAYR, M. COBOLLI, P. LUCIANO, C. RAPISARDA.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti*: G. BRIOLINI, A. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M. M. PRINCIPI, M. SOLINAS. *Ordinari*: M.V. COVASSI, B. GIORDANA, M. MAZZINI. *Straordinari*: P. BARONIO, G. GASPERI, S. MAINI.

In apertura dei lavori, il Presidente invita i presenti ad un minuto di raccoglimento in memoria degli Accademici Cesare CONCI e Giorgio CELLI recentemente deceduti.

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione verbale sedute precedenti (18 e 19 febbraio 2011);
- 2) Comunicazioni del Presidente;
- 3) Fauna d'Italia;
- 4) Consegna Diploma Accademico ordinario: Carla MALVA;
- 5) Sede del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia;
- 6) Varie ed eventuali.

1) APPROVAZIONE VERBALE SEDUTE PRECEDENTI (18 E 19 FEBBRAIO 2011)

Vengono approvati i verbali delle Sedute pubbliche del 18 e 19 febbraio 2011 e dell'Assemblea plenaria del 19 febbraio 2011, già inviati a suo tempo per posta elettronica a domicilio, che vengono approvati all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che:

- la giornata culturale su “Evoluzione ed adattamento degli Artropodi: Contributi di base alla conoscenza degli Insetti”, che si è tenuta il 13 maggio scorso presso il Dipartimento di Biologia Evoluzionista “Leo Pardi” dell'Università di Firenze, ha avuto un buon successo. I partecipanti, particolarmente giovani, sono stati numerosi e hanno manifestato vivo interesse e apprezzamento per le relazioni presentate. Viene pertanto auspicato che iniziative simili vengano ripetute presso le varie sedi degli Accademici. La realizzazione di un intenso programma culturale è di rilevante importanza anche per evidenziare questo ruolo dell'Accademia.
- Presso la Facoltà di Agraria di Catania si è svolta il 30 maggio scorso una giornata di studio dedicata all'Accademico ordinario prof. Sebastiano BARBAGALLO in occasione del suo pensionamento. Argomento dell'incontro è stato: “Filogenesi, biodiversità e aspetti applicativi degli Insetti”. All'evento hanno partecipato relatori italiani e stranieri che assieme a numerosi colleghi e studenti dell'Università di Catania si sono riuniti per esprimere il loro ringraziamento al prof. BARBAGALLO per la sua attività di docente e di scienziato.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Stefano TURILLAZZI informa che l'Associazione Italiana per lo Studio degli Artropodi Sociali e Presociali (A.I.S.A.S.P.) ha avviato l'organizzazione del “5th Meeting of the European Sections of the IUSSI”. Il Meeting si terrà a Montecatini Terme dal 26 al 30 agosto 2012.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Valerio SBORDONI comunica che a Roma dal 15 al 17 dicembre 2011 si terrà il XXXVIII Congresso Nazionale della Società Italiana di Biogeografia. Il titolo del Congresso è: “I cambiamenti spaziali e temporali nella biodiversità: valutazioni e testimonianze dei biogeografi italiani”. Il Congresso si terrà nella Villa Celimontana, sede della Società Italiana di Biogeografia.

Su invito del Presidente l'Accademico Francesco PENNACCHIO comunica che: il network Europeo delle scuole di dottorato in “Insect Science” terrà il suo Annual Meeting in Francia, a Tours, 7-11 novembre 2011. Le registrazioni sono aperte e scadono il 20 giugno. Si sollecita la partecipazione dei giovani per cercare di ripetere l'esperienza molto positiva fatta a Firenze lo scorso anno.

3) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente, l'Accademico Augusto VIGNA TAGLIANTI riferisce che è uscito il volume 45 della collana "Fauna d'Italia" Reptilia. Il n. 46 della collana "Porifera 1" è in avanzato stato di preparazione.

4) CONSEGNA DIPLOMA ACCADEMICO ORDINARIO CARLA MALVA

Il Presidente consegna il Diploma di Accademico Ordinario alla neominata Carla MALVA. L'Assemblea si congratula con la medesima, accogliendola con un caloroso applauso.

5) SEDE DEL XXIV CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA

Il Presidente comunica che gli Accademici Stefano MAINI e Piero BARONIO che sono assenti in quanto impegnati a Bologna per la cerimonia funebre dell'Accademico Giorgio CELLI recentemente scomparso, hanno assicurato la disponibilità della sede di Bologna ad accogliere il XXIV CNIE nel giugno 2013.

L'Assemblea si compiace vivamente e prende atto.

6) VARIE ED EVENTUALI

Nessuna

La seduta dell'Assemblea plenaria si conclude alle ore 18:50.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente prof. ROMANO DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

Il giorno 13 giugno 2011 alle ore 18:50 il Presidente apre la seduta alla presenza degli Accademici:

Emeriti: A. ARZONE, F. FRILLI, L. MASUTTI.

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A. CASALE, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, S. LONGO, C. MALVA, M. MAROLI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* G. BRIOLINI, A. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M. M. PRINCIPI, M. SOLINAS. *Ordinari:* M.V. COVASSI, B. GIORDANA, M. MAZZINI.

Viene discusso il seguente O.d.g:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (19 febbraio 2011);
- 2) Comunicazioni del Presidente;
- 3) Varie ed eventuali.

1) APPROVAZIONE VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (19 febbraio 2011)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 19 febbraio 2011, già inviato a domicilio con la convocazione, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente, a norma di Statuto e Regolamento, comunica che: entro il 30 aprile 2011, a fronte di 9 posti disponibili per Accademico Ordinario, 1 posto per Accademico Onorario e 13 posti per Accademico Straordinario, sono pervenute le seguenti proposte per nuovi Accademici, per essere votate nell'Assemblea ordinaria di novembre 2011:

Quattro proposte per Accademico Ordinario per gli Accademici Straordinari:

- Piero BARONIO, presentato dagli Accademici Maria Matilde PRINCIPI, Giovanni BRIOLINI, Luciano SÜSS, Sebastiano BARBAGALLO.
- Andrea BINAZZI, presentato dagli Accademici Luigi MASUTTI, Marco Vittorio COVASSI, Pio Federico ROVERSI, Sebastiano BARBAGALLO.
- Carmelo RAPISARDA, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Santi LONGO, Mario SOLINAS, Augusto VIGNA TAGLIANTI.
- Oreste TRIGGIANI, presentato dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Pio Federico ROVERSI, Gavino DELRIO, Mario SOLINAS.

Una proposta per Accademico Onorario per il prof.:

- Edward O. WILSON presentato dagli Accademici: Mario SOLINAS, Romano DALLAI, Alessandro MINELLI, Giorgio Nuzzaci, Stefano TURILLAZZI.

Sei proposte per Accademico Straordinario per i proff.:

- Enrico DE LILLO, presentato dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Roberto NANNELLI, Salvatore RAGUSA DI CHIARA, Michele MAROLI.
- Anna Maria FAUSTO, presentata dagli Accademici Michele MAROLI, Mario SOLINAS, Romano DALLAI, Barbara GIORDANA.
- Ignazio FLORIS, presentato dagli Accademici Graziella BOLCHI SERINI, Franco FRILLI, Santi LONGO, Stefano TURILLAZZI.
- Bruno MASSA, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Luciano SÜSS, Giorgio NUZZACI, Salvatore RAGUSA DI CHIARA, Augusto VIGNA TAGLIANTI.
- Giuseppina PELLIZZARI SCALTRITI, presentata dagli Accademici Sergio ZANGHERI, Vincenzo GIROLAMI, Luigi MASUTTI.
- Agatino RUSSO, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Luciano SÜSS, Michele MAROLI, Santi LONGO.

3) VARIE ED EVENTUALI

Il Presidente riferisce di aver ricevuto in data 5 maggio 2011 una lettera del prof. Franco SCARAMUZZI, attuale commissario dell'UNASA (Unione Nazionale delle Accademie per le Scienze Applicate allo Sviluppo dell'Agricoltura, alla Sicurezza alimentare e alla Tutela Ambientale) con cui veniva convocata un'Assemblea Generale il 6 giugno scorso e invitava la nostra Accademia a regolarizzare il versamento delle quote relative agli anni scorsi. L'argomento è stato affrontato nel Consiglio di Presidenza del 13 maggio in cui è stato deciso di rispondere al Commissario Prof. SCARAMUZZI evidenziando che l'attività dell'UNASA, benché la nostra Accademia vi abbia aderito fin dalla costituzione, non ci risulta essere stata di particolare rilievo con relativo impegno economico, e comunque, la richiesta regolarizzazione del versamento delle quote associative, a partire dal 2003, comporterebbe una spesa per noi elevata e non prevista in bilancio.

All'assemblea Generale UNASA del 6 giugno 2011 a Firenze è stato delegato a partecipare il Segretario Piero CRAVEDI.

In tale occasione l'Assemblea dell'UNASA ha deciso che l'adesione delle Accademie è subordinata alla regolarizzazione dei versamenti.

Poiché la quota annuale è di 500 euro e la nostra Accademia dovrebbe versare le quote dal 2003 l'ammontare complessivo ammonterebbe a 4500 Euro.

Segue una discussione, a cui partecipano diversi Accademici, da cui emerge un interesse relativamente limitato alle attività dell'UNASA, considerata anche l'attuale pratica impossibilità a sostenere detta ingente spesa straordinaria non prevista in bilancio.

Pertanto, l'Assemblea approva all'unanimità la decisione di recedere almeno per il momento dall'adesione all'UNASA.

La decisione verrà comunicata con lettera dal Presidente DALLAI all'attuale Commissario dell'UNASA prof. Franco SCARAMUZZI.

Il Presidente riprende la parola per evidenziare il basso rendimento del conto corrente su cui si è attualmente depositato il fondo patrimoniale inalienabile dell'Accademia e propone di considerare la possibilità di ricorrere ad opportuni e non rischiosi investimenti bancari. Il Presidente invita quindi il Tesoriere Roberto NANNELLI a riferire in merito alle opportunità finora esplorate.

Il Tesoriere informa che: secondo le disposizioni impartite dal Ministero per i Beni e le Attività Culturali in occasione della ratifica del nuovo Statuto dell'Accademia, nell'Assemblea Ordinaria del 5 giugno 2010, il fondo patrimoniale indisponibile (per la gestione ordinaria del bilancio) dell'Accademia è stato portato alla cifra di 50.000 Euro. Attualmente tale cifra è depositata sul conto corrente dell'Accademia giacente presso il Monte dei Paschi di Siena Ag. n. 30, Via del Corso, 6 - 50122 Firenze, e il rendimento attuale delle somme depositate in conto corrente risulta estremamente modesto (al netto delle trattenute fiscali non raggiunge l'1%). In una riunione tenuta dal Presidente dell'Accademia e dal Tesoriere con il funzionario della Banca Monte dei Paschi di Siena, il coordinatore per gli Enti amministrati (Dr.ssa Francesca Giachetti), in presenza anche di un consulente finanziario della Banca, sono stati proposti alcuni possibili investimenti per una parte del fondo patrimoniale inalienabile dell'Accademia attraverso obbligazioni lineari con rendimento a cedole semestrali che poi transiterebbero nel conto corrente.

Le proposte individuate prevedono vincoli da uno a tre anni con differenti tassi netti di rendita. Segue un'ampia discussione da cui emerge che non è opportuno avere una liquidità elevata, che gli investimenti proposti appaiono sicuri e che l'eventuale disinvestimento sarebbe possibile in qualunque momento.

L'Assemblea è concorde nella decisione di investire la somma più elevata possibile con il vincolo di tre anni e conferisce mandato al Presidente e al Tesoriere nel perfezionamento dell'operazione bancaria.

La seduta dell'Assemblea ordinaria è tolta alle ore 19:30.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 18 - 19 NOVEMBRE 2011

Presiede il Vice-Presidente prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

SEDUTA PUBBLICA

Il giorno 18 novembre 2011 alle ore 15:00, presso la propria sede in Via Lanciola 12/A a Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta Pubblica.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: F. FRILLI, M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, P. F. ROVERSI, L. SANTINI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI;

Straordinari: A. ALMA, A. BATTISTI, P. BRANDMAYR, G. GASPERI, P. LUCIANO, O. TRIGGIANI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, G. BOLCHI SERINI, G. BRIOLINI, A. GALVAGNI, L. MASUTTI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, S. ZANGHERI; *Ordinari:* M. BOLOGNA, A. CASALE, G. DELRIO, V. GIROLAMI, C. MALVA, M. MAZZINI, A. MINELLI, G. OSELLA, G. ROTUNDO, V. SBORDONI, A. VIGNA TAGLIANTI; *Straordinari:* P. BARONIO, A. BINAZZI, M. COBOLLI, M. COLUZZI, M. DACCORDI, S. MAINI, M. OLMI, C.

Tema della Tavola Rotonda:

Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti

Il Presidente Romano DALLAI apre la seduta pubblica e coordina i lavori.

Accademico Romano DALLAI: *“Gli organi escretori degli insetti”*

Accademica Barbara GIORDANA: *“Il ruolo dei Tubuli Malpighiani”*

Dott.ssa Giovanna LEONARDI (Università di Milano): *“Strutture cellulari e molecolari dei Tubuli Malpighiani coinvolte nella iono- e osmoregolazione”*

Dott.ssa Morena CASARTELLI (Università di Milano): *“I Tubuli Malpighiani nei processi di detossificazione e difesa”*

Dott.ssa Barbara CONTI (Università di Pisa): *“Funzioni complementari dei Tubuli Malpighiani”*

Segue un’ampia e interessante discussione, al termine della quale la seduta si conclude alle ore 17:30.

I testi delle relazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2011 dell’Accademia.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA PLENARIA SABATO 19 NOVEMBRE 2011

Presiede il Presidente prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI.

Alle ore 09:30, presso la sede di Via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del presidente, iniziano i lavori dell’Assemblea Plenaria, alla presenza degli Accademici:

Emeriti: G. BRIOLINI, F. FRILLI; L. MASUTTI, M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A. CASALE, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G.

DELRIO, B. GIORDANA, V. GIROLAMI, S. LONGO, M. MAROLI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI;
Straordinari: P. BARONIO, A. BATTISTI, A. BINAZZI, P. BRANDMAYR, M. COBOLLI, G. GASPERI, P. LUCIANO, S. MAINI, M. OLM, C. RAPISARDA, O. TRIGGIANI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti*: G. BOLCHI SERINI, L. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, S. ZANGHERI; *Ordinari*: C. MALVA, M. MAZZINI, G. ROTUNDO, V. SBORDONI; *Straordinari*: A. ALMA, M. COLUZZI, M. DACCORDI.

Viene discusso il seguente O.d.g:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (13 giugno 2011);
- 2) Comunicazioni del Presidente;
- 3) XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Bologna, 2013);
- 4) Fauna d'Italia;
- 5) Programma definitivo delle Sedute pubbliche per l'Anno Accademico 2012;
- 6) Varie ed eventuali.

1) APPROVAZIONE VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (13 GIUGNO 2011)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea Plenaria del 13 giugno 2011, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che:

- l'Associazione naturalistica di ricerca e conservazione Ente Fauna siciliana ha assegnato il Premio Marcello La Greca "Grifone d'Argento" al prof. Danilo MAINARDI con cerimonia avvenuta a Noto il primo ottobre 2011. Il Presidente si compiace della bella notizia ma esprime anche il rammarico che la nostra Accademia non sia stata coinvolta nella realizzazione dell'iniziativa intitolata al nostro Accademico Marcello LA GRECA.
- Il 7 ottobre scorso si è tenuta a Portici, organizzata dall'Accademico Francesco PENNACCHIO, una Giornata di Studio in onore di Ermenegildo TREMBLAY, la cui commemorazione ufficiale per conto dell'Accademia era stata fatta dallo stesso PENNACCHIO a Genova in occasione del Congresso Nazionale Italiano di Entomologia.
- Nell'ultimo periodo sono venuti a mancare il Presidente Emerito Baccio BACCETTI e gli Accademici Cesare CONCI e Giorgio CELLI. Quest'ultimo verrà commemorato dall'Accademico straordinario Stefano MAINI nella Seduta Pubblica odierna, mentre nella seduta pubblica di febbraio 2012 l'Accademico ordinario Roberto POGGI terrà la commemorazione dell'Accademico Cesare CONCI, e il Presidente Romano DALLAI commemorerà il Presidente emerito Baccio BACCETTI.
- Egli ricorda inoltre il brillante esito del XXIII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia tenutosi a Genova nel giugno scorso e invita l'Accademico Roberto POGGI, organizzatore e ospite del Congresso, a riferire brevemente in merito all'importante evento. Dopo l'interessante, sintetico e compendioso rapporto dell'Accademico Roberto POGGI, egli ringrazia ancora quest'ultimo per l'ottimo risultato scientifico del Congresso e per il suo encomiabile impegno organizzativo.
- L'Accademico Francesco PENNACCHIO invitato dal Presidente informa che l'Annual Meeting del Network Europeo si è tenuto in Francia, a Tours dal 7 all'11 novembre 2011.
- Su invito del Presidente l'Accademico Stefano TURILLAZZI, riferisce che la Scuola di Alta formazione "Marcello La Greca", di cui è responsabile, ha organizzato un Corso di cui si è tenuto in Sardegna dal 4 al 6 novembre scorso.
Il prossimo Corso, che sarà il VI, è previsto a Como nel maggio 2012.
Inoltre egli aggiunge che l'Accademia figura come Istituzione organizzatrice del "5th Meeting

of the European Sections of the IUSSI” che si terrà a Montecatini Terme al 26 al 30 agosto 2012.

- L’Accademico Roberto NANNELLI su invito del Presidente riferisce in merito alle pubblicazioni dell’Accademia. Nello scorso mese di settembre è stata ultimata la stampa del volume degli Atti e Rendiconti dell’Accademia, Anno LVIII, 2010, e della monografia XIX intitolata: “*Entomoceidi: genesi, sviluppo, ecologia, utilità e infestazioni*” della collana “Tavole Rotonde sui maggiori problemi riguardanti l’Entomologia Agraria in Italia, pubblicata sotto gli auspici del MIPAAF. Inoltre egli aggiunge che entrambe le pubblicazioni sono in distribuzione a tutti gli accademici presenti.

3) XXIV CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA (BOLOGNA 2013)

Il Presidente invita gli Accademici Piero BARONIO e Stefano MAINI, che hanno dato la loro disponibilità, a riferire sull’impostazione organizzativa del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia a Bologna nel 2013. L’Accademico Piero BARONIO prende la parola ed espone alcune proposte organizzative in fase di verifica.

Gli Accademici BARONIO e MAINI si impegnano in tempi brevi a raccogliere informazioni sulle possibili soluzioni logistiche e ad avviare contatti con gli Enti che potrebbero fornire supporti di diverso tipo all’organizzazione.

4) FAUNA D’ITALIA

L’Accademico VIGNA TAGLIANTI, Presidente del Comitato Scientifico per la Fauna d’Italia, prende la parola e riferisce brevemente sull’attuale situazione editoriale ed economica del Comitato.

Il volume 45 della collana “Fauna d’Italia”, Reptilia (coordinato da C. Corti, M. Capula, L. Luiselli, E. Razzetti e R. Sindaco) è stato stampato entro la fine di dicembre 2010, e nel 2011 se ne è iniziata la distribuzione da parte del Ministero dell’Ambiente. Il Comitato ha altresì ricevuto il bonifico bancario dal Ministero, ed ha potuto saldare la relativa fattura dell’Editore (Edizioni Calderini de Il Sole 24 ORE S.p.a.).

Il volume 46 della collana, Porifera I (coordinato da M. Pansini, R. Manconi e R. Pronzato) è in seconde bozze e se ne prevede la stampa entro l’anno.

Per il 2012, il Comitato è in attesa di firmare l’incarico già formalizzato per la realizzazione e stampa dei volumi 47 (Mammalia I – Chiroptera), di B. Lanza, il cui manoscritto è stato già da tempo ricevuto e valutato dal Comitato, e del volume 48 (Orthoptera), coordinato da B. Massa, F.M. Buzzetti, P. Fontana, R. Kleukers e B. Odé, in stato di completamento e verifica.

Si auspica che vengano presto realizzati altri volumi su gruppi di insetti, in preparazione da tempo, come quelli relativi a Sinfiti, Ditteri Straziomidi e Tachinidi, Psilloidei ed Afidoidei e Lepidotteri Coleoforidi.

Nel 2012 dovrà essere rinnovata la composizione del Comitato (5 membri in rappresentanza dell’Accademia e 5 in rappresentanza dell’Unione Zoologica Italiana), con le elezioni per il prossimo quadriennio 2012-2015.

5) PROGRAMMA DEFINITIVO DELLE SEDUTE PUBBLICHE PER L’ANNO ACCADEMICO 2012

Il Presidente conferma che nel 2012 le Adunanze dell’Accademia si terranno il 17 e 18 febbraio, l’8 e 9 giugno e il 23 e 24 novembre.

- Nella Seduta Pubblica di venerdì 17 febbraio è prevista una Tavola Rotonda su “*La Tignola del Pomodoro Tuta absoluta*”. Il coordinamento della Tavola rotonda è stato affidato all’Accademico Carmelo RAPISARDA.
- In occasione delle Adunanze di sabato 18 febbraio è prevista una Seduta Pubblica in cui l’Accademico Roberto POGGI commemorerà l’Accademico Emerito Cesare CONCI e il Presidente Romano DALLAI commemorerà il Presidente Emerito Baccio BACCETTI.

- Nella seduta Pubblica di venerdì 8 giugno è prevista una Tavola rotonda su “*Biocidi e nuove strategie per la relativa assunzione da parte degli insetti*”.
Il coordinamento della Tavola rotonda è stato affidato agli Accademici Barbara GIORDANA e Francesco PENNACCHIO.
- per la Seduta Pubblica di venerdì 23 novembre è prevista una Tavola Rotonda su “*La resistenza degli insetti di interesse agrario agli insetticidi*”.
L’organizzazione della Tavola Rotonda è stata affidata all’Accademico Piero CRAVEDI.

6) VARIE ED EVENTUALI

Chiesta e ottenuta la parola, l’Accademico Franco FRILLI evidenzia la difficoltà per raggiungere la sede dell’Accademia e chiede di verificare la possibilità di essere ospitati in una delle aule dell’Università in via Romana 17.

Segue una breve discussione da cui emergono le motivazioni per cui non è attualmente possibile essere ospitati in via Romana. L’Accademico Stefano TURILLAZZI si incarica di verificare la possibilità di utilizzare un’aula almeno per le sedute del venerdì pomeriggio.

La seduta dell’Assemblea Plenaria è tolta alle ore 10:20

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

SEDUTA PUBBLICA

Alle ore 10:30 il Presidente apre la Seduta, a cui partecipano oltre agli Accademici Ordinari e Straordinari presenti all’Assemblea Plenaria, numerosi altri ricercatori e studiosi ospiti dell’Accademia.

Il Presidente dà la parola all’Accademico Straordinario Stefano MAINI per la commemorazione dell’Accademico Giorgio CELLI.

Il testo della commemorazione verrà pubblicato sugli Atti-Rendiconti dell’Accademia 2011.

La Seduta Pubblica si conclude alle ore 11:25.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA ORDINARIA SABATO 19 NOVEMBRE 2011

Presiede il Presidente prof. Romano DALLAI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI.

Il giorno 19 novembre 2011 alle ore 11.30, presso la sede di Via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell’Assemblea Ordinaria, alla presenza degli Accademici:

Emeriti: G. BRIOLINI, F. FRILLI, L. MASUTTI, M. SOLINAS;

Ordinari: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A. CASALE, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, V. GIROLAMI, S. LONGO, M. MAROLI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti*: G. BOLCHI SERINI, L. GALVAGNI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, S. ZANGHERI; *Ordinari*: C. MALVA, M. MAZZINI, G. ROTUNDO, V. SBORDONI.

Viene discusso il seguente O.d.g.

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (13 giugno 2011);
- 2) Comunicazioni del Presidente;
- 3) Esame e approvazione Bilancio preventivo a.f. 2012;
- 4) Votazioni per elezione nuovo Accademico Onorario;
- 5) Votazioni per elezione nuovi Accademici Ordinari;
- 6) Votazioni per elezione nuovi Accademici Straordinari;
- 7) Votazioni per conferma Accademici Straordinari in scadenza quinquennio 2006-11;
- 8) Varie ed eventuali.

1) APPROVAZIONE VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (13 giugno 2011)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 13 giugno 2011, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente dichiara che non vi sono comunicazioni.

3) ESAME E APPROVAZIONE BILANCIO PREVENTIVO A.F. 2012

Su invito del Presidente, il Tesoriere Roberto NANNELLI riferisce che nel mese di settembre, dopo aver avuto mandato nella precedente Assemblea, ha incontrato insieme al Presidente i funzionari della banca Monte dei Paschi di Siena, sede di Firenze, per concordare forme d'investimento del fondo inalienabile dell'Accademia (50.000 €), in maniera da poter ricavare almeno una piccola rendita utilizzabile per l'attività culturale dell'Accademia stessa. Dopo aver avuto assicurazioni sulla possibilità di riutilizzo del capitale investito, in qualsiasi momento in caso di necessità, è stato concordato e attivato l'acquisto di titoli (obbligazioni) della stessa banca (MPS), con scadenza biennale rinnovabile, a tasso variabile (legato all'indice EURIBOR semestrale) inizialmente definito al lordo del 2,90% (netto 2,54%), con cedole semestrali i cui interessi confluiranno sul conto corrente dell'Accademia.

A riguardo del Bilancio preventivo 2012 all'inizio del mese è stata predisposta una bozza di bilancio che è stata inviata per e-mail a ciascuno dei componenti del Collegio dei Revisori. Non essendo emersi rilevi è stato poi concordato con il Presidente del Collegio (Dr.ssa Adele DE LUCA, funzionario del Ministero per i beni culturali) di ratificare il bilancio in una prossima riunione da tenere prima dell'Assemblea dell'Accademia del febbraio 2012, in cui dovrà essere ratificato anche il Bilancio consuntivo 2011.

Viene quindi presentata in Assemblea la bozza di bilancio con riserva di approvazione appena sarà possibile convocare il Collegio dei Revisori dei conti per la stesura del verbale e la ratifica definitiva. Il Tesoriere illustra i diversi punti della bozza di Bilancio preventivo 2012.

L'Assemblea non pone rilievi ed approva all'unanimità la bozza.

4) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVO ACCADEMICO ONORARIO

Il Presidente ricorda che alla data del 30 aprile 2011 era libero un posto di Accademico Onorario e che entro tale data è pervenuta a norma di Statuto (art. 12) la proposta di nomina ad Accademico Onorario del prof. Edward O. WILSON presentato dall'Accademico Emerito Mario

SOLINAS, e dagli Accademici Ordinari Romano DALLAI, Alessandro MINELLI, Giorgio NUZZACI e Stefano TURILLAZZI.

Il Presidente, verificata, come disposto dall'art. 13 dello Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari, dichiara valida l'Assemblea.

Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Edward O. WILSON. Come previsto dall'art. 12 c.2 dello Statuto. L'Accademico Mario SOLINAS illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato E.O. WILSON, entomologo e mirmecologo di fama mondiale.

Il candidato ottiene l'unanimità dei suffragi e il Presidente proclama il prof. Edward O. WILSON Accademico Onorario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia.

5) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVI ACCADEMICI ORDINARI

Il Presidente ricorda che alla data del 30 aprile 2011 erano liberi 9 posti per Accademico Ordinario e che entro tale data sono pervenute a norma di Statuto (art. 12), le proposte di nomina ad Accademico Ordinario degli Accademici Straordinari:

- Piero BARONIO, presentato dagli Accademici Maria Matilde PRINCIPI, Giovanni BRIOLINI, Luciano SÜSS, Sebastiano BARBAGALLO.
- Andrea BINAZZI, presentato dagli Accademici Luigi MASUTTI, Marco Vittorio COVASSI, Pio Federico ROVERSI, Sebastiano BARBAGALLO.
- Carmelo RAPISARDA, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Santi LONGO, Mario SOLINAS, Augusto VIGNA TAGLIANTI.
- Oreste TRIGGIANI, presentato dagli Accademici Giorgio Nuzzaci, Pio Federico ROVERSI, Gavino DELRIO, Mario SOLINAS.

a) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Piero BARONIO. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Giovanni BRIOLINI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Piero BARONIO eletto e da proporre, a norma dell'art. 14 dello Statuto, al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte del Presidente della Repubblica.

b) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Andrea BINAZZI. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Marco Vittorio COVASSI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Andrea BINAZZI eletto e da proporre, a norma dell'art. 14 dello Statuto, al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte del Presidente della Repubblica.

c) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Carmelo RAPISARDA. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Sebastiano BARBAGALLO illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Carmelo RAPISARDA eletto e da proporre, a norma dell'art. 14 dello Statuto, al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte del Presidente della Repubblica.

d) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Oreste TRIGGIANI. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Giorgio NUZZACI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Oreste TRIGGIANI eletto e da proporre, a norma dell'art. 14 dello Statuto, al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte del Presidente della Repubblica.

6) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVI ACCADEMICI STRAORDINARI

Il Presidente ricorda che al 30 aprile 2011 risultavano liberi 13 posti per Accademico straordinario e che entro tale data sono pervenute a norma dello Statuto (art. 12) le proposte di nomina ad Accademico Straordinario dei proff.:

- Enrico DE LILLO, presentato dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Roberto NANNELLI, Salvatore RAGUSA DI CHIARA, Michele MAROLI.
- Anna Maria FAUSTO, presentata dagli Accademici Michele MAROLI, Mario SOLINAS, Romano DALLAI, Barbara GIORDANA.
- Ignazio FLORIS, presentato dagli Accademici Graziella BOLCHI SERINI, Franco FRILLI, Santi LONGO, Stefano TURILLAZZI.
- Bruno MASSA, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Luciano SÜSS, Giorgio NUZZACI, Salvatore RAGUSA DI CHIARA, Augusto VIGNA TAGLIANTI.
- Giuseppina PELLIZZARI SCALTRITI, presentata dagli Accademici Sergio ZANGHERI, Vincenzo GIROLAMI, Luigi MASUTTI.
- Agatino RUSSO, presentato dagli Accademici Sebastiano BARBAGALLO, Luciano SÜSS, Michele MAROLI, Santi LONGO.

Il Presidente verificata, come da art. 13 dello Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari dichiara valida l'Assemblea.

- a) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Enrico DE LILLO. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Giorgio NUZZACI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Enrico DE LILLO Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

- b) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura della professoressa Anna Maria FAUSTO. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Michele MAROLI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici della candidata.

La candidata raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Anna Maria FAUSTO Accademica Straordinaria dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

- c) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Ignazio FLORIS. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Franco FRILLI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Ignazio FLORIS Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

- d) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Bruno MASSA. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Salvatore RAGUSA DI CHIARA illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Bruno MASSA Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

- e) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura della professoressa Giuseppina PELLIZZARI SCALTRITI. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Luigi MASUTTI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici della candidata.

La candidata raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Giuseppina PELLIZZARI SCALTRITI Accademica Straordinaria dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

- f) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Agatino RUSSO. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Sebastiano BARBAGALLO illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum previsto e il Presidente proclama Agatino RUSSO Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2011-2016.

7) VOTAZIONI PER CONFERMA ACCADEMICI STRAORDINARI IN SCADENZA QUINQUENNALE 2006-2011

Il Presidente informa che per gli Accademici Straordinari Marina COBOLLI e Marco COLUZZI è scaduto il quinquennio di appartenenza.

Il Presidente, verificato, come disposto dall'art. 13 dello Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari dichiara valida l'Assemblea.

- a) Viene posta in votazione a scrutinio segreto la conferma dell'Accademica Straordinaria Marina COBOLLI. Come previsto dall'art. 10 del Regolamento, il Presidente ricorda all'Assemblea l'impegno scientifico, l'interesse e la partecipazione attiva dimostrata dalla confermanda e del desiderio espresso dalla medesima di poter continuare in futuro.

La candidata raggiunge il quorum previsto e il Presidente la proclama confermata per il quinquennio 2011-2016.

- b) Viene posta in votazione a scrutinio segreto la conferma dell'Accademico Straordinario Mario COLUZZI. Come previsto dall'art. 10 del Regolamento, il Presidente ricorda all'Assemblea l'impegno scientifico, l'interesse dimostrato dal confermando e del desiderio espresso dal medesimo di poter continuare in futuro.

Il candidato raggiunge il quorum previsto e il Presidente lo proclama confermato per il quinquennio 2011-2016.

7) VARIE ED EVENTUALI

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Ordinaria è tolta alle ore 13:00

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

COMMEMORAZIONE

SANDRO RUFFO: UOMO E SCIENZIATO. RICORDI DI UN COLLABORATORE

GIUSEPPE OSELLA (*)

(*) *Giuseppe Osella - via XXIV Maggio, 20 - 37126 Verona*

Commemorazione tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 19 febbraio 2011.

Non è facile, anche per uno come il sottoscritto, che pure con Sandro Ruffo ebbe una lunga dimestichezza e godette della fiducia e dell'amicizia incondizionata, delinearne compiutamente la personalità di studioso, di museologo, di didatta e, soprattutto, di Uomo e Maestro.

Molto devo a lui sin da quando, giovane neolaureato, appassionato ma acerbo dilettante, mi misi alla sua scuola ed Egli mi introdusse nel fascinoso mondo della ricerca, realizzando così il sogno mio più vivo: diventare entomologo e naturalista!

Quanto affermo, credo, valga anche per molti Amici, in particolare per quelli che, come me, collaborarono al settore zoologico del Museo di Storia Naturale di Verona e che, da Ruffo, ricevettero consigli, incoraggiamenti, aiuti che, spesso, resero loro possibile (o meno arduo) il cammino nel difficile mondo della ricerca. Qui mi limiterò, sperando di esserne all'altezza, a delinearne la storia umana, ripercorrendone le tappe dalla prima giovinezza alla maturità come Direttore del Museo di Storia Naturale di Verona.

In questo excursus mi baserò essenzialmente sui ricordi personali e su quanto, di sé e del Museo, mi raccontava nelle rare occasioni in cui, entrambi liberi da impegni impellenti, ci scambiavamo idee, progetti e ricordi nel suo ufficio di Lungadige Porta Vittoria, 9, la domenica mattina.

PRIME ESPERIENZE NATURALISTICHE

D'essere naturalista di vocazione Ruffo lo scoprì sin da giovanissimo, quando accompagnava lo zio, cacciatore accanito, al roccolo di famiglia sulle colline di Soave.

Nacque così la sua prima passione, quella per l'ornitologia, passione che l'accompagnò per tutta la vita, pur non avendo Egli mai cacciato. Si spiega così



Sandro Ruffo a cena con colleghi e amici nel 2003 (foto L. Latella)

l'ottima conoscenza che possedeva degli uccelli italiani; grazie ad essa riuscì più volte a farsi donare, per il Museo, gli esemplari più interessanti dai cacciatori e dagli amici del Museo.

Fu altresì sulle colline di Soave che scoprì l'*Empusa pennata*, raro mantoideo di notevoli dimensioni, dalle vistose zampe raptatorie. Sarà il primo segnale dell'incipiente passione entomologica di cui prenderà piena coscienza solo qualche anno dopo. Mi diceva, altresì, di non essere più riuscito a ritrovare questa specie né a Soave né altrove per quante ricerche svolgesse.

Sempre tra i ricordi dell'infanzia-prima giovinezza, rammentava le raccolte entomologiche nell'orto di famiglia, in particolare quelle relative ai Coleotteri Crisomelidi, ma altresì le difficoltà nel preparare gli esemplari, digiuno com'era delle più elementari nozioni relative alla conservazione.

Sempre a questo periodo risalgono i ricordi delle scampagnate in bicicletta con il fratello Bruno a

Campofontana, Revolto e Cima Posta, gite che erano a metà tra l'escursione esplorativa e l'indagine naturalista.

PRIME RICERCHE VERONESI

Trasferitosi con la famiglia da Soave a Verona, nuovo campo d'indagini divennero le rive dell'Adige dopo il ponte ferroviario, allora boscate ed inabitate. Vi rinvenne una variata fauna di Coleotteri con prevalenza, ancora una volta, di Crisomelidi, ma con specie diverse da quel che aveva raccolto a Soave. La determinazione, tuttavia, rimaneva uno scoglio insuperato.

Fu perciò un colpo di fortuna l'incontro con Vittorio Dal Nero, conservatore - Direttore del Museo di Storia Naturale di Verona.

Dal Nero, benevolmente, lo accolse, lo consigliò e gli mise a disposizione il Griffini, il classico testo della letteratura coleotterologica amatoriale italiana del secolo scorso.

Le decine di pagine esplicative di testo e le centinaia di figure a colori gli aprirono insperati, vastissimi orizzonti e sempre nuove emozioni.

Ricordava, in particolare, *Endomychus coccineus*, non comune entità delle ceppaie dei vecchi salici, probabilmente attualmente scomparso dalle rive dell'Adige. Sempre lungo questo fiume rinvenne nuovamente una variata faunula di Crisomelidi con specie diverse, però, rispetto a Soave. Se ne innamorò ed attese con molta attenzione alla loro raccolta ed allo studio. Saranno essi, a Bologna, l'oggetto della sua tesi e, successivamente ancora, ormai conservatore al Museo di Verona, uno dei temi prediletti nelle ricerche appenniniche (1954 - 1967).

Di quegli anni giovanili sono altresì le indagini biologiche su alcune entità, in particolare sull'Idrotassa dei ranuncoli (*Hydrotassa marginella*) e la Lochmea dei salicioni (*Lochmea capreae*) di cui preparò brevi note biologiche successivamente utilizzate nella stesura della tesi di laurea.

Sempre negli anni giovanili, ma ormai studente liceale al Messadaglia, vivo diletto destò in lui la lettura dei "Souvenirs entomologiques" di J.H. Fabre, il poetico narratore dei costumi nidificatori degli Imenotteri sub sociali le cui cure parentali, variate e talora assai complesse, sono state (e sono tutt'ora) campo fertile di studi etologici e di meditazioni sull'evoluzione comportamentale negli insetti.

La lettura dei "Souvenirs entomologiques", per il giovane Ruffo, fu assai istruttiva perchè apprese come si dovessero impostare le ricerche insieme all'inevitabile necessità che esse fossero accurate e ripetute prima di qualsivoglia proposta interpretativa.

BOLOGNA E LA SCUOLA ENTOMOLOGICA DI GUIDO GRANDI

Ulteriore e decisiva tappa alla scoperta della vera vocazione fu l'incontro con Athos Goidanich a Verona (1934), aiuto di Guido Grandi.

Un dubbio tormentava Ruffo: quale facoltà scegliere? Scienze Naturali a Padova o Scienze Agrarie a Bologna?

Per sciogliere il dilemma volle incontrarsi con Athos Goidanich (casualmente in missione a Cadidavid).

Goidanich, che Ruffo descrive come un "omone massiccio dal volto slavo", gli consigliò Bologna e, quindi, di mettersi alla sequela di Guido Grandi, che era stato allievo del grande Filippo Silvestri.

Anche nei miei riguardi, trent'anni dopo, già conservatore al Museo di Verona e impegnato nelle raccolte zoologiche generali, Goidanich mi domandò nel nostro ultimo incontro: "quante zampe hanno gli animali che raccogli?"

Subito non afferrai il sottinteso ma prima di poter rispondere aggiunse: "o sei zampe o niente", troncò la conversazione! Intendendo con ciò che avrei dovuto esclusivamente occuparmi di insetti.

LAUREA E SERVIZIO MILITARE.

Nell'estate del 1938, mise a punto, nelle vacanze estive a Soave, la tesi che discusse nel novembre dello stesso anno ottenendo il punteggio di 110/110, lode e stampa. Doveva essere molto euforico quel giorno quando al padre telegrafo: "dottore, Sandro" un po' sul "veni, vidi, vici" di storica memoria.

Il servizio militare, prima, la dichiarazione di guerra dell'Italia, poi, lo portarono lontano da Bologna e dell'amata Verona. Prima fu a Torino, poi a Tolone, in Provenza, dove, come truppa di occupazione rimase sino all'8 settembre 1943.

Al rifiuto di collaborare, dai nazisti fu avviato dapprima ai campi di internamento di Leopoli in Ucraina (settembre 1943 - gennaio 1944), successivamente di Wietzendorf (febbraio 1944 - febbraio 1945) ed infine ad Hamburg in Germania fino al luglio 1945.

Il lungo viaggio in treno, da Tolone a Leopoli, in vagoni strapieni e sigillati, fu umiliante sotto tutti i punti di vista ma solo, velatamente, i particolari mi sono stati da Lui accennati.

Nel lager nazista Oflag 83 di Wietzendorf fece la conoscenza di Marcello La Greca, magro ed allampanato capitano con cui strinse calda amicizia ed iniziò il ben noto e fecondo sodalizio che durò tutta la vita.

Il cibo, scarso e scadente, fu sempre il principale problema dei prigionieri, persone per lo più giovani



Sandro Ruffo nel suo studio negli anni della direzione del Museo (foto archivio MSNV).

e vigorose. Ne soffrì, in particolare, La Greca che ritornerà dalla prigionia con un polmone in meno.

È, quindi, ammirevole la vitalità e l'energia di quest'uomo negli anni postbellici, alla direzione dell'Istituto catanese di Zoologia come propugnatore ed organizzatore delle ricerche nel bacino del Mediterraneo ed autore di fondamentali contributi su Ortotteroidei e Mantoidei euro-mediterraneo-africani.

Per combattere le lunghe tediose giornate gli internati s'inventarono le più varie occupazioni intellettuali: lezioni di storia, letteratura, musica, poesia e quant'altro fosse presente nel patrimonio culturale collettivo. Ruffo svolse lezioni di Entomologia mentre La Greca, perennemente affamato, si era ingegnato a catalogare le più conosciute specialità culinarie dal Piemonte al Veneto, dalla Puglia alla Sicilia.

A CASA. RISTRUTTURAZIONE DEL MUSEO DI STORIA NATURALE.

Alla liberazione, Ruffo, finalmente poté, dopo 7 anni, ritornare a Verona. Trovò, una città ferita, i ponti sull'Adige distrutti, la casa bombardata, la famiglia sfollata, Palazzo Pompei (sede del Museo di Storia Naturale, dal 1862) gravemente danneggiato.

Dalle ristrettezze di ogni tipo in cui si trovava, ne uscì nel dicembre 1945 quando venne assunto, come assistente avventizio del Museo di Storia

Naturale, unitamente ai suoi più cari amici di ricerche speleologiche d'anteguerra: Francesco Zorzi ed Angelo Pasa.

La riattivazione di Palazzo Pompei richiese un lungo impegno e faticoso lavoro: occorreva riparare la struttura, rifare le sale d'esposizione, ricollocare le collezioni scientifiche (che erano state evacuate) riaprire uffici, biblioteca, ecc.

Cospicui investimenti furono necessari, quindi, fortunatamente ben supportati da una Amministrazione sensibile e disponibile.

Questo lavoro organizzativo gravò soprattutto su Ruffo e molto pesò sulla sua produzione scientifica che, solo dopo la prima apertura dell'Istituzione (1952) e, meglio ancora, dopo la seconda e definitiva (1964) poté dedicarsi, toto corde, agli studi prediletti.

In questo lungo e fecondo periodo d'attività poté attendere alle problematiche più congeniali: studio dei Crostacei Anfipodi del mondo e, problematiche relative alla fauna italiana in ambito euro-mediterraneo.

RICERCHE APPENNINICHE

Ruffo è stato essenzialmente un faunista, un tassonomo ed un zoogeografo. Ammiratore di Edoardo Gridelli, triestino, capo scuola della Zoogeografia storica italiana, autore di un fondamentale studio sui Coleotteri italiani a distribuzione trans adriatica e/o trans jonica, ne seguì le direttive ed al meglio si

applicò per delineare le componenti zoogeografiche del popolamento italiano.

Ideò e perseguì (anche personalmente) un vasto programma di indagini faunistiche esteso a tutta la penisola appenninica ed alla Sicilia ed ottenne dal C.N.R. che il coordinamento fosse affidato al Museo di Verona. Furono così indagate ampie aree montane dai Sibillini ai Nebrodi - Peloritani con risultati estremamente lusinghieri.

Egli prevedeva 15 anni di indagini per poter disporre di una sufficientemente ampia base di conoscenza. Esse durarono invece fino al 1985 ma non si può, tuttavia, dire che esse abbiano raggiunto, in tutti i settori, i livelli conoscitivi sperati...

RUFFO STUDIOSO E COORDINATORE

Nella sua lunga attività Ruffo pubblicò più di 300 lavori, alcuni dei quali voluminosi, su tematiche varie: museologia, didattica, faunistica sistematica, ecc.

Fu altresì coordinatore di iniziative sia autonomamente prese dal Museo di Verona sia commissionate da strutture pubbliche.

L'elenco dei lavori verrà presentato in altra sede: qui ci limitiamo a ricordare i nuclei più significativi della produzione in relazione alle tematiche oltre, naturalmente, al complesso dei lavori legati agli Anfipodi.

La scelta fu benedetta dal padre che sperava che il figlio così gli sarebbe successo nella gestione dell'azienda familiare per la produzione di zolfo ventilato il miglior prodotto, allora, nella lotta contro la peronospora.

Interno dell'Istituto di Entomologia Ruffo lo fu sin dal 1° anno del corso di laurea ed il Maestro lo incoraggiò subito ad affrontare lo scoglio della determinazione dei materiali della tesi, che andava raccogliendo.

Oltre che con Goidanich (il "primogenito" di Grandi come lo stesso amava definirsi), familiarizzò con gli interni dell'Istituto: Antonio Servadei, Minos Martelli, Filippo Venturi, futuri cattedratici, ma fu con Lamberto Golfari che strinse calda amicizia.

Scambi di idee tra Grandi e gli allievi mai furono frequenti o regolari: l'accesso allo studio del professore era custodito da Athos Goidanich che affermava sempre non doversi disturbare il Maestro con richieste di poco conto. Per queste bastava Lui.

Solo dopo che Goidanich si trasferì a Torino all'Entomologia delle nuove facoltà di Scienze Agrarie, Egli scoprì che Grandi non era quell'uomo inaccessibile e solitario ch'aveva immaginato, bensì uomo aperto al dialogo con i collaboratori. E fu solo allora che, appieno, ne comprese il valore morale e l'eccezionale levatura intellettuale.

Furono gli anni bolognesi, i più felici della sua giovinezza, ricchi di speranze e di gioia per le sempre nuove scoperte e per gli orizzonti immensi che si aprivano ai suoi occhi, ma altresì per il diletto intellettuale che ricavava dalle ricerche.

In particolare ricordava, ancora laureando, la soddisfazione derivatogli dallo studio di *Cionus olens*, curculionide legato ai *Verbascum* (*Verbascum phlomoides* e *Verbascum sinuatum*), scrofulariacee di aree xeriche degradate. Le larve presentano la curiosa abitudine di vivere sotto la peluria delle foglie delle piante ospiti per cibarsi ectofiticamente, dell'epidermide superiore e del mesofillo, originando erosioni che egli chiamò "pseudo-mine". Il termine fu adottato da Grandi ed è entrato nella letteratura!

Sempre, ancora studente, soleva trascorrere le vacanze estive a Verona, per completare le indagini relative alla tesi. Camminando lungo l'argine dell'Adige, gli venne così di raccogliere, sotto i sassi delle rive, *Orchestia cavimana* Crostaceo Talitride, noto allora per il Veneto solo per una antica cattura di A. Garbini del lago di Garda. Questo Talitride, a differenza dei confamiliari (marini) predilige gli ambienti fluviali ed in Italia settentrionale, profondamente, si spinge all'interno della Pianura Padana, lungo l'asse del Po, sino a Torino.

Fu il classico "colpo di fulmine" che, definitivamente, orientò le sue scelte in campo scientifico.

Con animo grato mi ricordava la comprensione di Guido Grandi quando gli comunicò la scoperta e la decisione di dedicarsi, per il futuro, prevalentemente, allo studio degli Anfipodi.

Rammentava altresì le "rampogne" di Athos Goidanich che vedeva in questa sua scelta, quasi "un tradimento" dell'entomologia o, peggio, un passaggio "al nemico".

Per inciso ricordiamo che egli descrisse circa 200 nuove entità e che la sua collezione (ora al Museo di Storia Naturale di Verona) è tra le maggiori al mondo con 1500 taxa ed i tipi di oltre 300 entità.

- The Amphipoda of the Mediterranean. L'opera tratta 457 entità del Mediterraneo (in 959 pp.) ed è la base per la conoscenza del Gruppo per il Mediterraneo. È in continuo aggiornamento.
- Guida per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane.
- Progetti relativi al "Parco dell'Adige a Verona" ed al "Parco della collina a Verona", commissionatogli dal Sindaco di Verona sono rimasti lettera morta.
- Ricerche su Adige e Po in relazione all'inquinamento ambientale, a monte ed a valle di Verona (per l'Adige) ed a valle di Piacenza (per il Po). Ricerche fondamentali per conoscere i due fiumi.
- Check list della fauna italiana in 117 fascicoli. Con questa opera, l'Italia e l'unico paese europeo (ma

forse del mondo) a possedere la lista completa del suo popolamento zoologico.

- Volume sulla distribuzione geografica italiana di 10 mila specie significative per la salvaguardia degli endemiti.

RICORDI PERSONALI

Incontrai Sandro Ruffo nel lontano 1964, in occasione di un viaggio a Verona per far la conoscenza di Luigi Magnano, valente studioso di Coleotteri Curculionidi paleartici.

Magnano una domenica mattina mi condusse in Lungadige Porta Vittoria; dietro una possente scrivania vidi un signore dai corti capelli bianchi che con curiosità mi scrutava. L'incontro fu breve ma con l'intesa di rivederci ancora. Fu così che l'anno successivo fui invitato a partecipare al concorso per un posto di conservatore zoologo del Museo di Verona, bandito dal Comune.

Fu doloroso per me e per la mia famiglia abbandonare Torino, gli amici, i genitori per trasferirci in una città ed in un ambiente che non conoscevo.

Dopo un rodaggio iniziale, non privo di qualche difficoltà, mi inserii bene nella struttura nella quale Ruffo, onnipresente, dominava con la sua personalità.

Furono anni splendidi, densi d'impegni, di risultati, e di soddisfazioni. Avevo la responsabilità del settore zoologico, delle collaborazioni, dei contatti esterni. Con Ruffo (o su suo incarico) visitai le più importanti strutture museologiche d'Europa: Londra, Parigi, Bruxelles, Madrid, Barcellona, Praga, Ginevra... ove conobbi colleghi e presi parte a convegni nazionali ed internazionali.

Al pensionamento di Ruffo, sfortunatamente, l'atmosfera al Museo, profondamente mutò e l'autonomia del settore zoologico cessò!

Accettai allora la Cattedra di Zoologia offertami dall'Ateneo aquilano ove presi servizio nel febbraio 1987. Mantenni tuttavia sempre con Ruffo viva e cordiale collaborazione partecipando alle sue iniziative editoriali, in particolare alla checklist della fauna italiana per i Coleotteri Curculionoidei.

QUALCHE RIFLESSIONE

Al termine di questa breve commemorazione, possiamo chiederci: qual è l'eredità più vera e duratura che ci lascia Sandro Ruffo?

È la sua vastissima produzione scientifica, in particolare quella sui Crostacei Anfipodi? L'aver avviato il programma di ricerche appenniniche e sulla fauna cavernicola, reica, iporeica? O, ancora, il contributo dato alla migliore conoscenza dell'Appennino alla quale molti di noi non hanno lesinato sforzi e sacrifici? Difficile e una risposta univoca.

Personalmente sono orientato a ritenere che il suo contributo più importante e duraturo sia stato quello di avere dato nuova vitalità ai Musei naturalistici individuando in essi le strutture idonee a promuovere e ad organizzare le attività di ricerca territoriali.

In un mondo che velocemente cambia, la documentazione dell'esistente, del passato, e del presente, non può essere lasciato alla sola testimonianza scritta, spesso fallace, parziale o provvisoria se non erronea. Occorre la documentazione inoppugnabile dei materiali.

Sembra, questa, una affermazione lapalissiana, ma tale non sempre è e condivisa dai ricercatori delle discipline naturalistiche.

In conclusione a mio giudizio Ruffo è stato lo studioso alla cui sapienza noi tutti, allievi e colleghi, a piene mani abbiamo attinto!

Per me, poi, Egli è stato anche l'amico più vicino nei momenti difficili e tristi della mia vita. È stato, il Maestro che mi ha insegnato ad aver fede nella Scienza che lenta crea e non distrugge mai; è stata la guida che mi ha insegnato che v'è più gioia nel dare che nel ricevere.

Addio caro Sandro! Addio amato Maestro!

Da solo, ora proseguirò nel cammino con Te iniziato tanti anni fa; camminerò per la strada che abbiamo percorso insieme. E, se un giorno avverrà d'incontri ancora, riprenderemo allora i nostri colloqui e le tematiche che t'appassionavano, sulla Vita e sul Destino ma ne discuteremo, forse, alla luce della Verità Ultima, della Verità Suprema.

COMMEMORAZIONE

ERMENEGILDO TREMBLAY

FRANCESCO PENNACCHIO (*)

(*) Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria "Filippo Silvestri" - Università di Napoli "Federico II".
Commemorazione tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Genova, 13 giugno 2011.

Presentare la figura scientifica e umana di Ermenegildo Tremblay è per me, suo allievo, un grande onore. Il momento è reso più intenso e vibrante dalla solennità del contesto offerto da questa seduta pubblica dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, qui a Genova, sede della Società Entomologica Italiana. Non è facile contenere la profonda emozione che pervade il mio animo, quando tanti cari ricordi si affacciano alla mente. Il rischio di qualche eccesso retorico, che potrebbe nascere dal forte coinvolgimento personale, è elevato, ma sono certo che verrà limitato dal ricordo della sua persona: schiva ed essenziale. Il pensiero rivolto a lui, alla sua semplicità e ricchezza intellettuale, sia, come sempre, di saggia ispirazione, anche in questa toccante esperienza, a lui dedicata con grande affetto e riconoscenza.

Da studente del corso di Entomologia Agraria ho cominciato a conoscere e ad apprezzare gli aspetti più affascinanti della figura umana e scientifica di Ermenegildo Tremblay: conoscenza, autorevolezza, semplicità e onestà. La sua grande cultura, non solo scientifica, rendeva le lezioni da lui tenute estremamente coinvolgenti, capaci di arricchire e stimolare in modo speciale le menti dei numerosi studenti che le frequentavano. Ognuno di noi nutriva una profonda ammirazione per questo Professore, capace di trasmettere conoscenza ed entusiasmo, stimolando in modo unico curiosità e passione. Un lunedì di aprile del 1980, durante una delle sue brillanti lezioni, gli posi una domanda (che nemmeno ricordo) a cui lui ovviamente rispose, ma con disarmante naturalezza, mi invitò, a fine lezione, a seguirlo in biblioteca, in quanto non era completamente certo delle sue argomentazioni, poi risultate, ovviamente, corrette. Rimasi letteralmente folgorato da questo comportamento. La sua figura diventò per me speciale: una persona di cui potersi fidare ciecamente.

Questa istintiva e forte percezione mi ha sempre accompagnato da quel momento in poi, nel lungo percorso di vita fatto assieme. Tutto quello che è seguito negli anni è stato costantemente guidato da questo profondo connubio fra curiosità scientifica e saggia umiltà, che, associato alle sue conoscenze ampie e approfondite, ha consentito di affrontare in modo efficace i tanti quesiti che l'affascinante mondo degli insetti gli ha proposto nei lunghi anni della sua vita accademica.

Ermenegildo Tremblay, nato a Napoli il 25 settembre del 1932, da un musicista canadese, Rosario, e da Maria Teresa Faraone, amava profondamente questo affascinante mondo degli insetti, a cui dedicò un'intera vita di studio e di attività di ricerca, accumulando con grande passione un prezioso bagaglio scientifico e culturale. Ciò lo rendeva un solido punto di riferimento in qualsiasi discussione in campo entomologico, anche su argomenti nuovi, dove, con naturalezza ed entusiasmo, guidava l'interlocutore a toccare il cuore del problema e a definire quesiti biologici pregni di significato, in grado di ispirare esperimenti illuminanti. La sua mente andava oltre le problematiche metodologiche, anche le più complesse, sempre superate, quando necessario, attraverso preziose collaborazioni con esperti in vari campi. Tali interazioni furono rese possibili dalla chiarezza delle sue idee e dalla instancabile attitudine a mettersi continuamente alla prova su nuove frontiere della conoscenza. Un vero ricercatore, sempre pronto ad affrontare con entusiasmo le difficoltà delle sfide intellettuali in nuovi campi del sapere: mai si ritrasse nelle calme secche di presunte aree di specializzazione. La grande curiosità scientifica è stata il motore della sua brillante carriera accademica, che lo ha portato a studiare in modo analitico i complessi fenomeni biologici sottesi a numerose problematiche di Entomologia Agraria, e a intuire, spesso, nuove potenzialità appli-

cative. Questa sua attitudine naturale è stata la molla che lo ha portato, dopo la maturità classica (1950)¹ e la laurea in Scienze Agrarie presso l'Università degli Studi di Napoli (1954), ad iscriversi, successivamente, nello stesso ateneo, al corso di Scienze Biologiche. Conseguì questa seconda laurea nel 1962, quando era già assistente ordinario (Fig. 1), dal 1957, alla Cattedra di Entomologia Agraria dell'Università degli Studi di Napoli (Facoltà di Agraria, Portici), allora tenuta da Giuseppe Russo.

In quei primi anni di attività intensa, lo studio di insetti di interesse economico e dei danni da essi causati, portati continuamente all'attenzione dell'Istituto di Entomologia Agraria, allora sede anche della sezione di Entomologia dell'Osservatorio per le Malattie delle Piante, fu subito affiancato dal primo dei filoni di ricerca che Gildo Tremblay sviluppò con dedizione e passione: l'endosimbiosi negli Omotteri. Questo suo interesse scientifico fu alimentato e stimolato da Paul Buchner, uno dei più noti studiosi della simbiosi negli Insetti, di cui fu assistente nel decennio fra il 1960 e il 1970, presso il Laboratorio della "Deutsche Forschungs Gemeinschaft, Abt. Endosymbiose", ad Ischia. Il suo impegno in questo ambito fu particolarmente intenso e consentì di dare alla luce numerosi contributi, in particolare su cocciniglie e afidi, ma anche su aleirodidi. In questi studi descrisse con grande chiarezza gli eventi citologici ed embriologici sottesi alla trasmissione dei microrganismi simbiotici e allo sviluppo delle strutture cellulari preposte alla loro gelosa custodia (Fig. 2), evidenziando il ruolo dei globuli polari in questo processo (Fig. 3). L'importanza e la validità delle ricerche sulla endosimbiosi degli Omotteri hanno portato Gildo Tremblay ad essere considerato uno dei più validi esperti del settore, anche molti anni dopo, quando è stato invitato a contribuire alla stesura di capitoli sull'argomento in libri specialistici, fra cui ricordiamo "Insect Endocytobiosis" (1989) e "Scale Insects" (1997). Inoltre, il riconoscimento per i suoi importanti studi sui simbiotici degli Omotteri indusse Paul Baumann, nel 2002, a dedicargli il nome di un nuovo genere di batterio ("*Candidatus Tremblaya*" gen. nov.), endosimbionte di un batterio simbiotico primario di pseudococcidi, motivando così

¹ Conseguita presso il Liceo-Ginnasio "Domenico Cirillo" di Aversa, nella stessa sezione dove ho studiato io, diversi anni dopo, condividendo anche un professore. Questo fatto lo scoprimmo in una simpatica discussione durante una gita in campagna del corso di Entomologia Agraria, con grande soddisfazione del Professor Tremblay per la sua posizione anagrafica e altrettanto grande sorpresa di noi giovani studenti.



Fig. 1
Ermenegildo Tremblay (1957) sul terrazzo della Reggia di Portici e al microscopio.

la scelta: "...in honor of Ermenegildo Tremblay, an Italian entomologist who has made extensive contributions to our knowledge of endosymbionts of plant sap-sucking insects".

La consolidata tradizione di studio degli Imenotteri parassitoidi e del loro uso in lotta biologica, che a Portici, con Filippo Silvestri, aveva raggiunto livelli di grande visibilità internazionale, ebbe una naturale influenza sulla crescita scientifica di Gildo Tremblay. Le visite frequenti di eminenti studiosi stranieri, attratti dalla notorietà della sede di Portici in questo ambito scientifico, furono di grande stimolo, come da lui testimoniato in una lettera a Manfred Mackauer (Fig. 4), scritta di suo pugno nell'agosto del 1999, per scusarsi di non potere partecipare ad un simposio celebrativo organizzato in suo onore, in occasione del pensionamento. In questa lettera racconta confidenzialmente come l'interesse per i Braconidi Aphidiini fu stimolato da Robert van den Bosch (University of California-Berkeley), che durante un'escursione entomologica nell'area vesuviana, nel 1959, alla ricerca di parassitoidi di afidi, gli consigliò di avviare una collaborazione con un valente giovane ricercatore tedesco:

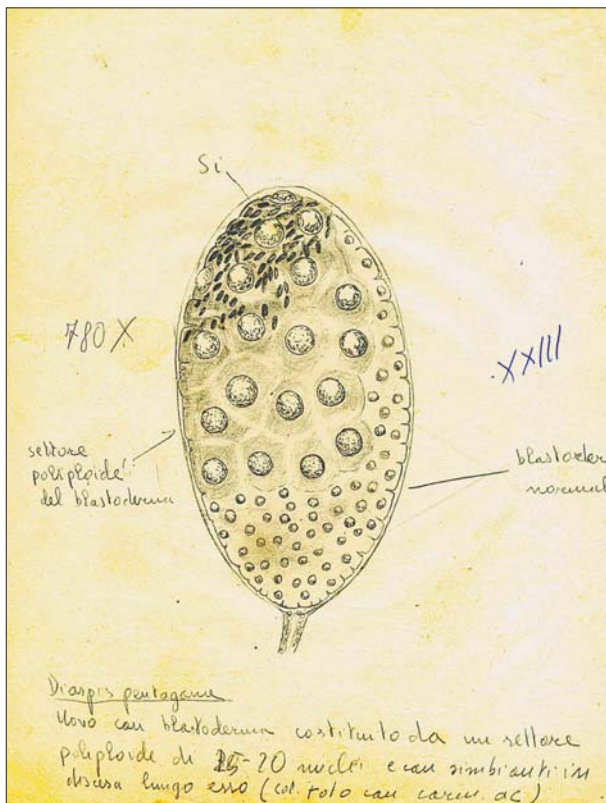


Fig. 2

Disegni originali con note di lavoro sulla colonizzazione da parte dei simbionti del settore poliploide del blastoderma in *Daspis pentagona*. In TREMBLAY, 1960 (pubbl. n. 7).

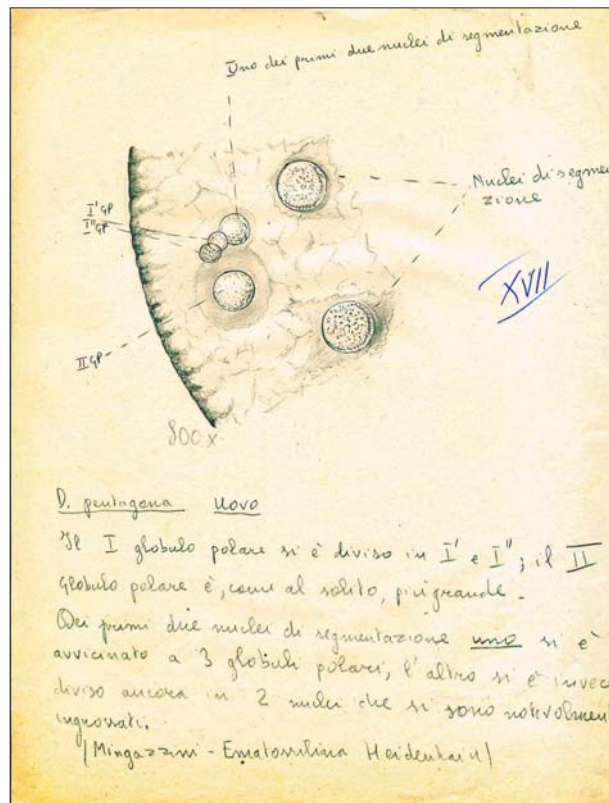


Fig. 3

Formazione del settore poliploide del blastoderma di *Daspis pentagona* con il coinvolgimento dei globuli polari. In TREMBLAY, 1960 (pubbl. n. 7).

Manfred Mackauer. Gildo Tremblay recepì immediatamente il consiglio e, dal 1 gennaio al 31 ottobre del 1960, svolse un proficuo soggiorno presso lo "Zoologisches Institut" dell'Università di Francoforte, fruendo di una borsa di studio del Ministero della Pubblica Istruzione. Durante questo periodo furono gettate le basi di uno dei filoni di ricerca che egli poi curerà con grande interesse durante tutta la sua carriera accademica, quello dei Braconidi Afidiini, producendo studi originali su diversi aspetti di questo gruppo di insetti. Alla prima corposa monografia su *Lysiphlebus fabarum* (Fig. 5), del 1964, seguirono numerosi altri contributi di sistematica e biologia, in cui si nota come il suo interesse venne attratto, in particolare, dallo studio delle membrane embrionali e dei teratociti, speciali cellule che da esse originano. Ciò fu in parte certamente dovuto all'interazione con Manfred Mackauer, autore di interessanti contributi sui teratociti di Braconidi Afidiini che avevano colpito la sua attenzione, ma fu reso possibile anche dalla considerevole esperienza in citologia ed embriologia, maturata attraverso il suo intenso lavoro sulla simbiosi negli Omoteri. Scoprì nuove modalità di uso dei globuli polari nei braconidi endoparassitoidi di afidi, descrivendo il loro coinvolgimento nella genesi delle mem-

brane embrionali. Un tema di studio a lui particolarmente caro. Nel 1966, pubblicò nel Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri" i primi contributi su questo argomento, su cui continuò un'intensa attività di ricerca, anche durante la permanenza presso il "Department of Entomology, University of California - Berkeley", in qualità di Visiting Professor, dal marzo al giugno del 1970. In quel breve periodo avviò, e in parte completò, numerose e interessanti osservazioni sperimentali, che videro la stampa fra il 1971 e il 1972, e pose le basi per la scrittura di un importante lavoro di revisione sui possibili destini funzionali dei globuli polari negli insetti, pubblicato, nel 1973, in Annual Review of Entomology. Questo soggiorno negli USA fu per lui un'esperienza scientifica molto proficua e occasione di grande serenità familiare, poiché lo accompagnarono la moglie e le due figlie, ancora piccole. Serbava un bel ricordo di quel periodo, sempre molto vivido nella sua mente.

Il 1972 fu l'anno in cui Gildo Tremblay risultò vincitore del concorso alla cattedra di Entomologia Agraria dell'Università degli Studi di Napo-

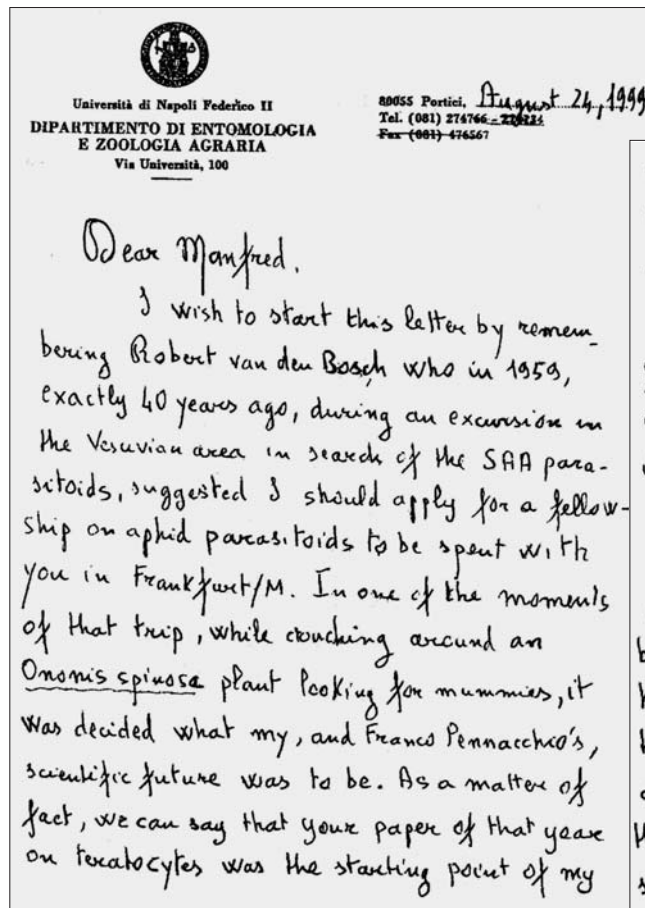


Fig. 4
Lettera inviata a Manfred Mackauer nell'agosto del 1999.

li, che ha ricoperto fino alla fine della sua carriera accademica, durante la quale ha diretto per molti anni l'Istituto di Entomologia Agraria e, poi, il Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria, contribuendo attivamente alla crescita della struttura e a un suo attivo inserimento in un contesto scientifico nazionale ed internazionale. Ciò fu reso possibile grazie non solo alle sue doti scientifiche, ma anche alla sua signorilità nella gestione dei rapporti umani. Durante tutto questo periodo, grande e ininterrotto fu anche il suo impegno alla direzione editoriale del Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri". Nel solco di una tradizione scientifica portata avanti nel tempo da Antonio Berlese, Filippo Silvestri e Giuseppe Russo, promosse l'istituzione della prima cattedra di Lotta Biologica in Italia, che è stata ricoperta da Gennaro Viggiani per più di un trentennio, favorendo, così, la trasmissione di una preziosa eredità culturale che cercheremo sempre di salvaguardare e valorizzare.

Negli anni immediatamente seguenti, mentre proseguivano gli studi sugli afidi e i loro parassitoidi, affiancati da numerose osservazioni relative

interest for this aspect of braconoid physiology, which is now the bulk of Franco's scientific activity.

Personal reasons prevent me from joining you in this celebrative occasion but I could say I am represented in a way which is perfectly satisfying.

I am expected to retire at the age of 72 and look forward to this occasion like to a kind "emergence from the mummy of bureaucratic burdens". There is the risk, however, that my "emergence" might be of the type described in Dante's Divine Comedy as "the emergence of the human worm to become the angelic butterfly". I am rather optimistic, in spite of all.

All the best von Hauts
zu Hauts! Gildo

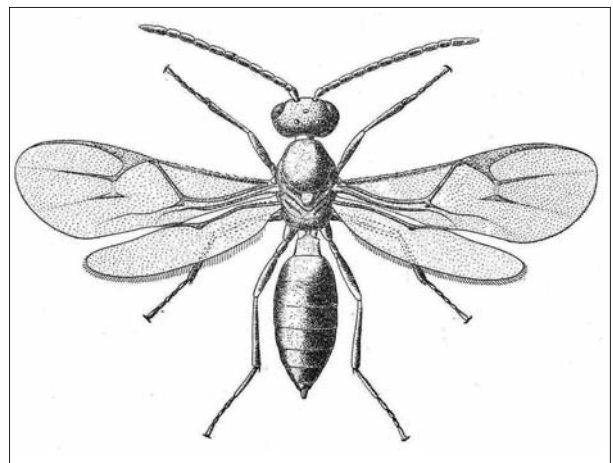


Fig. 5
Lysiphlebus fabarum. Disegno originale da TREMBLAY, 1964 (pubbl. n. 17).

alle principali emergenze fitosanitarie del momento, cominciò a prendere corpo una nuova linea di ricerca: i feromoni e il loro uso per il controllo degli insetti. Tale attività continuò proficuamente fino ai primi anni ottanta, dando alla luce numerosi contributi. Particolare attenzione fu rivolta

agli pseudococcidi, studiando sia il ruolo dei feromoni sessuali nei meccanismi di isolamento riproduttivo di specie affini, sia il loro uso in tecniche di monitoraggio e cattura massale.

Il suo continuo interesse per le problematiche di Entomologia Agraria lo portò ad acquisire una notevole visibilità scientifica e, a partire dai primi anni ottanta (Fig. 6), a svolgere importanti incarichi pubblici, in ambito nazionale ed internazionale. Fra questi ricordiamo la partecipazione ad un Comitato della FAO di esperti di “Integrated Pest Control” e il suo ruolo, per diversi anni, di membro del Consiglio Superiore del Ministero dell’Agricoltura e delle Foreste. In quello stesso periodo, anche il suo impegno nella formazione dei giovani crebbe notevolmente, sia in Italia che all’estero. Egli fu invitato a tenere corsi di Entomologia avanzata, presso la “American University of Beirut” (1980-1981), e corsi di Entomologia e Zoologia Agraria, presso la “National Somali University” (1986). La sua capacità di accendere l’interesse degli studenti portò non pochi di essi a seguirlo al suo rientro a Portici, per svolgere una tesi di laurea o un corso di dottorato.

Gildo Tremblay promosse l’istituzione presso l’Università degli Studi di Napoli, fin dal primo ciclo, di un corso di dottorato di ricerca in Entomologia Agraria, con sedi consorziate a Bari, Catania e Palermo, che coordinò con entusiasmo dal 1982 al 1994. Era fortemente convinto della cruciale importanza della formazione post-laurea, che curò con la massima attenzione e dedizione. I giovani che sono passati in questa scuola di Entomologia sono stati particolarmente numerosi e molti di loro sono adesso gli elementi su cui poggia buona parte della ricerca e dell’insegnamento di questa disciplina in Italia meridionale.



Fig. 6

Ermenegildo Tremblay (luglio 1983) presso l’Azienda Pilota di Castelvolturno della Facoltà di Agraria di Napoli.

Sono convinto che tutti preservano nel loro animo il caro e vivido ricordo dell’entusiasmo con cui questa esperienza è stata costruita, con la partecipazione di tutti, e di Tremblay in particolare, creando forti legami scientifici e personali, solidamente sopravvissuti nel tempo. Questo è stato un risultato pregevole, di cui apprezziamo ancora oggi il valore.

Ho avuto la fortuna di avere vissuto questa esperienza molto positiva del dottorato a Portici, ai suoi primi passi, e l’opportunità unica di svolgere la mia attività di ricerca sotto la supervisione di Gildo Tremblay. Questo coincide con l’inizio dell’ultima fase storica della sua carriera accademica, durata più di 20 anni, che è stata largamente incentrata su argomenti a lui molto cari. Lo studio della biosistemica dei Braconidi Afidini, e, successivamente, l’analisi delle basi funzionali e molecolari delle interazioni ospite-parassitoide costituirono il fulcro della sua attività, a cui ho avuto il privilegio di partecipare. È stata una bellissima esperienza di condivisione quotidiana, che ancora oggi offre insegnamenti preziosi, ripensando ai tanti dettagli sfuggiti in passato per mancanza di tempo e, forse, di maturità.

La biosistemica dei Braconidi Afidini venne affrontata considerando molti aspetti della biologia e del comportamento di questo gruppo di insetti, focalizzando l’attenzione su problemi scelti con l’acume che solo un ricercatore nel pieno della sua maturità scientifica può avere. Ogni idea discussa, ogni esperimento pianificato e realizzato sono state vere e proprie palestre di formazione al pensiero scientifico. Il rapporto con l’ospite e la sua pianta non rappresentavano una semplice informazione da archiviare, ma oggetto di meticolosi studi funzionali delle tante soluzioni adattative che non sfuggivano alla sua attenta osservazione. Questo approccio scientifico consentì di scoprire la presenza in *Aphidius ervi* di specie distinte, strettamente associate all’ospite naturale parassitizzato, e di delineare nuovi scenari evolutivi. La novità di questi studi aprì un sereno ma fermo contenzioso scientifico con uno dei principali specialisti del gruppo, riconciliato solo da qualche anno, sulla scorta anche delle evidenze sperimentali fornite nel tempo da altri ricercatori. Accolse la notizia della mutata opinione del suo collega-amico con un benevolo sorriso, senza particolari commenti, come era solito fare quando chiudeva qualsiasi discussione, forte delle sue idee, che mai imponeva, essendo sempre sinceramente aperto al dialogo e pronto a cambiare le sue posizioni, alla

luce di fatti convincenti. Era questa la dote innata di uno scienziato e di un uomo di grande equilibrio, che anteponeva la ricerca oggettiva della verità all'attaccamento che si può avere alle proprie idee e teorie. Il suo pensiero acuto e il notevole spessore culturale su cui poggiava non gli faceva temere i confronti, anzi, lo stimolava a cercarne, con spirito sempre garbato e l'intento positivo di trovare occasioni di ulteriore arricchimento.

L'interesse per la fisiologia delle interazioni parassitarie aumentò nel corso degli anni. Cresceva in lui la curiosità sul significato funzionale del veleno e dei teratociti nella complessa rete di interazioni fra gli afidi e i loro parassitoidi. La sua ragguardevole conoscenza dei fenomeni biologici coinvolti lo portava a formulare intuitivamente ipotesi affascinanti, capaci di stimolare studi di fisiologia sempre più approfonditi, spinti fino al dettaglio molecolare, che lui, talora, commentava con spirito misto fra il meravigliato e lo scettico. Ricordo che in una delle tante discussioni serali, fatte quando una maggiore calma lasciava spazio alla riflessione, parlando dei teratociti, li descrisse, con una brillante intuizione, come delle "cellule intestinali libere", che facilitano l'alimentazione delle larve "consorelle", promuovendo la digestione di specifici tessuti dell'ospite e la mobilitazione di sostanze nutritive in una forma fruibile solo da queste ultime. In poche parole, anticipò quello che sarebbe stato dimostrato circa 20 anni dopo, da studi che sono stati ispirati da questa illuminante ipotesi originaria. In tutte queste occasioni di confronto, i suoi discorsi e le sue idee scaturivano spesso da attente osservazioni di laboratorio, talora riconsiderate alla luce di qualche esperimento fatto anni addietro, cercando sempre una sintesi fra il nuovo e quanto osservato in passato e non spiegato appieno.

A partire dai primi anni 90, avviò uno stretto rapporto di collaborazione con Brad Vinson (Texas A&M University, College Station, TX, USA), che lo portò ad allargare ulteriormente gli orizzonti dei suoi studi sui parassitoidi. Cominciò ad interessarsi ad una nuova specie modello, *Toxoneuron nigriceps*, un braconide parassitoide endofago di larve del lepidottero *Heliothis virescens*, associato ad un bracovirus (*TnBV*) simbiote. Il suo forte e crescente interesse per questa nuova tematica di ricerca lo portarono, nel settembre del 1990, a trascorrere due settimane in Texas, nel laboratorio di Brad Vinson, dove io ero approdato più di un anno prima, seguendo i suoi consigli ed incitamenti. Una bellissima parentesi difficile da descrivere! Mi colpì, in particolare, la sua gioia per il tempo che poteva passare indi-

sturbato in laboratorio, ad osservare, discutere, programmare, come se fosse stato un giovane ricercatore agli inizi della carriera. I risultati di questi studi posero le basi per un'approfondita analisi molecolare dei processi di regolazione dell'ospite e del ruolo svolto dai bracovirus simbiotici, punto di partenza di un'intensa attività scientifica tuttora in corso ad opera dei suoi allievi. Senza la sua lungimiranza e il forte desiderio di conoscenza che sempre lo animava, tutto ciò che ancora oggi riempie le nostre menti e stimola le nostre ricerche non esisterebbe.

Il rapporto ospite-parassitoide è stato studiato da Gildo Tremblay anche nel contesto delle interazioni multitrofiche che tali organismi instaurano con le piante, promuovendo e coordinando ricerche finalizzate allo studio delle difese dirette e indirette dei vegetali. La manipolazione di queste difese delle piante, anche attraverso approcci di natura biotecnologica, ha rappresentato una delle sue ultime proiezioni verso il futuro, oggi nostro attivo presente, condiviso con amici e colleghi di diversa estrazione culturale, attratti nel corso degli anni dal fascino delle sue idee e dalla piacevolezza del suo inimitabile garbo. Queste sue doti hanno trasformato le collaborazioni scientifiche in esperienze molto stimolanti, anche dal punto di vista umano, alcune delle quali, ancora oggi, vive e vivaci e parte importante della preziosa eredità culturale che lui ci ha trasmesso.

Con l'avvicinarsi della data del suo pensionamento, Gildo Tremblay guardava con crescenti aspettative al futuro (Fig. 4), che immaginava senza le incombenze burocratiche imposte dalle sue responsabilità di direzione del Dipartimento, in modo da potersi dedicare totalmente ai suoi studi, e ad assaporare, finalmente, con maggiore serenità le gioie familiari, accresciute dall'arrivo dei nipotini. Purtroppo il destino non è stato benevolo con lui. Nei primi giorni di agosto del 2000, mentre era in vacanza in Calabria con la famiglia, venne colpito da ictus cerebrale. Si era pronti a partire per il Brasile, per potere prendere parte ai lavori del Congresso Internazionale di Entomologia. Tanti i progetti e le aspettative, anche di una bella parentesi estiva, da potere passare con numerosi colleghi e amici. Significava per lui tornare con serenità, da semplice partecipante, a questo importante evento internazionale, dopo l'indiscusso successo italiano di Firenze, nel 1996, a cui aveva contribuito in modo determinante e con grande impegno personale, in qualità di Presidente del Comitato Scientifico (Fig. 7). Tutto sfumò drammaticamente in un istante. Ancora



Fig. 7

Congresso Internazionale di Entomologia a Firenze (agosto 1996).

ricordo una vena di rammarico sul suo volto per questa mancata occasione, nonostante la gravità della sua situazione di salute. Cominciò in quel momento un lungo calvario personale, che ha affrontato con grande dignità, avvolto dall'affetto e costante premura della moglie Geltrude e delle figlie Maria Teresa e Massimiliana.

Dopo i primi mesi di questa nuova e difficile parentesi della sua vita, nonostante le limitative condizioni di salute, decise di tenere, ancora una volta, nella primavera del 2001, il corso di Entomologia Agraria. Il suo attaccamento all'Entomologia e agli studenti era più forte delle notevoli sofferenze causate dallo stato di salute. Tuttavia, le oggettive difficoltà fisiche lo convinsero a richiedere, lo stesso anno, il collocamento a riposo. Lasciò in anticipo il ruolo di docente dell'Università degli Studi di Napoli "Federico II" con la fine del 2001. Non fu una resa, ma semplicemente un mettere da parte incombenze didattiche e gestionali, che non riusciva più a svolgere serenamente e con il profondo coinvolgimento di sempre. Ciò gli consentì di concentrare le ormai ridotte energie sull'aggiornamento della nuova edizione del testo "Entomologia applicata" e su alcuni interessi culturali, a lui sempre molto cari.

Mantenne inalterata la sua attenzione sull'andamento delle ricerche, di cui chiedeva costantemente nei nostri regolari incontri settimanali. Non si limitava ad ascoltare, ma con interesse e partecipazione era sempre prodigo di consigli e suggerimenti. Continuò ancora a scrivere, dando alle stampe 22 lavori, fra il 2000 e il 2005. Lentamente, ma costantemente, risalì la difficile china che si era trovato di fronte, fino a riconquistare un entusiasmo fattivo, che lo portò, nel settembre del 2003, a tenere un seminario a Potenza sulle interazioni insetto-pianta, invitato dai suoi colleghi e

allievi dell'Università degli Studi della Basilicata. Questo argomento, che lo aveva sempre particolarmente stimolato, fu poi oggetto di una brillante presentazione presso l'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, a Firenze, nel novembre del 2003. Ricordo l'emozione di quel momento, che lo ha visto per l'ultima volta in compagnia dei suoi amici e colleghi che lo avevano accompagnato per lunghi anni, durante tutta la sua vita accademica. Persona semplice e schiva, non amante della retorica, pur essendo assolutamente pieno di gioia e commosso dal calore umano che lo circondò in quella occasione, riuscì a non farsi tradire dall'emozione e tenne una bella Lettura, fornendo a tutti noi un esempio di alto valore umano e scientifico. Ne fu molto soddisfatto e non celò il suo piacere per la realizzazione di un desiderio che aveva lungamente accarezzato nel suo animo.

Tutto sembrava andasse verso un nuovo delicato equilibrio, in una ritrovata serenità, con la voglia di continuare ad assaporare le tante piccole gioie della vita. Purtroppo, dopo poco, nel giorno della vigilia di Natale del 2003, patì un ulteriore episodio acuto della sua malattia, che risultò molto debilitante nel corpo e nello spirito. Iniziò un lungo periodo difficile, che Gildo Tremblay affrontò sempre con dignità, nonostante le forze gradualmente si affievolissero. L'affetto familiare e degli amici lo hanno certamente aiutato, ma la sua forza d'animo e la volontà di non vedere i suoi cari angosciati dalla sua sofferenza hanno avuto un ruolo determinante nel tenerlo strettamente aggrappato ad una vita difficile. Nonostante tutto, queste dure prove non intaccarono in modo significativo il suo spirito più profondo. Infatti, non di rado le discussioni cadevano sui lavori scientifici in corso, argomento che sempre stimolava la sua attenzione e risvegliava un interesse mai sopito verso gli insetti. Non sono mancate piacevoli parentesi di condivisione sincera delle cose belle e meno belle che la vita ci ha offerto nel corso di questi ultimi anni, facendo ancora di più apprezzare a chi gli è stato vicino il suo grande spessore umano e morale. La tenera nostalgia di un passato bello è stata sempre presente ma non ha mai preso il sopravvento la tristezza, che quando inesorabilmente a volte si affacciava veniva da lui ricacciata, talora interrompendo, con il solito garbo, i nostri incontri, invitandomi premurosamente a tornare ai miei impegni di lavoro.

Gildo Tremblay è stato "un'amorevole figura umana, esempio unico di Uomo e di Scienziato, che con semplicità e mitezza ha trasmesso a tutti noi una preziosa eredità morale e culturale, da custodire gelosamente e a cui cercheremo sempre di ispirarci". Queste le parole che con dolore e

grande affetto ho scritto nel suo necrologio, per ricordarne la figura, quando, il 31 ottobre del 2010, nelle prime ore del giorno, la sua vita terrena finì serenamente, così come era stata vissuta. In quel momento, la silenziosa operosità che permeò tutta la sua esistenza diventò, improvvisamente, un triste silenzio, ma non della sua anima, che vivrà sempre con tutti noi: “la sua scomparsa non lo cancellerà mai dai nostri cuori”.

PUBBLICAZIONI DI
ERMENEGILDO TREMBLAY

1. TREMBLAY E., 1958 - *Studio morfo-biologico sulla Necrobia rufipes* DeG. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 16: 9-140.
2. TREMBLAY E., 1958 - *La Trioza nigricornis Förster (Nota preliminare)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 16: 160-170.
3. TREMBLAY E., 1958 - *Sviluppo embrionale degli stiletti boccali dei Coccidae Diaspini* (Diaspis pentagona Targ.). - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 16: 171-212.
4. TREMBLAY E., 1958 - *Ovoviviparità, comportamento delle femmine vergini, sesso delle larve e ghiandole cefaliche larvali della Diaspis pentagona Targ.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 16: 215-246.
5. TREMBLAY E., 1959 - *Osservazioni sui due tipi di uova e sulla origine dei micetociti nella Diaspis pentagona Targ.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 17: 51-88.
6. TREMBLAY E., 1959 - *Osservazioni sulla simbiosi endocellulare di alcuni Aleyrodidae* (Bemisia tabaci Gennad., Aleurolobus olivinus Silv., Trialeurodes vaporariorum West.). - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 17: 210-246.
7. TREMBLAY E., 1960 - *Ciclo cromosomico e simbiosi endocellulare nella Diaspis pentagona Targ.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 18: 49-228.
8. TREMBLAY E., 1960 - *Beobachtungen über das Schicksal der Richtungkörper und die Endosymbiose bei einigen Cocciden*. - Verh. XI Int. Kongr. Ent. Wien 1: 415-418.
9. TREMBLAY E., 1960 - *Osservazioni sul destino dei globuli polari e sulla simbiosi endocellulare in alcuni Coccidi*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 18: 285-293 (trad. riveduta della pubbl. n. 8).
10. TREMBLAY E., 1961 - *Osservazioni su un insetto dannoso ai fiori. La Gymnoscelis pumilata Hb.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 19: 199-214.
11. TREMBLAY E., 1961 - *Osservazione sulla cariologia e sulla simbiosi endocellulare di alcuni Coccini*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 19: 215-260.
12. TREMBLAY E., 1961 - *Ulteriori considerazioni sui due tipi di ovaroli della Diaspis pentagona Targ.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 19: 291-299.
13. TREMBLAY E., 1961 - *La Psilla ed il misurino della cipolla*. - Lab. Ent. Agr. F. Silvestri e Oss. Malattie delle Piante 24: 1-9.
14. TREMBLAY E., 1962 - *Una visita al centro di lotta biologica della Germania Federale*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 20: 3-12.
15. TREMBLAY E., 1962 - *Notulae aphidologicae. I. Notizie su alcuni afidi dannosi*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 20: 20-30.
16. TREMBLAY E., 1964 - *I risultati di prove di lotta contro la Psilla della Cipolla* (Trioza tremblayi Wagner). - Ann. Fac. Sc. Agrar. Univ. Studi Napoli Portici S.III 30: 3-15.
17. TREMBLAY E., 1964 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. I. Studio morfo-biologico sul Lysiphlebus fabarum (Marshall)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 22: 1-119.
18. TREMBLAY E., 1965 - *Studio morfo-biologico sulla Trioza tremblayi Wagner*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 23: 37-138.
19. TREMBLAY E., 1965 - *Guida pratica alle osservazioni scientifiche*. - Le Scienze 2: 119-133.
20. TREMBLAY E., 1965 - *Gli Insetti entomofagi e la lotta biologica*. - Le Scienze 2: 310-318.
21. TREMBLAY E., 1966 - *Primi tentativi di introduzione in Italia (Campania) del Perillus bioculatus (Fabr.), nemico naturale della Dorifora Della Patata* (Leptinotarsa decemlineata Say-). - Ann. Fac. Sc. Agrar. Univ. Studi Napoli Portici S.IV 1: 1-13.
22. TREMBLAY E., 1966 - *Gli Insetti allevatori di microrganismi utili*. - Le Scienze 3: 15-22.
23. TREMBLAY E., 1966 - *L'Argyrotaenia pulchellana (Haworth) dannosa al Finocchio* (Foeniculum vulgare dulce - Mill.) in Campania. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 24: 31-48.
24. TREMBLAY E., 1966 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. II. Osservazioni sull'origine e sul destino dell'involucro embrionale degli Afidiini e considerazioni sul significato generale delle membrane embrionali*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 24: 119-166.
25. TREMBLAY E., 1966 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. III. Osservazioni sulla competizione intraspecifica negli Aphidiinae*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 24: 209-226.
26. HUGHES-SCHRADER S., TREMBLAY E., 1966 - *Gueriniella and the cytotoxonomy of Iceryine Coccids*. - Chromosoma 19: 1-13.
27. TREMBLAY E., 1967 - *Gli afidi e il loro mondo*. - Le Scienze 4: 22-29.
28. TREMBLAY E., 1967 - *Un esperimento di lotta biologica contro la Dorifora della Patata*. - Inf. Fitopat. 17: 83-84.
29. TREMBLAY E., 1967 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. IV. Notizie su Afidiini italiani*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 25: 59-70.
30. TREMBLAY E., 1967 - *Osservazioni sulla trasmissione ereditaria del simbionte in Brevicoryne brassicae (L.)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 25: 71-92.
31. TREMBLAY E., 1967 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. V. Sulla posizione sistematica degli Aphidiinae*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 25: 93-108.
32. TREMBLAY E., 1968 - *Le società animali*. - Le Scienze, 5, : 89-98.
33. TREMBLAY E., 1968 - *Il dualismo ontogenetico negli imenotteri parassiti*. - Atti VII Congr. Naz. Ital. Entom. Verona: 151-153.
34. TREMBLAY E., 1968 - *Semplici esperimenti con gli Insetti*. - Le Scienze 5: 366-373.
35. TREMBLAY E., ZOULIAMIS N., 1968 - *Dati conclusivi sull'introduzione, sulla biologia ed impiego del Perillus bioculatus (Fabr.) nell'Italia meridionale*. - Boll. Lab. Ent. agr. Portici 26: 99-122.
36. TREMBLAY E., 1968 - *Osservazioni sui Punteruoli della*

- Canapa (Coleoptera Curculionidae). Note morfologiche, biologiche e lotta chimica.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 26: 139-190.
37. TREMBLAY E., 1969 - *Sulla carposfagia abituale delle larve di alcune specie di Lepidotteri Nottuidi.* - Notiz. Mal. Piante 80-81: 3-7.
 38. TREMBLAY E., 1969 - *Ricerche sugli imenotteri parassiti. VI. Descrizione di una nuova specie del genere Pauesia Quilis Perez.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 27: 153-160.
 39. TREMBLAY E., 1969 - *I problemi della lotta contro il Sifonino delle Pomacee.* - Atti III Congr. Int. Antipar. Milano 40: 1-3.
 40. TREMBLAY E., 1969 - *Il controllo del Siphoninus phillyreae (Haliday) in Campania.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 27: 161-176.
 41. TREMBLAY E., 1969 - *Il nido delle formiche.* - Le Scienze 6: 363-370.
 42. TREMBLAY E., 1969 - *I casi di macrotrasmissione ereditaria dell'endosimbiosi negli insetti.* - Mem. Soc. Ent. Ital. 48: 17-24.
 43. IACCARINO F.M., TREMBLAY E., 1969 - *La Disimbiosi dei generi Macrosiphum Pass. e Dactynotus Raf.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 27: 317-328.
 44. TREMBLAY E., 1970 - *Notizie sul complesso Afidi-Afidiini del Pino laricio.* - Atti VIII Congr. Naz. Ital. Ent. Firenze: 117-119.
 45. TREMBLAY E., 1970 - *In memoria di Guido Grandi.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 28: 3-10.
 46. IACCARINO F.M., TREMBLAY E., 1970 - *Osservazioni ultrastrutturali sulla Endosimbiosi del Planococcus citri (Risso).* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 28: 35-48.
 47. TREMBLAY E., 1970 - *Variability of endosymbiotic patterns in aphids.* - Proc. 2nd Int. Congr. Paras. Washington DC: 346.
 48. TREMBLAY E., 1970 - *La lotta agli insetti nella magia e nel folklore.* - Le Scienze 7: 325-331.
 49. TREMBLAY E., MICIELI DE BIASE L., 1970 - *Notulae aphidologiche II. Notizie sugli Afidi del Pinus nigra Arn.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 28: 204-223.
 50. TREMBLAY E., GALLO M., 1971 - *Un Carabide dannoso alla Fragola in Campania (Harpalus rufipes De Geer).* - Atti Giorn. Fitop. Venezia: 597-599.
 51. TREMBLAY E., CALVERT D., 1971 - *Embryosystematics in the Aphidiines.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 29: 223-249.
 52. TREMBLAY E., 1971 - *Lotta biologica tradizionale.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 29: 250-259.
 53. TREMBLAY E., IACCARINO F.M., 1971 - *Notizie sull'ultrastruttura dei trofociti di Aphidius matricariae Hal.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 29: 305-313.
 54. TREMBLAY E., 1972 - *I bioritmi degli Artropodi e il loro studio.* - Le Scienze 9: 1-11.
 55. TREMBLAY E., CALVERT D., 1972 - *New cases of polar nuclei utilization in Insects.* - Ann. Soc. Ent. Fr. (N.S.) 8: 495-498.
 56. TREMBLAY E., 1972 - *Notizie sullo svernamento di alcune specie di Lepidotteri Noctuidae e Tortricidae.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 117-130.
 57. TREMBLAY E., 1972 - *Ricerche sugli Imenotteri parassiti. IX. Su un rinvenimento di Trioxys pannonicus Stary'.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 131-138.
 58. TREMBLAY E., 1972 - *Il pungiglione, arma automatica negli Imenotteri sociali.* - Le Scienze 9: 321-331.
 59. TREMBLAY E., IACCARINO F.M., 1972 - *Osservazioni sull'ultrastruttura dei trofociti degli Afidiini.* - Atti IX Congr. Naz. Ital. Ent. Siena: 129-131.
 60. TREMBLAY E., 1972 - *La cariolologia nella sistematica delle Cocciniglie.* - Atti IX Congr. Naz. Ital. Ent. Siena: 295-311.
 61. TREMBLAY E., CALTAGIRONE L., 1973 - *Fate of Polar Bodies in Insects.* - Annu. Rev. Entomol. 18: 421-444.
 62. TREMBLAY E., 1973 - *Principi di lotta chimica razionale ai fitofagi.* - Ist. Ent. Agr. Univ. Napoli Portici Note Divulg. 6: 3-15.
 63. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1973 - *Studi su un feromone sessuale del Planococcus citri (Risso). I.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 217-230.
 64. TREMBLAY E., 1973 - *Giuseppe Russo. Necrologio.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 3-19.
 65. IACCARINO F.M., TREMBLAY E., 1973 - *Comparazione ultrastrutturale della disimbiosi di Macrosiphum rosae (L.) e Dactynotus jaceae (L.).* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 319-329.
 66. TREMBLAY E., 1973 - *Possibilità di impiego dell'Aphidius matricariae Hal. contro il Myzus persicae (Sulz.), in serra.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 30: 331-50. Pubblicato anche in inglese in: Zeitschr. f. Pflanzkrk. u. Pflschzt. 81: 612-619.
 67. TREMBLAY E., 1973 - *Studio sull'attività cinetica di insetti.* - Le Scienze 10: 268-279.
 68. TREMBLAY E., SOULIOTIS C., 1974 - *Saggio su un indice bioclimatico per il Myzus persicae (Sulz.).* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 31: 109-120.
 69. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1974 - *Studi su un feromone sessuale del Planococcus citri (Risso). II. Estrazione.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 31: 121-131.
 70. TREMBLAY E., 1974 - *Gli spostamenti aerei degli Insetti.* - Le Scienze - 11: 268-279.
 71. TREMBLAY E., 1974 - *Attualità della lotta biologica.* - Notiz. Mal. Piante Pavia 90-91: 143-52.
 72. TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1975 - *The pheromones of the Coccoidea and their possible use in integrated control.* - VIII Int. Plant Prot. Congr. Moscow 5: 195-200.
 73. TREMBLAY E., 1975 - *Le specie del genere Trioxys Hal. parassite di Afidi del genere Cavariella Del Guer.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 32: 3-12.
 74. TREMBLAY E., 1975 - *I parassiti degli Afidi del Pinus nigra Arn.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 32: 91-110.
 75. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1975 - *Studi su un feromone sessuale del Planococcus citri (Risso). III. Specificità.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 32: 125-130.
 76. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1975 - *Sull'attrattività delle femmine vergini di due specie di Pseudococcidi per un Imenottero parassita.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 32: 172-179.
 77. TRANFAGLIA A., ROTUNDO G., IACCARINO F.M., E., TREMBLAY E., 1975 - *Esame preliminare comparato di alcune specie di Pseudococcidi dannosi.* - Atti X Congr. Naz. Ital. Ent. Sassari: 269.
 78. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1975 - *Risultati preliminari sull'estrazione di un feromone sessuale da Planococcus citri (Risso).* - Atti X Congr. Naz. Ital. Ent. Sassari: 275.
 79. TREMBLAY E., 1975 - *Voci da Parantrene a Perillo.* - Enc. Agr. Ital. VIII.
 80. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1976 - *Simple extraction*

- and bioassay of the female sex pheromone of the citrus mealybug, *Planococcus citri*. - Ann. appl. Biol. 82: 165-167.
81. TREMBLAY E., 1976 - *Il controllo chimico dell'Aleirode delle serre* (*Trialeurodes vaporariorum* - Westwood.). - Ist. Ent. Agr. Univ. Napoli Portici. Note Divulg. 9: 1-10.
 82. TREMBLAY E., 1976 - *Entomologia agraria. Generalità e mezzi di lotta*. - Vol. I, 1-151, Liguori Ed. Napoli.
 83. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1976 - *La discriminazione sierodiagnostica negli Pseudococcidi. II. Planococcus citri (Ris.) e Planococcus ficus (Sign.)*. - Boll. Lab. Ent. agr. Silvestri Portici 33: 99-107.
 84. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1976 - *Osservazioni sull'attività di volo dei maschi di Pseudococcus calceolariae (Mask.)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 33: 108-112.
 85. TREMBLAY E., 1976 - *La discriminazione dei maschi di alcune specie dei generi Ephedrus Hal. e Praon Hal.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 33: 168-181.
 86. TREMBLAY E., BIANCO M., 1976 - *Osservazioni sui Ceutorinchi del Cavolfiore in Campania*. - Atti Giorn. Fitopat. Torino: 469-473.
 87. DOUTT R.L., ANNECKE D.P., TREMBLAY E., 1976 - *Biology and Host Relationships of Parasitoids*. In: C. Huffaker «Theory and practice of Biological Control». Ac. Press, 143-68.
 88. IACCARINO F.M., TREMBLAY E., 1977 - *Notizie sulle specie italiane dei generi Aleurochiton Tullgr. e Neoaleurochiton Samp.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 34: 3-10.
 89. TREMBLAY E., VIGGIANI G., 1977 - *Un «viaggio» tra gli Insetti*. - L'Italia Agr. 114: 22-30.
 90. TREMBLAY E., 1977 - *Advances in endosymbiont studies in Coccoidea*. In: «Studies on the Morphology and Systematics of Scale Insects». - Virg. Polytechn. Inst. State Univ. Res. Div. Bull. 127: 23-33.
 91. TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., ROTUNDO G., IACCARINO F.M., 1977 - *Osservazioni comparate su alcune specie di Pseudococcidi*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 34: 113-135.
 92. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1977 - *Osservazioni sul potere attrattivo di trappole con femmine vergini di Pseudococcus calceolariae (Mask.) nei confronti dei maschi in pieno campo*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 34: 136-149.
 93. MICIELI DE BIASE L., DE MARINIS G., TREMBLAY E., 1977 - *Gli Insetti vettori delle virosi della Patata nella Piana del Fucino. I*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 34: 164-203.
 94. TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1978 - *La specificità feromonica quale meccanismo di isolamento riproduttivo in alcune Cocciniglie*. - Atti XI Congr. Naz. Ital. Ent. Portici-Sorrento 1976: 135-38.
 95. TREMBLAY E., 1978 - *Stadi dell'evoluzione morfologica e parassitaria in alcuni generi di Aphidiinae*. - Atti XI Congr. Naz. Ital. Ent. Portici-Sorrento 1976: 311-316.
 96. VIGGIANI G., TREMBLAY E., 1978 - *Nuovi reperti sulla specializzazione morfotipica di Anastatus bifasciatus (Geoffroy) agli ospiti*. - Atti XI Congr. Naz. Ital. Ent. Portici-Sorrento 1976: 321-322.
 97. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1978 - *Dati riassuntivi sulle catture di maschi di Pseudococcus calceolariae (Mask.) mediante femmine vergini nel 1975*. - Atti XI Congr. Naz. Ital. Ent. Portici-Sorrento 1976: 417-420.
 98. TREMBLAY E., BIANCO M., 1978 - *I Punteruoli del Cavolfiore in Campania*. - Regione Campania Serie Studi 9: 1-26.
 99. TREMBLAY E., BIANCO M., 1978 - *Risultati di prove di lotta chimica contro il Punteruolo dello stelo e delle foglie dei Cavoli (Ceuthorrhynchus quadridens Panz.)*. - Atti Giorn. Fitop. 1978: 446-452.
 100. FEDELE V., TREMBLAY E., PICCOLO D., 1978 - *Materiali per una valutazione statistica delle popolazioni di Aphis fabae Scop. in cella climatica*. - Ann. Fac. Sc. Agrar. Univ. Studi Napoli Portici S. IV 12: 1-11.
 101. TREMBLAY E., IACCARINO F.M., 1978 - *Aleurotuba jelineki (Frauen.) per Aleurotrachelus jelineki (Frauen.) su Viburno*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 35: 57-66.
 102. TREMBLAY E., 1978 - *Difesa insetticida e acaricida*. - Inf. Fitop. 28 (8): 11-14.
 103. TREMBLAY E., BARBAGALLO S., MICIELI DE BIASE L., MONACO R. ORTU S., 1978 - *Sulla presenza in Italia del Lysiphlebus testaceipes (Cr.) nemico naturale di Afidi dannosi agli Agrumi*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 35: 169-179.
 104. TREMBLAY E., EADY R.D., 1978 - *Lysiphlebus confusus n. sp. per Lysiphlebus ambiguus sensu Auct. nec Haliday (1834)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 35: 180-184.
 105. TREMBLAY E., 1978 - *Voci da Pidocchio a Rabdofagi*. - Enc. Agr. Ital. IX.
 106. TREMBLAY E., 1979 - *Agricoltura e Natura*. - Ist. Ent. Agr. Univ. Napoli Portici. Note divulg. 17: 3-11.
 107. TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., PETRIELLO C., 1979 - *Problemi di lotta alla Tingide del Platano*. - La difesa delle piante 2: 85-96.
 108. TREMBLAY E., 1979 - *I criteri di valutazione del danno*. - Agr. e Ric. 4: 92-95.
 109. TREMBLAY E., 1979 - *Le armature genitali maschili dei generi degli Aphidiinae. I*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 36: 221-233.
 110. ROTUNDO G., TREMBLAY E., GIACOMETTI R., 1979 - *Final results of mass captures of the Citrophilus Mealybug males (Pseudococcus calceolariae Mask.) in a citrus grove*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 36: 266-274.
 111. TREMBLAY E., 1979 - *Paul Buchner (1886-1978)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 36: 285-296.
 112. TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1980 - *I feromoni*. In: «Prospettive di controllo biologico degli insetti in agricoltura». - CNR Padova: 81-121.
 113. ROTUNDO G., TREMBLAY E., PAPA P., 1980 - *Short-range orientation of Pseudococcus calceolariae (Mask.) males in a wind tunnel*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 37: 31-37.
 114. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1980 - *Serological studies on five species of Pseudococcidae (Homoptera)*. - Systematic Entomology London 5: 431-435.
 115. TREMBLAY E., SCOGNAMIGLIO A., 1980 - *Si va diffondendo l'Opogona sacchari nelle nostre serre di piante ornamentali*. - Inf. Agr. 36: 11527-11530.
 116. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1980 - *Evaluation of the daily rate of sex pheromone release by the females of two mealybug species*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 37: 167-170.
 117. TREMBLAY E., BARBAGALLO S., MICIELI DE BIASE L., MONACO R., ORTU S., 1980 - *Composizione dell'entomofauna parassitica vivente a carico degli Afidi degli Agrumi in Italia*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 37: 209-216.

118. TREMBLAY E., TRIPODI G., 1980 - *Ultrastructural data on Pseudococcid endosymbiots*. In: «Endocytobiology». Ed. W. Schwemmler & H. E., A. Schenk I: 419-423.
119. TREMBLAY E., 1980 - *Su di un caso di predatismo da parte di Chrysopa formosa Br. a carico di Imenotteri Braconidi endoparassiti di Afidi*. - Boll. Soc. Ent. Ital. 112: 189-191.
120. TREMBLAY E., 1980 - *Voci da Rafididi a Scatosse*. - Enc. Agr. Ital. X.
121. TREMBLAY E., 1981 - *Tassonomia, tassonomia e sistematica*. - Atti Acc. Naz. Ital. Ent., Rend. 26-27: 119-122.
122. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1981 - *Scent trailing by virgin females of Pseudococcus calceolariae*. - J. Chem. Ecol. 7: 85-88.
123. TREMBLAY E., 1981 - *Entomologia applicata*. - Vol. II (1), 1-310, Liguori Ed. Napoli.
124. TREMBLAY E., 1981 - *L'uso dei feromoni sessuali nella lotta alle Cocciniglie*. - Notizie Progr. Final. CNR, Promoz. Qual. Amb. 22: 1-4.
125. TREMBLAY E., MARTELLI M., 1981 - *Omotteri Sternorinchi*. In: «Grande Enc. Ill. Anim.» Ed. A. Mondadori: 93-104.
126. TREMBLAY E., 1981 - *I parassiti animali dell'albicocco e il loro controllo*. - Reg. Campania, Isp. Prov. Agr. Napoli 15: 1-7.
127. TREMBLAY E., 1981 - *Cerimonia per l'assegnazione dei premi F. Silvestri*. - Atti Accad. Naz. It. Ent. Rend. 28-29: 3-7.
128. TREMBLAY E., 1981 - *Le armature genitali maschili degli Aphidiinae. II*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 38: 251-263.
129. PRIORE R., TREMBLAY E., 1981 - *Pseudovipio castrator F. entomofago di Gortyna xanthenes Germ.* - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 38: 275-281.
130. TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1981 - *The use of sex pheromones in the control of the citrus scale insects*. - Atti Réunion. Stand. Méth. Biotech. Lutte Integr. Agrum. 1980 S. Giuliano (Corsica) e Siniscola (Sardegna): 59-66.
131. TREMBLAY E., ROTUNDO G., PARENZAN P., 1982 - *La Gortyna xanthenes: un vecchio nemico del carciofo ancora poco conosciuto*. - L'Inf. Agr. 38: 18735-18738.
132. ROTUNDO G., PICCARDI P., TREMBLAY E., 1982 - *Preliminary report on the artichoke moth (Gortyna xanthenes) sex pheromone and its possible use in integrated control*. - Les Mediateurs chimiques, Versailles 1981: 277-79.
133. TREMBLAY E., 1982 - *Fitofagi dei fruttiferi*. - La Difesa delle Piante 5 (2): 109-113.
134. TRANFAGLIA A., TREMBLAY E., 1982 - *A morphological comparison between Planococcus citri (Ris.), Planococcus ficus (Sign.) and their F1 hybrids*. - Entomotaxonomia 4: 1-5.
135. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1982 - *Hybridization and sex pheromone responses in two closely related mealybug species*. - Systematic Entomology 7: 475-478.
136. TREMBLAY E., 1982 - *Il ruolo diretto degli Afidi nel deperimento delle piante coltivate*. - Notiz. Mal. Piante 103: 59-67.
137. TREMBLAY E., AUFIERO A., 1982 - *Valutazione di una tecnica per il saggio dell'azione contattocida su Afidi*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 39: 47-51.
138. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1982 - *Preliminary report on the attractivity of the synthetic pheromone of Planococcus citri (Rs.) in comparison to virgin females*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 39: 97-101.
139. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1982 - *Osservazioni preliminari sul feromone sessuale di Opogona sacchari (Bojer)*. Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 39: 123-132.
140. TREMBLAY E., 1983 - *Omaggio al Prof. Filippo Silvestri*. - Terra pugliese 32 (5): 11-16.
141. TREMBLAY E., 1983 - *Dati preliminari su un interessante caso di sostituzione competitiva tra parassitoidi endofagi di Afidi*. - Atti XIII Congr. Naz. It. Ent. Sestriere-Torino: 205-211.
142. TREMBLAY E., BARBAGALLO S., 1983 - *Lysiphlebus testaceipes (Cr.), a special case of ecesis in Italy*. - EC Experts' Meeting Portici: 65-68.
143. TREMBLAY E., PRIORE R., 1983 - *Euforbie, api e cancro*. - L'Inf. Agr. 38: 27545-27546.
144. TREMBLAY E., ESPINOSA B., 1983 - *Notizie su due specie del genere Acalles Sch.* - Atti XII Congr. Naz. It. Ent. Roma 1980: 45-50.
145. TREMBLAY E., ROTUNDO G., TRANFAGLIA A., 1983 - *Planococcus citri (Ris.) e Planococcus ficus (Sign.), un caso di speciazione in atto*. - Atti XII Congr. Naz. It. Ent. Roma 1980: 435-438.
146. TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., D'ERRICO F.P., 1983 - *Insetti, acari e nematodi dannosi al garofano in Campania*. - Atti Conv. Dianticoltura Campana: 69-75.
147. TREMBLAY E., 1983 - *Le armature genitali maschili degli Aphidiinae. III*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 40: 147-158.
148. TREMBLAY E., 1983 - *Voci da Scelifron a Stilpnozia*. - Enc. Agr. Ital. XI.
149. TREMBLAY E., 1984 - *The parasitoid complex of Toxoptera aurantii in the Mediterranean area*. - Entomophaga 29: 203-209.
150. TRANFAGLIA A., TREMBLAY E., 1984 - *Faunistic and systematic studies on Italian scale insects*. - Verh. SIEEC Budapest 10: 372-374.
151. TREMBLAY E., 1984 - *Evaluation of the CEC integrated pest-control programme 1979-81*. - EUR Report 8911 EN: 1-16.
152. TREMBLAY E., PETRIELLO C., 1984 - *Possibilità di controllo chimico razionale della Corythucha ciliata (Say) sulla base di dati fenologici*. - La Difesa delle Piante 4: 237-244.
153. TREMBLAY E., ESPINOSA B., BALDINI C., 1984 - *Dannosità dei Carpofili (Coleoptera Nitidulidae) in Campania*. - Inf. Fitop. 34 (10), 43-45.
154. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1985 - *Indagine sulla variabilità allometrica in alcuni Aphidiinae*. - Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent. Palermo: 267-274.
155. MARULLO R., LÖVEI G., TREMBLAY E., 1985 - *Un metodo rapido per la valutazione della resistenza esterasica negli Afidi*. - Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent. Palermo: 417-20.
156. TREMBLAY E., 1985 - *La Lotta agli Afidi*. - L'Italia Agr. 122: 67-96.
157. TREMBLAY E., MICIELI DE BIASE L., BULTRINI A., ADINOLFI A., 1985 - *Il controllo degli Afidi vettori delle Virosi della Patata da seme*. - L'Italia Agr. 122: 97-109.
158. TREMBLAY E., 1985 - *Afidi delle Leguminose*. - L'Italia Agr. 122: 173-180.
159. TREMBLAY E., 1985 - *Afidi della Barbabietola*. - L'Italia Agr. 122: 181-82.

160. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1985. *Field evaluation of female sex pheromone of the artichoke moth, Gortyna xanthenes*. - Entomol. exp. appl. 38: 201-04.
161. PARENZAN P., IPPOLITO R., ORTU S., ROTUNDO G., SINACORI A., TREMBLAY E., 1985 - *Dati comparati sulla bio-etologia della Gortyna xanthenes Germ. (Nottua del carciofo) in diverse aree dell'Italia meridionale e insulare*. - Inf. Fitopat. 35 (9) : 35-40.
162. TREMBLAY E., KAWAR N., BARBAGALLO S., 1985 - *Aphids and Aphidiines of Lebanon*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 42: 19-32.
163. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1985 - *Campionamento sequenziale: possibilità e limiti del suo impiego in fitoiatria*. - La Difesa delle Piante 3: 389-402.
164. PENNACCHIO F., D'ERRICO F.P., TREMBLAY E., 1985 - *Spatial distribution pattern and sequential sampling plan for Paratylenchus dianthus*. - Nematol. Medit. 13: 137-146.
165. TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1985 - *Taxonomic status of some species of the genus Praon Haliday*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 42: 143-147.
166. TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1985 - *Seasonal trends in alfalfa pest aphid populations in Southern Italy*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 42: 149-159.
167. TREMBLAY E., PRIORE R., 1985 - *Triaspis aciculatus Ratz. entomofago di Apion damryi Desbr. in Campania*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 42: 207-212.
168. TREMBLAY E., 1985 - *Voci da Stizo a Zygotis*. - Enc. Agr. Ital. XII.
169. TREMBLAY E., 1986 - *Evaluation of the different possibilities of chemical control of the sycamore lacebug (Corythucha ciliata Say)*. - Bull. SROP 9: 68-71.
170. TREMBLAY E., 1986 - *Entomologia applicata*. Vol. II: 7-381, Liguori Ed. Napoli.
171. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1986 - *Dannosità, soglie economiche e monitoraggio delle due specie afidiche-chiave dell'erba medica: Acyrthosiphon pisum (Harris) e Therioaphis trifolii f. maculata (Monell)*. - Atti Giorn. Fitopat. 1986 1: 247-256.
172. TREMBLAY E., RUSSO L.F., MALDERA D., CURTO D., 1986 - *Prove di controllo della tignola del platano (Corythucha ciliata Say) mediante iniezioni insetticide nel tronco*. - Atti Giorn. Fitopat. 1986 1: 121-130.
173. TREMBLAY E., PENNACCHIO F., MATRONE L., PICCOLO D., 1986 - *Redescription of Praon dorsale (Haliday 1833) and resurrection of Praon longicorne Marshall 1891: a statistical analysis of morphological data*. - Entomotaxonomia 8: 31-42.
174. ABUKAR M.M., BURGIO G., TREMBLAY E., 1987 - *Valutazione dei danni post-raccolta causati da insetti al mais in tre distretti della Somalia meridionale*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 43, 51-58.
175. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1987 - *Biosystematic and morphological study of two Aphidius ervi Haliday «biotypes» with the description of a new species*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 43: 105-17.
176. TREMBLAY E., PONZI R., 1987 - *Preliminary data on the ultrastructure of the White Peach Scale (Pseudaulacaspis pentagona Targ.-Tozz.) endosymbionts*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 43 (suppl.): 63-71.
177. GARGIULO G., MALVA C., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1988 - *Nota preliminare sullo studio dell'organizzazione molecolare del genoma del genere Aphidius (Nees) (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae) e sue implicazioni tassonomiche*. - Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent., L'Aquila: 353-359.
178. TREMBLAY E., 1988 - *Considerazioni sulla flessibilità addominale degli Aphidiinae (Hymenoptera Braconidae)*. - Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent., L'Aquila: 1097-1099.
179. TREMBLAY E., ROTUNDO G., 1988 - *Integrated control of the artichoke moth (Gortyna xanthenes Ger.) (Lepidoptera: noctuidae) in Italy*. In: Cavalloro R. and C. Pelereants: Progr. Pest Manag. Field Veg., Balkema, 277-280.
180. ROTUNDO G., CAVALLORO R., TREMBLAY E., 1988 - *In vitro rearing of Lysiphlebus fabarum (Hym.: Braconidae)*. - Entomophaga 33 (3), 261-267.
181. TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1988 - *Population trends of key aphids and of their main natural enemies in an alfalfa ecosystem in Southern Italy*. In: E., Niemczyk and A. F. G. Dixon «Ecology and Effectiveness of Aphidophaga», 261-265, Academic Publishing, The Hague.
182. MARULLO R., LÖVEI G., TALLARICO A., TREMBLAY E., 1988 - *Quick detection of resistant phenotypes with high esterase activity in two species of aphids (Homoptera, Aphididae)*. - J. Appl. Ent. 106: 212-214.
183. TREMBLAY E., 1988 - *Avversità delle colture di recente o temuta introduzione. Parassiti animali: Insetti*. - L'Italia Agr. 125: 115-128.
184. TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1988 - *Speciation in Aphidiine Hymenoptera*. In: «Advances in Parasitic Hymenoptera Research». Ed. V. K. Gupta, 139-146.
185. TREMBLAY E., SACCHI R., 1988 - *Insettiade.*, 1 - 260, Liguori Ed. Napoli.
186. TREMBLAY E., 1988 - *Agricoltura e inquinamento. Gli aspetti fitosanitari*. - Il Picentino. Luglio-dicembre 1988: 39-46.
187. PRIORE R., TREMBLAY E., 1988 - *Contributo alla revisione delle specie italiane dei generi Triaspis Haliday e Schizoprymnus Foerster (Hymenoptera Braconidae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 44: 47-61.
188. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1988 - *Seasonal phenologies and effectiveness of natural enemies in regulating pest aphid populations in alfalfa fields of Southern Italy*. Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 44, 63-75.
189. TREMBLAY E., 1988 - *The known types of embryonic development in endophagous Hymenoptera as strategies toward adaptation to parasitism*. - Proceedings XVIII International Congress of Entomology, Vancouver, Canada, 3-9 July 1988: 11.
190. GARGIULO G., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., MALVA C., 1988 - *Use of Drosophila melanogaster probes in the study of the molecular organization of the Aphidius genome* - Proceedings XVIII International Congress of Entomology, Vancouver, Canada, 3-9 July 1988: 155.
191. RAGOZZINO A., TREMBLAY E., 1989 - *Le virosi del pomodoro (e di altre specie ortive) ed i loro vettori in Campania*. - Regione Campania Assess. Agric. 2: 5-46.
192. TREMBLAY E., MICIELI DE BIASE L., RUSSO L.F., RAGUSA S., RUSSO A., ZAGAMI S., 1989 - *Notizie sulla presenza massiva di un lepidottero psichide in Calabria*. - L'Inf. Agr. 13, 113-114.
193. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1989 - *Distribuzione spaziale e piani di campionamento di due specie afidiche dell'erba medica: Acyrthosiphon pisum (Harris) e*

- Therioaphis trifolii f. maculata (Monell) (Homoptera, Aphidoidea). -Frust. Ent. n.s. 9(22) : 9-21.
194. TREMBLAY E., 1989 - *Agricoltura inquinante o inquinata?* - La rivista de il dottore in scienze agrarie e forestali 39(11), 5-9. Pubblicato anche in: Atti IX Congr. Naz. Dott. Agronomi e Forestali. Caserta, 9 giugno 1989: 27-33.
 195. TREMBLAY E., 1989 - *Coccoidea endocytobiosis*. In: «Insect Endocytobiosis: Morphology, Physiology, Genetics, Evolution»; Ed. W. Schwemmler & G. Gassner. CRC Press, 145-174.
 196. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1989 - *A new species of Aphidius Nees from Italy (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 45 (1988) : 167-169.
 197. PENNACCHIO F., GÄRDENFORS U., TREMBLAY E., 1989 - *Taxonomic discrimination of males of Palearctic Ephedrus Haliday (Hymenoptera, Braconidae, Aphidiinae)*. Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 45 (1988) : 181-202.
 198. GARGIULO G., MALVA C., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1989 - *Structure of Aphidius Nees (Hymenoptera, Braconidae) rDNA: a molecular tool in biosystematic research*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri Portici 45 (1988) : 203-219.
 199. TREMBLAY E., MICIELI DE BIASE L., BULTRINI A., DE AMICIS C., 1989 - *A field comparison between different aphid monitoring techniques in the Fucino plain*. In: «Euraphid» network: trapping and aphid prognosis»; Ed. R. Cavalloro. Proc. of EC-Experts' Group, Catania, 7-9 November 1988: 113-117.
 200. BARBAGALLO S., TREMBLAY E., MICIELI DE BIASE L., COLOMBO M., 1989 - *The Italian Euraphid network: is there any future development?* In: «Euraphid» network: trapping and aphid prognosis»; Ed. R. Cavalloro. Proc. of EC-Experts' Group, Catania, 7-9 November 1988: 191-194.
 201. TREMBLAY E., 1989 - *The importance of behavioral traits in colony formation and field infestation by aphids*. In: «Euraphid» network: trapping and aphid prognosis»; Ed. R. Cavalloro. Proc. of EC-Experts' Group, Catania, 7-9 November 1988: 247-254.
 202. TREMBLAY E., 1990 - *Stylet formation and renewal*. In: «Armored Scale Insects»; Ed. D. Rosen. Elsevier Science Publ., vol. A: 255-256.
 203. TREMBLAY E., 1990 - *Endosymbionts*. In: «Armored Scale Insects»; Ed. D. Rosen. Elsevier Science Publ., vol. A: 275-283.
 204. D'ERRICO F.P., TREMBLAY E., RAGOZZINO A., PIRO F., SORRENTINO A., BOCCHINI A., 1990 - Guida pratica alla coltivazione del tabacco. Liguori Ed. Napoli, 1-143.
 205. PRIORE R., TREMBLAY E., 1990 - *Secondo contributo alla revisione dei generi Triaspis Haliday e Schizoprymnus Foerster (Hymenoptera Braconidae)*. Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 46 (1989): 125-129.
 206. JARRY I., TREMBLAY E., 1990 - *Cold storage of Lysiphlebus fabarum (Marsh.) mummies (Hymenoptera, Braconidae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri 46 (1989): 199-206.
 207. TREMBLAY E., 1990 - *In memoria di Domenico Scaramella*. - Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri 46 (1989): 215-218.
 208. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1990 - *I gradi-giorno e il loro uso nel controllo integrato degli Insetti dannosi in agricoltura*. - Notiz. Mal. Piante 111 (s. III, N. 38): 80-102.
 209. TREMBLAY E., 1991 - *Entomologia applicata*. Vol.III(1), Liguori Ed. Napoli, 7-138.
 210. TREMBLAY E., 1991 - *New entomological problems in the Mediterranean Basin and possibilities of their confrontation*. - Proc. 3rd nat. ent. Congr. 9-11 Oct. 1989, Thessaloniki: 65-71.
 211. CAPASSO R., CRISTINZIO G., EVIDENTE A., SCOGNAMIGLIO F., TREMBLAY E., 1991 - *Correlazione struttura - attività biologica dei polifenoli delle acque di vegetazione delle olive e dei loro analoghi*. - Atti IX Conv. Naz. Soc. Ital. Chim. agr. Torino, 9-11 settembre 1991: 163-164.
 212. TREMBLAY E., PRIORE R., VIGILANTE G., 1991 - *Note fenologiche sulla minatrice del ciclamino (Liriomyza cyclaminis Süss) (Diptera Agromyzidae)*. -Inf. Fitopat. 10: 59-63.
 213. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1991 - *Interazioni fisiologiche ospite-parassitoide intercorrenti fra Cardiochiles nigriceps Viereck (Hymenoptera: Braconidae) e Heliothis virescens (F.) (Lepidoptera: Noctuidae)*. - Atti XVI Congr. naz. ital. Ent., Bari-Martina Franca (Ta) 23/28 settembre 1991: 409-416.
 214. GERLING D., TREMBLAY E., ORION T., 1991 - *Initial stages of the vital capsule formation in the Eretmocerus - Bemisia tabaci association*. - Redia 74: 411-415.
 215. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1991 - *Effects of Cardiochiles nigriceps Viereck (Hymenoptera, Braconidae) teratocytes on physiology of its host Heliothis virescens (F.) (Lepidoptera, Noctuidae)*. - Redia 74: 433-438.
 216. TREMBLAY E., 1991 - *Embryonic strategies in koinobiotic endoparasitoid Hymenoptera*. - Redia 74: 439-443.
 217. TREMBLAY E., 1991 - *Strategie demografiche degli insetti dannosi ed evoluzione dell'agricoltura*. - Atti XVI Congr. naz. ital. Ent., Bari-Martina Franca (Ta) 23/28 IX 1991: 601-613.
 218. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1992 - *Host regulation effects on Heliothis virescens (F.) larvae induced by teratocytes of Cardiochiles nigriceps Viereck (Lepidoptera, Noctuidae - Hymenoptera, Braconidae)*. - Arch. Insect Biochem. Physiol. 19: 177-192.
 219. TREMBLAY E., PRIORE R., MANCINI D., 1992 - *Insoliti attacchi del punteruolo del mais (Sitophilus zeamais Mots.) alle mele in Campania*. - Inf. agr. 20: 77-78.
 220. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1992 - *Preliminary results on in vitro rearing of the endoparasitoid Cardiochiles nigriceps from egg to second instar*. - Entomol. exp. appl. 64: 209-216.
 221. PRIORE R., TREMBLAY E., 1993 - *Colastes flavitarsis (Thomson) e Opius similis Szepliget (Hymenoptera Braconidae) parassitoidi della Liriomyza cyclaminis Süss (Diptera Agromyzidae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 48 (1991): 3-8.
 222. PRIORE R., TREMBLAY E., RACANA A., 1993 - *Su alcuni parassitoidi (Hymenoptera Braconidae) di Rhynchaenus fagi L. (Coleoptera Curculionidae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 48 (1991): 35-40.
 223. TREMBLAY E., 1993 - *On a new species of Monoctonia Stary' (Hymenoptera Braconidae) from Pemphigus vesicarius Pass. galls (Homoptera Pemphigidae)*. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 48 : 137-142.
 224. TREMBLAY E., HALANE A. J., 1993 - *Su un insolito caso di nidificazione di Hypotrigena gribodoi Magretti*

- (Hymenoptera Apidae) in Somalia. - Apicolt. mod. 84: 47-54.
225. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1993 - Growth and development of *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera, Braconidae) Larvae and Their Synchronization With Some Changes of the Hemolymph Composition of Their Host, *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera, Noctuidae). - Arch. Insect Biochem. Physiol. 24: 65-77.
 226. MARULLO R., TREMBLAY E., 1993 - Le specie italiane del genere *Frankliniella* Karny. - Inf. Fitop. 11: 37-44.
 227. GUERRIERI E., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1993 - Flight behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) in response to plant and host volatiles. - Eur. J. Entomol. 90: 415-421.
 228. GARGIULO G., VARRICCHIO P., PENNACCHIO F., GRAZIANI F., TREMBLAY E., MALVA C., 1993 - Ribosomal DNA of *Aphidius* (Hymenoptera: Braconidae) Nees: structure and intraspecific variations. - Atti del convegno: Management of insect pests: nuclear and related molecular and genetic techniques, Vienna 19-23 ottobre 1992: 153-160.
 229. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1993 - Electroantennographic responses of chestnut moths (Lepidoptera: Tortricidae) and their parasitoid *Ascogaster quadridentatus* Wesmael (Hymenoptera: Braconidae) to volatiles from chestnut (*Castanea sativa* Miller) leaves. - Redia 76: 361-373.
 230. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1994 - Morphology and ultrastructure of the serosal cells (teratocytes) in *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) embryos. - Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 23: 93-104.
 231. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., OSTUNI A., 1994 - Alteration of ecdysone metabolism in *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) larvae induced by *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) teratocytes. - Insect Biochem. Molec. Biol. 24: 383-394.
 232. TREMBLAY E., 1994 - La ricerca di nuovi mezzi per la difesa delle piante dai parassiti animali. - Atti della LXII Riunione della SIPS, Viterbo, 29/9 - 2/10 1993: 273-280.
 233. PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., 1994 - Host recognition and acceptance behaviour in two aphid parasitoid species: *Aphidius ervi* and *Aphidius microlophii* (Hymenoptera: Braconidae). - Bull. Ent. Res. 84: 57-64.
 234. PRIORE R., TREMBLAY E., 1994 - Nuovi parassiti (Hymenoptera Braconidae) della *Liriomyza bryoniae* (Kaltenbach) (Diptera Agromyzidae). - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 49: 31-39.
 235. ROTUNDO G., TREMBLAY E., 1994 - On the attraction of a moth sex pheromone for the males of an ant species. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 49: 213-218.
 236. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., TANAKA T., 1994 - Biochemical and developmental alterations of *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera, Noctuidae) larvae induced by the endophagous parasitoid *Cardiochiles nigriceps* Viereck (Hymenoptera, Braconidae). - Arch. Insect Biochem. Physiol. 26: 211-233.
 237. CAPASSO R., EVIDENTE A., TREMBLAY E., SALA A., SANTORO C., CRISTINZIO G., SCOGNAMIGLIO F., 1994 - Direct and mediated effects on *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) of natural polyphenols and some of related synthetic compounds: structure-activity relationships. - J. Chem. Ecol. 20: 1189-1199.
 238. TREMBLAY E., PRIORE R., 1994 - *La Metcalfa pruinosa* è giunta in Campania. - Inf. agr. 50 (34): 69-71.
 239. GUERRIERI E., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1994 - Influenza dell'ovideposizione sul comportamento di volo di *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae). - Atti XVII Congr. naz. ital. Ent., Udine 13-18 giugno 1994: 629-630.
 240. PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., TREMBLAY E., 1994 - Alterazioni fisiologiche e di sviluppo in *Acyrtosiphon pisum* (Harris) indotte dal parassitoide endofago *Aphidius ervi* Haliday. - Atti XVII Congr. naz. ital. Ent., Udine 13-18 giugno 1994: 635-638.
 241. DIGILIO M.C., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1994 - Allevamento in vitro del parassitoide endofago *Aphidius ervi* Haliday. - Atti XVII Congr. naz. ital. Ent., Udine 13-18 giugno 1994: 709-710.
 242. TREMBLAY E., 1994 - Management of host-parasitoid relationships in endophagous Hymenoptera. - Bulletin OILB/SROP 17(7): 25-36.
 243. PENNACCHIO F., VINSON S.B., TREMBLAY E., 1994 - Regulation of *Heliothis virescens* (F.) development and hormonal metabolism by the endophagous parasitoid *Cardiochiles nigriceps* Viereck: The role of teratocytes. - Norw. J. Agr. Sci. suppl.16: 293-300.
 244. TREMBLAY E., 1994 - Entomologia applicata. Vol.III (2).7-213, Liguori Ed. Napoli.
 245. PRIORE R., TREMBLAY E., 1995 - Parassitoidi (Hymenoptera Braconidae) di alcuni ditteri fillominatori (Diptera Agromyzidae). - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 50: 109-120.
 246. VARRICCHIO P., GARGIULO G., GRAZIANI F., MANZI A., PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., TREMBLAY E., MALVA C., 1995 - Characterization of *Aphidius ervi* (Hymenoptera, Braconidae) ribosomal genes and identification of site-specific insertion elements belonging to the non-LTR retrotransposon family. - Insect Biochem. Molec. Biol. 25: 603-612.
 247. BERGAMASCO P., PENNACCHIO F., SCARAMOZZINO P., TREMBLAY E., 1995 - Hymenoptera Braconidae. - In: Minelli A., Ruffo S., & La Posta S. (eds.), Checklist delle specie della fauna italiana, 95. Calderini Bologna: 1-29.
 248. PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., TREMBLAY E., 1995 - Biochemical and metabolic alterations in *Acyrtosiphon pisum* parasitized by *Aphidius ervi*. - Arch. Ins. Biochem. Physiol. 30: 351-367.
 249. BAVOSO, A., FALABELLA P., GIACOMETTI R., HALANE A.J., OSTUNI A., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1995 - Intestinal absorption of proctolin in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera Noctuidae) larvae. - Redia 78 (1) 173-185.
 250. PRIORE R., TREMBLAY E., TARTAGLIA A., BIANCO M., 1996 - Prove di lotta contro la *Marchalina hellenica* (Gennadius) (Coccoidea Margarodidae). - Atti Giorn. Fitopat.1: 169-172
 251. TREMBLAY E., MANCINI D., 1996 - *Aphidius aquilus* Mackauer (Hymenoptera Braconidae) specie nuova per la fauna italiana. - Boll. Lab. Ent. agr. F. Silvestri 51: 155-161
 252. MANCINI D., TREMBLAY E., 1996 - On the importance of sensilla in the interpretation of wing vein reduction in Aphidiines (Hymenoptera Braconidae). - Proc. XX Int. Congr. Ent. Firenze: 49.
 253. VETRELLA M., TREMBLAY E., SANGUIGNO E., MANCINI D., 1996 - Un caso di miasi auricolare in neonato. - Riv. Ital. Pediatr. 22: 106-107
 254. TREMBLAY E., FERRARA V., SPIGNO P., CONCILIO L.,

- GRASSO G, GUERRIERO T., LAVORGNA T., PIZZA A. & V. SICA. 1997 - *Un servizio di monitoraggio degli afidi per salvaguardare le colture orticole*. - Inf.agr. 53 (15): 99-106
255. TREMBLAY E., 1997. *Entomologia applicata*. III (3), Liguori Ed. Napoli: 5-137.
256. TREMBLAY E., 1997 - *Embryonic Development; Oviparity and Viviparity*. - In : Y. Ben-Dov and C.J. Hodgson (Ed.), *Soft Scale Insects – Their Biology, Natural Enemies and Control*. World Crop Pests, 7A: 257-260.
257. TREMBLAY E., 1997 - *Endosymbionts*. - In : Y. Ben-Dov and C.J. Hodgson (Ed.), *Soft Scale Insects – Their Biology, Natural Enemies and Control*. World crop Pests, 7A: 261-267.
258. TREMBLAY E., PRIORE R., 1997 - *Termite centro-americana in via di acclimatazione in Italia*. - Inf. agr. 47 : 76-77.
259. GUERRIERI E., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1997 - *Effect of adult Experience on in-Flight Orientation to Plant and Plant-Host Complex Volatiles in Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera, Braconidae)*. - Biol. Control, 10 : 159-165.
260. POWELL W., PENNACCHIO F., POPPY G.M, TREMBLAY E., 1998 - *Strategies involved in the location of hosts by the parasitoid Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae)*. - Biol. Control., 11: 104-112.
261. TREMBLAY E., 1998 - *Dizionario Entomologico Napoletano*. - Libreria S. Ciro Editrice: 1-61.
262. MANCINI D., TREMBLAY E., 1998 - *Trioxys cirsii (Curtis) (Hymenoptera Braconidae) new record for Italy*. - Redia, 79(2): 202-203.
263. TREMBLAY E., 1998 - *Il XX Congresso Internazionale di Entomologia Firenze 25-31 Agosto 1996 (luci e ombre)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 119 – 132.
264. TREMBLAY E., 1998 - *I rapporti simbiotici in entomologia (divagazioni antropomorfe)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 13 – 18.
265. MANCINI D., TREMBLAY E., 1998 - *Valutazione del grado di affinità morfologica tra sei parassitoidi degli afidi dei cereali appartenenti al genere Aphidius Nees (Hymenoptera Braconidae)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 42.
266. GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1998 - *Il ruolo dei sinomoni rilasciati dalla pianta nella regolazione dell'orientamento in volo di Aphidius ervi (Hymenoptera : Braconidae)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 112.
267. FANTI P., FALABELLA P., DIGILIO M.C., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1998 - *Crescita, sviluppo e nutrizione delle larve di Aphidius ervi (Hymenoptera: Braconidae)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 189.
268. DIGILIO M.C., ISIDORO N., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1998 - *Effetto del veleno del parassitoide Aphidius ervi (Hymenoptera : Braconidae) sugli ovari di Acyrthosiphon pisum (Homoptera: Aphidoidea)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 190.
269. FALABELLA P., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1998 - *Analisi e caratterizzazione di proteine sintetizzate dai teratociti del braconide Aphidius ervi (Hymenoptera : Braconidae)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 191.
270. VARRICCHIO P., GRAZIANI F., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., MALVA C., 1998 - *Caratterizzazione molecolare dei cistroni ribosomali in specie del genere Aphidius (Hymenoptera : Braconidae)*. - Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea: 193.
271. DIGILIO M.C., PENNACCHIO F., TREMBLAY E., 1998 - *Host regulation effects of ovary fluid and venom of Aphidius ervi (Hymenoptera : Braconidae)*. - J. Insect Physiol. 44: 779-784.
272. TREMBLAY E., 1998 - *Il Museo entomologico "Filippo Silvestri". Identità di Portici e qualità della vita*. - A cura di C. Piccioli : 41-42.
273. PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., FALABELLA P., FANTI P., TREMBLAY E., 1999 - *Host regulation by the aphid parasitoid Aphidius ervi (Hymenoptera : Braconide)*. - 4th International Hymenopterists Conference 6-11-January 1999 – Canberra Australia: 1.
274. PENNACCHIO F., FANTI P., FALABELLA P., DIGILIO M.C., BISACCIA F TREMBLAY E., 1999 - *Development and nutrition of the braconid wasp, Aphidius ervi in aposymbiotic host aphid*. - Arch. Insect Biochem. Physiol. 40: 53-63.
275. TREMBLAY E., 1999 - *Insetti di quarantena e i rischi della loro introduzione nel paese*. - Notiz. Protez. Piante 10 (n.s.): 19-28.
276. GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 1999 - *Induction and systematic release of herbivore-induced plant volatiles mediating in-flight orientation of Aphidius ervi*. - J. Chem. Ecol. 25 (6): 1247-1261.
277. PRIORE R., MANCINI D., TREMBLAY E., 1999. *Microchelonus silvestrii Papp e Pholotesor arisba (Nixon) (Hymenoptera Braconidae) specie nuove per la fauna italiana*. - Boll. Lab. Ent. Agr. F. Silvestri 55: 39-44.
278. TREMBLAY E., 1999 - *Nutritional interactions between endophagous Hymenoptera and symbiont bacteroids in aphids*. - Atti Acc. Naz. It. Ent 42: 245-250.
279. TESSITORE F., NOVIELLO C., TREMBLAY E., 1999 - *Cerimonia commemorativa in onore di Filippo Silvestri (1876-1949)*. - Annali Fac.agr. Serie IV 33: 1-2.
280. TREMBLAY E., PONZI R., 1999 - *Ultrastructural observations on symbiont degeneration in the male line of Pseudaulacaspis pentagona (Targioni Tozzetti) (Hemiptera: Coccoidea: Diaspididae)*. - Entomologica 33: 157-163 .
281. DIGILIO M.C., ISIDORO N., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 2000 - *Host castration by Aphidius ervi venom proteins*. - J. Insect.Physiol 46: 1041-1050.
282. TREMBLAY E., 2000 - *Organismi animali dannosi in agricoltura*. - In: "Baccetti, B., Barbagallo, S., Süß e E Tremblay. Manuale di Zoologia agraria". Delfino, Roma: 3-4.
283. BACCETTI B., TREMBLAY E., 2000 - *Insetti*. - In: "Baccetti B., Barbagallo, S., Süß, L. e E., Tremblay. Manuale di Zoologia agraria" Delfino, Roma: 5-67.
284. FALABELLA P., TREMBLAY E., PENNACCHIO F., 2000 - *Host regulation by the aphid parasitoid Aphidius ervi: the role of teratocytes*. - Entomol.exp. appl. 97: 1-9.
285. GRANITI A., TREMBLAY E., 2000 – *Biomolecules, plant pathogens and pests*. - Convegno interazionale Agriculture, Biotechnology and Chemistry, Roma 30 settembre 1 ottobre 1999, Acc. Naz. Lincei 27: 35-56.
286. TREMBLAY E., 2000 - *Entomologia applicata* Vol. IV (1) : Coleotteri. Ed. Liguori Napoli, 108 pp.
287. TREMBLAY E., ESPINOSA B., MANCINI D., CAPRIO G.,

- 2000 - *Un coleottero proveniente dal sud america minaccia i pioppi*. - Inf. agr. 48: 89-90.
- 288 DE EGUILEOR M., GRIMALDI A., TETTAMANTI G., VALVASSORI R., LEONARDI M.G., GIORDANA B., TREMBLAY E., DIGILIO M.C., PENNACCHIO F., 2001 - *Larval anatomy and structure of absorbing epithelia in the aphid parasitoid Aphidius ervi Haliday (Hymenoptera, Braconidae)*. - Arthr. Struct. Devel. 30: 27-37.
- 289 FERRARA V., TREMBLAY E., CONCILIO L., GIGLIO N., GRASSO G., GUERRIERO T., LAVORGNA R., SALZANO A., SICA V., 2001 - *Afidi vettori di virus e afidi infestanti sul pomodoro*. - Inf. Agr. 57: 73-80.
- 290 PENNACCHIO F., TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., BIN F., RAO R., MALVA C., 2001 - *Biotechnologie per il controllo degli insetti*. - Rend. Acc. Naz. Sci. Mem. Sci. Fis. Nat. 25: 511-524.
- 291 TORTIGLIONE C., FANTI P., PENNACCHIO F., MALVA C., BREUER M., DE LOOF A., MONTI L.M., TREMBLAY E., RAO R., 2002 - *The Expression in tobacco in plants of Aedes aegypti Trypsin Modulating Oostatic Factor (Aea-TMOF) alters growth and development of the tobacco budworm, Heliothis virescens*. - Molecular Breeding. 9: 159-169.
- 292 TREMBLAY E., 2002 - *Attività e realizzazioni nel campo della Entomologia e Zoologia agraria*. - In "Napoli e la Campania nel Novecento", di A. Croce, F. Tessitore, D. Conte, vol. III: 414-422
- 293 TREMBLAY E., 2003 - *Agricoltura, fitofarmaci e ambiente: Problemi, responsabilità e alternative*. - Alimentazione Moderna e Cancro: 202-209.
- 294 TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., 2003 - *Interazioni insetto - pianta: i meccanismi di difesa "diretta"*. - Atti Accad. Naz. Ital. Ent. LI: 167-172.
- 295 PENNACCHIO F., TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., BIN F., RAO R., MALVA C., 2003 - *Biotechnologie per il controllo degli insetti fitofagi*. - Quaderni de "I Georgofili" 2003(I): 103-128.
- 296 TREMBLAY E., DIGILIO M.C., 2003 - *L'evoluzione del controllo chimico degli Insetti dannosi*. - In: E., Tremblay, Entomologia Applicata, Vol. I, Liguori Editore, Napoli: 254-257.
- 297 TREMBLAY E., PENNACCHIO F., DIGILIO M.C., 2003 - *Biotechnologie per il controllo degli Insetti fitofagi*. - In: E., Tremblay, Entomologia Applicata, Vol. I, Liguori Editore, Napoli: 257-263.
- 298 TREMBLAY E., DIGILIO M.C., 2003 - *La matrice peritrofica ed il suo ruolo nel controllo degli Insetti dannosi*. - In: E., Tremblay, Entomologia Applicata, Vol. I, Liguori Editore, Napoli: 263-266.
- 299 TREMBLAY E., PRIORE R., RUSSO L.F., 2004 - *Museo "Filippo Silvestri" dell'istituto di entomologia e zoologia agraria*. - Annali della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, Serie V, Vol I: 292-311.
- 300 POSTIGLIONE L., TREMBLAY E., 2004 - *L'Insegnamento superiore di Agricoltura a Portici (1872-1935). Fatti salienti ed episodi vari*. - Annali della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, Serie V, Vol I: 312-328.
- 301 TREMBLAY E., POSTIGLIONE L., 2004 - *Da Antonio Genovesi ad Achille Costa: sulle travagliate vicende dell'insegnamento universitario dell'Agricoltura nella Napoli dei secoli XVIII e XIX*. - Annali della Facoltà di Agraria dell'Università degli Studi di Napoli Federico II, Serie V, Vol I: 329-340.
- 302 TREMBLAY E., MASUTTI L., 2005 - *History of insect parasitism in Italy*. -Biological Control 32: 34-39.

COMMEMORAZIONE

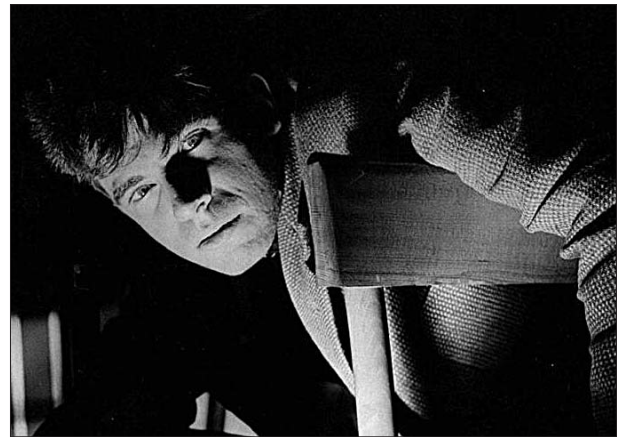
GIORGIO CELLI (1935-2011)

STEFANO MAINI (*)

(*) *Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, Entomologia. Viale G. Fanin 42, 40127 Bologna.*

Commemorazione tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 19 novembre 2011.

Chiarissimi Accademici, Signore, Signori, amici, ricordare Giorgio Celli, come potete ben capire, non è facile e, gentilmente invitato dal Presidente, devo confessare che, ora, commemorare un così poliedrico e caro amico, collega, mi emoziona non poco. Mi fa onore l'essere stato scelto, tra gli Accademici, per descrivere la sua figura di particolarissimo entomologo. Uno scienziato umanista. Provo, senza commuovermi, a presentare la sua figura come l'ho rivisto in una mattina di questa torrida estate del 2011. Eccolo guardate! Sta facendo la fila per entrare al convegno, sì, è proprio lui: casco di capelli d'argento rigorosamente spettinati, barba bianca che circonda il viso largo con profondi occhi azzurri, grandi spalle e pancia rotonda, contenute in uno striminzito giubbotto rosso, con la zip tirata fin sul collo, da cui spunta un piccolo foulard; pantaloni senza piega, azzurri, che stanno su per miracolo e avvolgono fianchi stretti, scarpe grigie da ginnastica (no logo) con strisce bianche. È Giorgio Celli, il professore. Ma cosa fa in fila? No, non è l'ingresso di una sala conferenze. Giorgio sta andando in un cinema di periferia. La fila di gente, si è allungata, ora si deve salire una scala lunghissima, inizia a piovere, c'è chi impreca, chi apre l'ombrello, fa freddo, ma lui, tranquillo, sale, vedo che ha una spalla letteralmente segata da una tracolla. La borsa blu con cuciture bianche è pesante, sicuramente piena di libri e carte che si vedono fuoriuscire dalla cerniera lampo, chiusa a metà. La borsa, è appoggiata al ventre. Sono con altri – amici entomologi? – mi faccio largo e mi avvicino a lui per aiutarlo a salire, poi ci ripenso e mi rallegro! Giorgio sei come sempre, in gran forma! Ma come? Non sei ammalato? Non fai fatica a salire? Vuoi una mano? Beh, dico, poi andremo a cena assieme. La scala diventa ancora più lunga, è una di quelle di emergenza di un ospedale, è vero, Giorgio allora sei uscito dall'ospedale? Chiamate tutti, è proprio lui! Venite con noi! Non



Una particolare immagine di Giorgio Celli (metà anni '50).

sei morto, Giorgio cosa fai sulla scala? Guardate tutti è qui!! Adesso mi osserva con il suo viso un po' sornione, e mi sveglio, sudato e con un brivido di freddo, ma col suo sguardo ancora impresso nella retina!

Giorgio lo ricorderò sempre anche così, sbuffante e carico di libri, col cellulare che squilla e che non trova nelle tasche. Un grande amico di “mangiate”, di giornate di lavoro intenso, di discussioni e di ore passate in convegni sulla “Lotta biologica e integrata” dove la sua dialettica destava grande ammirazione nel pubblico e difficilmente non poteva non essere apprezzata anche dai suoi cosiddetti nemici. Questi, i sostenitori della lotta chimica convenzionale, e come in genere noi della sua équipe definivamo, i cosiddetti “pesticidari” ovvero i sostenitori della lotta a “calendario” per prevenire, appunto, fantomatici attacchi di insetti!

La tristezza che mi prende nel ricordare Giorgio Celli è ancora grande!

Cercherò ora di riprendere l'aspetto prevalente dello scienziato entomologo lasciando ad altri amici e ad internet la consultazione degli elenchi dei libri



Pranzo conviviale tra intellettuali del Gruppo 63:
Giorgio Celli e Umberto Eco.

che ha prodotto, delle sue foto, della sua notorietà come divulgatore scientifico nel programma televisivo dedicato agli animali, del suo teatro, delle poesie, delle centinaia di prefazioni di libri, collane artistiche e così via. Ha pubblicato innumerevoli articoli per la terza pagina dei quotidiani, saggi scientifici, ovviamente sugli insetti ma anche su altri animali e il loro comportamento. Un titolo, tanto per fare un esempio: “Quattro zampe... più due”. Oltre a gatti (i suoi preferiti) e altri animali domestici, Giorgio raccontava in questo libro del 1989, storie di esapodi. Ha avuto anche compiti politici, in modo particolare al Parlamento europeo. Purtroppo non conosciamo il contenuto dei suoi discorsi portati a Bruxelles in difesa dell’ambiente e della natura. Chissà se in futuro questi atti potranno essere disponibili? Mi hanno confermato che sarebbero da considerare delle lezioni molto belle e attuali. Da quando era andato in pensione, la sua competenza artistica e teatrale gli ha permesso di inventarsi e fondare il “Club di Fantomas”. Così negli ultimi anni, quando la malattia già si faceva sentire, oltre agli insetti si è dedicato alla sua grande passione, ovvero il teatro che ha rappresentato uno dei suoi ultimi impegni. A partire dal 2007-2008, per molti lunedì sera, Giorgio esprimeva la sua voglia di vivere con rappresentazioni, letture sceniche e conferenze-spettacolo. Faceva partecipare tutti, anche i non espressamente “intellettuali” (riferirò in seguito la motivazione del termine in dialetto bolognese), rendendo così, con discussioni e brevi confronti dialettici molto interessante la piccola scuola di artisti creata in vicolo Vinazzetti nel centro di Bologna. Tutto poi finiva con un buffet dolce e salato e buon vino!

Amante della classica cucina emiliana e delle esclamazioni in dialetto. Per i vini, in genere, preferiva quelli piemontesi, dell’Oltrepo, i trentini e dell’Alto Adige, considerando i nostri dell’Emilia Romagna

un po’ troppo “ruvidi” quasi fossero di terza spremitura. Spesso però richiedeva, agli osti romagnoli, il *Pagadebit*. Chi l’ha conosciuto sa che, alla fin fine, qualsiasi bevanda che non fosse acqua liscia era per lui una gioia da degustare. Ricordo ancora molto bene le bevute di *Beaujolais nouveau* in occasione di viaggi di studio alla stazione di Zoologia e Lotta biologica di Cap d’Antibes! Questa sua grande sete di vivere l’ha espressa fino alla fine dei suoi giorni quando, già in dialisi da anni, si dovette ricoverare e operare al cuore. Dall’operazione e in particolare da una complicazione, conseguente ad infezione da batteri resistenti agli antibiotici, non si è più ripreso, morendo in terapia intensiva dell’Ospedale S. Orsola di Bologna l’11 giugno 2011. Avrebbe compiuto di lì a poco 76 anni.

Per non cadere in errore e per descrivere la sua multiforme personalità lascio parlare direttamente Giorgio che dettò alcuni appunti personali al suo carissimo amico Claudio Beghelli (che ringrazio calorosamente per questo frammento di un’intervista parzialmente edita compreso nel saggio: “Mi affascina ogni mestiere”; pubblicato sul numero 96-97 di “Zeta - rivista internazionale di poesia e ricerche” Campanotto editore, Udine).

“Sono sempre stato uno che viveva ai margini. Anche perché la mia scelta è stata quella di esplorare i margini di tante discipline, i territori di confine della cultura sono quelli che più frequento: potrei definirmi un ‘confinologo’. Mi interessano molto i luoghi dove l’arte e la scienza, ma anche tanti altri ambiti del sapere, interagiscono tra loro, si incontrano... Credo che il mio interesse per questo abbia fatto, anche, di me un uomo che non si sa bene chi sia. Io stesso ho avuto periodi della mia vita dove mi sono occupato principalmente di teatro e non di altro, altri in cui mi sono occupato di ricerca scientifica intensamente, e non di teatro, altri in cui ho scritto poesie... Quindi la mia vita è un mosaico di esperienze differenti: cicli diversi in tempi diversi. Oggi, tendo a una forma di eclettismo tra tutto questo, che non so quanto mi gioverà... Comunque, insomma, ho avuto una vita scomoda: perché per i poeti ero un grande scienziato, per gli scienziati ero un letterato; i filosofi spiritualisti mi consideravano uno scienziato materialista, dai materialisti ero considerato, invece, uno scienziato con aperture non consentite verso la metafisica. Insomma: ho sempre avuto delle difficoltà, nel senso che ho sempre finito per pormi – non ho deciso io – ho sempre finito per pormi, seguendo il mio demone – come lo chiamano alcuni –, in direzioni differenti”.

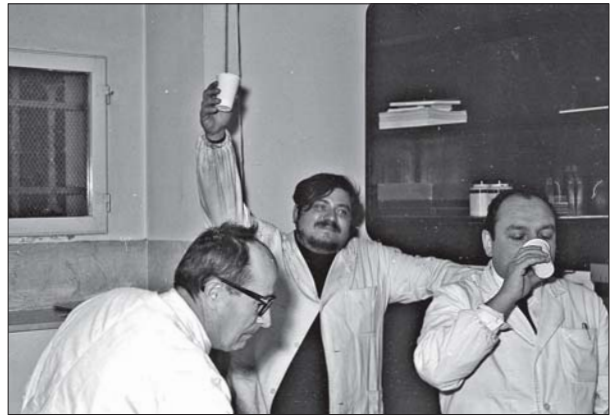
Riporto qualche dato di biografia: nato a Verona il 16 luglio del 1935 e iscritto all’anagrafe col nome di Giorgio Ruggero (in seguito quel Ruggero lo eliminò dalla sua carta d’identità, forse non amava i

doppi nomi!). La famiglia era composta dal padre Carlo, capo reparto presso la Manifattura Tabacchi e mamma Enza operaia, il fratello maggiore Luciano. Da Verona, la famiglia Celli si trasferì a Bologna e quindi Giorgio si è sempre considerato un bolognese a tutti gli effetti.

Da bambino, sfollato in campagna, sui colli nei pressi di Marzabotto, ebbe l'occasione di vedere un eccidio e le orribili violenze della guerra. Ecco forse è nato da queste esperienze l'odio che aveva per tutte le guerre e i soprusi dei potenti! Tuttavia, conobbe anche la bellezza della natura e con il ritorno in città, solo, nei prati e aree degradate della periferia, continuò a osservare insetti e altri animali e, quei momenti, come spesso ripeteva, erano i più rilassanti, un parco naturale tutto per lui, il suo "Serengeti" o un "prato di Proust". Una larva di coccinella diventava un piccolo coccodrillo e un gatto a caccia di lucertole, un leopardo!

Come adolescente e come studente si distingueva già per la sua intelligenza e iniziò a vincere diversi premi. Nello stesso tempo si dedicava allo studio di testi teatrali e ad andare in scena. A quel tempo certamente studiava da autodidatta. Credo che, non essendo un "liceale", un cosiddetto futuro "*intelletuel*", per forza di cose la sua cultura come letterato e appassionato di teatro, cinema e arte non poteva che essere costruita da un intenso studio ed interesse autonomo. In dialetto bolognese, Giorgio, ironicamente indicava come *intelletuels* le persone che si guadagnano da vivere col cervello a differenza di coloro che si mantengono con lavori manuali e sudore della fronte, persone peraltro che amava e rispettava moltissimo. Era da ragazzo iscritto all'Istituto Agrario "Arrigo Serpieri" di Bologna (scuola che insegnava anche a tenere la zappa e a potare bene gli alberi da frutto!) ma certamente aveva abbastanza doti e interesse per tanti ambiti scientifici diversi e certamente già aveva iniziato l'acquisto di libri di seconda mano per costruirsi il suo grande "bagaglio di conoscenze" e sconfinata biblioteca. Nel 1955 (anche se pare che i suoi lo volessero far lavorare come barbiere) dall'Istituto agrario si iscrisse alla Facoltà di Agraria dell'Università di Bologna. Conseguì la laurea col massimo dei voti nel febbraio del 1961 su un argomento di grande importanza in quegli anni, titolo tesi: "Ricerche sui parassiti di tre Lepidotteri minatori delle foglie di Melo". Relatrice fu la Professoressa Maria Matilde Principi. La tesi ebbe "l'onore", oltre alla lode, di essere pubblicata sul Bollettino dell'Istituto di Entomologia dell'Università degli Studi di Bologna.

Dopo la laurea era stato borsista e assistente volontario, poi ordinario di Entomologia agraria nel 1963. Divenne quindi Professore associato e nel 1986 Professore straordinario e, tre anni dopo, ordinario



Durante una "pausa" lavoro in Istituto di Entomologia dell'Università di Bologna (a sinistra il Professore Egidio Mellini, a destra Professore Pier Luigi Castellari).



Giorgio Celli assieme ai colleghi Giovanni Briolini, Pierino Giunchi e Pier Luigi Castellari in missione a Montreaux (1964).

della cattedra di Tecniche di lotta biologica. Dal 1988 divenne membro dell'Accademia nazionale italiana di Entomologia.

Diresse, per due trienni dal 1992 al 1998, l'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" dell'Università degli Studi di Bologna succedendo al Professore Giovanni Briolini.

Cinquanta anni dopo l'inizio della carriera universitaria, ottenne il titolo di Professore Emerito dell'*Alma Mater Studiorum* Università di Bologna.

In Facoltà di Agraria e all'Università di Bologna, nella prima metà degli anni '60, c'erano figure carismatiche: i Professori Alessandro Ghigi, Zoologo e ex Rettore, Gabriele Goidanich, patologo vegetale, per citarne solo due, e sicuramente fu colpito, fin da studente, dal carisma e dalla grande competenza del Professore Guido Grandi. Dall'internato e quindi negli anni a seguire fu poi la Professoressa Maria Matilde Principi che indirizzò il giovane Giorgio allo studio degli insetti in modo meno tradizionale (vale a dire i classici studi di morfologia, anatomia e sistematica degli insetti). Fu spinto a compiere e volentieri svolse indagini scientifiche di

entomologia agraria sulle relazioni in campo tra gli entomofagi e lotta naturale e biologica agli insetti dannosi alle piante coltivate, cioè sull'applicazione di sistemi di difesa più mirati e con mezzi sostitutivi alla lotta convenzionale attuata negli anni '60 quasi esclusivamente con i pericolosi insetticidi. Quindi, fin dall'inizio della sue ricerche entomologiche, l'attività principale di Giorgio è stata quella di adoperarsi per limitare i trattamenti con i principi attivi a maggiore effetti collaterali tossici per l'agroecosistema sia con l'applicazione di tecniche innovative di lotta biologica agli insetti sia con quella che è divenuta ora: la produzione integrata. Era a fianco degli agricoltori, (anche se purtroppo non sempre questi ultimi capivano appieno l'importanza di impiegare i "veleni" solo quando necessario). La parola: pesticida, che Giorgio preferiva usare come sinonimo di fitofarmaco, spesso era contestata perché appunto meno gradita di "farmaco" (ovvio che questo ultimo termine sottintende maggiormente una sostanza utile e che consente solo benefici) per le piante – fitofarmaco o agrofarmaco –. Guarda caso ora, invece, è entrata a far parte della terminologia corrente proprio "il pesticida", cioè un veleno che solo se adoperato con giudizio diventa utile. Questa presa di posizione, anche semantica e contraria all'abuso della chimica, fu ampiamente contrastata dall'industria e dalle multinazionali del farmaco e spesso gli agricoltori erano spinti dai venditori e dalla pubblicità a considerare le affermazioni di Giorgio come troppo catastrofiche. Oltre ad usare il termine più "spinto" di pesticida anziché fitofarmaco amava inventarsi frasi come: la mela avvelenata di Biancaneve, oppure "non andate con le pornomele" per definire le belle mele rosse perfette da vedere, però da non toccare e neanche da mangiare perché impestare da una miscela di residui di acaricidi, fungicidi, insetticidi "presumibilmente" tossici per la salute, i pesticidi per l'appunto. Contestò anche alcuni dati che chiaramente falsavano la realtà. Riporto un pezzo preso dal suo libro edito dal Mulino nel 1991 dal titolo: "Bugie, fossili e farfalle", relativo al capitolo intitolato proprio "La Mela di Biancaneve" e dedicato "al compagno di lotte ecologiche Giovanni Briolini". Scriveva Giorgio: "Mi piace parlare ora di un modo del tutto speciale di - mentire-senza-mentire -, praticando una sorta di maquillage dei dati scientifici, perché non vengano interpretati come dovrebbero, e risultare sgradevoli, ma come si vuole, per esempio all'uopo edulcorati. Si tratta di un piccolo imbroglio semantico, di cui mi sono occupato di persona, che era destinato a depistare l'uomo della strada".

I conflitti d'interesse, ripeteva Giorgio, sono sempre in agguato. Le multinazionali, diceva, possono fornire ai gruppi di ricerca pubblica e a loro spese

un'apparecchiatura moderna. Inoltre, queste corporations possono poi sponsorizzare borse di studio, assegni di ricerca per i collaboratori, finanziare prove di campo. Così in seguito gli scienziati si troveranno in forte difficoltà! Il ricercatore, che è stato beneficiario dall'industria degli agrofarmaci "camuffa" i dati negativi che sono scaturiti dalle analisi per non affermare chiaramente che il tal prodotto fa male alla salute, agli artropodi utili, nonché all'ambiente. Giorgio non si immaginava ciò che invece, ora, è diventato "quasi" obbligatorio! Cioè, cercare sponsor privati, visto che denari pubblici per finanziare l'università e centri di ricerca statali ce ne sono sempre di meno!

Giorgio aveva la capacità di trovare finanziamenti pubblici per sviluppare le nostre ricerche. Negli anni '80 partì un progetto dal titolo "Stato di Salute del Territorio" con il contributo dell'allora Provincia di Forlì. L'équipe si era così formata. Altro passo fu fatto con i contributi della Regione Emilia-Romagna e dell'ENEA. Dalla sua idea e col conforto di diversi collaboratori si fondò - a Pievesestina di Cesena presso la Centrale Ortofrutticola - la prima Biofabbrica italiana per la produzione di organismi utili (il libro del 1991 "La Fabbrica degli Insetti" spiegava come si possa mettere in pratica una difesa dagli insetti dannosi in modo più ecologico e sostenibile rispetto all'impiego dei soli pesticidi). Tra gli artropodi predatori inizialmente sono stati utilizzati il neurottero *Chrysoperla carnea* e l'acaro *Phytoseiulus persimilis* nelle serre rispettivamente contro gli afidi e il ragnetto rosso infestanti le fragole. In seguito sono stati studiati e quindi adottati in lotta integrata gli antocoridi per combattere tripidi e psilla del pero. Sono stati allevati anche altri entomofagi impiegati contro agromizidi, aleurodidi e altri fitofagi dannosi alle colture. Le ricerche su parassitoidi oofagi quali *Trichogramma brassicae* furono finanziati direttamente dal Ministero dell'Istruzione e più recentemente si è lavorato con progetti del Ministero dell'Agricoltura. Negli interessi di Giorgio non poteva mancare (fin dagli anni '70) la salvaguardia dell'ape, purtroppo ancora molto soggetta a soffrire degli effetti collaterali nefasti dei pesticidi, sia a livello acuto sia subletale.

Il progetto ape-indicatore biologico dei pesticidi, radionuclidi, metalli pesanti, ecc. è stato, grazie a Giorgio, un punto di riferimento per il territorio nazionale e modello per lo sviluppo di programmi analoghi a livello internazionale. Tali indagini sperimentali iniziarono una quarantina d'anni fa (prima col coinvolgimento della Professoressa Giulia Giordani) quindi con diversi collaboratori tra cui il Dottore Claudio Porrini (il più assiduo e ancora oggi è lo studioso pienamente coinvolto nella problematica della difesa delle api dai pericoli che possono manifestarsi

in seguito ad inquinamenti ambientali). In merito all'apicoltura Giorgio si era occupato dell'etologia e in particolare aveva studiato la percezione visiva nelle api e nei bombi.

Nel suo libro del 2008 *“La mente dell'ape”* riprende in modo simpatico e divulgativo il drammatico tema dei pesticidi. Riporto, parola per parola, quanto ci racconta Giorgio per bocca di Sherlock Holmes: *“La diffusione di molecole, vecchie e nuove, che investono da più di cinquant'anni il campo coltivato, contaminando tutto il territorio, sta ponendo le premesse per una catastrofe ecologica. Si tenga anche conto che, come il campo coltivato, anche l'arnia è soggetta a numerosi interventi chimici, per combattere gli indiscreti invasori dell'alveare. Questo diluvio chimico non può non avere delle brutali conseguenze nella semplificazione della biodiversità. Ci accorgiamo delle api che scompaiono, perché le alleviamo, ma quanti altri insetti utili stanno scomparendo? In primavera si vede volare solo qualche errabonda farfalla”*.

Sherlock Holmes e il dottor Watson sono figure che Giorgio impiegò anche per un suo precedente esilarante libretto dal titolo *“Come fu ucciso Umberto Eco”* (edizione del 2000 dell'apocrifo assassinio e altre storie). L'evidente simpatia che Giorgio nutriva per gli eroi di Conan Doyle è legata alla scientificità con cui questi personaggi, senza i carabinieri del Ris e i test del DNA, arrivano alla scoperta dell'assassino senza ombra di errore. La sua competenza sui semiochimici degli insetti (in questo caso i feromoni sessuali) e la sua fantasia ha dato origine all'uccisione, a mezzo “semantico”, dell'invidiatissimo amico (in questo caso ironicamente nemico) Professore Umberto Eco. Il caso poi ha voluto che siano stati proclamati emeriti dal rettore Pier Ugo Calzolari dell'*Alma Mater Studiorum* Università di Bologna proprio lo stesso giorno! Rubo pertanto le parole di Eco: *“Celli ha sempre fatto il mestiere dell'altro con strumenti tutti suoi”*. Eco conobbe Giorgio sin dai tempi del Gruppo 63, e questa frase è contenuta nella prefazione del libro *“La Scienza del Comico”* del 1982.

Nell'entomologia applicata, in collaborazione con il Centro Agricoltura e Ambiente “Giorgio Nicoli” di Crevalcore (Bologna), di cui è stato tra i fondatori, Giorgio, con i suoi collaboratori, ha affrontato la lotta biologica alle zanzare e ditteri nocivi negli allevamenti zootecnici. Inoltre si è dedicato alle diverse indagini per verificare l'efficacia del potenziamento della lotta naturale agli artropodi dannosi seguendo le strategie agroecologiche. Il comune di San Giovanni in Persiceto, grato dell'impegno per la salvaguardia dell'ambiente e del territorio e lo sviluppo della cultura in generale, conferì a Giorgio la cittadinanza onoraria. Giorgio ha ricevute diverse onorificenze sia per il suo impegno in difesa del-

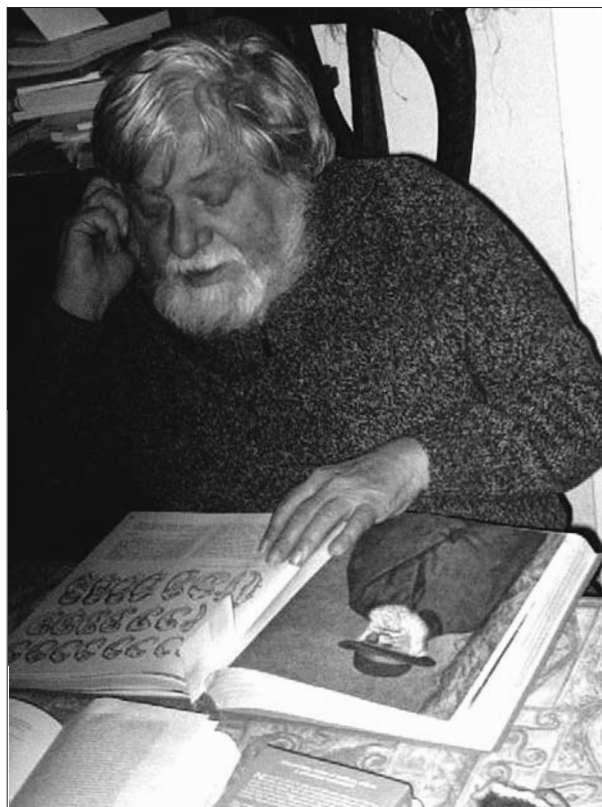


In missione al Congresso Internazionale di Entomologia a Vancouver (luglio 1988). Da sinistra a destra: Giorgio Celli, Giorgio Nicoli, Massimo Benuzzi, Claudio Porrini, Stefano Maini.

l'ambiente sia per tutta l'altra sua attività in campo letterario e artistico.

Il “mestiere” principale di Giorgio entomologo è stato compiutamente valutato e ampiamente apprezzato anche a livello internazionale. Così mi ha scritto David Pimentel: *“He was an outstanding person and entomologist. I will remember him for his stimulating conversations and his entomological intellect”*. Franz Bigler di Zurigo lo ricorda così: *“From the very beginning of his professional career, he was strongly advocating for Integrated Pest Management and Biological Control, and he was convinced that pest problems can be solved by better understanding and managing agroecosystems”*. Riprendo quanto scrive ancora Franz Bigler: *“Giorgio Celli was one of the pioneers and driving forces in Europe to develop ideas on Integrated Pest Management and Biological Control of Arthropods in apple orchards, pears, strawberry plantations and in other crops”*. Bigler riferisce inoltre sul “messaggio dell'Ovronnaz” (località nelle Alpi Svizzere dove cinque entomologi si incontrarono e discussero sulle tecniche per difendere le produzioni agricole in modo sostenibile: Baggiolini, Steiner, Celli, Schneider,

Altner). In quella tavola rotonda del 1976 vennero dettate le prime basi per lo sviluppo della lotta integrata e biologica: “...important elements and produced a document that can still be considered as one of the corner stones of modern Integrated Production. An interesting and colourful participant of the Ovronnaz meeting was G. Celli of the University of Bologna. He was not only a most innovative entomologist but also a gifted author and writer of theatre dramas”. Il dramma a cui qui ci si riferisce era: “Le tentazioni del professor Faust”. Questo libro fu tradotto in inglese da un altro entomologo e ricercatore studioso delle api: Malcolm Sanford. Il dramma fu presentato, tradotto in francese, anche ad un congresso, svolto a Vienna nel 1979, dell’Organizzazione Internazionale di Lotta Biologica. Sempre questo dramma teatrale consentì a Giorgio di vincere, nel 1975, il Premio Pirandello assegnato dal Presidente della Repubblica. Grande stima nei confronti di Giorgio fu espressa in diverse occasioni anche dall’agroecologo californiano Miguel Altieri (incluso tra i nostri Accademici Onorari). Giorgio, infatti, per la serie di Ecologia della casa editrice Muzzio, aveva intuito subito l’importanza delle ricerche di Miguel e fu il curatore della prima stampa (1991) e traduzione in italiano del suo libro “Agroecologia”. Nel 1990 per le “Scienze Quaderni”, Giorgio curò l’edizione “Ecosistemi”. Veramente interessante e attuale nonostante siano passati più di venti anni è l’introduzione. Riprendo la frase di chiusura del pezzo: “L’ottimismo di Lovelock ci sembra altrettanto pericoloso del pessimismo dei cavalieri dell’Apocalisse (spesso Giorgio, come già detto, veniva definito, a torto, appunto un catastrofista). La nuova consapevolezza maturata in noi di essere parte costitutiva dell’ecosistema e di partecipare in prima persona, vittime e carnefici, alla sua distruzione, ci suggerisce che inquinare l’ambiente significa avvelenare noi stessi. Che quando i pesci muoiono nei fiumi, quel veleno che li ha uccisi giungerà ben presto nella caraffa d’acqua cosiddetta potabile sulla nostra tavola. Che quando vendiamo per 30 denari una foresta, abbiamo venduto, con gli alberi abbattuti, parte della nostra eredità d’ossigeno, che con l’ape uccisa oggi dalle molecole di sintesi muore la speranza nei fiori del futuro”. Inoltre vorrei puntualizzare che chi disprezzava e affermava che Giorgio fosse un estremista e che non riconosceva i meriti di insetticidi, della rivoluzione verde di Norman Borlaug e in particolare demonizzava il DDT, non era in realtà al corrente del suo pensiero. Questa gente non sapeva che il suo principio di divulgatore scientifico era proprio quello di una “democratizzazione della scienza”. La propria idea del caso del DDT la riassunse così: “L’ecologo ha scoperto i mali del DDT, l’ecologista li ha resi di pub-



Un’immagine recente di Giorgio immerso nella lettura.

blica ragione. Il politico ha provveduto a mettere il DDT fuori legge. Ma la lotta, per dir così, deve continuare, perché il DDT, rispetto a tante altre molecole in giro per il pianeta, non era, dopo tutto, la peggiore”.

Si deve riconoscere che parte della sua formazione era nata nell’università dove Giorgio teneva lezioni di “Tecniche di Lotta Biologica” e dove aveva potuto trovare i maestri e dei validi collaboratori.

Giorgio mi raccontava che, negli anni ‘60, spesso intratteneva, nello studio del Professore Guido Grandi, delle conversazioni su argomenti di entomologia, biologia, etologia e anche di evoluzione. Certamente da quegli incontri è nata la grande volontà di approfondimento, studio e esperienza di Giorgio che gli ha consentito di scrivere sull’entomologo Jean Fabre, su Charles Darwin e darwinismo, sul mutazionismo di Hugo de Vries, su Konrad Lorenz (in particolare sull’aggressività degli animali, si veda il libro: Konrad Lorenz. L’etologo e i suoi fantasmi, 2001). Durante le lezioni tra il Professore Giorgio Celli e gli studenti si instaurava un rapporto di interesse e discussione. Fu proprio dalla classe che, gli studenti, superati gli esami, passavano all’internato, alla tesi di laurea, quindi allo sviluppo delle pratiche di difesa biologica dagli insetti dannosi o di protezione di api e pronubi dai pesticidi. Da questi “giovani” si sono poi sviluppati gli “spin off” accademici, come si dicono oggi (in altri termini dall’università si può far nascere un’impresa o un’attività). Con

ex tesisti di entomologia si sono date le basi per: la Biofabbrica per la produzione di organismi utili, il Centro Agricoltura e Ambiente, Eugea, Seizampe e il Laboratorio dell'Insetto di San Giovanni in Persiceto.

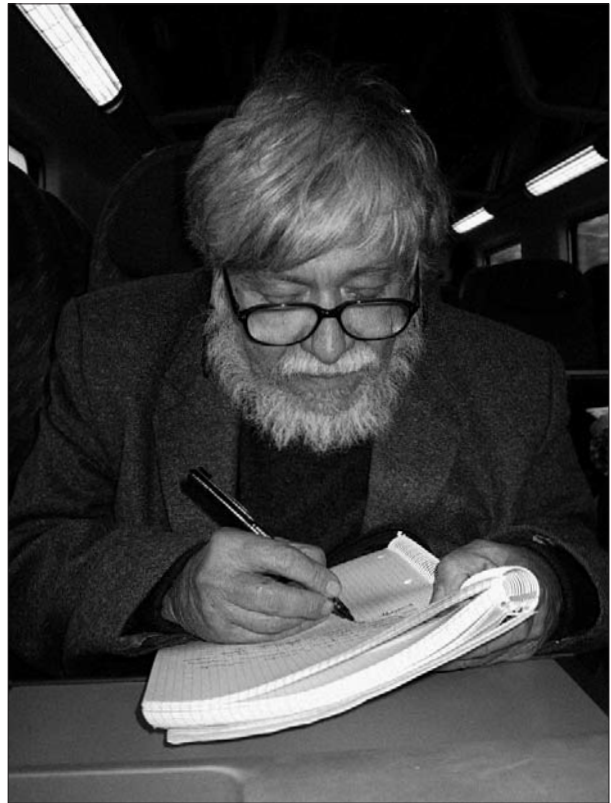
Per altri versi l'università non è stata molto prodiga con Giorgio. Gli allievi non hanno potuto trovare posti da ricercatore e le difficoltà si sono risolte solo in parte e dopo diverso tempo con la costituzione degli “*spin off*” citati sopra. Unico ricercatore che riuscì ad entrare (dopo una decina d'anni di precariato) nella carriera universitaria fu Giorgio Nicoli prematuramente scomparso. Ora il suo nome è ricordato come co-fondatore del Centro Agricoltura e Ambiente di Crevalcore. L'università per Giorgio era anche qualcosa di non molto pulito, come del resto la politica, dove il “*do ut des*” è sempre dietro l'angolo. Nel suo ultimo e postumo romanzo “Il gatto del rettore – delitto all'università” si trova detto, per bocca di un personaggio del poliziesco: “... *Non nascondiamocelo: l'Università è una piccola mafia, dove non è tanto il merito che ti consente di far carriera, ma più spesso le amicizie, l'appartenenza a un partito in quel momento egemone o a una loggia dove si occupa una posizione eminente*”.

Nonostante i suoi mille interessi credo che Giorgio fosse molto legato al gruppo della “lotta biologica” che si era costituito nell'Istituto di Entomologia. Nel 1988, firmammo (il gruppo di 19 collaboratori e lui) il “Manifesto della lotta biologica”. A cent'anni dall'affermazione scientifica di questa metodologia di controllo degli insetti dannosi festeggiavamo, assieme, l'evento con queste parole: “*La lotta biologica è una strategia di potenziamento della lotta naturale combatte la natura con la natura. Al contrario della lotta chimica non semplifica, ma rende più complessi quindi più stabili, gli ecosistemi e non fa aumentare la mutagenesi ambientale*”.

L'onorevole Dottore Alessandro Bratti, nella rivista Ecoscienza di luglio 2011, ricorda così Giorgio e collaboratori (in pratica chi più chi meno i firmatari del manifesto della lotta biologica di 21 anni fa): “... *questo gruppo di studiosi a cui Celli apparteneva erano considerati dei sognatori con una visione utopistica del mondo, oggi possiamo dire che avevano visto giusto*”.

Giorgio per l'appunto aveva i piedi ben saldati a terra, non siamo mai stati dei sognatori, e in agricoltura non amava certi personaggi troppo estremisti del biologico e/o scienziati un po' “stregoni”. Ci suggeriva così: “*l'uomo moderno sembra deciso a cercare le chiavi del futuro nel passato, e a contaminare, finalmente la scienza con un poco di saggezza*”.

Il Preside di Facoltà di Agraria di Bologna Professore Andrea Segrè nella commemorazione nella Cappella dei Bulgari in Archiginnasio a Bologna ha espresso



In treno: carta e penna , Giorgio scrive!

così la stima per Giorgio: “*Ci ha insegnato, fra le tante, una cosa importante: gli scienziati devono uscire più spesso dai loro laboratori per calarsi nei panni di cittadini e, avendo il privilegio della conoscenza, devono assumersi la responsabilità di informare ed educare, ma anche di ascoltare la gente al fine di proporre risposte eticamente fondate alle molte sfide che abbiamo dinnanzi. Giorgio lo ha fatto. Ed è stato un esempio per molti di noi*”.

Giorgio, nonostante la dialisi a cui si doveva sottoporre (fino a tre volte a settimana), avrebbe voluto essere sempre in prima linea. Forse, proprio per non disturbarlo più di tanto, invece, negli ultimi anni era chiamato di rado, rispetto al passato, a presiedere conferenze e dibattiti. Insomma, si sentiva emarginato per una “caduta di interesse” nei suoi confronti soprattutto nella sua Bologna. Giorgio, amareggiato, nel 2010, rilasciò ad un giornalista questa frase: “...*Ma forse, alla fin fine, la spiegazione è più semplice: non faccio parte di nessuna cellula, di nessuna parrocchia, di nessuna cupola, e di nessuna loggia. Devo dolermene, allora? Nemmeno per sogno!*”.

Mi preme, infine, presentare una selezione dei “ricordi” che ho ricevuto da amici o allievi che sono stati collaboratori di Giorgio, nonché sono stati vicini a lui fino alla fine dei suoi giorni. Il collega Professore Giovanni Briolini, che con Giorgio ha condiviso i primi passi da ricercatore entomologo presso l'Istituto di Entomologia e poi la docenza e la direzione dello

stesso Istituto, mi ha gentilmente spedito la pagina che riprende alcuni momenti di vita assieme. Infine ho gradito, e inserisco per primo, anche il messaggio che la Professoressa Principi mi ha dettato e che integralmente è scritto di seguito. Mi hanno inoltre consegnato questi scritti persone che fanno parte, a vario titolo, dell'area di Entomologia del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali dell'Università di Bologna.

Professoressa MARIA MATILDE PRINCIPI
Accademico emerito

Giorgio Celli è stato il mio primo allievo. Venne a chiedere la tesi di laurea a me, che da poco ero stata nominata Professore straordinario.

Nell'ambito del piano di ricerche che l'Istituto aveva iniziato per l'applicazione della Lotta Integrata nei frutteti, come tema della tesi gli diedi l'indagine della resistenza biotica esistente nei meleti del ferrarese. Celli svolse con successo il suo lavoro e si laureò brillantemente con 110 e lode, poi continuò a frequentare l'Istituto con una borsa di studio del CNR.

Quando venne assegnato un nuovo posto di assistente all'Istituto, per la sua manifesta passione per le lettere, la sua candidatura mi provocò qualche perplessità. Mi consigliai con il mio Maestro. Il Professor Grandi mi rispose: "prendete Celli come assistente, ne sarete contenta!". Così feci. Ed egli continuò col suo lavoro fino alla conquista della cattedra di Tecniche di Lotta Biologica.

Sullo svolgimento della sua carriera scientifica ne sta riferendo Stefano Maini.

Professore GIOVANNI BRIOLINI
Accademico emerito

Questo breve scritto non vuol essere una biografia dello scomparso collega ed amico, né una commemorazione ufficiale, che altri farà meglio di me; ma solo il ricordo di una vita passata fianco a fianco, in comunione di ideali e talvolta anche di lavoro.

Giorgio Celli fu indubbiamente un uomo di multiforme ingegno: scienziato, attore, scrittore, poeta, presentatore televisivo e finanche uomo politico. Certamente nella sua vita non si sarà annoiato.

Eravamo quasi esattamente coetanei: era nato, infatti, un giorno dopo di me. Io terminai gli studi qualche tempo prima di lui e, giovane assistente, lo seguii nella sua tesi di laurea. Fin d'allora mostrò il suo atteggiamento nei confronti della ricerca: era persona di vasta cultura, aveva buone idee, ma era tutt'altro che pignolo nel metterle in pratica.

Portò onorevolmente a termine il suo lavoro e, laureatosi, rimase come borsista nell'Istituto di Entomologia, iniziando una carriera che infine doveva portarlo a dirigerlo.

Fin dallo svolgimento della tesi cominciò ad occuparsi di insetti entomofagi, campo di studio che, insieme alle ricerche sulle Api, costituì sempre la spina dorsale del suo lavoro di ricerca.

Ben presto, su iniziativa della Prof. Maria Matilde Principi, allora direttrice, l'Istituto di Entomologia iniziò una proficua collaborazione con la Regione Emilia-Romagna, che portò alla realizzazione di un vasto programma di difesa integrata nei frutteti della regione. Anche Celli s'impegnò a fondo in questo programma, dapprima con lo studio dei parassiti dei minatori fogliari, poi via via allargando i propri interessi, fino alla realizzazione di un laboratorio per l'allevamento di Insetti ed Acari entomofagi, utili soprattutto per la difesa delle colture protette, anche in questo modo dimostrando la sua apertura mentale e la sua vena di idee brillanti. Qualche istituzione del genere era presente in Europa, ma ancora nessuna in Italia.

Giorgio Celli era solitamente di umore allegro e volentieri portato alla satira. Ogni volta che usciva con Alberto Ugolini, funzionario dell'Osservatorio per le Malattie delle Piante, anche lui spirito caustico se mai ce ne furono, i due ritornavano con una nuova canzoncina satirica su qualche persona dell'Istituto. Non è qui il caso di aggiungere particolari, ma per lo più si trattava di composizioni davvero divertenti.

Anche la sua opera "Le tentazioni del Professor Faust", che gli valse il Premio Pirandello per la letteratura, all'inizio era un'aperta e corrosiva satira sulle persone dell'Istituto di Entomologia. Dato che il Nostro amava parlare delle sue opere in gestazione, io ne seguii l'evoluzione progressiva verso la più decantata forma definitiva. All'inizio anche i nomi dei personaggi echeggiavano quelli dei colleghi. Io, per esempio, ero "Il Dottor Tristolini", personaggio che poi scomparve.

Anche della cerimonia di consegna del premio letterario Giorgio mi fece una descrizione umoristica: Giovanni Leone, allora Presidente, lo confuse con un altro letterato (non ricordo quale) e quindi, avvertito dell'errore, rimediò con un'abile giravolta dialettica.

Quando Celli faceva parte di un gruppo, il suo carattere lo portava a voler essere il centro dell'attenzione generale, risultato che otteneva quasi sempre, grazie alle sue doti di attore ed al suo eloquio brillante e pittoresco. Non sempre però la cosa gli riusciva. Ricordo che una volta, in quel di Bari, fra colleghi entomologi, trovò chi lo batteva in quest'arte. Ne rimase talmente demoralizzato, che eccedette un po'

nel bere, tanto che ritornando al nostro albergo dovetti aiutarlo a mantenere l'equilibrio.

Sempre quando era in gruppo, probabilmente a causa di questo suo desiderio di consenso, si adeguava invariabilmente al livello dei presenti: colto e raffinato con gli intellettuali, più semplice fino alla volgarità con persone di più basso livello.

Come ho detto all'inizio, queste poche righe vogliono essere semplicemente un ricordo delle straordinarie doti, delle luci come delle ombre, di una persona della cui amicizia non posso che vantarmi. La sua prematura scomparsa mi ha dolorosamente colpito. Come scrisse Hemingway, "Non chiedere per chi suona la campana. Essa suona per te".

Professore PIERO BARONIO
Accademico ordinario

Celli Giorgio è stato un uomo "fantastico" in tutto ciò che faceva e diceva, non c'era cosa che non prendesse la forma "fantastica" dai suoi neuroni. Noi ne eravamo lieti, perché ci rallegrava. Tutto il resto non c'era e se c'era rimaneva in lui.

Professore GIOVANNI BURGIO

È imbarazzante, per me, scrivere il ricordo di una persona. Lo stesso Celli odiava i necrologi e in questo momento, probabilmente, si starà prendendo gioco di noi lanciando frasi irriverenti oppure ridendo.

Ero, insieme ad altri miei coetanei – della generazione F2 – e a volte Celli non ci risparmiava prese in giro e burlle, considerandoci delle reclute che dovevano farsi le ossa per conquistarsi un posto in prima linea. E quando da giovane laureato che ero, ebbi l'onore di essere firmatario del manifesto della lotta biologica, capii che da grande avrei fatto l'entomologo.

Una cosa mi ha sempre colpito, di Celli. Egli aveva un concetto pragmatico di morte – qualcosa che va oltre l'ateismo – diciamo da scienziato. La morte – e mi è capitato di sentirlo parlare di questo argomento – per lui rappresentava qualcosa di "calmo, materiale, agnostico", che ci rendeva tutti uguali dal punto di vista termodinamico. In questa rappresentazione di morte, anonima e remissiva, era molto diverso dal modo in cui concepiva la vita, che per lui era un grande palcoscenico. È vero, nella vita non amava certo essere anonimo. La sua personalità e il suo modo di essere un precursore, attirava tanto gli amici quanto i nemici. Al di là delle luci e delle ombre che molti attribuiscono a Celli, devo dire che ho sempre invidiato in lui il coraggio – a volte esasperato – con cui affrontava i "suoi" nemici, dei quali fra l'altro

aveva paradossalmente bisogno. E che quindi facevano parte della sua essenza. Strano, vero?

Quel suo carattere difficile, irruento, perentorio, provocatorio, lo portava in realtà a urlare per poi riappacificarsi, litigare per poi tornare amico, contestare per poi confutare le sue stesse convinzioni, fino a farsi anche convincere riguardo a scelte delicate, dalle persone di cui si fidava. Era semplicemente il suo modo di affrontare la vita. E questo suo carattere ribelle e anticonformista lo portava del resto anche ad accettare con pazienza e altruismo il fardello di tante persone che lo frequentavano solo per convenienza, cosa di cui lui era consapevole.

Nonostante le divergenze metodologiche che spesso avevamo, e qualche diffidenza che aveva nei miei confronti – ogni tanto per prendermi in giro mi dava dello statistico! – arrivò il fatidico giorno in cui mi sostenne per il mio posto da ricercatore. Che io non dimentico. E che mi fece capire tante cose di Celli.

Dottoressa MARIA LUISA DINDO

Quando ho avuto la triste notizia della scomparsa del Prof. Celli, ne ho provato un sincero dispiacere e un senso di vuoto: davvero mi sembrava impossibile pensare di non rivedere più la sua figura caratteristica, che ha sempre accompagnato i miei passi nel cammino dell'entomologia, sia pure sullo sfondo, perché non ero sua allieva. I miei contatti con lui hanno riguardato non tanto gli aspetti strettamente scientifici della materia, ma la divulgazione in cui lui, scrittore di talento, eccelleva e a cui anch'io mi sono sempre dedicata con piacere. Lui, in questo, mi ha in più occasioni incoraggiato e ha anche firmato le prefazioni di due libri a cui ho collaborato. Uno dei due era rivolto ai bambini, quei bambini che – mi disse un giorno – di solito un po' lo temevano, forse a causa del suo aspetto particolare. Eppure, ricordo la semplicità con cui, una volta, nel vecchio Istituto di Entomologia, accolse mia figlia, che allora aveva due anni. Per niente impaurita, la bimba gli andò incontro e accettò felice un libro, con tante figure di gatti, che lui le regalò dimostrando, con quel piccolo gesto spontaneo, di avere, dietro l'aria burbera, un animo gentile e sensibile.

Dottore GIOVANNI BAZZOCCHI

Mi sono laureato nel 1993 in Scienze Biologiche, il relatore era Giorgio Celli, la tesi era di etologia: il comportamento di un parassitoide. Dopo la discussione, durante i festeggiamenti, ci mettemmo a parlare di un passaggio della mia tesi (appena accen-

nato) che nella presentazione non avevo neanche affrontato. Ricordo che ci dicemmo qualcosa, rapidamente, riguardo le reciproche influenze tra osservatore, oggetto dell'osservazione e l'ambiente. Non se ne parlò più.

Dopo quasi 10 anni, era il 2002, non ricordo in quale occasione, Giorgio mi regalò un libro di Jakob von Uexküll sul concetto di ambiente in relazione al mondo percettivo dell'animale (Umwelt): ogni animale vive nel suo mondo-ambiente, un mondo chiuso rispetto agli altri mondi-ambienti anche se connesso a questi. "Per approfondire quel discorso che facemmo il giorno della tua laurea" mi disse. Prima di affrontare il libro, dovetti rileggere la tesi per ricordarmi a cosa si riferiva. Lui invece ricordava perfettamente.

Giorgio Celli per me, anche oggi, è questo: la necessità di riprendere ragionamenti lontani, rintracciarli, re-intrecciarli! Lui lo faceva continuamente e, apparentemente, senza sforzo!

Dottore PAOLO RADEGHIERI

Definire Giorgio Celli è sempre stata un'operazione molto ardua per chiunque. Anche per me che ho avuto il privilegio di lavorarvi a fianco per circa 20 anni.

A partire dalle sue lezioni che erano sicuramente sui generis: Celli amava provocare, condire le nozioni di entomologia con citazioni letterarie, soprattutto gli piaceva sfidare coloro che l'ascoltavano ribaltando spesso ciò che si dava per acquisito. Era in grado tenere sempre alta l'attenzione degli studenti mescolando le sue prolusioni con battute sagaci e divertentissime, terminando spesso con dei preziosissimi consigli per la lettura. Mi è capitato durante le sue lezioni di pensare che forse avesse sbagliato facoltà! Ma con il passare degli anni arrivai alla conclusione che la sua capacità di leggere la realtà sempre in anticipo rispetto al pensiero dominante fosse frutto di questa straordinaria capacità di conciliare mirabilmente la sua profonda autodidatta preparazione letteraria con quella scientifica. Aveva una visione del mondo del tutto originale e soprattutto, era una voce sempre fuori del coro.

La sua "lunga marcia" come amava definirla, contro lo spreco di insetticidi in agricoltura, che credo rappresenti l'eredità più importante per noi entomologi usciti dalla sua scuola, lo vide esporsi, quasi voce solitaria o assieme a qualche sparuto collega, nel panorama accademico del nostro paese. Negli ultimi anni, e ne andava molto fiero, molti dei suoi detrattori gli hanno voluto riconoscere che aveva visto giusto nel promuovere una produzione agricola meno impattante sull'ambiente. Il suo impegno civile

continuo nei confronti della difesa dei diritti degli animali e dell'ambiente ne ha fatto un'icona tra gli animalisti che lo hanno soprannominato "il papa dei gattolici". Per concludere credo che la vera impresa ora toccherà agli studiosi che vorranno cimentarsi nel rimettere assieme tutte le tessere di questo straordinario mosaico che è stata la vita di Giorgio Celli.

Dottore FABRIZIO SANTI

Ci sono persone che incontri continuamente e non ti lasciano mai nulla, altre, come Giorgio Celli, che basta incrociare per cinque minuti e ti trasmettono tanto. L'ultima cosa che ho imparato da lui: ... è molto più forte l'invidia per una grande intelligenza che quella per i soldi, tanto da protrarsi oltre la morte.

Dottore CLAUDIO PORRINI

È molto difficile che una persona, nel corso della propria vita, cambi carattere rispetto a quello formato con l'educazione ricevuta nel periodo giovanile. Devo dire che invece l'incontro con Giorgio Celli ha cambiato e arricchito la mia indole, non solo perché è stato il tramite di molte conoscenze che fino ad allora la scuola non mi aveva dato, ma per aver influito su alcuni importanti aspetti del mio carattere.

Fondamentalmente il nostro è stato un rapporto di profonda fiducia: Celli ha creduto in una persona timida, introversa e con molte lacune di vario genere ma in cui lui probabilmente aveva intravisto qualche capacità. Ed io, per seguirlo nelle sue peripezie ma soprattutto nelle sue idee, ho abbandonato per molti anni gli studi (procrastinando molto in là nel tempo il conseguimento della Laurea), contro il parere dei miei genitori e dei miei amici.

Il percorso di ricerca che abbiamo fatto insieme per la messa a punto dello "strumento" ape ai fini di un suo utilizzo nell'ambito della bioindicazione ambientale, è stato così affascinante e coinvolgente che mi ha fatto perdere di vista la strada della carriera universitaria. Ma di questo non mi sono mai lamentato più di tanto perché quello che ho ottenuto in termini meno tangibili, è stato impagabile.

Giorgio Celli è stato sicuramente il mio padre scientifico, è stato anche lo scrittore, il poeta, il letterato che ho seguito e accompagnato in mille eventi di questi 31 anni, ma soprattutto è stato un amico da cui ho ricevuto molti consigli e con cui ho spesso discusso e alcune volte litigato, sempre però mantenendo verso di lui stima e ammirazione.

Ora Giorgio riposa in un piccolo cimitero del suo

amato Appennino e la bruma che cala in questo periodo nella vallata di fronte ricorda i versi che Celli scrisse immaginando il suo ultimo tragitto:

*...più tardi la nebbia si alzerà
nel lievito del vento
sopra le stelle
e io mi smarrirò stupefatto come allora
nel firmamento...*

Ciao Giorgio

* * *

Ringrazio di cuore Davide Celli per avermi fornito alcuni dati biografici del suo amato babbo e alcune fotografie a corredo di questa commemorazione.

PUBBLICAZIONI DI GIORGIO CELLI

- CELLI G., 1960.- Ricerche sui parassiti di tre Microlepidotteri minatori delle foglie di Melo. (*Nepticula malella* Staint., *Leucoptera scitella* Zell. e *Lithocolletis blancardella* F.).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 24: 271-279.
- CELLI G., 1962.- Gli afidi dei fruttiferi.- Frutticoltura, 24: 697-701.
- CELLI G., 1962/1963.- Contributi allo studio degli Imenotteri parassiti di Insetti minatori. II. Nota preliminare sui parassiti di *Paraleucoptera sinuella* Reutti.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 26: 207-216.
- CELLI G., 1963.- Prime notizie su trattamenti sperimentali effettuati negli anni 1961-1963 contro la *Depressaria marcella* Rebel, Lep. Gelechiidae, dannoso alla carota da seme.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1963: 127-134.
- CELLI G., 1963.- A proposito di recenti allarmi sulle punture di imenotteri betilidi.- Natura e Montagna, 3 (2): 3-4.
- CELLI G., 1963.- A proposito degli imenotteri aculeati paralizzatori.- Natura e Montagna, 3 (4): 1-3.
- CELLI G., UGOLINI A., 1963.- Prove orientative di lotta invernale contro la *Leucoptera (Cemistoma) scitella* Zell. minatore delle foglie di melo.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1963: 135-139.
- CELLI G., 1964/1965.- Contributo allo studio degli Imenotteri parassiti di Insetti minatori. III. Notizie su alcuni parassiti ed iperparassiti di Insetti minatori delle foglie di Pioppo (*Paraleucoptera sinuella* Rtti., *Phytomyza populi* Klth.), di Platano (*Lithocolletis platani* Stgr.) e di Ciliegio (*Lithocolletis cerasicolella* H. S.).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 27: 49-70.
- CELLI G., 1965.- Un'occhiata elementare al mondo degli insetti entomofagi.- Natura e Montagna, 5 (4): 191-198.
- CELLI G., 1965.- Il "funebre lamento" dell'*Acherontia atropos* L.- Natura e Montagna, 5 (1): 19.
- CELLI G., 1966.- Qualche considerazione elementare sugli istinti.- Natura e Montagna, 6 (4): 154-158.
- CELLI G., 1966/1967.- Contributi allo studio degli Imenotteri parassiti di Insetti minatori. IV° Contributo. Notizie su alcuni Eulofidi rinvenuti come parassiti di *Messa hortulana* Klug (Hymenoptera Tenthredinoidea), minatore delle foglie del Pioppo.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 28: 233-239.
- CELLI G., GIORDANI G., 1966/1967.- Ricerche sull'attività del *Bacillus thuringiensis* Berliner in riguardo all'*Apis mellifera* L. I° Contributo.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 28: 141-175.
- BRIOLINI G., CELLI G., 1967.- Problèmes de échantillonnage des microlépidoptères mineurs et leurs parasites dans un verger de pommiers traité avec des produits phytosanitaires.- Entomophaga, Memoires HS, 3: 73-76.
- BRIOLINI G., CELLI G., GIUNCHI P., 1967.- Problemi riguardanti la difesa dei frutteti dalle infestazioni di microlépidotteri minatori.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1967: 365-372.
- BRIOLINI G., CELLI G., 1967/1969.- Esperienze sugli effetti secondari degli insetticidi in riguardo a un importante parassita primario (*Apanteles lautellus* Marsch.- Hym. Braconidae).- Bollettino dell'Osservatorio per le Malattie delle Piante di Bologna, 2: 1-7.
- CELLI G., 1968.- I chemiosterilizzanti nella lotta contro gli insetti nocivi.- Informatore fitopatologico, 18 (11): 223-230.
- BRIOLINI G., CELLI G., 1968/1970.- Risultati delle catture di Lepidotteri eseguite per un triennio con una trappola luminosa tipo "Pennsylvania".- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 29: 61-80.
- CELLI G., 1968/1970.- Studio su di un Lepidottero (*Depressaria marcella* Rebel, Lep. Oecophoridae) dannoso alle colture da seme di *Daucus carota* L. e ricerca di un metodo razionale di lotta.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 29: 1-44.
- CELLI G., 1968/1970.- Contributi allo studio degli Imenotteri parassiti di insetti minatori. V°. Indagine preliminare sulle possibilità di attuazione di un metodo di lotta fondato sul rispetto e la valorizzazione degli entomofagi di due minatori del melo (*Leucoptera scitella* Zell. e *Lithocolletis blancardella* F.).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 29: 267-314.
- CELLI G., GIUNCHI P., 1969.- Ricerche sulla selettività dei trattamenti insetticidi effettuati su colture in fiore, con particolare riferimento all'*Apis mellifera*.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1969: 285-298.
- CELLI G., 1971.- Il problema della selettività dei fitofarmaci in rapporto alle popolazioni entomofaghe dei microlépidotteri del melo.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1971: 625-630.
- CELLI G., 1971/1973.- "Soglia economica" e percentuali di parassitizzazione in rapporto alle infestazioni di microlépidotteri minatori del Melo.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 30: 311-322.
- CELLI G., GIORDANI G., 1971/1973.- Ricerca sull'attività di *Apis mellifera* L. sul Pero e su alcuni sistemi di osmoattrazione suscettibili di migliorarla, in un frutteto dotato di copertura antigrandine.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 30: 225-264.
- CELLI G., 1972.- Alcune osservazioni sui rapporti tra gli insetti minatori delle foglie e i loro parassiti, pp. 85-90. In: Atti IX congresso nazionale italiano di entomologia, Siena, Italy, 21-25 June 1972.
- CELLI G., 1972/1977.- Il problema della osservazione di campo e della valutazione quantitativa della parassitizzazione a carico di *Leucoptera scitella* Zell. (Lep. Lyonetiidae)

- e di *Lithocolletis blancardella* F. (Lep. Gracilariidae).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 31: 251- 267.
- CELLI G., GAVINA G., SPADA G., 1973.- Indagine sulla presenza e l'attività di tre importanti fitofagi del pesco in Emilia (*Pseudaulacaspis pentagona* Taig., *Anarsia lineatella* Zell. e *Cydia molesta* Busk.) e ripercussioni degli interventi chimici sulle popolazioni entomofaghe.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1973: 207-218.
- BRIOLINI G., CELLI G., 1974.- La zoosemiotica al servizio dell'uomo, nuovi metodi ecologicamente fondati per combattere gli organismi dannosi, pp. 129-153. In: Atti del IV simposio nazionale sulla conservazione della natura, Bari, Italy, 23-28 April 1974.
- CELLI G., 1974.- Condizioni di sopravvivenza dell'ape nei sistemi agricoli attuali.- Annali Accademia Nazionale di Agricoltura, Bologna, 94 (4): 395-411.
- D'AGUILAR J., CELLI G., CHAMBON J. P., 1974.- Les mineuses des feuilles, pp. 71-79. In: Les organismes auxiliaires en verger de pommiers.- OILB-SROP.
- CELLI G., 1975.- Etat actuel des infestations et de la lutte contre *Stigmella malella* Stt., *Leucoptera scitella* Zell. et *Lithocolletis blancardella* F., mineuses des feuilles du pommier, pp. 237- 248. In: Proceedings of the fifth symposium on integrated control in orchards, Bolzano, Italy, 3-7 September 1974.
- CELLI G., BARBIERI R., CASARINI C., 1975.- Risultati dell'impiego di un preparato a base di *Bacillus thuringiensis* Berliner contro la *Lobesia botrana* Schiff. (Lepidoptera Tortricidae).- Atti Giornate Fitopatologiche, 1975: 335-339.
- CELLI G., GASPERONI A., PEZZI A., 1975.- Rilievo della parassitizzazione invernale di *Leucoptera scitella* Zell. (Lepidoptera Lyonetiidae) in Emilia e ricerca di un metodo di lotta chimica ecologicamente selettivo.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1975: 497-504.
- CELLI G., POGGIALI F., GIORDANI G., 1975.- Inquinamento del nettare dei fiori del melo da endosulfan in rapporto a ripercussioni nocive sulle api bottinanti.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1975: 117-120.
- CELLI G., 1977.- L'ape: società e linguaggio.- Natura e Montagna, 17 (4): 5-18.
- CELLI G., 1977.- Trattamenti antiparassitari e salvaguardia degli entomofagi.- Informatore Fitopatologico, 27 (6/7): 15.
- GIORDANI G., CELLI G., 1979.- Ricerche sulla impollinazione controllata di *Prunus persica* L. ad opera di *Apis mellifera* L. in ambiente confinato.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 34: 95-110.
- GIORDANI G., SABATINI A. G., CELLI G., NARDI M., 1979.- Endosulfan e Api. Ripercussioni dei trattamenti con endosulfan su *Apis mellifera* L. bottinante in campi di medica da seme in fiore.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 34: 125-143.
- CELLI G., CASARINI C., BARBIERI R., BECCHI R., 1980.- Risultati di trattamenti con preparati a base di *Bacillus thuringiensis* contro *Lobesia botrana* Schiff. (Lepidoptera Tortricidae) nel modenese in rapporto al rilievo feromonico e al danno.- Atti Giornate fitopatologiche, 1980: 431-439.
- CELLI G., 1980.- I limiti e i pericoli dell'impiego degli insetticidi, pp. 3-48. In: Prospettive di controllo biologico degli insetti in agricoltura.- CNR, Padova, Italy.
- CELLI G., 1980.- Percezione pragmatica e percezione eidetica nell'uomo e negli animali (nota preventiva).- Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti, 28-29: 51-55.
- CELLI G., GIORDANI G., 1982.- Importanza economica e biologica dell'Ape (*Apis mellifera* L.) per la fruttificazione del Melone (*Cucumis melo* L.) in coltura protetta.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 36: 91- 114.
- CELLI G., 1983.- L'ape come insetto test della salute di un territorio, pp. 637-644. In: Atti XIII congresso nazionale italiano di entomologia, Sestriere, Torino, Italy, 27 June - 1 July 1983.
- CELLI G., 1983.- I guardoni della pornomela.- Terra e Vita, 24 (25): 34-36.
- CELLI G., 1983.- Dalla caccia alle farfalle alla lotta biologica.- Terra e Vita, 24 (29): 70-73.
- CELLI G., 1983.- Piante e licanthropi: l'altra agricoltura.- Terra e Vita, 24 (38): 36-37.
- CELLI G., 1983.- Così è nata la lotta biologica.- Terra e Vita, 24 (43): 36-38.
- CELLI G., CORAZZA L., 1983.- Antiparassitari e difesa del melo.- Informatore Fitopatologico, 33 (7/8): 9-14.
- MAINI S., CELLI G., GATTAVECCHIA C., PAOLETTI M., 1983.- Presenza e impiego nella lotta biologica del *Trichogramma maidis* Pintureau e Voegelé (Hymenoptera, Trichogrammatidae) parassita oofago di *Ostrinia nubilalis* Hb. (Lepidoptera, Pyralidae) in alcune zone dell'Italia settentrionale.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia della Università degli Studi di Bologna, 37: 209-217.
- CELLI G., 1984.- L'ape come insetto test della salute di un territorio.- Apicoltore Moderno, 75 (3): 133-140.
- CELLI G., 1984.- Dagli ecosistemi naturali al campo coltivato.- Terra e Vita, 25 (37): 36-44.
- CELLI G., ASSENZA C., BURCHI C., PORRINI C., 1984.- Progetto: stato di salute del territorio.- La città delle api, 9: 9-13.
- CELLI G., BELLINI R., 1984.- Alcuni aspetti della fauna entomologicaromagnola in rapporto all'inquinamento da pesticidi. 1. Ortive da seme. (Nota preventiva).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 38: 217-230.
- CELLI G., BURCHI C., 1984.- La filloptosi in rapporto all'intensità di infestazione di due minatori fogliari del Melo (*Leucoptera scitella* Zell., Lep. Lyonetiidae, *Lithocolletis blancardella* F., Lep. Gracilariidae).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 38: 25-36.
- CELLI G., BURCHI C., PORRINI C., 1984.- Api e pesticidi.- Le nostre api, 5: 98-104.
- CELLI G., GATTAVECCHIA C., 1984.- Primi dati sulla tossicologia dell'alveare in Romagna.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 38: 205-216.
- CELLI G., 1985.- Contributi all'etologia dell'ape in serra. 1. Foodgames con le api, pp. 673-680. In: Atti XIV congresso nazionale italiano di entomologia, Palermo, Italy, 28 May - 1 June 1985.
- CELLI G., BARBIERI R., BECCHI R., POZZA M., 1985.- La lotta microbiologica contro *Lobesia botrana* Den. e Schiff. Mediante preparati a base di *Bacillus thuringiensis* Berliner. Un decennio di sperimentazione.- Difesa delle Piante.- 8 (2): 271-276.
- CELLI G., CORNALE R., BENUZZI M., FISCHETTI F., 1985.- Fattori di mortalità invernale di *Leucoptera scitella* Zell. (Lepidoptera Lyonetiidae).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 39: 49-60.
- CELLI G., DALLE MOLLE G., 1985.- Alcuni aspetti della

- fauna entomologica romagnola in rapporto all'inquinamento da pesticidi. 2. Fruttiferi (Nota preventiva).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 39: 37-47.
- CELLI G., NICOLI G., CORAZZA L., 1985.- Primi risultati di lotta biologica contro gli afidi della fragola in colture con il Neurottero predatore *Chrysoperla carnea* (Steph.).- Quaderni di "Territorio è..." Edizioni delle Autonomie, Bologna, 1: 75-82.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1985.- Rapporti tra apicoltura e ambiente. L'ape come indicatore biologico dei pesticidi (con particolare riferimento alla provincia di Forlì). (Nota preventiva).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 39: 231-241.
- CELLI G., 1986.- Lotta biologica, produzione agricola, conservazione ambientale. Qualche considerazione d'ordine generale, pp. 115-130. In: Metodi alternativi alla lotta chimica nella difesa delle colture agrarie 1° convegno internazionale, Cesena. 10-11 Ottobre 1985.
- CELLI G., CORAZZA L., NICOLI G., BURCHI C., CORNALE R., BENUZZI M., 1986.- Lotta biologica *Chrysoperla carnea* (Steph.) (Neuroptera Chrysopidae) agli afidi della fragola. Due anni di esperienze.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1986 (1): 93-102.
- CELLI G., PORRINI C., 1986.- L'ape come insetto-test dell'inquinamento da pesticidi. Considerazioni su alcuni apicidi catastrofici che si sono verificati nel 1985.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1986: 537-542.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1986.- Rapporti tra apicoltura e ambiente. L'ape come indicatore biologico dei pesticidi (con particolare riferimento alla provincia di Forlì). Nota preventiva.- L'apicoltura in Sardegna, 1986: 69-80.
- CELLI G., 1987.- I polisolfuri, un male minore.- Informatore Agrario, 43 (11): 127-128.
- CELLI G., 1987.- La questione delle fragole cosiddette "biologiche".- Informatore Agrario, 43 (49): 66-68.
- CELLI G., ANGELINI P., 1987.- Contributi all'etologia dell'ape in serra. 2. Ricerca sulla percezione visiva di *Apis mellifera* L. (Hymenoptera Apidae) in rapporto all'interazione tra forma e colore degli zimbelli.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 41: 147-157.
- CELLI G., ANGELINI P., CENSI L., 1987.- Behaviour of bees in greenhouses. 4. Optical illusions and perception in bees, pp. 63-64. In: Ethological perspectives in social and presocial arthropods. Proceedings of the 2nd conference of the Italian society for the study of social and presocial arthropods.- Perugia, 15-16 Maggio 1987.
- CELLI G., NICOLI G., BENUZZI M., 1987.- Biological control in protected crops in northern Italy's Po Valley.- Bulletin SROP, 10 (2): 37-40.
- CELLI G., PORRINI C., 1987.- La presence des apicides et des dechets de pesticides dans les abeilles et dans la ruche, en Italie, pendant trois ans avec egard particulier a 1984, pp. 317-318. In: Apimondia, proceedings 31st international congress d'apiculture, Wasaw, Poland, 19-25 August 1987.
- CELLI G., PORRINI C., 1987.- Amitraz, finalmente dosati i residui. Ecco un'indagine tutta italiana.- Apitalia, 14 (3/4): 5-6.
- CELLI G., PORRINI C., ANGELINI P., 1987.- Chernobyl: Il miele ingiustamente coinvolto.- Apitalia, 18: 12.
- CELLI G., PORRINI C., FREDIANI D., PINZAUTI M., 1987.- Api e piombo in città (nota preventiva), pp. 11-45. In: Atti convegno "Qualità dell'aria indicatori biologici api e piante", Firenze, 19 Marzo 1987.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1987.- L'ape come insetto test dei pesticidi.- Informatore Agrario, 43 (38): 59-63.
- GIORDANI G., CELLI G., ANGELINI P., 1987.- Contributi all'etologia dell'ape in serra. 3. Preferenze figurali in *Apis mellifera* L. (Hymenoptera Apidae) e possibilità di favorire e incentivare, mediante segnali, la sua visita alle colture protette.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 41: 377-386.
- CELLI G., 1988.- Realtà e prospettive della lotta biologica in serra con particolare riferimento al nord Italia.- Informatore Fitopatologico, 38 (11): 22-28.
- CELLI G., ANGELINI P., CENSI L., 1988.- Contributi all'etologia dell'ape in serra. 4. Su di un caso di condizionamento inverso e di ragionamento astratto in *Apis mellifera* L. (Hymenoptera Apidae). (Nota preventiva).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 42: 131-137.
- CELLI G., BENUZZI M., NICOLI G., 1988.- Sviluppo di una strategia integrata sulla fragola in coltura protetta in Emilia Romagna nel quinquennio 1983-87.- Atti Giornate Fitopatologiche, 1988 (2): 213-222.
- CELLI G., PORRINI C., 1988.- Apicidi e residui di pesticidi nelle api e nell'alveare in Italia (1983-1986).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 42: 75-86.
- CELLI G., PORRINI C., 1988.- Morfologia florale e inquinamento da pesticidi del nettare (qualche considerazione teorica) (nota preventiva), pp. 1039-1045. In: Atti XV congresso nazionale italiano di entomologia, L'Aquila, 13-17 Giugno 1988.
- CELLI G., PORRINI C., BALESTRA V., MENOZZI R., 1988.- Monitoraggio di inquinanti atmosferici urbani mediante api, pp. 73-85. In: Atti convegno "Salute e Ambiente", Cagliari, 27-28 Maggio 1988.
- CELLI G., PORRINI C., SILIGARDI G., MAZZALI P., 1988.- Le calibrage de l'instrument abeille par rapport au plomb, pp. 467. In: Proceedings of 18th international congress of entomology, Vancouver, Canada, 3-9 August 1988.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1988.- Il problema degli apicidi in rapporto ai principi attivi responsabili (1983-1986).- Atti Giornate Fitopatologiche, 1988 (2): 257-268.
- MAINI S., BURCHI C., GATTAVECCHIA C., CELLI G., VOEGELE J., 1988.- *Trichogramma maidis* Pint. Voeg. in Northern Italy: augmentative releases against *Ostrinia nubilalis* (Hb.).- Colloques de l'INRA, 43: 515-517.
- BENUZZI M., CELLI G., GALLERANI V., MAINI S., NICOLI G., ORI M., ZANNI G., 1989.- Studio di fattibilità di una biofabbrica di insetti e acari utili, pp. 115-132. In: Atti del convegno "L'analisi ambientale in Italia: una rassegna di casi concreti", Milano. 31 Gennaio 1989.
- CELLI G., ANGELINI P., 1989.- Contributi all'etologia dell'ape in serra. 5. Percezione di segmenti di diversa lunghezza in *Apis mellifera* L. (Hymenoptera Apidae).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 43: 99-104.
- CELLI G., CORNALE R., PORRINI C., RABONI F., 1989.- Progetto ape viva: storia di un recupero ambientale.- Informatore Agrario, 45 (49): 59-62.
- CELLI G., NICOLI G., 1989.- Rivalutati i polisolfuri di calcio e di bario.- Informatore Agrario, 45 (5): 97-98.
- CELLI G., 1989.- Jean-Henri Fabre e l'etologia. Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti, 37.
- CELLI G., PORRINI C., RABONI F., 1989.- Monitoraggio

- con Api della presenza dei Ditiocarbammati nell'ambiente (1983-1986).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 43: 195-205.
- CELLI G., 1990.- Una noticina sull'avvenire della lotta biologica.- Informatore Fitopatologico, 40 (10): 3-5.
- CELLI G., 1990.- Dimenticare Steiner.- Terra e Vita, 31 (25): 48.
- CELLI G., NICOLI G., BENUZZI M., 1990.- Lotta biologica e integrata.- Terra e Vita, 31 (19): 88-90.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1990.- L'ape come insetto-test, pp. 79-87. In: Lotta integrata in provincia di Forlì, Osservatorio agroambientale - Centrale Ortofrutticola di Cesena, Forlì.
- TONELLI D., GATTAVECCHIA E., GHINI S., PORRINI C., CELLI G., MERCURI A. M., 1990.- Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution.- Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 141 (2): 427-436.
- CELLI G., 1991.- Insetti dannosi, insetti utili.- Informatore Fitopatologico, 41 (3): 35-38.
- CELLI G., BENUZZI M., MAINI S., MANZAROLI G., ANTONIACCI L., NICOLI G., 1991.- Biological and integrated pest control in protected crops of northern Italy's Po Valley: overview and outlook.- Bulletin SROP, 14 (5): 2-12.
- CELLI G., PORRINI C., 1991.- I bioindicatori nel monitoraggio dell'inquinamento ambientale.- Biologi italiani, 3: 29-38.
- CELLI G., PORRINI C., 1991.- L'impiego dell'ape nel monitoraggio ambientale degli antiparassitari.- L'Italia Agricola, 1: 43-48.
- CELLI G., PORRINI C., 1991.- L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi.- Le Scienze, 274: 42-54.
- CELLI G., PORRINI C., BALDI M., GHIGLI E., 1991.- Pesticides in Ferrara province: two years monitoring with honey bees (1987-1988).- Ethology, Ecology and Evolution, Special Issue, 1: 111-115.
- FORCIONE P., CASTAGNA L., CELLI G., CHIUSOLI A., ALTOBELLI P., CORAZZA S., BARATOZZI L., AGOSTINI N., 1991.- Per un'agricoltura verde.- Genio Rurale, 54 (7/8): 49-77.
- SABATINI A. G., MARCAZZAN G. L., COLOMBO R., CELLI G., PORRINI C., RADEGHIERI P., BARBATTINI R., GREATTI M., D'AGARO M., 1991.- L'ape è l'insetto test per conoscere l'inquinamento agricolo.- Apitalia, 20: 6-11.
- BALESTRA V., CELLI G., PORRINI C., 1992.- Bees, honey, larvae and pollen in biomonitoring of atmospheric pollution.- Aerobiologia, 8 (1): 122-126.
- GIORDANI G., CELLI G., PORRINI C., 1992.- Honeybee (*Apis mellifera* L.) poisoning by pesticides in Italy and evaluation of pesticide toxicity using the honeybees as a bioindicator, pp. 630-638. In: Proceedings of the first international conference on the Asian honey bees and bee mites (CONNOR L. J., RINDERER T., SYLVESTER H. A., WONGSIRI S., Eds), Bangkok, Thailand, 9-14 February 1992, Wicwas Press Cheshire, Connecticut, USA.
- CELLI G., 1993.- Erosione genetica e povertà alimentare.- Informatore Agrario, 49 (5): 13-14.
- CELLI G., NICOLI G., CORNALE R., 1993.- Polisolfuri sempre validi.- Terra e Vita, 34 (20): 52-53.
- CELLI G., RABONI F., 1993.- La paralizzazione negli Imenotteri Terebranti: il caso di *Diglyphus isaea* (Walker) (Hym. Eulophidae).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 47: 135-140.
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., BROKMEIER K., 1993.- Pericolosità e tossicità dei pesticidi nei confronti delle api.- Informatore Fitopatologico, 43 (12): 29-43.
- CELLI G., BELLINI R., CARRIERI M., 1994.- Survey on *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) infestation in Desenzano del Garda (Brescia province-Italy).- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 48: 211-217.
- CELLI G., MACCAGNANI B., 1994.- Mould control by the harvester ant *Messor structor* (Latr.) (Hymenoptera Formicidae) on stored seeds.- Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna, 48: 195-202.
- CELLI G., PORRINI C., 1994.- L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi.- L'ape nostra amica, 5: 4-15.
- CELLI G., PORRINI C., DONATI L., 1994.- Indagine sulla presenza di metalli pesanti nel territorio della Comunità Montana n. 1 di Bologna tramite l'impiego dell'ape (*Apis mellifera* L.) come indicatore biologico, pp. 27-71. In: Atti del Seminario ENEA e Università di Bologna, "Un laboratorio all'aperto nell'Appennino: studi interdisciplinari nell'area del Brasimone", Camugnano, Bologna, 28 Ottobre 1992.
- CELLI G., PORRINI C., MAINI S., RADEGHIERI P., RABONI F., LAZZARI R., TIRAFERRI S., CAZZOLA A., 1994.- Rilevamento della mortalità naturale delle api e di quella indotta artificialmente da fitofarmaci; mezzi di rilevamento di nuova concezione; valori critici di mortalità delle api in relazione ai principi attivi di più frequente uso, pp. 645-648. In: Atti del convegno "Innovazioni e prospettive nella difesa fitosanitaria", Ferrara, 24-25 Ottobre 1994.
- CELLI G., PORRINI C., TIRAFERRI S., 1994.- Monitoraggio dei pesticidi nel territorio del comune di Venezia tramite l'impiego dell'ape (*Apis mellifera* L.) come indicatore biologico, pp. 835-838. In: Atti XVII congresso nazionale italiano di entomologia, Udine, 13-18 Giugno 1994.
- SABATINI A. G., MARCAZZAN G. L., COLOMBO R., CELLI G., PORRINI C., RADEGHIERI P., BARBATTINI R., GREATTI M., D'AGARO M., 1994.- Rilevamento in campo della mortalità naturale delle api e di quella indotta dall'uso di prodotti fitoiatrici, pp. 85-99. In: Atti del convegno: "L'ape come insetto test dell'inquinamento agricolo", Firenze, 28 Marzo 1992.
- CELLI G., CORNALE R., 1995.- I parassitoidi dei minatori fogliari.- Informatore Fitopatologico, 45 (11): 41-46.
- CELLI G., 1996.- Biotecnologie dell'allevamento di insetti utili, pp. 123-125. In: Atti del convegno 'Le agrobiotecnologie', Facoltà di Agraria, Bologna, Febbraio 29 - Marzo 1, 1996.
- CELLI G., PORRINI C., RADEGHIERI P., SABATINI A. G., MARCAZZAN G. L., COLOMBO R., BARBATTINI R., GREATTI M., D'AGARO M., 1996.- Honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators for the presence of pesticides in the agroecosystem. Field tests.- Insect Social Life, 1: 207-212.
- CELLI G., AMATI S., RADEGHIERI P., PORRINI C., 1996.- Monitoraggio dei pesticidi, e di altri contaminanti ambientali, tramite l'impiego dell'ape come indicatore biologico nella fascia costiera Emiliano-Romagnola, pp. 78-79. In: Atti del 2° congresso nazionale di chimica ambientale "La conoscenza dell'ambiente", Rimini, 18-20 Settembre 1996.
- CELLI G., BORTOLOTTI L., NANNI C., PORRINI C., SBRENNI G., 1996.- Effects of the IGR fenoxycarb on

- eggs and larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). Laboratory test, pp. 15-18. In: New studies in ecotoxicology (HASKELL P.T., MCEWEN P. K., Eds), The Welsh Pest Management in Forum, Cardiff, UK, 14-16 October 1996.
- CELLI G., MAINI S., NICOLI G., 1996.- Cleono: mobilità e modalità di colonizzazione dei campi coltivati.- *Annali CERAS*, Suppl. "Innovazione e sperimentazione", 5 (6): 338-345.
- CELLI G., PORRINI C., RADEGHIERI P., AMATI S., SANTI F., GASPARO D., 1996.- Monitoraggio degli inquinanti ambientali tramite bioindicatori.- *ACER*, 4: 4-6.
- NICOLI G., CELLI G., 1996.- Larval predatory behaviour of *Diglyphus isaea* (Walker) (Hymenoptera: Eulophidae).- p. 671. In: Proceedings 20th international congress of entomology, Firenze, Italy, 25-31 August 1996.
- PORRINI C., COLOMBO V., CELLI G., 1996.- The honey bee (*Apis mellifera* L.) as pesticide bioindicator. Evaluation of the degree of pollution by means of environmental hazard indexes, p. 444. In: Proceedings 20th international congress of entomology, Firenze, Italy, 25-31 August 1996.
- CELLI G., 1998.- Comunicazione e orientamento nelle api.- *Accademia Nazionale dei Lincei*, 395: 127-140.
- BELLINI R., CARRIERI M., BACCHI M., FONTI P., CELLI G., 1998.- Possible utilization of metallic copper to inhibit *Aedes albopictus* (Skuse) larval development.- *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14 (4): 451-456.
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., 1998.- Monitoring of pesticides through the use of honeybees as bioindicators of the Emilia-Romagna coastline (1995-1996).- *Annali di Chimica*, 88 (3-4): 243-252.
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., FONTI P., SISTI E., 1998.- L'ape (*Apis mellifera* L.) come bioindicatore di metalli nell'ambiente, pp. 37-38. In: Atti del IV congresso nazionale di chimica ambientale, Mantova, 17-20 Giugno 1998.
- PORRINI C., CELLI G., STEFANO M. A., SABATINI A. G., 1998.- Impiego del polline marcatore nel monitoraggio dell'inquinamento da pesticidi tramite api, pp. 213. In: Atti XVIII congresso nazionale italiano di entomologia, Maratea, 21-26 Giugno 1998.
- PORRINI C., RADEGHIERI P., ROMAGNOLI F., VERSARI S., 1998.- I pronubi selvatici come indicatori della biocomplexità ambientale, pp. 204. In: Atti XVIII congresso nazionale italiano di entomologia, Maratea, 21-26 Giugno 1998.
- BORTOLOTTI L., NANNI C., PORRINI C., SBRENNI G., CELLI G., 1999.- Effetti di fenoxycarb su larve di *Chrysoperla carnea*.- *Informatore Fitopatologico*, 49 (4): 48-52.
- RADEGHIERI P., BAZZI C., CELLI G., 1999.- Indagine preliminare sull'entomofauna presente in pereti padani colpiti da colpo di fuoco batterico, p. 148. In: Atti del XVIII congresso nazionale italiano di entomologia, Maratea, 21-26 Giugno 1998.
- CELLI G., 2000.- Le biofabbriche e la lotta biologica, pp. 539-549. In: *Manuale di zoologia agraria* (BACCETTI B., BARBAGALLO S., SÜSS L., TREMBLAY E., Eds).- Delfino, Roma.
- CELLI G., 2000.- Et meminisce liceat. IV.- *Bollettino dell'Istituto di Entomologia "Guido Grandi" della Università degli Studi di Bologna*, 54: xi-xii.
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., BROKMEIER K., 2000.- Pericolosità e tossicità dei pesticidi nei confronti delle api, pp. 371-382. In: *Gli ausiliari nell'agricoltura sostenibile* (NICOLI G., RADEGHIERI P., Eds).- Calderini Edagricole, Bologna.
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., MARINI S., MACCAGNANI B., 2000.- Studies on the use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators of metals in the environment.- *Insect Social Life*, 3: 153-159.
- URBANELLI S., BELLINI R., CARRIERI M., SALLI-CANDRO P., CELLI G., 2000.- Population structure of *Aedes albopictus* (Skuse): the mosquito which is colonizing Mediterranean countries.- *Heredity*, 84 (3): 331-337.
- PORRINI C., GHINI S., GIROTTI S., SABATINI A-G., GATTAVECCHIA E., CELLI G., 2002.- Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy, pp. 186-247. In: *Honey bees: estimating the environmental impact of chemicals* (DEVILLERS J., PHAM-DELEGUE M. H., Eds).- Taylor & Francis, London, UK.
- PORRINI C., ROMAGNOLI F., MEDRZYCKI P., CELLI G., MAINI S., 2002.- Il censimento degli insetti pronubi in Emilia-Romagna, 371-377. In: *Il ruolo della ricerca in apicoltura* (SABATINI A. G., BOLCHI SERINI G., FRILLI F., PORRINI C., Eds), Bologna, 14-16 Marzo 2002.
- QUARANTA M., MEDRZYCKI P., PORRINI C., ROMAGNOLI F., CELLI G., MAINI S., LONGO S., MAZZEO G., RICCIARDELLI D'ALBORE G., PALMIERI N., COMBA L., PIATTI C., PINZAUTI M., FELICIOI A., AMBROSELLI S., NARDI E., NICCOLINI L., PIAZZA M. G., INTOPPA F., CARINI A., FLORIS I., SATTA A., MARLETTO F., MANINO A., PATETTA A., COMOLI R., PORPORATO M., ZANDIGIACOMO P., COGOI P., BARRO P., 2002.- Il censimento dei pronubi selvatici in Italia, con particolare riferimento agli Imenotteri Apoidei (nota preliminare), pp. 333-344. In: *Il ruolo della ricerca in apicoltura* (SABATINI A. G., BOLCHI SERINI G., FRILLI F., PORRINI C., Eds), Bologna, 14-16 Marzo 2002.
- CELLI G., MACCAGNANI B., 2003.- Honey bees as bioindicators of environmental pollution.- *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 137-139.
- GHINI S., GIROTTI S., BARONI F., CELLI G., BAZZI C., PORRINI C., CALZOLARI A., MUSIANI M., SABATINI A. G., 2003.- Rilevazione di *Erwinia amylovora* nell'ambiente mediante api.- *Notiziario tecnico CRPV*, 66 (marzo): 69-82.
- PORRINI C., MEDRZYCKI P., BENTIVOGLI L., CELLI G., 2003.- Studies to improve the performance of dead honey bees collection traps for monitoring bee mortality.- *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 199-200.
- PORRINI C., SABATINI A. G., GIROTTI S., FINI F., MONACO L., CELLI G., BORTOLOTTI L., GHINI S., 2003.- The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators.- *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 147-152.
- PORRINI C., SABATINI A. G., GIROTTI S., GHINI S., MEDRZYCKI P., GRILLENZONI F., BORTOLOTTI L., GATTAVECCHIA E., CELLI G., 2003.- Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination.- *Apiacta*, 38: 63-70.
- TESORIERO D., MACCAGNANI B., SANTI F., CELLI G., 2003.- Toxicity of three pesticides on larval instars of *Osmia comuta*: preliminary results.- *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 169-171.
- QUARANTA M., AMBROSELLI S., BARRO P., BELLA S., CARINI A., CELLI G., COGOI P., COMBA L., COMOLI R., FELICIOI A., FLORIS I., INTOPPA F., LONGO S., MAINI S., MANINO A., MAZZEO G.,

- MEDRZYCKI P., NARDI E., NICCOLINI L., PALMIERI N., PATETTA A., PIATTI C., PIAZZA M. G., PINZAUTI M., PORPORATO M., PORRINI C., RICCIADELLE D'ALBORE G., ROMAGNOLI F., RUIU L., SATTA A., ZANDIGIACOMO P., 2004.- Wild bees in agroecosystems and semi-natural landscapes. 1997-2000 collection period in Italy.- *Bulletin of Insectology*, 57 (1): 11-61.
- RADEGHIERI P., SANTI F., MAINI S., CELLI G., 2005.- L'attività predatoria di *Crematogaster scutellaris* Olivier (Hymenoptera Formicidae) nei confronti di *Cameraria ohridella* Deschka et Dimi (Lepidoptera Gracillariidae): una modalità di predazione appresa?, p. 196. In: Atti del XX congresso nazionale italiano di entomologia, Perugia, Assisi, Italy, 13-18 June 2005.
- ACCINELLI G., ACCINELLI S., BAZZOCCHI G., BURGIO, CELLI G., DRAGHETTI S., MACCAGNANI B., MAINI S., PORRINI C., SANDROLINI G., SANTI F., 2007.- Entomologia, ecologia e divulgazione, pp. 110. In: Atti del XXI congresso nazionale italiano di entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007.
- PORRETTA D., CANESTRELLI D., BELLINI R., CELLI G., URBANELLI S., 2007.- Improving insect pest management through population genetic data: a case study of the mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas).- *Journal of Applied Ecology*, 44 (3): 682- 691.
- CELLI G., 1973.- L'omosessualità negli animali.- Longanesi, Milano.
- CELLI G., 1976.- Le tentazioni del professor Faust.- Feltrinelli, Milano.
- CELLI G., 1979.- Appunti di lotta biologica.- Esculapio, Bologna.
- CELLI G., 1982.- La scienza del comico.- Calderini, Bologna.
- CELLI G., 1983.- Etologia da camera, Rizzoli, Milano.
- NICOLI G., CORNALE R., CORAZZA L., BENUZZI M., PASQUALINI E., CELLI G., 1985.- Lotta biologica in serra: realtà e prospettive.- Regione Emilia Romagna, Bologna.
- CELLI G., 1985.- Ecologi e scimmie di Dio.- Feltrinelli, Milano.
- CELLI G., MAINI S., 1988.- Lotta biologica integrata in agricoltura.- CESTAAT, Roma.
- CELLI G., 1989.- Le farfalle di Giano.- Feltrinelli, Milano.
- CELLI G., 1989.- Quattro zampe... più due.- Muzzio Ed., Padova.
- CELLI G. (Editor), 1990.- Ecosistemi, Le scienze quaderni Volume 53.- Le Scienze, Milano.
- CELLI G., 1990.- Bestiario postmoderno.- Editori Riuniti, Roma.
- CELLI G., MAINI S., NICOLI G., 1991.- La fabbrica degli insetti.- Franco Muzzio Ed., Padova.
- CELLI G., 1991.- Bugie, fossili e farfalle.- Il mulino, Bologna.
- CELLI G., 1992.- Etologia della vita quotidiana.- R. Cortina, Milano.
- CELLI G., 1994.- Oltre Babele: scienza e arte a confronto.- Marsilio, Venezia.
- CELLI G., 1996.- La scienza e i fantasmi: chi ha ucciso Umberto Eco?.- Aspasia, San Giovanni in Persiceto, (Bologna).
- CELLI G., 1999.- Konrad Lorenz: scienziato e guru della natura, Le scienze, Milano.
- CELLI G., 1999.- Bestiario postmoderno e altri scritti.- Franco Muzzio Ed., Padova.
- CELLI G., 1999.- L'alfabeto dell'ecologia, Mondadori, Milano.
- CELLI G., 2000.- Come fu ucciso Umberto Eco: e altri piccolissimi omicidi.- Piemme, Casale Monferrato.
- CELLI G., MARMIROLI N., VERGA I., 2000.- I semi della discordia: biotecnologie, agricoltura e ambiente.- Edizioni ambiente, Milano.
- CELLI G., 2001.- Konrad Lorenz: l'etologo e i suoi fantasmi.- Mondadori, Milano.
- CELLI G., 2006 - Percorsi - tutte le poesie - Editoriale Sometti, Mantova.
- CELLI G., 2007 - La zattera di Vesalio e altri drammi.- Tre Lune, Mantova.
- CELLI G., 2008.- La mente dell'ape.- Compositori, Bologna.
- CELLI G., 2010.- Le piante non sono angeli.- Baldini Castoldi Dalai, Milano.
- CELLI G., 2010.- Il prato di Proust: un mondo ritrovato alle porte di casa nostra.- Eugea, Bologna.
- CELLI G., 2011.- Darwin e i suoi amici.- Dalai, Milano.
- CELLI G., 2011.- Il gatto del rettore: delitto all'università.- Morganti, Treviso.

SELEZIONE DI SAGGI E LIBRI DI GIORGIO CELLI

THE ROLE OF URBAN ENTOMOLOGY TO ENSURE FOOD SAFETY AND SECURITY

VACLAV STEJSKAL(*)

(*) *Crop Research Institute, Department of Stored-product pests control, Drnovska 507, 161 06 Prague 6, Czech Republic, stejskal@vurv.cz*
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 febbraio 2011

The role of urban entomology to ensure food safety and security

The presentation covers the recent advances achieved mainly in the fields of risk evaluation and monitoring of urban insect and mite pests. The paper discusses the following topics in detail: (i) Mites cause serious risk for occupational allergy in grain stores; (ii) Cockroach allergens Bla g 1 and Bla g 2 are stable enough to persist in households for more than one year; (iii) Identification of immature stages is under-studied: comprehensive identification keys for pest egg stages are still not available; (iv) The importance of correct and unified methods for interpretation of filth detection and population sampling and monitoring of stored product pests in Europe. This invited paper was funded by Accademia Nazionale Italiana di Entomologia and co-funded by the project MZe CR, VZ - 0002700604.

KEY WORDS: urban entomology, insect and mite pest, food security, allergy in cereal stores.

INTRODUCTION

Urban entomology definitions

Entomology concentrates its main focus on the study of insects. This branch of science is diverse and includes many entomological sub-disciplines. Urban entomology and stored product entomology belong among the most important entomology sub-disciplines due to their beneficial impacts on human society. There are no universally accepted sets of definitions concerning entomological disciplines and sub-disciplines. Surprisingly the most comprehensive book and textbook on urban insects and arachnids (A handbook of urban entomology; ROBINSON, 2005) by prof. W.H. Robinson does not provide any definition of urban entomology as a scientific discipline.

In general textbooks and dictionaries, "Urban entomology" is usually defined as a scientific discipline that deals with insects that come into close contact with humans and affect immediate surroundings of daily life. Some authors even classify "Urban Entomology" as a sub-discipline of forensic entomology. For example, the forensic entomology web pages (e.g. <http://www.forensicentomology.com/definition.htm>) equipped the readers with the following classification and interpretation: "The broad field of forensic entomology is commonly broken down into three general areas: medico legal, urban, and stored product pests. The urban aspect deals with the

insects that affect man and his immediate environment. Urban pests are of great economic importance and the forensic entomologist may become involved in civil proceedings over monetary damages. Stored product insects are commonly found in foodstuffs and the forensic entomologist may serve as an expert witness during both criminal and civil proceedings involving food contamination". The definition variation shows that stored product and urban entomology are quickly evolving disciplines that interact with other fields of science.

STORED PRODUCT PROTECTION AND URBAN ENTOMOLOGY IN ITALY

There is a long tradition of stored product and urban entomology in Italy. Courses on urban and stored product entomology have been available for students at several universities across the Italy. The Italian stored product and urban entomology is internationally recognized for making significant contribution in many areas, including pest monitoring, mating disruption, pest-proof packaging materials and pest chemical and physical control (FRILLI, 1965 DOMENICHINI, 1980, 1982, PAGANI, 1982). Considering the importance of Italy as a producer and exporter, pests of alimentary paste has been the subject of much research (TREMATERA, & SÜSS 2009). Part of that long-

term tradition represents an excellent organization of various conferences and symposia concerning urban entomology and food protections and safety.

The symposia and workshops have always attracted many scientists and food industry representatives from Italy and abroad. The most famous event has probably become the series of conferences “La Difesa Antiparassitaria Nelle Industrie Alimentari Ela Protezione Degli Alimenti”. These conferences are connected with the names of many internationally recognised Italian urban and stored product entomologists and acarologists; e.g., Prof. Domenichini, Prof. Pagani, Prof. Frilli, Prof. Sussto name just a few.

In early 90^{ties} of the last century, Italian urban and stored product scientists have also become founding members of the international IOBC Stored Product Entomology group. Until today, this small group has gradually increased manifolds. Nowadays IOBC conferences are regularly attended by stored product and urban entomology scientists from more than 50 countries. The IOBC/WPRS Working Group on Integrated Protection of Stored Products (<http://www.iobc-wprs.org/>) meets every two years to discuss new findings regarding the following topics: biology of stored product pests, methods of pest prevention during storage, transportation and handling pheromones, traps and other methods to detect stored product pests, all aspects of biological control, prevention of microflora infection and development of mycotoxins, physical, chemical and other techniques for stored product pest control, futurology: overviews and future trends on all aspects of storage pest control. wood-boring, urban, quarantine and museum pests .

Prof. Pasquale Trematerra was the main local organizer for the Conference of the IOBC/WPRS (OILB/SROP) Working Group on “Integrated Protection of Stored Products” (29 June-2 July 2009) hosted by University of Molise Campobasso, Italy. The objective of the conference was to discuss new research developments in integrated protection of stored products , particularly the non-toxic control methods. Communications were focused on maximising the dissemination of new control technologies able to reduce the use of residual pesticides and on minimising risks to non-target organisms and environment contamination.

This well attended conference and meeting (organized by Accademia Nazionale Italiana di Entomologia in Florence in 2011) is a further proof that the Italian urban and stored product entomology has not only good tradition and historical roots but also strong presence and bright future.

URBAN AND STORED PRODUCT ENTOMOLOGY IN THE CZECH REPUBLIC

This paper reviews some of the results that have been achieved by scientists at Crop Research Institute (CRI) Prague. The department of stored-product pests control (CRI) has a long tradition. It was established over 60 years ago and is the only department in the Czech Republic dealing with post harvest protection of agricultural commodities. Its area of competence extends to all places where materials of animal and plant origin are stored, such as warehouses of the Ministry of Agriculture, as well as food processing factories and private households. The current research of department is aimed at integrated pest management and food safety. The study of department responses an interdisciplinary research (entomology, rodentology, food science, medicine, physiology) with the topics as follows: (i) Faunistics, pest as vectors; (ii) pest morphology and physiology; (iii) pest life history; (iv) biological control and anti-feedants (GMO); (v) monitoring; (vi) physical and chemical control; (vii) pests as allergen producer in stored food commodities.

INSECTS MITES AND FOOD SECURITY AND FOOD SAFETY

When men began to store food, it was attacked by a vast array of insects, mites and rodents which before had been of no significance in human environment. In spite of the advanced motoring and control systems possessed by a modern society, urban and store product insets a mites are still real problem around a world. In the tremendous food-storage organization of today, insects destroy thousands of tons of food annually. While “food security” is the main issue for developing countries, the developed countries are more concerned by problems associated with “food safety”. “Food safety” has recently transformed into scientific discipline describing handling, preparation, and storage of food in ways that prevent foodborne illness and food contamination. This includes a number of routines that should be followed to avoid potentially severe health hazards. Arthropods have been recognized as potential significant health hazards because of their allergenic (mites, psocids, cockroaches, mice) or mutagenic (e.g. *Tribolium* spp.) effects. As a consequence, stored product and urban pest tolerance is very low and their economic thresholds are approaching zero level (STEJSKAL, 2002).

Stored product pest may be source of indirect

contamination of stored commodities, by pesticide residues (> MRLs) of chemical treatment by protectants. Direct contamination includes physical, microbial and chemical (toxins, carcinogens and allergens) arthropod contaminants. Parts of arthropod bodies, exuviae and feces are physical contaminants whose safe levels are regulated by Defect Action Levels (DALs) in USA. For example, the alarming extent of contamination of Italian flour by fragments of insects and mites has been recently demonstrated by team of prof. Trematerra (TREMATERRA *et al.*, 2011). All stored product inhabiting arthropods (cca 500 species), pest, non-injurious fungivores and beneficials parasites and predators of pests all can become source of physical contamination. The most frequently reported cause of physical contamination are internally feeding insects (*Rhizopertha* sp., *Sitophilus* sp.). Many species host and transfer toxinogenic fungi or microbial human/animal pathogens. Mites produce chemicals responsible for bad smell of grain while *Tribolium* spp. are the only storage pests producing carcinogens. Evidence is growing that exposure of alimentary products to arthropods causes of allergenic sensitization. Some species of Acarina, Blattodea, Coleoptera, Lepidoptera and Psocoptera may cause allergic reactions in humans exposed to remnants of their bodies. No critical levels are available for contamination of food agro-commodities by allergens of arthropods.

Virtually arthropod and vertebrate pests occur at every point along the chain of food production. Since pests represent profound economic and medical risk, their presence must be monitored (e.g. DOMENICHINI & ALDINI 1995; TREMATERRA, 1997) and pest populations systematically controlled; either chemical or non- chemical way (SÜSS & SAVOLDELLI, 2009). However, the currently used pesticides and biocides have been under strong legislative pressure in European Union. Many groups of extremely active chemicals have been deregistered or resistance has evolved (e.g. methyl bromide / SAVIGLIANO *et al.*, 2006/, organophosphate insecticides, first generation of rodenticides). Many of the remaining insecticides and rodenticides will not survive the upcoming decade, leaving a significant gap.

With the restriction of traditional tools, there is an urgent need for new research (SÜSS & LOCATELLI, 1996; SÜSS & TREMATERRA, 2003) concerning integrated pests management (TREMATERRA & SÜSS, 2009), pest risk assessment, identification, detection, monitoring (TREMATERRA & SCIARRETTA, 2004) and control of urban and stored-product pests.

This presentation will provide overview of the current research achievements in the field of identification, monitoring, pest allergenic-risk assessment and control of stored product and food industry pests in the Czech Republic in collaboration with various European and Non-European institutions and universities.

RISK EVALUATION, IDENTIFICATION AND MONITORING OF SELECTED URBAN AND STORED PRODUCT PESTS

Mites cause serious risk for occupational allergy in grain stores

RESULTS - We estimated risk of occupational allergy to stored grain arthropods and false pest-risk perception in Czech grain stores (STEJSKAL & HUBERT, 2008). Arthropods are a documented cause of occupational allergy in cereal stores. Since the current allergenic risk of various arthropods in grain stores is not known, we evaluated its extent using data from the Czech Republic (CZ). We surveyed 514 grain storage units for pest composition and density. Farmers were questioned for pest taxon-related pesticide treatments. Mites constituted the largest group of collected pests (92%) followed by psocids (5%), beetles (3%) and moths (0%). 60% of mites belonged to known allergen producing species; the most abundant were *Acarus siro*, *A. farris*, *Tyrophagus putrescentiae* and *Lepidoglyphus destructor*. Grain samples belonged to the established ARL classes as follows: (i) safe-ARL: 37% (ii) low-ARL: 53%; (iii) high-ARL: 6%; (iv) danger-acute asthma-ARL: 4%. The enquiry among farmers revealed that almost no pesticides were targeted solely to control mites.

CONCLUSION - This study suggests that mites represent, due to their allergenic potential, density and frequency, the most serious source of allergens in stored grain in CZ. However, the medical aspect of pest control – such as allergy avoidance strategy – is overlooked since grain feeding insects were mostly chemically controlled, regardless of their relatively low density and allergen production in comparison with mites.

Cockroach allergens Bla g 1 and Bla g 2 are stable enough to persist in households for more than one year

RESULTS - Cockroaches occur not only in public housing but occupy most the food industry premises (STEJSKAL & VERNER, 1996), where

potentially endanger food safety. Feces of German cockroaches (*Blattella germanica* L.) are medical and food safety hazards since they contain microbial pathogens and allergenic proteins including Bla g1 and Bla g2. Cockroach allergies were documented as serious problems in apartment houses and hospitals. In this work we explored for how long may allergens remain (i) in flats after cockroach extermination and (ii) in laboratory under simulated temperature conditions (i.e. 15, 20, 25, 30 and 35°C). We found that allergens Bla g1 and Bla g2 were very stable over time both in flats and in laboratory after exposure of various temperatures. In households allergen Bla g2 remained unchanged while the content of allergen Bla g1 decreased by cca 30% in the period of 9 months. Allergenic symptoms may therefore still remain even after successful cockroach extermination from the infested apartment.

CONCLUSION The results indicate that, Bla g1 and Bla g2 allergens can persist in feces for several months under usual household humidity and temperature. In sensitive person, allergenic symptoms may therefore still remain even after successful cockroach extermination from the infested apartment. This highlights the importance of regular cockroach monitoring coupled with implementation of preventive control measures. In case of active infestation not only pest control but also deep cleaning and sanitation along with chemical decontamination of allergens should be executed.

Identification of immature stages is under-studied: comprehensive identification keys for pest egg stages are still not available

RESULTS - Usually identification features are known for adults. External egg morphology of stored-product pests based on optical and scanning electron microscope (SEM) micrographs is studied in our department. We examined eggs of the following storage pests groups: mites (Acarina), psocids (Psocoptera) and storage beetles (Coleoptera: Anobiidae, Bostrichidae, Silvanidae, Laemophlebitidae). Diagnostic characteristics were described and identification keys were constructed and published (KUCEROVA & STEJSKAL, 2002, 2008; 2009; 2010).

CONCLUSION - Identification of immature stages is strongly under-studied. Although several keys have been published, eggs of many species still remain un-described due to lack of proper funding. As a consequence, comprehensive identification keys for pest egg stages is not available

The importance of correct and unified methods for interpretation of filth detection and population sampling and monitoring of stored product pests in Europe

RESULTS - We showed that the sampling tools and methods as well as and laboratory extraction methods affect interpretation of grain infestation by storage pests (KUDLIKOVÁ-KRIZKOVÁ, *et al.*, 2007, STEJSKAL *et al.*, 2008, LUKAS *et al.*, 2009, HUBERT *et al.*, 2009, TREMATERRA *et al.*, 2011). European Union countries undergo the process of unifying laws. This is also true for protocols designated for monitoring and evaluation of pests and pesticide risks. This study was aimed at exploring whether different methods of sampling and extracting pests would lead to different pest population estimation. We compared two methods of sampling (surface sampling with cup-sampler vs. subsurface sampling with spear-sampler) and two methods of pests' extraction from samples (automated sieving vs. Tullgren apparatus) taken from a highly pest infested flat grain store. Overall eight species of mites, seven species of beetles and two species of psocids were identified. The pest population density ranged between 0-12 individuals per sample (200 g) in psocids, 0-14 in beetles and 2-25060 in mites. Surface sampling with cup-sampler was significantly more effective than sampling using subsurface spear-sampler.

CONCLUSION - Various European countries and producers are using different methods for pest sampling and pest extraction from samples. However, this study revealed profound variation in pest population density and spatial distribution when estimated by different sampling methods from the identical place (store). This indicates necessity for creation of common European protocol for sampling and detection of storage pests.

ACKNOWLEDGMENT

Author wish to thank members of Accademia Nazionale Italiana di Entomologia for their invitation. Special thanks is expressed to Prof. Luciano Suss and Prof. Pasquale Trematerra for kind arrangement of my visit of the meeting and workshop of the Accademia Nazionale Italiana di Entomologia in Florence 2011. This contribution was co-funded by the project MZe CR, VZ - 0002700604.

REFERENCES

DOMENICHINI G., 1980 – *Le infestazioni entomologiche degli alimenti presso i punti di vendita*. - Giornate Scientifiche Internazionali di Stresa, «Il Controllo Qualità degli

- alimenti dalla ricerca al consumo», Stresa 12-14 giugno 1980: 236-246.
- DOMENICHINI G., 1982 – *Nuovi metodi e mezzi per la difesa antiparassitaria: prospettive e limiti*. - Atti Tavola Rotonda «Difesa antiparassitaria e nuove prospettive», Milano 6 aprile 1982. Istituto Scotti Bassani per la Ricerca Scientifica e l'Informazione Nutrizionale, schede informative n. 4/82: 20-28.
- DOMENICHINI G., ALDINI N.R., 1995 – Use of dermestid pheromones for survey and control purposes. - *Notiziario sulla Protezione delle Piante*, n.s., 4: 46-52.
- ERBAN T., STEJSKAL V., AULICKY R., KRIZKOVA-KUDLIKOVA, I. NESVORNA M., HUBERT J., 2010 – *Comparison of temporal rate of decay of cockroach allergens Bla g 1 and Bla g 2 in laboratory and household conditions*. - *J. Med. Entomol.* 47: 1062- 1070.
- FRILLI F., 1965 – *Le paste infestate. Indagine sulla frequenza degli insetti dannosi e dei loro parassiti*. - *Molini d'Italia XXI*, 247- 257.
- HUBERT J., NESVORNA M., STEJSKAL V., 2009 – *The efficacy of sieving, filth flotation and Tullgren heat extraction for detecting various developmental stages of Tribolium castaneum and Ephestia kuehniella in samples of wheat grain, flour and semolina*. - *Journal of Stored Products Research*. 45: 279-288.
- KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2002 – *Comparative egg morphology of silvanid and laemophloeid beetles (Coleoptera) occurring in stored products*. - *Journal of Stored Products Research*. 38: 219-227.
- KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2009 – *Morphological diagnostic of the eggs of stored-products mites*. - *Experimental and Applied Acarology*. 49: 173-183
- KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2008 – *Differences in egg morphology of the stored-grain pests Rhyzopertha dominica and Prostephanus truncatus (Coleoptera: Bostrichidae)*. - *Journal of Stored Products Research*. 44: 103-105
- KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2010 – *External egg morphology of two stored-product Anobiids, Stegobium paniceum and Lasioderma serricorne (Coleoptera: Anobiidae)*. - *Journal of Stored Products Research*. 46: 202-205
- KUDLIKOVA-KRIZKOVA I., STEJSKAL V., HUBERT J., – 2007 – *The comparison of detection methods for Acarus siro contamination in grain*. - *J. Econom. Entomol.* 100: 1928-37
- LUKAS J., KUCEROVA Z., STEJSKAL V., 2009 – *Computer-based image analysis to quantify number of microarthropods in samples*. - *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 132: 289-294.
- PAGANI M., 1982 – *Vulnerabilità agli insetti di alcune confezioni per alimenti. Ricerche preliminary*. - *Atti III. Piacenza pp.* 309-317.
- ROBINSON W.H., 2005 – *Urban insects and arachnids - A handbook of urban entomology*. Cambridge University Press, Cambridge, 472 pp.
- SAVIGLIANO R., MINUTO A., CAMPONOGARA A., SAVOLDELLI S., SÜSS L., GULLINO M.L., 2006 – *Bromuro di metile: eliminazione senza rimpianti*. - *Informatore fitopatologico* 3: 31-35.
- STEJSKAL V., VERNER P.H., 1996 – *Long-term changes of cockroach infestations in Czech and Slovak food-processing plants*. - *Medical and Veterinary Entomology*, 10: 103-104.
- STEJSKAL V., AULICKY R., KUCEROVA Z., LUKAS J. 2008 – *Method of sampling and laboratory extraction affects interpretation of grain infestation by storage pests*. - *Journal of Plant Diseases and Protection*, 115: 129-133.
- STEJSKAL V., 2002 – *Inversion relationship between action threshold and economic/aesthetic injury level for the control of urban and quarantine pests*. - *Journal of Pest Science*, 75(6): 145-168.
- STEJSKAL V., AULICKY R., PEKAR S., 2009 – *Brief exposure of Blattella germanica (Blattodea) to insecticides formulated in various microcapsule sizes and applied on porous and non-porous surfaces*. - *Pest Management Science*, 65: 93-98.
- STEJSKAL V., HUBERT J.: 2008 – *Risk of occupational allergy to stored grain arthropods and false pest-risk perception in Czech grain stores*. - *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 15: 29-35.
- Süss L., Locatelli D.P., 1996 – *New trends in pest control in an Italian "pasta" factory*. - *Proceedings International Forum, Stored product protection and post-harvest treatment of plant products*. Council of Europe, Strasbourg, 171-177.
- SÜSS L., TREMATERRA P., 2003 – *Tecniche innovative per la disinfezione di derrate e industrie alimentari*. - *Informatore fitopatologico* 10, 44-50.
- SÜSS L., SAVOLDELLI S., 2009 – *Mass trapping and mating disruption to control Cadra cautella (Walker) in a confectionary factory*. - *Proceeding of the Working Group "Integrated Protection of Stored Products"*, International Organisation for Biological and Integrated Control of Noxious animals and Plants/West Palaearctic Region Section, 29 June- 2 July, 2009, Molise, Campobasso, Italy. (In press).
- TREMATERRA P., 1997 – *Integrated Pest Management of stored-product insects: practical utilization of pheromones*. - *Anzeiger für Schädlingskunde*. 70 (3): 41-44
- TREMATERRA P., STEJSKAL V., HUBERT J., 2011 – *The monitoring of semolina contamination by insect fragments using the light filth method in an Italian mill*. - *Food Control*, 22 (7): 1021-1026
- TREMATERRA P., L. SÜSS L., 2009 – *Integrated Pest Management in Italian pasta factories*. - *Proceeding of the Working Group "Integrated Protection of Stored Products"*, International Organisation for Biological and Integrated Control of Noxious animals and Plants/West Palaearctic Region Section, 29 June- 2 July, 2009, Molise, Campobasso, Italy. (In press).
- TREMATERRA P., SCIARRETTA A., 2004 – *Spatial distribution of some beetles infesting a feed mill with spatio-temporal dynamics of Oryzaephilus surinamensis, Tribolium castaneum and T. confusum*. - *Journal of Stored Products Research*, 40: 363-377.

SVILUPPO DELLE CONOSCENZE IN ITALIA SUGLI ORGANISMI INFESTANTI IN POST-RACCOLTA: PASSATO, PRESENTE, FUTURO

PIERO CRAVEDI (*) - LUCIANO SÜSS (**)

(*) Istituto di Entomologia e Patologia vegetale - Facoltà di Agraria - Università Cattolica del Sacro Cuore - Piacenza;

piero.cravedi@unicatt.it

(**) Dipartimento di Protezione dei Sistemi agroalimentare e urbano e Valorizzazione delle Biodiversità (DiPSA) - Università degli Studi di Milano; luciano.suss@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 febbraio 2011

Evolution in Italy of knowledge regarding stored product pests: past, present and future

In this paper a brief review of the historical aspects of the foodstuff protection against insect pests has been undertaken.

Stored product entomology, as a scientific discipline, was established a little later than some other specializations of applied entomology.

Early important studies about the biology of insect pests of stored products were carried out by Giuseppe Salvatore Candura who began his research in Portici, near Naples, under the direction of Filippo Silvestri. A first paper on *Sitotroga cerealella* was published in 1926. Later Candura published many other studies on the time of development of several species and also many other data about life cycles. Nowadays these papers are important reference points.

After the second world war, many contributions were made by Gino Dal Monte who, between 1950 and 1990, published many scientific and divulgative papers. Particular attention to stored product entomology was carried out at the University of Milan by prof. Minos Martelli and prof. Giorgio Domenichini.

In Milan the teaching of this new discipline was also initiated when, during the Academic Year 1973/74, the course of "Animal parasitology and foodstuff protection" was introduced. In the following years several courses with similar content were begun in many other Universities.

Reference is also made to the work of prof. Giorgio Domenichini, who intensified his studies when he was transferred to Piacenza.

The review also summarises the activities of Italian entomologists in several international working groups and the most important works published in Italy in the field of stored product entomology.

In conclusion, the principal research activities carried out in Italian Universities and future prospects are considered.

KEY WORDS: pests, stored products, history, development, research, teaching, Italy.

I TEMPI ANTICHI

Gli insetti dannosi alle derrate erano ben conosciuti fin dai tempi antichi, tanto che i Greci definivano "parásitos" chi era sempre presso (pará) le granaglie o il cibo degli altri (sítos) (TREMBLAY, 2003). Ovviamente, infatti, già nell'antichità i granai offrivano cibo abbondante per insetti e roditori; conseguentemente, numerose specie, viventi dapprima in pieno campo, si trasferirono come "parassiti" nei magazzini, insediandovisi in pianta stabile. Residui di insetti pressoché fossilizzati si sono rinvenuti nelle "fosse granarie" utilizzate sin dal neolitico (4590-3530 a.C.) nel Foggiano.

Varrone (116-27 a.C.) evidenziò quanto fosse importante una buona essiccazione dei cereali prima dell'immagazzinamento; in tal modo, i cosiddetti "punteruoli" sarebbero fuggiti dal frumento riscaldato dal sole, venendo catturati in recipienti pieni d'acqua: probabilmente si tratta del primo esempio

di mass-trapping nei riguardi di insetti delle derrate. Sempre Varrone e, successivamente, Columella (I sec. d.C.) prescrivevano di edificare magazzini per cereali aperti ai venti di Est e Nord, elevati dal terreno per ostacolare l'arrampicamento da parte dei topi, da installare in ambienti asciutti. Suggerivano, in alternativa, di immagazzinare le cariossidi in apposite buche sotterranee, creando situazioni di ermeticità tali da uccidere, grazie all'anidride carbonica naturalmente prodotta dai semi, eventuali infestanti presenti. Fin da quei tempi, inoltre, l'essiccazione, spesso abbinata all'affumicatura e salatura, venne utilizzata per conservare carne e pesce.

Varrone riferisce poi che i legumi devono essere conservati in recipienti ben chiusi e tappati con uno strato di cera, dopo essere stati trattati in superficie con olio di oliva.

Anche la morchia, residuo acquoso della spremitura delle olive, era indicata da Catone (234-149 a.C.), e successivamente da Varrone (116-27 a.C.),

da Plinio Secondo (23-79 d.C.) e Palladio (IV sec. d.C.), come sostanza in grado di impedire gli attacchi parassitari, tanto più se l'efficacia repellente veniva esaltata "attivando" la morchia stessa con foglie smiuzzate di assenzio (LEVINSON & LEVINSON, 1997). Tale intruglio doveva avere una buona efficacia, tanto è vero che fino al IV secolo d.C. la pratica veniva applicata.

Poco o nulla di originale avrebbero aggiunto gli autori medioevali, come Alberto Magno, o del Rinascimento, come Ulisse Aldrovandi. Epoche più che altro votate, anche sul piano scientifico, a recuperare e tramandare la sapienza degli antichi.

I PRIMI CONTRIBUTI DELLA SCIENZA E LA NASCITA DELL'ENTOMOLOGIA APPLICATA

Solo con la scoperta del microscopio lo studio degli insetti prese vigore. Siamo all'inizio del '600 e Galileo per primo osservò alcuni insetti con tale prodigioso strumento introducendone l'uso nella ricerca scientifica. Da allora lo studio degli insetti ha apportato contributi rilevanti allo sviluppo delle scienze biologiche. Basti ricordare Francesco Stelluti, Francesco Redi, Marcello Malpighi e poi Antonio Vallisneri, Lazzaro Spallanzani ed infine Giovan Battista Grassi.

Anche l'Entomologia agraria è iniziata, come vera e propria disciplina, solamente verso la metà dell'800. Autorevole testimonianza di questo fatto si trova nel primo volume dell'opera di Antonio Berlese "Gli Insetti", del 1909 (BERLESE, 1909). In tale volume Berlese, nel capitolo dedicato alla storia dell'Entomologia, cita Achille Costa, noto in particolare per un pionieristico studio che tratta anche gli insetti fitofagi delle derrate, e riconosce ad Adolfo Targioni Tozzetti il merito di aver fondato l'Entomologia agraria in Italia. Non vi si trovano però particolari riferimenti a ricercatori impegnati nel campo dell'Entomologia merceologica.

IL PRIMO NOVECENTO

Nel nostro Paese solo dai primi anni del secolo scorso vari studiosi hanno iniziato ad occuparsi di Entomologia merceologica. Una spiegazione di questi ritardi si può individuare nei cambiamenti che hanno caratterizzato l'agricoltura e la società dall'Unità d'Italia in poi. Da un'agricoltura che produceva prevalentemente per il consumo in azienda o per mercati locali si è passati all'attuale situazione globalizzata. Dagli anni '50 del XX secolo fenomeni come l'urbanizzazione, la modernizzazione dei sistemi produttivi in agricoltura e le modificate abitudini della

popolazione hanno richiesto un diverso atteggiamento nei confronti degli alimenti. Grazie alla genetica, alla meccanizzazione e all'uso dei fertilizzanti chimici la produttività delle coltivazioni aumenta in modo prodigioso. I sistemi di coltivazione e di conservazione post-raccolta vengono rivoluzionati.

Soddisfatte le esigenze quantitative, nei Paesi economicamente sviluppati sono emerse esigenze di qualità degli alimenti e la richiesta di cibi trasformati dall'industria. Esiste un'evidente contraddizione nel comportamento dei consumatori che si esprimono in gran parte a favore di tutto quanto è fresco, naturale, "biologico", "di stagione", ma che per una molteplicità di cause acquistano sempre meno materie prime da cucinare, preferendo prodotti già più o meno pronti per il consumo (ortaggi della IV gamma, surgelati, piatti pronti e altro).

Nell'ultimo secolo è emersa quindi l'esigenza che non basta produrre, ma che occorre conservare e trasformare i prodotti dell'agricoltura. La conservazione degli alimenti assume attualmente dimensioni industriali.

Agli inizi del '900 erano però prevalentemente i cereali che venivano conservati, in gran parte nei granai delle aziende agricole.

Nel 1917 Berlese dedicava un capitolo del volume "Insetti delle Case e dell'Uomo e malattie che diffondono" agli infestanti delle derrate nelle abitazioni, senza fornire però particolari indicazioni di difesa (BERLESE, 1917). Si deve quindi considerare Giuseppe Salvatore Candura (1899-1974) come capostipite dell'Entomologia merceologica, con particolare riferimento allo studio della biologia di insetti infestanti le derrate e ai mezzi di lotta.

Il Candura, a Portici, sotto la guida di Filippo Silvestri, pubblicò nel 1926 uno studio su *Sitotroga cerealella* (CANDURA, 1926). Di grande interesse, in questo primo contributo e nei numerosi lavori che Candura produsse in seguito, sono i dati sull'importanza delle diverse specie, la consistenza dei danni procurati e i mezzi utilizzati per combatterle.

Poiché la granella veniva reimpiegata in azienda come semente, era molto temuto l'effetto delle infestazioni sulla germinabilità. In quei tempi gli attacchi parassitari potevano raggiungere livelli molto alti e la preoccupazione riguardava prioritariamente le perdite di prodotto, mentre minore importanza era attribuita al deterioramento qualitativo. Alcuni suoi studi riguardano inoltre le gallette militari, farine di varia origine e la pasta alimentare (CANDURA, 1932; 1938).

Le ricerche, condotte con rigore, forniscono informazioni sui tempi di sviluppo delle diverse specie e su molti particolari del ciclo biologico, risultando ancora oggi importanti riferimenti.

Con il passaggio di Candura all'Osservatorio Fitopatologico di Bolzano, alla fine degli anni '30, diminuiscono le pubblicazioni di entomologia merceologica, a favore di quelle di entomologia agraria. Di rilievo è il volume "Gli insetti delle derrate come materiale per ricerche biologiche" pubblicato nel 1954 nei Symposia Genetica del Centro di Genetica del Consiglio Nazionale delle Ricerche presso l'Università di Pavia (CANDURA, 1954). È interessante ricordare come egli già nel 1939 affermasse che "l'Entomologia merceologica sarà una Scienza che in un prossimo domani diverrà materia di insegnamento nelle Università, specialmente nelle Facoltà di Economia e Commercio, di Agraria e di Scienze naturali" (CANDURA, 1939).

Gli ultimi anni '40 del secolo scorso segnano l'intensificarsi di fenomeni di trasformazione sociale e lo sviluppo dell'industria alimentare a cui già si è fatto cenno.

LA SECONDA METÀ DEL NOVECENTO - IL GABINETTO ANALISI ENTOMOLOGICHE DEL MINISTERO DELL'AGRICOLTURA E DELLE FORESTE

Nel secondo dopoguerra veramente intenso è stato, nel settore, il contributo di Gino Dal Monte che, tra il 1950 ed il 1990, diede alle stampe ben 170 pubblicazioni, in parte di elevato valore scientifico, in parte prettamente divulgative. Dal Monte era Direttore del Gabinetto Analisi Entomologiche del Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste; per lo più i suoi studi vennero dedicati alle infestazioni dei cereali e della pasta alimentare.

È del 1954 la sua segnalazione sulla presenza in Italia di *Trogoderma granarium* e *T. inclusum* sulle cariossidi di frumento (DAL MONTE, 1954). È del 1957 il primo studio relativo all'utilizzo di raggi X per l'esame dei cereali in granella, onde individuare eventuali insetti annidati (DAL MONTE, 1957).

Occupandosi del problema relativo alle frequenti infestazioni della pasta alimentare, dimostrò, con meticolosi lavori, l'impossibilità che gli attacchi avessero inizio nelle fasi di impasto, trafila ed essiccazione della pasta stessa. Per tale scopo mise a punto un metodo, rapido e molto pratico, per disporre di uova "libere", dei *Sitophilus* vive e vitali (DAL MONTE, 1964). Tale tecnica è ancor oggi di piena validità.

Ulteriore innovativo ambito di studi, avviato già dal 1966, e poi approfondito con successivi contributi, fu quello di verificare la resistenza di film plastici all'attacco di insetti granivori: si tratta di un settore di indagine ancora attuale e di estrema rilevanza (DAL MONTE, 1966).

Tra il gran numero di lavori pubblicati si notano

anche studi relativi alle possibilità di prevenzione delle infestazioni nei magazzini di cereali e nelle industrie alimentari, all'utilizzo di insetticidi tradizionali o di gas tossici, all'esame di residui di anti-parassitari nei cereali importati.

Alcuni opuscoli divulgativi, messi a punto in particolare in occasione di corsi di istruzione in Entomologia merceologica, distribuiti negli anni '60 in migliaia di copie, risultarono elemento di sicuro riferimento per gli operatori del settore, sino a quei tempi pressoché abbandonati a sé stessi. Si aggiunga un bel volumetto, edito nel 1985 dal Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, relativo alla "Difesa delle paste alimentari dagli insetti", ricco, oltre che di illustrazioni, di preziose indicazioni che attestano le profonde conoscenze dell'Autore sulle problematiche trattate, nonché la sua grande capacità di fornire sicure indicazioni, tuttora di piena validità, con parole chiare e semplici (DAL MONTE, 1985).

La poliedrica attività di Dal Monte è altresì evidenziata da alcune note che prendono in esame quanto riferito da scrittori dell'antica Roma, relativamente alla conservazione del frumento e agli attacchi parassitari. Interessante è il lavoro che attesta la presenza di insetti nel frumento carbonizzato rinvenuto nel corso degli scavi archeologici di Ercolano (DAL MONTE, 1956).

L'ENTOMOLOGIA MERCEOLOGICA PRESSO L'UNIVERSITÀ DI MILANO

Ci sia consentito, a questo punto, ricordare le lezioni relative alle infestazioni in post-raccolta che Dal Monte teneva all'Università di Milano, nell'ambito del Corso di Entomologia agraria, di cui era titolare il prof. Minos Martelli, mentre uno degli autori di questa relazione a quel tempo sedeva tra i banchi come studente del II anno della Facoltà di Agraria.

Dal Monte era in ottimi, costanti rapporti con il prof. Martelli e con il piccolo nucleo di entomologi dell'Istituto di Entomologia agraria dell'Università di Milano. In questo Istituto operava, tra gli altri, Giorgio Domenichini, il quale, oltre che dedicarsi agli studi di sistematica sui Calcidoidei, nel settore dell'Entomologia applicata aveva rivolto la sua attenzione proprio all'Entomologia merceologica.

È dagli anni '70 che il commercio internazionale s'intensifica e molini, pastifici e industrie dolciarie aumentano progressivamente le loro dimensioni. Dall'ambiente rurale si è passati a quello urbanizzato. Le industrie hanno elevate esigenze sulla qualità delle materie prime e devono assicurare che

nell'intera filiera produttiva non si siano verificate infestazioni da parassiti animali: insetti, acari, uccelli e roditori.

Giorgio Domenichini fu sollecitato fin dal 1948 da Remo Grandori a interessarsi della lotta contro gli insetti dannosi ai cereali in magazzino. La sua produzione scientifica in questo settore dal 1948 al 1970 fu continua, ma non molto intensa. L'impegno principale era dedicato alla sistematica dei parassitoidi.

Il primo lavoro sugli insetti delle derrate, in collaborazione con Remo Grandori e altri colleghi dell'Istituto di Entomologia di Milano, risale al 1948 ed è dedicato allo studio del "Potere insetticida e insettifugo di alcune bentoniti italiane" (GRANDORI *et al.*, 1948). L'argomento è tuttora attuale e oggetto di attenzione per la conservazione della granella di cereali, secondo le regole dell'agricoltura biologica.

La protezione dagli attacchi parassitari dei cereali fu oggetto di altri lavori, di qualche nota divulgativa e di lezioni di aggiornamento rivolte a tecnici.

Domenichini fu docente di un corso dal titolo "La lotta contro gli insetti dannosi ai cereali in magazzino" che si tenne a Milano già nella primavera del 1952. L'interesse per gli insetti delle derrate riprese vigore con il suo trasferimento a Piacenza, avvenuto nel 1965.

I "SIMPOSI" DI PIACENZA

L'espressione più completa della rilevante esperienza maturata da Domenichini nel settore dell'entomologia merceologica è consistita nell'organizzazione, nel 1972, del 1° Simposio su "La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti" (DOMENICHINI, 1972a), che si è poi tenuto regolarmente a Piacenza, con cadenza quinquennale, fino ai tempi attuali.

Il primo Simposio ebbe due importanti relazioni introduttive: la prima, di Luigi Nuzzolillo, Bruno Angelillo e Giovanni Renga, sugli "Effetti nocivi delle infestazioni parassitarie negli alimenti" (NUZZOLILLO *et al.*, 1972) e la seconda, di Domenichini, su "La scienza e le applicazioni tecnologiche per la difesa antiparassitaria degli alimenti" (DOMENICHINI, 1972b).

Molte tematiche furono affrontate per la prima volta in modo completo e coordinato. Limitandoci ad alcuni fra gli interventi più rilevanti, che verranno poi ripresi nei Simposi successivi, si segnala il contributo di Saccà e Stella sui problemi pratici e giuridici (SACCÀ & STELLA, 1972), quello di Rota sugli acari infestanti i formaggi e i salumi in stagionatura (ROTA, 1972) e la relazione di Santini sulla

biologia e il comportamento dei mammiferi roditori nocivi in Italia alle sostanze alimentari (SANTINI, 1972).

La Tavola Rotonda o una sessione specifica sui roditori e altri vertebrati venne mantenuta nei Simposi successivi. Interessanti, per la rarità dei lavori sull'argomento, sono le relazioni di Baldaccini sugli uccelli periurbani (BALDACCINI, 1989; 1993), di Zava e Di Bella sui Chiropteri antropofili (ZAVA & DI BELLA, 1993), di Santini sul biacco in ambiente antropico (SANTINI, 1989).

Argomenti che sono sempre stati esaminati sono quelli delle analisi entomologiche, della determinazione dell'origine delle infestazioni negli alimenti confezionati e del controllo degli infestanti nelle industrie alimentari (DOMENICHINI, 1979; 1984; 1989; 1993; 2003). Al riguardo, diversi furono anche gli interventi di Franco Frilli che affrontò i temi della progettazione delle industrie alimentari e della prevenzione antiparassitaria e quello della ricerca delle impurità solide nel miele (FRILLI & DALLA TORRE, 1972; FRILLI, 1979; FRILLI *et al.*, 1984).

Tra i relatori dovrebbero essere citati tutti quanti si sono occupati in Italia di Entomologia merceologica, sia presso le Università, sia presso altre Istituzioni e i responsabili della Qualità presso le principali industrie alimentari. Qualificata è stata anche la partecipazione di alcuni relatori stranieri.

I Simposi sono stati anche caratterizzati dall'attenzione a problemi emersi nell'arco degli ultimi decenni. Nel 1987 (4° Simposio) si affrontarono i diversi aspetti connessi alla radioattività negli alimenti (DOMENICHINI, 1989). Nei Simposi del 1992 (5°) e del 1997 (6°) si considerò il caso delle modificazioni genetiche e delle metodiche per la verifica della presenza di transgeni in vegetali e nei loro derivati alimentari (DOMENICHINI, 1993; CRAVEDI, 1998). Nel 1997 si dedicò una specifica sessione alla tematica dei feromoni, già presente peraltro in precedenti Simposi (CRAVEDI, 1998). Dal 2002 (7° Simposio) divenne attuale il problema delle micotossine negli alimenti (CRAVEDI, 2003).

Le drastiche limitazioni all'impiego dei mezzi chimici per la difesa delle derrate hanno comportato l'aumento dell'interesse per i mezzi fisici di lotta. Nell'8° Simposio, del 2007, ultimo fino ad ora realizzato, assunsero rilievo le ricerche sulle atmosfere controllate, i trattamenti termici e l'uso delle microonde (CRAVEDI, 2008a).

La 7ª edizione, nel 2002, ebbe un significato particolare: fu l'ultima a cui Domenichini partecipò. Tenne, come in tutte le altre edizioni, la relazione introduttiva (DOMENICHINI, 2003) e, pur in pensione, fu ancora l'ispiratore e la guida dell'evento (CRAVEDI, 2003).

Nel 2007 fu compito di uno di noi aprire i lavori

(CRAVEDI, 2008b), ma fu un momento molto triste. La scomparsa di Domenichini lasciò un grande vuoto nel suo Istituto e nel settore di ricerca a cui per tanto tempo aveva dedicato le sue energie, con intelligenza e originalità.

CONVEGNI E GRUPPI DI LAVORO INTERNAZIONALI

Nei trascorsi decenni l'evoluzione a livello mondiale della difesa antiparassitaria nei settori dell'Entomologia merceologica ed urbana ha consentito l'organizzazione di Convegni e Congressi Internazionali, a cui diversi studiosi italiani – in verità ancor oggi non molto numerosi! – hanno attivamente partecipato.

Se poi si considera lo sviluppo del Gruppo di lavoro OILB sulla Protezione delle derrate, organizzato nel lontano 1993 da Domenichini, con la prima riunione a Milano, a cui aderirono solo una dozzina di studiosi, provenienti da diverse Nazioni, constatando quanto sia cresciuto ai giorni nostri, a livello internazionale, il medesimo Gruppo di lavoro, è da prendere atto che di “acqua sotto i ponti” ne è passata ben tanta!

LA DIDATTICA

Quando, nell'a.a. 1969/1970, venne istituita per la prima volta in Italia, presso la Facoltà di Agraria di Milano, la laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari, Martelli e Domenichini si batterono, con lungimiranza, per far inserire, seppur come “complementare”, il Corso di “Parassitologia animale e difesa degli alimenti”.

Nel 1973 venne il momento di attivare questo Corso. Per l'appunto uno di noi, allora Assistente ordinario alla prime armi, venne individuato come possibile docente. Non ne sapeva molto, ma ricordava bene le lezioni di Dal Monte e, con il supporto di Domenichini, si mise all'opera.

Da quel momento sono trascorsi diversi decenni; numerosi studenti, laureatisi con ricerche nel settore specifico, sono da tempo inseriti come responsabili del “Controllo di Qualità” in industrie alimentari, altri sono divenuti tecnici di vaglia in imprese di disinfestazione, a volte risultando loro stessi titolari di imprese del settore.

Ma non è certo da dimenticare che alcuni tra i migliori studenti sono ora Professori Ordinari in diverse Facoltà, contribuendo in modo fattivo all'approfondimento delle ricerche, alla preparazione di nuovi laureati, alla diffusione delle conoscenze nella continua evoluzione della difesa antiparassitaria in post-raccolta.

LE PRINCIPALI TEMATICHE DI STUDIO IN ATTO NELLE UNIVERSITÀ ITALIANE

È opportuno ricordare la progressiva diffusione degli studi relativi a questo settore verificatasi in numerose sedi universitarie, in particolare a Bari, Bologna, Campobasso, Catania, Pisa, Udine, oltretutto, ovviamente, a Milano e Piacenza.

Tali tematiche di ricerca si riferiscono in particolare all'impiego di feromoni nel monitoraggio e per strategie di lotta indiretta nei riguardi di insetti infestanti, all'utilizzo di mezzi alternativi all'impiego di prodotti chimici, alla valutazione della vulnerabilità di involucri utilizzati per il confezionamento delle derrate; pure rilevante è lo studio relativo all'impiego di predatori e parassitoidi nel tentativo di attuare tecniche di lotta biologica anche nei magazzini di conservazione delle derrate o in reparti di industrie alimentari.

I risultati finora ottenuti sono stati riferiti dai numerosi Ricercatori coinvolti in tali problematiche sia nei Simposi di Piacenza, che in occasione delle periodiche riunioni del Gruppo di lavoro OILB, oltre che pubblicati su riviste a diffusione nazionale e internazionale.

Non è ovviamente possibile citare tale gran numero di contributi scientifici. Resta il fatto però che, confrontando la letteratura internazionale con quanto prodotto in Italia, si può tranquillamente affermare che il grado di conoscenze raggiunto pone i nostri studiosi ad un livello paritetico, se non in alcuni casi superiore, a quello dei più noti Ricercatori stranieri.

OPERE DI ENTOMOLOGIA MERCEOLOGICA PUBBLICATE IN ITALIA

Mentre all'estero sono state pubblicate da tempo numerose opere, spesso corredate da ricca iconografia, in Italia solo negli ultimi decenni sono stati prodotti diversi volumi specificamente dedicati all'Entomologia merceologica. Ciò è dovuto, fondamentalmente, all'inevitabile distribuzione limitata al nostro territorio che hanno i testi in lingua italiana, il che non invoglia le Case Editrici ad affrontare i costi di pubblicazione con un ben misero risultato economico.

Dopo le già ricordate opere di Berlese (BERLESE, 1917) e di Dal Monte (DAL MONTE, 1985) probabilmente il primo volume venne pubblicato da Süss (SÜSS, 1988), essenzialmente a scopo didattico, per gli studenti del corso che stava sviluppando. Successivamente sono stati dati alle stampe un'importante “Atlante delle impurità solide negli alimenti” a cura di Domenichini e collaboratori (DOMENICHINI, 1997), un volume sui “Parassiti delle

derrate” (SÜSS & LOCATELLI, 2001), ad opera di Gelosi e Süss un volumetto dal titolo “Insetti ed acari dei cereali in magazzino” (GELOSI & SÜSS, 1991), altro dal titolo “Prevenzione delle infestazioni nelle industrie alimentari” (SÜSS & PEZZATO, 2002), nonché, a cura di Trematerra e Süss, il “Prontuario di entomologia merceologica e urbana” (TREMATERRA & SÜSS, 2007). È di recentissima pubblicazione l’importante lavoro, in due volumi, dal titolo “Manuale pratico per il monitoraggio ed il riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari”, a cura di Pagani, Savoldelli e Schiaparelli (PAGANI *et al.*, 2010; 2011). Vanno infine ricordate le due edizioni del volume di entomologia urbana “Gli Intrusi” (SÜSS, 1990; 2004), essenzialmente divulgativo e rivolto “al grande pubblico”, in cui alcuni capitoli sono specificatamente dedicati agli insetti infestanti le derrate e alle possibilità di lotta.

Come si può notare, malgrado tutto, in questi ultimi anni la bibliografia specifica in Italia non è certo venuta meno.

PROSPETTIVE DI RICERCA

Quali sono, al momento, le prospettive di studio? Da un lato è da considerare la necessità di una continua evoluzione nella difesa antiparassitaria, conseguente alla indisponibilità di antiparassitari un tempo utilizzati, alla messa al bando di gas tossici, ai problemi di resistenza ai principi attivi, fenomeno vieppiù frequente anche nel nostro Paese, in conseguenza, tra l’altro, dell’arrivo sul territorio nazionale di “ceppi” di insetti ben noti, ma ripetutamente trattati in altri ambienti. Giova inoltre ricordare la possibile introduzione accidentale di ulteriori organismi infestanti. È stato da poco tempo accertato l’insediarsi di *Prostephanus truncatus* (G.H. Horn) e ancor più recentemente di *Sinoxylon indentatum* (Fabricius) (SAVOLDELLI & REGALIN, 2009).

La sempre più accentuata sensibilità del consumatore a non ritrovare nei cibi organismi estranei, o addirittura loro frammenti, costringe i produttori ad attuare drastiche tecniche di difesa, il che può determinare rischi di contaminazione da residui di antiparassitari.

È quindi opportuno che si affronti il problema in modo altamente scientifico, stabilendo tra l’altro “soglie di tolleranza”, relative alle impurità solide, ai corpi estranei; si tratterebbe di limiti che, seppur ristretti, certamente potrebbero favorire lo sviluppo di tecniche di difesa antiparassitaria integrata.

Sarà indispensabile approfondire le conoscenze sulle possibilità di lotta biologica, mediante utilizzo di organismi ausiliari, così come impiegando mezzi fisici (microonde, radiazioni infrarosse, ozono, atmo-

sfele controllate), oppure attuando tecniche attrattive, o metodi di lotta confusione, o di disorientamento.

Un ulteriore settore di indagine dovrà riguardare la resistenza degli imballaggi agli attacchi di insetti: come si è già accennato, è un problema annoso e niente affatto risolto. L’utilizzo di nuovi film plastici, eventualmente “attivati” con sostanze repellenti o fagoinibenti, sia di origine naturale che di sintesi, è un argomento che inizia ad essere preso in considerazione in questi ultimi tempi, ma che certamente dovrà essere affrontato in modo approfondito nei prossimi anni.

Infine, sarà indispensabile valutare, anche nei riguardi di insetti infestanti le derrate e gli ambienti di magazzino o di produzioni alimentari, la potenziale efficacia di principi attivi di recente o proposta introduzione.

RIASSUNTO

Vengono brevemente considerati gli aspetti storici della difesa delle derrate dagli insetti infestanti. L’Entomologia merceologica nacque come disciplina scientifica con qualche ritardo rispetto ad altre specializzazioni di Entomologia applicata.

I primi importanti contributi sulla biologia di insetti infestanti le derrate sono stati quelli di Giuseppe Salvatore Candura che iniziò la sua attività a Portici sotto la guida di Filippo Silvestri. Dopo un primo lavoro del 1926 su *Sitotroga cerealella*, Candura pubblicò numerosi lavori sui tempi di sviluppo delle diverse specie e su molti altri particolari del ciclo biologico, che rappresentano ancora importanti riferimenti.

Nel secondo dopoguerra il settore è caratterizzato dal contributo di Gino Dal Monte che tra il 1950 e il 1990 diede alle stampe numerose pubblicazioni scientifiche e note divulgative.

All’Entomologia merceologica venne riservata particolare attenzione presso l’Università di Milano dove operava il prof. Minos Martelli e un piccolo nucleo di Entomologi fra cui il prof. Giorgio Domenichini.

A Milano ebbe anche avvio la didattica universitaria con l’attivazione nell’anno accademico 1973/74 dell’insegnamento di “Parassitologia animale e difesa degli alimenti” nel Corso di Laurea in Scienze e Tecnologie Alimentari. Da allora molte altre Sedi hanno attivato insegnamenti con analoghi contenuti.

Viene poi considerata l’attività di Giorgio Domenichini che intensificò il suo impegno nell’Entomologia merceologica con il trasferimento a Piacenza.

La rassegna prosegue trattando l’attività degli entomologi italiani nell’ambito dei Gruppi di lavoro internazionali e le principali opere di Entomologia merceologica pubblicate in Italia.

A conclusione sono brevemente esaminate le principali tematiche di studio in atto nelle Università italiane e le prospettive di ricerca.

BIBLIOGRAFIA

BALDACCINI N.E., 1989 – *Valutazione della consistenza e possibilità di controllo in popolazioni urbane di uccelli*. - Atti 4° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie ali-

- mentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 23-25 settembre 1987: 603-612.
- BALDACCINI N.E., 1993 – *Aspetti dell'ecologia e del comportamento di uccelli periurbani come base per il loro controllo*. - Atti del 5° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 23-25 settembre 1992: 229-235.
- BERLESE A., 1909 – *Gli insetti: loro organizzazione, sviluppo, abitudini e rapporti coll'uomo*. Società Editrice Libreria, Milano vol. I, 490 pp.
- BERLESE A., 1917 – *Insetti delle Case e dell'Uomo e malattie che diffondono*. Hoepli, Milano, 293 pp.
- CANDURA G. S., 1926 – *Contributo alla conoscenza della vera tignola del grano* (Sitotroga cerealella Oliv.). - Boll. Lab. Zool. gen. agr. R. Scuola sup. Agric. Portici, XIX: 19-102.
- CANDURA G.S., 1932 – *Studi e ricerche sugli insetti viventi nelle paste alimentari*. Contributi 1-14. - Boll. Soc. Naturalisti Napoli, 44: 159-204.
- CANDURA G.S., 1938 – *Studi sugli insetti dannosi ai semi e ai viveri nella Venezia Tridentina. I. Comportamento biologico della Plodia interpunctella Hb.* - Studi Trent. Sci. Nat., XVIII (3) (1937): 1-59 (estratto).
- CANDURA G.S., 1939 – *Entomologia merceologica, risultati di studi e ricerche, osservazioni e fondamenti*. - Riv. Fis. Mat. Sci. Nat., ser. II, 13 (5): 225-243.
- CANDURA G.S., 1954 – *Gli insetti delle derrate come materiale per ricerche biologiche*. Contributi 1-14. Symposia Genetica, vol. II “Genetica ed Entomologia, Tipografia del Libro, Pavia, 138 pp.
- CRAVEDI P. (a cura di), 1998 – Atti del 6° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 24-26 settembre 1997. Chiriotti Ed., Pinerolo, XVI - 679 pp.
- CRAVEDI P. (a cura di), 2003 – Atti del 7° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 settembre 2002, Chiriotti Ed., Pinerolo, XVI - 503 pp.
- CRAVEDI P. (a cura di), 2008a – Atti dell'8° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 26-28 settembre 2007, Chiriotti Ed., Pinerolo, XII - 370 pp.
- CRAVEDI P., 2008b – *Problematiche di protezione degli alimenti da infestanti*. - Atti dell'8° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 26-28 settembre 2007, Chiriotti Ed., Pinerolo: 3-8.
- DAL MONTE G., 1954 – *Un nuovo nemico nei nostri magazzini?* - Molini d'Italia, 1953 (3): 109-111.
- DAL MONTE G., 1956 – *La presenza di insetti dei granai in frumento trovato negli scavi di Ercolano*. - Redia, XLI: 25-28.
- DAL MONTE G., 1957 – *Introduzione all'uso dei raggi X per l'esame dei cereali in granella*. - Molini d'Italia, 1957 (5): 235-239.
- DAL MONTE G., 1964 – *Metodo per “liberare” le uova di punteruoli*. - Molini d'Italia, 1964 (5): 173-175.
- DAL MONTE G., 1966 – *Introduzione allo studio del problema: insetti e film plastici da imballo*. - Molini d'Italia, 1966 (12): 456-459.
- DAL MONTE G., 1985 – *La difesa delle paste alimentari dagli insetti*. Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Roma, 67 pp.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1972a – Atti del 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 18-20 ottobre 1972. Tip. Edit. Piacentina Gallarati, Piacenza, 460 pp.
- DOMENICHINI G., 1972b – *La scienza e le applicazioni tecnologiche per la difesa antiparassitaria degli alimenti*. - Atti del 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 73-88.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1979 - Atti del 2° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 28-30 settembre 1977. Tip. Le.Co., Piacenza, 588 pp.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1984 - Atti del 3° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 22-24 settembre 1982. Tipolitografia TEP, Piacenza, 647 pp.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1989 - Atti del 4° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 23-25 settembre 1987. Tipolitografia TEP, Piacenza, 700 pp.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1993 - Atti del 5° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 23-25 settembre 1992. Chiriotti Ed., Pinerolo, 630 pp.
- DOMENICHINI G. (a cura di), 1997 – *Atlante delle impurità solide negli alimenti. Manuale per il riconoscimento dei materiali estranei*. - Chiriotti Editori, Pinerolo, XVI - 390 pp.
- DOMENICHINI G., 2003 – *L'assicurazione qualità e i suoi nuovi compiti nella produzione alimentare*. - Atti 7° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 18-20 settembre 2002, Chiriotti Ed., Pinerolo: 3-8.
- FRILLI F., 1979 – *Impurità nel miele e negli alimenti che lo contengono: risultati di filth-test*. - Atti 2° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 28-30 settembre 1977: 479-487.
- FRILLI F., DALLA TORRE G., 1972 – *Progettazione delle Industrie alimentari e prevenzione antiparassitaria*. - Atti 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 321-333.
- FRILLI F., GIUMANINI A.G., CHENI L.C., 1984 – *Recenti acquisizioni e prospettive per le analisi dei mieli*. - Atti 3° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 22-24 settembre 1982: 333-351.
- GELOSI A., SÜSS L., 1991 - *Insetti e acari dei cereali in magazzino*. Edagricole, 120 pp.
- GRANDORI R., GRANDORI L., CARÈ E., DOMENICHINI G., 1948 – *Potere insetticida e insettifugo di alcune bentoniti italiane*. - Boll. Zool. agr. Bachic., 15 (1): 3-11.
- LEVINSON H., LEVINSON A., 1997 – *La protezione del grano immagazzinato nell'antichità*. - Atti del 6° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza, 24-26 settembre 1997: 31-43.
- NUZZOLILLO L., ANGELILLO B., RENGA G., 1972 – *Effetti nocivi delle infestazioni parassitarie negli alimenti*. - Atti del 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 61-71.
- PAGANI M., SAVOLDELLI S., SCHIAPARELLI A., 2010 – *Manuale pratico per il monitoraggio e riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari. Thysanura, Blattaria, Dermaptera, Psocoptera, Lepidoptera*. Volume 1. A.N.I.D., Edizioni Sinergitech Soc. Coop., 130 pp.
- PAGANI M., SAVOLDELLI S., SCHIAPARELLI A., 2011 – *Manuale pratico per il monitoraggio e riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari. Diptera, Coleoptera, Hymenoptera. Cenni sugli acari delle derrate*. Volume 2. A.N.I.D., Edizioni Sinergitech Soc. Coop., 150 pp.

- ROTA P., 1972 – *Gli acari infestanti i formaggi e i salumi in stagionatura*. - Atti 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 201-215.
- SACCÀ G., STELLA E., 1972 – *La fauna infestante le derrate: problemi pratici e giuridici*. - Atti del 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 122-132.
- SANTINI L., 1972 – *Biologia e comportamento dei mammiferi roditori nocivi in Italia alle sostanze alimentari conservate*. - Atti 1° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20 ottobre 1972: 415-437.
- SANTINI L., 1989 – *Problemi relativi alla presenza del biacco (Coluber viridiflavus Lacépède) nell'ambiente antropico industriale*. - Atti del 4° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 23-25 settembre 1987: 631-640.
- SAVOLDELLI S., REGALIN R., 2009 – *Infestation of wood-pallets by Sinoxylon unidentatum (Fabricius) (Coleoptera Bostrichidae) in Italy*. - Boll. Zool. agr. Bachic., 41 (3): 234-238.
- SÜSS L., 1988 – *Gli infestanti delle derrate conservate e delle industrie alimentari*. MoEdCo Edizioni, Milano, 304 pp.
- SÜSS L., 1990 – *Gli intrusi. Manuale di entomologia urbana*. Edagricole, Bologna, X – 226 pp.
- SÜSS L., 2004 – *Gli intrusi. Manuale di entomologia urbana*. L'Informatore Agrario, 179 pp.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., 2001 – *I parassiti delle derrate*. Calderini Edagricole, Bologna, 363 pp.
- SÜSS L., PEZZATO G., 2002 – *Prevenzione delle infestazioni nelle industrie alimentari*. Chiriotti Ed., Pinerolo, 128 pp.
- TREMATERRA P., SÜSS L., 2007 – *Prontuario di entomologia merceologica e urbana. Con note morfologiche, biologiche e di gestione delle infestazioni*. Aracne Editrice, Roma, 160 pp.
- TREMBLAY E., 2003 – *Entomologia applicata*. Liguori Editore, vol. I, 169 pp.
- ZAVA B., DI BELLA C., 1993 – *I Chiroterteri antropofili: etologia e rapporti con l'ambiente umano*. - Atti 5° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”, Piacenza 23-25 settembre 1992: 237-246.

RIFLESSIONI SUI FEROMONI DEGLI INSETTI INFESTANTI LE DERRATE ALIMENTARI

PASQUALE TREMATERRA (*)

(*) Dipartimento di Scienze Animali, Vegetali e dell'Ambiente - Università degli Studi del Molise - Via De Sanctis, I-86100 Campobasso; trema@unimol.it

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 febbraio 2011

Reflection on pheromones of insects infesting stored products

Crucial factors for Integrated Pest Management (IPM) in stored-products include understanding factors that regulate systems, monitoring insect populations, maintaining good records and using this information to make sound management decisions. In recent years, considerable progress has been made in the monitoring and control of stored-product insects, Lepidoptera and Coleoptera, by pheromones also used in mass-trapping, attracticide (lure and kill) and mating-disruption methods. In stored-product IPM different tolerance thresholds should be established for the various pests depending on their economic impact and on the chain place where they are found. In that context "insectistasis" can be readily achieved by continual supervision of environments by traps in combination with a limited number of preventive and curative measures appropriately timed.

KEY WORDS: Pheromones, stored products, insects.

INTRODUZIONE

L'Integrated Pest Management (IPM) enfatizza la sinergia di più discipline e misure di intervento - tra l'altro l'aggiornamento culturale, le operazioni di sanitation, la manipolazione delle temperature, il controllo biologico e l'uso di sostanze biocide - in una gestione globale indirizzata alla prevenzione dei danni da parassiti, prima del raggiungimento delle soglie economiche. I punti salienti, nell'applicazione dei concetti previsti dall'IPM, comprendono i fattori che regolano i sistemi coinvolti, il monitoraggio delle popolazioni dannose, la disponibilità di dati storici e l'ausilio di tali conoscenze per l'adozione di opportune misure di gestione delle infestazioni.

Lo sviluppo e l'attuazione di programmi di IPM sono stati presi in considerazione e realizzati sia nella salvaguardia di prodotti grezzi sia per quelli trasformati (HAGSTRUM e FLINN, 1996). Ma nel futuro il settore agro-alimentare dovrà applicare estesamente tali programmi, per soddisfare le maggiori richieste dei consumatori e delle loro associazioni, sempre più interessati alla sicurezza degli alimenti, riducendo l'uso degli antiparassitari e i rischi connessi al loro impiego.

In tale contesto sono stati realizzati notevoli progressi anche nell'applicazione dei feromoni, come pure di altri semiochimici, per il monitoraggio e la lotta agli insetti legati alle derrate e ai prodotti alimentari in via di trasformazione o già trasformati

(tramite la cattura massiva, il metodo attratticida e la confusione sessuale) (BURKHOLDER e MA, 1985; BURKHOLDER, 1990; PHILLIPS, 1997; TREMATERRA, 1997 e 2002; PLARRE, 1998; PHILLIPS *et al.*, 2000; COX, 2004; ANDERBRANT *et al.*, 2007; TREMATERRA *et al.*, 2011).

Al riguardo di seguito si riportano delle annotazioni sui principali risultati ottenuti in ambito internazionale nel monitoraggio e nel controllo diretto delle infestazioni da insetti tramite l'uso dei feromoni sintetici, inoltre vengono analizzati alcuni aspetti critici che, nella pratica operativa, ancora si riscontrano nell'applicazione di tali sostanze.

MONITORAGGIO E LOTTA

Monitoraggio

Nella gestione integrata degli insetti dannosi alle derrate e nelle industrie alimentari le trappole a feromoni possono essere impiegate per rilevare sia la presenza sia la densità di eventuali parassiti. Esse risultano utili anche nella definizione di aree e di settori infestati, in particolar modo quando il ciclo biologico della specie dannosa è poco noto (Tabella 1).

Generalmente, tali trappole sono molto efficaci quando la presenza di insetti è contenuta, tanto da poter essere impiegate anche dal punto di vista qualitativo per fornire indicazioni immediate circa l'incidenza dei danni. Il loro corretto impiego consente

Tabella 1 – Principali Lepidotteri e Coleotteri infestanti le derrate alimentari per i quali i feromoni sono stati identificati e vengono commercializzati.

Maschio (M); Femmina (F); Feromone sessuale (S); Feromone di aggregazione (A).

Specie	Sesso produttore	Tipo di feromone	Reperibilità commerciale
Lepidotteri			
<i>Corcyra cephalonica</i>	M	S	Si
<i>Galleria mellonella</i>	M	S	Si
<i>Ephestia cautella</i>	F	S	Si
<i>Ephestia elutella</i>	F	S	Si
<i>Ephestia figulilella</i>	F	S	Si
<i>Ephestia kuehniella</i>	F	S	Si
<i>Plodia interpunctella</i>	F	S	Si
<i>Sitotroga cerealella</i>	F	S	Si
<i>Tineola bisselliella</i>	F	S	Si
<i>Tineola pellionella</i>	F	S	Si
<i>Nemapogon granellus</i>	F	S	Si
Coleotteri			
<i>Anthrenus flavipes</i>	F	S	Si
<i>Anthrenus verbasci</i>	F	S	Si
<i>Attagenus unicolor</i>	F	S	Si
<i>Dermestes maculatus</i>	M	A	Si
<i>Trogoderma glabrum</i>	F	A - S	Si
<i>Trogoderma granarium</i>	F	A - S	Si
<i>Trogoderma inclusum</i>	F	A - S	Si
<i>Trogoderma variabile</i>	F	A - S	Si
<i>Lasioderma serricome</i>	F	S	Si
<i>Stegobium paniceum</i>	F	S	Si
<i>Prostephanus truncatus</i>	M	A	Si
<i>Rhyzopertha dominica</i>	M	A	Si
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	M	A	No
<i>Cryptolestes pusillus</i>	M	A	No
<i>Cryptolestes turcicus</i>	M	A	No
<i>Oryzaephilus mercator</i>	M	A	Si - No
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	M	A	Si - No
<i>Tribolium castaneum</i>	M	A	Si
<i>Tribolium confusum</i>	M	A	Si
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	M	S	No
<i>Callosobruchus chinensis</i>	F	S	No
<i>Sitophilus granarius</i>	M	A	Si
<i>Sitophilus orizae</i>	M	A	Si
<i>Sitophilus zeamais</i>	M	A	Si

di razionalizzare le procedure di lotta, e in particolare l'uso degli insetticidi, attraverso interventi mirati e limitati soltanto ai casi strettamente necessari.

Per catturare gli individui attirati dal feromone i congegni in commercio risultano generalmente munite di superfici collanti oppure hanno conformazione a nassa, in grado di prevenire la fuga degli esemplari finiti al loro interno (LEVINSON e BUCHELOS, 1981; BURKHOLDER, 1990; MULLEN, 1992; PHILLIPS, 1997; PLARRE, 1998).

La conformazione delle trappole per alla cattura di lepidotteri (*Ephestia* spp., *Plodia*, *Sitotroga*, *Tineola*, ecc.) e di coleotteri (*Cryptolestes* spp., *Lasioderma*, *Oryzaephilus* spp., *Prostephanus*, *Rhyzopertha*, *Sitophilus* spp., *Stegobium*, *Tribolium* spp., *Trogoderma*, ecc.) infestanti i prodotti alimentari è stata sviluppata, di solito, su base empirica (Barak *et al.*, 1990) e le loro prestazioni risentono ancora di tale fattore (Figura 1).

Diversi elementi, noti per l'importanza che rivestono nell'influenzare le catture delle trappole a feromoni, da tenere in giusta considerazione nel corso dell'impianto, della messa a punto e nell'esecuzione delle attività di monitoraggio, sono stati riportati e affrontati nel tempo nei lavori di vari autori (CUPERUS *et al.*, 1990; WRIGHT e COGAN, 1995; MANKIN *et al.*, 1999; HUGGETT *et al.*, 2010). Mentre le raccomandazioni essenziali cui attenersi nella distribuzione delle postazioni, per realizzare un'efficiente rete di monitoraggio, presupposto di una prova sperimentale con rilievi ad intervalli regolari, si possono rintracciare in un contributo di Subramanyam e Hagstrum (1996).

Nel futuro, l'ottimizzazione di trappole e di dispenser feromonici potrà consentire la realizzazione di nuove strategie, su base informatica, utili ad una migliore organizzazione e interpretazione dei dati di cattura, capaci di fornire informazioni immediate e puntuali sulla entità degli attacchi e sui rischi connessi (WILEYTO *et al.*, 1994; LONGSTAFF, 1997; CAMPBELL, 2007; BURKS *et al.*, 2010).

Cattura massiva

Come è noto, nel caso dei feromoni sessuali prodotti dalla femmina di una certa specie soltanto i maschi consimili vengono attirati, quindi ogni tentativo di sopprimere la popolazione infestante con il solo intrappolamento richiede una quantità sufficiente di catture, in modo da evitare l'accoppiamento in quasi tutti gli esemplari presenti nell'ambiente circostante.

In questo caso, le considerazioni teoriche circa la cattura massiva (o mass-trapping) prendono in esame anche il numero potenziale di accoppiamenti che ogni maschio può realizzare nel corso della propria vita. Ad esempio se un individuo è in grado di accoppiarsi con 6-10 femmine - come si verifica in *Plodia interpunctella*, oltre il 90% della popolazione presente in un determinato ambiente dovrà essere catturata per influire sulla generazione larvale successiva della specie (SOWER *et al.*, 1975; JONES, 1998).

In presenza di una infestazione abbondante le possibilità di incontro tra esemplari dei due sessi sono piuttosto frequenti e il mass-trapping risulta difficile da attuare; al contrario in situazioni più contenute i maschi hanno minore possibilità di trovare le femmine e la cattura massiva può risultare, in teoria, più incisiva e ridurre la popolazione a livelli biologici poco significativi.

Esperimenti adeguati di mass-trapping non sono facili da condurre a causa di una loro scarsa possibilità di replicazione, tuttavia vari studi hanno portato risultati di successo nei confronti di: *Ephestia cautella* negli Stati Uniti d'America e in Italia; *P. interpunctella* in un magazzino di stoccaggio per



Figura 1

Dispenser feromonici e trappole utilizzati nella lotta agli insetti infestanti le derrate alimentari.

semi di vegetali e fiori in Francia; *Ephestia kuehniella* in alcuni mulini italiani; *Lasioderma serricome* e *P. interpunctella* in due depositi alimentari all'ingrosso nelle Hawaii; *L. serricome* in magazzini di tabacco in Grecia, in un panificio delle Hawaii e in un tabacchificio in Portogallo (FLEURAT-LESSARD *et al.*, 1986; BUCHELOS e LEVINSON, 1993; TREMATERRA, 1990 e 1994; SÜSS *et al.*, 1996; PIERCE, 1994 e 1998; PHILLIPS *et al.*, 2000; CARVALHO e MEXIA, 2002; CAMPOS-

FIGUEROA, 2008; SÜSS e SAVOLDELLI, 2009; PEASE *et al.*, 2010; TREMATERRA e GENTILE, 2010).

La possibilità di intrappolare massivamente individui appartenenti ai due sessi di una stessa specie avrebbe certamente maggiore efficacia di lotta rispetto alla cattura dei soli maschi; in tal senso molto utili potrebbero rivelarsi i feromoni di aggregazione, noti per vari coleotteri infestanti i prodotti destinati all'alimentazione dell'uomo o degli animali domestici.

Oppure altrettanto efficace potrebbe essere l'impiego di trappole a feromone addizionate di sostanze alimentari. Pochi sono stati però, per intanto, gli studi intrapresi al riguardo.

Aspetti critici nell'applicazione della cattura massiva sono ad esempio la possibile inefficienza delle trappole, la loro saturazione in situazioni di elevate popolazioni infestanti, la scarsa efficacia dei feromoni sintetici, un inappropriato posizionamento delle trappole, i costi di intervento troppo elevati, l'immigrazione di esemplari da ambienti limitrofi a quelli in cui si attua il mass-trapping (CAMPBELL, 2007; TREMATERRA e GENTILE, 2010).

Metodo attratticida

Il concetto su cui si basa l'attività del metodo attratticida (detto anche lure and kill o attract and kill) coinvolge, allo stesso momento, un feromone e un biocida, abbinati su una superficie limitata. In questo caso l'insetto target, seguendo il richiamo della fonte attrattiva finisce per poggiarsi sulla superficie cosparsa di insetticida, oppure di un altro biocida (ad esempio un patogeno), che ne causa la morte con effetto abbattente o per contaminazione irreversibile.

In alcune situazioni l'efficacia di tale metodo si può estendere anche alle femmine, per contagio successivo, a seguito della diffusione del biocida da parte dei maschi durante il corteggiamento o l'accoppiamento. Nel caso di impiego di una fonte attrattiva aspecifica l'effetto potrebbe essere ulteriormente ampliato alle specie vicine, in grado di rispondere alla stessa base di richiamo.

Questo sistema di lotta fornisce risultati abbastanza simili alla cattura massiva.

Con il metodo attratticida (feromone+insetticida) sono stati ottenuti risultati promettenti soprattutto in Italia, sia all'interno di mulini, nel controllo di *E. kuehniella* (TREMATERRA e CAPIZZI, 1991; TREMATERRA, 1995) sia in reparti di industrie alimentari, per il contenimento di *E. cautella* (Süss *et al.*, 1999). Tale tecnica ha generalmente portato ad una riduzione drastica dei trattamenti chimici con vantaggi qualitativi ed economici degni di nota (TREMATERRA, 1997 e 2002).

Risultati interessanti si sono ottenuti anche contro *L. serricornis* nelle Hawaii (PIERCE, 1994); mentre osservazioni preliminari realizzate in laboratorio e in ambienti simulati nella lotta a *P. interpunctella* sono state riportate negli Stati Uniti d'America da NANSEN e PHILLIPS (2003 e 2004) e da CAMPOS-FIGUEROA (2008).

In altri sistemi attratticidi sono stati utilizzati i feromoni abbinati a dispositivi di inoculazione di organismi entomopatogeni: un protozoo del genere *Mattesia* nel controllo di *Trogodenna glabrum*; un

virus della granulosa contro *P. interpunctella* (BURKHOLDER e BOUSH, 1974; SHAPAS *et al.*, 1977; VAIL *et al.*, 1993). Più recentemente test di laboratorio hanno accertato l'efficacia di *Beauveria bassiana* nel controllo di *Prostephanus truncatus* (SMITH *et al.*, 1999; WAKEFIELD *et al.*, 2010).

Confusione sessuale

In generale il meccanismo con cui in un insetto può essere ottenuta la confusione sessuale (o mating-disruption) è uno, o una combinazione, dei seguenti:

- esposizione ad un livello elevato di feromone sintetico, tanto da arrivare all'adattamento dei recettori antennali;
- esposizione a un livello sufficientemente alto di feromone sintetico, in grado di mascherare i richiami naturali dei consimili;
- applicazione di numerose fonti di emissione di feromone sintetico, in modo da distogliere la ricerca dei consimili.

Al riguardo esperimenti con risultati positivi sono stati condotti nei confronti di *E. cautella* e di *P. interpunctella*, sia in situazioni di laboratorio sia in simulazioni operative, come pure applicazioni pratiche interessanti sono state realizzate su *E. cautella* ed *E. kuehniella* all'interno di mulini e di industrie alimentari (BRADY e DALEY, 1975; TREMATERRA e CAPIZZI, 1987; PREVET *et al.*, 1989; SÜSS *et al.*, 1999; RYNE *et al.*, 2001, 2006 e 2007; SIEMINSKA *et al.*, 2009; MUELLER, 2010; SAVOLDELLI e SÜSS, 2009 e 2010; BURKS *et al.*, 2011; TREMATERRA *et al.*, 2011).

Attività di confusione sessuale si sono accertate pure in *Attagenus megatoma* e in *Trogoderma inclusum* (LEVINSON e LEVINSON, 1995).

Anche se non ancora utilizzati nella pratica operativa, composti inibitori dell'accoppiamento, di particolare efficacia e interesse, sono noti in *L. serricornis* e in *S. paniceum* (LEVINSON e LEVINSON, 1987).

Le possibilità applicative e i limiti della confusione sessuale sono simili a quanto riportato per la cattura massiva.

Il mating-disruption è un metodo di controllo potenzialmente efficace contro vari insetti infedati alle derrate e ai prodotti alimentari ma richiede ulteriori studi e considerazioni; un maggior numero di osservazioni sono, infatti, necessarie per diminuire la quantità di feromoni da impiegare, in modo da ridurre il rischio di loro residui ambientali e negli alimenti finiti. Inoltre, è da verificare la possibilità che sotto la pressione di tali composti gli insetti migrino abbandonando gli ambienti trattati, oppure che nel tempo possano in qualche modo modificare la loro chiave di comunicazione chimica. Risultano ancora da ottimizzare i costi di sintesi delle sostanze feromoniche, come pure sono da verificare e met-

tere a punto le loro formulazioni (SOWER e WHITMER, 1977; HODGES *et al.*, 1984; LEVINSON e LEVINSON, 1987; MAFRA-NETO e BAKER, 1996; SHANI e CLEARWATER, 2001; FADAMIRO e BAKER, 2002).

Per il controllo degli insetti dannosi, nella pratica operativa il metodo della confusione sessuale può essere applicato solo a seguito della registrazione dei formulati da parte delle autorità competenti (EU, 1991; EPA, 2006).

PROSPETTIVE FUTURE

L'utilizzo appropriato dei feromoni, o di altri semiochimici, può condurre ad una riduzione drastica dei trattamenti insetticidi con conseguenti vantaggi qualitativi ed economici, proteggendo sia gli alimenti da indesiderati residui chimici sia la salute degli operatori e dei consumatori.

In tale contesto la "insectistasis" (LEVINSON e LEVINSON, 1985) può essere raggiunta tramite una supervisione continua degli ambienti di stoccaggio e di lavorazione, per mezzo di trappole (soprattutto a feromoni), congiuntamente all'adozione di un numero limitato di misure curative opportunamente decise caso per caso.

Nella protezione delle derrate e dei prodotti alimentari derivati devono, però, ancora essere individuate le soglie di tolleranza delle diverse specie infestanti, in accordo con il loro impatto nelle varie fasi della filiera produttiva in cui ci si trova ad operare. Infatti, se un numero limitato di esemplari viene, a volte, tollerato nel comparto di immagazzinamento delle materie prime, nelle fasi successive di trasformazione e produzione degli alimenti, come pure nel reparto di confezionamento e stoccaggio dei prodotti finiti, la soglia di presenza deve essere necessariamente prossima a zero.

Negli ultimi anni, per il monitoraggio degli insetti nocivi alle derrate e ai prodotti alimentari derivati, sono state realizzate nuove apparecchiature utili alla stima delle popolazioni, alla gestione degli insetticidi e dei fumiganti usati per il loro controllo, così come di altri metodi di lotta, eventualmente impiegati, quale ad esempio la manipolazione delle temperature. Tali tecnologie comprendono oltre alle trappole, anche vari altri congegni per effettuare campionamenti, metodi acustici e analisi chimiche che rivelano la presenza di insetti vivi o morti attraverso reazioni enzimatiche, ecc. Un ulteriore miglioramento dell'IPM deriva dallo sviluppo e messa a punto di alcuni sistemi decisionali su base informatica che sono in grado di valutare l'evolversi di una popolazione infestante e la conseguente distribuzione spaziale dei suoi individui, in funzione dei principali parametri ambientali (ARBOGAST *et al.*,

1998; SHUMANN e EPSKY, 1998; ARBOGAST e MANKIN, 1999; DOUD e PHILLIPS, 2000; PHILLIPS *et al.*, 2000; TREMATERRA e SCARRETTA, 2002 e 2005; Nansen *et al.*, 2003; CAMPBELL e MULLEN, 2004; TREMATERRA *et al.*, 2004 e 2007; ATHANASSIOU *et al.*, 2005 e 2011).

RIASSUNTO

In ambito internazionale sono stati realizzati notevoli progressi nel monitoraggio e nel controllo diretto di numerose specie dannose - appartenenti soprattutto a Lepidotteri e Coleotteri - tramite l'impiego dei feromoni in metodi di cattura massiva, lotta attratticida, confusione sessuale. Nella protezione delle derrate e dei prodotti alimentari derivati devono però ancora essere individuate le soglie di tolleranza dei diversi insetti, in accordo con il loro impatto nelle varie fasi della filiera produttiva in cui ci si trova ad operare. In proposito, i concetti richiamati nella "insectistasis" possono essere adottati tramite una continua supervisione dei locali e dei macchinari, realizzata mediante trappole, abbinati a un numero limitato di interventi biocidi, effettuati solo nei casi ritenuti strettamente necessari.

BIBLIOGRAFIA

- ANDERBRANT O., RYNE C., OLSSON P.-O.C., JIRLE E., JOHNSON K., LÖFSTEDT C., 2007 – *Pheromones and kairomones for detection and control of indoor pyralid moths*. - IOBC/wprs Bulletin, 30: 73-77.
- ARBOGAST R.T., MANKIN R.W., 1999 – *Utility of spatial analysis in management of storage pests*. - Proc. 7th Int. Working Conf. Stored-Product Prot., Beijing: 1519-1527.
- ARBOGAST R.T., WEAVER D.K., KENDRA P.E., BRENNER R.J., 1998 – *Implications of spatial distribution of insect populations in storage ecosystems*. - Environ. Entomol., 27: 202-216.
- ATHANASSIOU C.G., KAVALLIERATOS N.G., PALYVOS N.E., SCARRETTA A., TREMATERRA P., 2005 – *Spatiotemporal distribution of insects and mites in horizontally stored wheat*. - J. Econ. Entomol., 98 (3): 1058-1069.
- ATHANASSIOU C.G., KAVALLIERATOS N.G., PALYVOS N.E., SCARRETTA A., TREMATERRA P., 2011 – *Associations of insects and mites in stored wheat*. - J. Econ. Entomol., 104: 1752-1764.
- BARAK A.V., BURKHOLDER W.E., FAUSTINI D.L., 1990 – *Factors affecting the design of traps for stored-product insects*. - J. Kansas Ent. Soc., 63: 466-485.
- BRADY U.E., DALEY R.C., 1975 – *Mating activity of Cadra cautella during exposure to synthetic sex pheromone and related compounds in the laboratory*. - Environ. Entomol., 4: 445-447.
- BUCHELOS C.T.H., LEVINSON A.R., 1993 – *Efficacy of multisurface traps and Lasiotrap with and without pheromone addition, for monitoring and mass-trapping of Lasioderma serricorne F. (Col., Anobiidae) in insecticide-free tobacco stores*. - J. Appl. Entomol., 116: 404-448.
- BURKHOLDER W.E., 1990 – *Practical use of pheromones and other attractants for stored-product insects*. In: Ridgway R.L., Silverstein R.M., Inscow M.N. (Eds.), Behavior-modifying Chemical for Insect Management. - Marcel Dekker, New York: 497-516.
- BURKHOLDER W., BOUSH G., 1974 – *Pheromones in stored product insect trapping and pathogen dissemination*. - EPPO Bulletin, 4: 455-461.
- BURKHOLDER W.E., MA M., 1985 – *Pheromones for*

- monitoring and control of stored-product insects. - Annu. Rev. Entomol., 30: 257-272.
- BURKS C.S., BRANDL D.G., KUENEN L.P.S., REYES C.C., FISHER J.M., 2010 – *Pheromone traps for monitoring Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) in the presence of mating disruption*. - Proc. 10th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Estoril: 79-84.
- BURKS C.S., McLAUGHLIN J.R., MILLER J.R., BRANDL D.G., 2011 – *Mating disruption for control of Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) in dried beans*. J. Stored Prod. Res. 47: 216-221.
- CAMPBELL J.F., 2007 – *Interpretation of pheromone monitoring programs for stored-product insects*. - IOBC/wprs Bull., 30: 57-62.
- CAMPBELL J.F., MULLEN M.A., 2004 – *Distribution and dispersal behavior of Trogoderma variable Ballion and Plodia interpunctella (Hübner) outside a food processing plant*. - J. Econ. Entomol., 97: 1455-1464.
- CAMPOS-FIGUEROA M., 2008 – *Attract-and-kill methods for control of Indianmeal moth, Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), and comparisons with other pheromone-based control methods*. - PhD thesis. Oklahoma State Univ.: 1-114.
- CARVALHO M.O., MEXIA A., 2002 – *The use of pheromone traps for mass-trapping of Lasioderma serricorne in a cigarette factory in Portugal*. - 8th Int. Working Conf. Stored-product Prot., York: 222-229.
- COX P.D., 2004 – *Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation*. - J. Stored Prod. Res., 40: 1-25.
- CUPERUS G.W., FARGO W.S., FLINN P.W., HAGSTRUM D.W., 1990 – *Variables affecting capture of stored-grain insects in probe traps*. - J. Kansas Ent. Soc., 63: 486-489.
- DOUD C.W., PHILLIPS T.W., 2000 – *Activity of Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae) in and around flour mills*. - J. Econ. Entomol., 93: 1842-1847.
- EPA (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY), 2006 – *Lepidopteran pheromones: exemption from a requirement of a tolerance*. - Fed. Regist., 71: 45395-45400.
- EU (European Union), 1991 – *Attractants, repellents and masking agents, including plant extracts and pheromones and other semiochemicals*. - Directive 91/414/EEC.
- FADAMIRO H.Y., BAKER T.C., 2002 – *Pheromone puffs suppress mating by Plodia interpunctella and Sitotroga cerealella in an infested corn store*. - Entomol. Exp. Appl., 102: 239-251.
- FLEURAT-LESSARD F., PIMAUD M.F., CANGARDEL H., 1986 – *Effets de doses élevées de Zeta sur Plodia interpunctella Hübner (Lépidoptère: Pyralidae) dans le stocks de pruneaux d'anguin*. In: *Les Pheromones Sexuelles des Lépidoptères*. - Centre de recherches INRA de Bordeaux: 163-169.
- HAGSTRUM D.W., FLINN P.W., 1996 – *Integrated Pest Management*. In: Subramanyam B., Hagstrum D.W. (Eds.), *Integrated management of insects in stored products*. - Marcel Dekker, New York: 399-408.
- HODGES R.J., BENTON F.P., HALL D.R., DOS SANTOS SERODIO R., 1984 – *Control of Ephestia cautella (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae) by synthetic sex pheromone in the laboratory and store*. - J. Stored Prod. Res., 20: 191-197.
- HUGGETT N.J., STORM C.G., SMITH M.J., 2010 – *Behavioural effects of pheromone-based control system, ExosexTM SPTab, on male Indianmeal moth, Plodia interpunctella*. - Proc. 10th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Estoril: 119-124.
- JONES O.T., 1998 – *The commercial exploitation of pheromones and other semiochemicals*. - Pest. Sci., 54: 293-296.
- LEVINSON H.Z., BUCHELOS C.T., 1981 – *Surveillance of storage moth species (Pyralidae, Gelechiidae) in a flour mill by adhesive traps with notes on the pheromone-mediated flight behaviour of male moths*. - Z. Angew. Entomol., 92: 233-251.
- LEVINSON H.Z., LEVINSON A., 1985 – *Use of pheromone traps for the proper timing of fumigation in the storage environment*. - EPPO Bulletin, 15: 43-50.
- LEVINSON H.Z., LEVINSON A., 1987 – *Pheromone biology of the tobacco beetle (Lasioderma serricorne F., Anobiidae) with notes on the pheromone antagonism between 4S,6S,7S- and 4S,6S,7R-serricornin*. - J. Appl. Entomol., 103: 217-240.
- LEVINSON A., LEVINSON H., 1995 – *Reflection on structure and function of pheromone glands in storage insect species*. - Anz. Schadlingsk., Pflanzenschutz, Umweltschutz, 69: 99-118.
- LONGSTAFF B.C., 1997 – *Decision support system for pest management in grain stores: case history*. - Agricultural Systems and Information Technology: bureaus of rural resources newsletter, 7: 17-21.
- MAFRA-NETO A., BAKER T.C., 1996 – *Timed metered sprays of pheromone disrupt mating of Cadra cautella (Lepidoptera: Pyralidae)*. - J. Agric. Entomol., 13: 149-168.
- MANKIN R.W., ARBOGAST R.T., KENDRA P.E., WEAVER O.K., 1999 – *Active spaces of pheromone traps for Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae) in enclosed environments*. - Environ. Entomol., 28 (4): 557-565.
- MUELLER D., 2010 – *Mating disruption in Plodia interpunctella (H.)*. - Int. Pest Control, 59: 88-90.
- MULLEN M.A., 1992 – *Development of a pheromone trap for monitoring Tribolium castaneum*. - J. Stored Prod. Res., 28: 245-249.
- NANSEN C., PHILLIPS T.W., 2003 – *Attracticide for control of Indianmeal Moth, Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)*. - 8th Int. Working Conf. Stored-product Prot., York: 306-310.
- NANSEN C., PHILLIPS T.W., 2004 – *Attractancy and toxicity of an attracticide for the Indianmeal moth, Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae)*. - J. Econ. Entomol., 97: 703-710.
- NANSEN C., CAMPBELL J.F., PHILLIPS T.W., MULLEN M.A., 2003 – *The impact of spatial structure on the accuracy of contour maps of small data sets*. - J. Econ. Entomol., 96: 1617-1625.
- PEASE G., CAI L.I., STORM C.G., 2010 – *Efficacy of pheromone-based control system, ExosexTM SPTab, against moth pests in European food processing facilities*. - Proc. 10th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Estoril: 183-189.
- PHILLIPS T.W., 1997 – *Semiochemicals of stored-product insects: research and applications*. - J. Stored Prod. Res., 33: 17-30.
- PHILLIPS T.W., COGAN P.M., FADAMIRO H.Y., 2000 – *Pheromones*. In: Subramanyam B., Hagstrum D.W. (Eds.), *Alternatives to pesticides in stored-product IPM*. - Kluwer Academic Publishers, Norwell: 273-302.
- PIERCE L.H., 1994 – *Using pheromones for the location and suppression of phycitid and cigarette beetles in Hawaii – a five-year summary*. - 6th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Canberra: 439-433.
- PIERCE L., 1998 – *Suppression of cigarette beetles, Lasioderma serricorne (F.), by focused mass trapping*. - Proc. 7th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Beijing: 1455-1463.
- PLARRE R., 1998 – *Pheromones and other semiochemicals of stored product insects. A historical review, current application, and perspective needs*. - Mitt. Biol. Bundesanst. Land-Forstwirtsch., 342: 13-83.
- PREVETT P.F., BENTON F.P., HALL D.R., HODGES R.J., DOS SANTOS SERODIO R., 1989 – *Suppression of mating in*

- Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Phycitidae). - J. Stored Prod. Res., 25: 147-154.
- RYNE C., SVENSSON G.P., LÖFSTEDT C., 2001 – *Mating disruption of Plodia interpunctella in small-scale plots: effects of pheromone blend, emission rates and population density*. - J. Chem. Ecol., 27 (10): 2109-2124.
- RYNE C., EKEBERG M., JONZÉN N., OEHLISCHLAGER C., LÖFSTEDT C., ANDERBRANT O., 2006 – *Reduction in an almond moth Ephestia cautella (Lepidoptera: Pyralidae) population by means of mating disruption*. - Pest Manag. Sci., 62: 912-918.
- RYNE C., SVENSSON G.P., ANDERBRANT O., LÖFSTEDT C., 2007 – *Evaluation of long-term mating disruption of Ephestia kuehniella and Plodia interpunctella (Lepidoptera: Pyralidae) in indoor storage facilities by pheromone traps and monitoring of relative aerial concentrations of pheromone*. - J. Econ. Entomol., 100: 1017-1025.
- SAVOLDELLI S., SÜSS L., 2010 – *Integrated control of Ephestia cautella (Walker) in a confectionary factory*. - Proc. 10th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Estoril: 991-992.
- SHANI A., CLEARWATER J., 2001 – *Evasion of mating disruption in Ephestia cautella (Walker) by increased pheromone production relative to that of undisturbed populations*. - J. Stored Prod. Res., 37: 237-252.
- SHAPAS T.J., BURKHOLDER W.E., BOUSH G.M., 1977 – *Population suppression of Trogoderma glabrum by using pheromone luring for protozoan pathogen dissemination*. - J. Econ. Entomol., 70 (4): 469-474.
- SHUMANN S., EPSKY N.D., 1998 – *Computerized monitoring of stored-product insects populations*. - Proc. 7th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Beijing: 1429-1436.
- SIEMINSKA E., RYNE C., LÖFSTEDT C., ANDERBRANT O., 2009 – *Long-term pheromone-mediated mating disruption of the Mediterranean flour moth, Ephestia kuehniella, in a flour mill*. - Entomol. Exp. Appl., 131: 294-299.
- SMITH S.S., MORE D., KARANJA L.W., CHANDI E.A., 1999 – *Formulation of vegetable fat pellets with pheromone and Beauveria bassiana to control the larger grain borer, Prostephanus truncatus (Horn)*. - Pest Man. Sci., 55 (7): 711-718.
- SOWER L.L., WITMER G.P., 1977 – *Population growth and mating success of Indianmeal moths and Almond moths in the presence of synthetic sex pheromone*. - Environ. Entomol., 6: 17-20.
- SOWER L.L., TURNER W.K., FISH J.C., 1975 – *Population-density-dependent mating frequency among Plodia interpunctella (Lepidoptera: Phycitidae) in the presence of synthetic sex pheromone with behavioral observations*. - J. Chem. Ecol., 1: 335-342.
- SUBRAMANYAM B., HAGSTRUM D.W., 1996 – *Sampling*. In: Subramanyam B., Hagstrum D.W. (Eds.), Integrated management of insects in stored products. - Marcel Dekker, New York: 135-193.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., MARRONE R., 1996 – *Possibilities and limits of mass trapping and mating disruption techniques in the control of Ephestia kuehniella (Zell.) (Lepidoptera Phycitidae)*. - Boll. Zool. agr. Bachic., 28: 77-89.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., MARRONE R., 1999 – *Mating suppression of the Mediterranean flour moth (Ephestia kuehniella Zeller) (Lepidoptera Pyralidae) in a food industry*. - Boll. Zool. agr. Bachic., 31: 59-66.
- SÜSS L., SAVOLDELLI S., 2009 – *Mass trapping and mating disruption to control Cadra cautella (Walker) in a confectionery factory*. - IOBC/wprs Bulletin, 69:143-149.
- TREMATERRA P., 1990 – *Population dynamic of Ephestia kuehniella Zeller in flour mill: three years of mass-trapping*. - Proc. 6th Int. Work. Conf. Stored-product Prot., Bordeaux: 1435-1443.
- TREMATERRA P., 1994 – *Control of Ephestia kuehniella Zeller by sex pheromones in the flour mills*. - Anz. Schadlingsk., Pflanzenschutz, Umweltschutz, 67: 74-77.
- TREMATERRA P., 1995 – *The use of attracticide method to control Ephestia kuehniella Zeller in flour mills*. - Anz. Schadlingskde. Pflanzenschutz Umweltschutz, 68: 69-73.
- TREMATERRA P., 1997 – *Integrated Pest Management of stored-product insects: practical utilization of pheromones*. - Anz. Schadlingskde. Pflanzenschutz Umweltschutz, 70:41-40.
- TREMATERRA P., 2002 – *Use of pheromones in Integrated Pest Management of stored-products*. Encyclopedia of Pest Management - Marcel Dekker, Inc., New York: 1-4.
- TREMATERRA P., CAPIZZI A., 1987 – *Esperienze di controllo delle infestazioni di Ephestia kuehniella Zeller nei mulini mediante feromoni*. - Atti del 4° Simposio "Difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari", Piacenza 23-26.IX.1987: 511-518.
- TREMATERRA P., CAPIZZI A., 1991 – *Attracticide method in the control of Ephestia kuehniella Zeller: studies on effectiveness*. - J. Appl. Entomol., 111: 451-456.
- TREMATERRA P., GENTILE P., 2010 – *Five years of mass trapping of Ephestia kuehniella Zeller: a component of IPM in a flour mill*. - J. Appl. Entomol., 134: 149-156.
- TREMATERRA P., SCIARRETTA A., 2002 – *Phenology and spatial analysis of some Coleoptera infesting a feed mill*. - 8th Int. Working Conf. Stored-product Prot., York: 276-280.
- TREMATERRA P., SCIARRETTA A., 2005 – *Il contributo dell'analisi spazio-temporale alla gestione delle infestazioni in ambienti antropizzati*. - Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti, Anno LIII: 135-152.
- TREMATERRA P., PAULA M.C.Z., SCIARRETTA A., LAZZARI S.M.N., 2004 – *Spatio-Temporal Analysis of Insect Pests Infesting a Paddy Rice Storage Facility*. - Neotropical Entomol., 33 (4): 469-479.
- TREMATERRA P., GENTILE P., BRUNETTI A., COLLINS L., CHAMBERS J., 2007 – *Spatio-temporal analysis of trap catches of Tribolium confusum J. du Val in a semolina-mill, with comparison of female and male distribution*. - J. Stored Prod. Res., 43: 315-322.
- TREMATERRA P., ATHANASSIOU C., STEJSKAL V., SCIARRETTA A., KAVALLIERATOS N., PALLYVOS N., 2011 – *Large scale mating disruption of Ephestia spp. and Plodia interpunctella in Czech Republic, Greece and Italy*. - J. Appl. Entomol., 135: 749-762.
- VAIL P.V., HOFFMANN D.F., TEBBETS S.J., 1993 – *Autodissemination of Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) granulosis virus by healthy adults*. - J. Stored Prod. Res., 29: 71-74.
- WAKEFIELD M.E., MOORE D., LUKE B., TAYLOR B., STORM C.G., COLLINS D.A., GRAMMARE P., POTIN O., 2010 – *Progress in the development of a biopesticide for the structural treatment of grain stores*. - Proc. 10th Int. Working Conf. Stored-product Prot., Estoril: 760-765.
- WILEYTO E.P., EWENS W.J., MULLEN M.A., 1994 – *Markov-recapture population estimates: a tool for improving interpretation of trapping experiments*. - Ecology, 75: 1109-1117.
- WRIGHT, E.J., COGAN, P.M., 1995 – *Trapping and sampling: a proposal for standards in reporting*. - J. Stored Prod. Res., 31: 175-176.

ATTIVITÀ BIOLOGICA DI COMPOSTI VOLATILI DEI CEREALI VERSO *SITOPHILUS* SPP.

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 "L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 febbraio 2011.

Bioactivity of cereal volatiles towards Sitophilus spp.

Several studies have been aimed at the evaluation of the biological activity of cereal volatiles towards *Sitophilus granarius* (L.), *S. oryzae* (L.), and *S. zeamais* Motschulsky in order to find new bioactive molecules to be used to improve current control strategies. In the absence of visual stimuli, odours emitted by grains of various cereals attract adults of the three species. Such attractiveness is higher when the grains are broken mainly due to an increased release of volatile compounds. Detailed chemical analyses identified volatiles emitted by grains of different cereal species and elucidated as their profile change during storage and processing. Electrophysiological studies demonstrated the capability of the antennal olfactory system of *Sitophilus* spp. adults to perceive a wide variety of cereal volatiles. In olfactometer bioassays, testing the behavioural activity of various EAG-active compounds to the three weevils both attractants and repellents were found. In many cases, the behavioural response was dose-dependent. Some repellent compounds were effective in reducing or inhibiting the attractiveness of cereal grains towards adult weevils. Moreover, some highly volatile repellents showed a marked fumigant toxicity.

On the whole, studies demonstrated that cereal volatiles play an important role in the host finding process by *Sitophilus* spp. and suggested that insects' choices depend, in part at least, on the balance of attractant and repellent stimuli. Prospects for practical application of bioactive compounds for the development of semiochemicals-based *Sitophilus* spp. management systems are discussed.

KEY WORDS: weevils, semiochemicals, attractant, repellent, natural fumigants, stored-products pests, Integrated Pest Management.

INTRODUZIONE

Sitophilus granarius (L.), *S. oryzae* (L.) e *S. zeamais* Motschulsky, rispettivamente noti come Punteruolo del grano, del riso e del mais, sono importanti infestanti primari dei cereali immagazzinati in grado di attaccare anche grano saraceno, ghiande, castagne secche, leguminose da granella, paste alimentari (DOMENICHINI, 1997; SÜSS & LOCATELLI, 2001).

Il controllo di tali specie, difficile per lo sviluppo endofitico degli stadi giovanili, è reso ulteriormente complicato dalle limitazioni legislative imposte all'uso del bromuro di metile e di alcuni principi attivi di sintesi ad attività residuale. Di contro, una sempre maggiore attenzione è posta dai consumatori per alimenti sani e sicuri e verso problematiche di natura ambientale. Per tali motivi, da diversi anni, la ricerca è indirizzata verso l'individuazione di molecole biologicamente attive da utilizzare per la messa a punto di strategie innovative ed ecosostenibili di lotta. In tale contesto, un contributo significativo di nuove

conoscenze è stato fornito dallo studio dei semiochimici delle tre specie.

I semiochimici sono messaggeri chimici intra-specifici (feromoni) ed interspecifici (allelochimici) che regolano vari aspetti della vita di relazione degli insetti. La loro caratteristica principale è la capacità di agire come modificatori del comportamento che, associata ad un'elevata specificità, rende tali molecole particolarmente idonee per la messa a punto di mezzi indiretti (catture spia) e diretti (cattura massale, lotta attratticida, confusione sessuale, disorientamento) di lotta contro le specie dannose.

Studi sui semiochimici intraspecifici dei tre curculionidi hanno portato all'identificazione del feromone di aggregazione di *S. granarius* [1-etilpropil-(2S,3R)-3-idrossi-2-metilpentanoato] (PHILLIPS *et al.*, 1989; CHAMBERS *et al.*, 1996) e di *S. oryzae* e *S. zeamais* [(4S,5R)-5-idrossi-4-metileptan-3-one] (SCHMUFF *et al.*, 1984; WALGENBACH *et al.*, 1987 b). Tali molecole, formulate in opportuni erogatori e trappole, sono correntemente utilizzate per rilevare la presenza degli adulti e seguire

l'andamento delle popolazioni nei depositi di cereali e nelle industrie alimentari.

Diverse ricerche sono state indirizzate anche all'identificazione di semiochimici interspecifici coinvolti nelle interazioni *Sitophilus* spp. e cereali. Gli adulti delle tre specie necessitano di localizzare adeguatamente i propri ospiti per soddisfare esigenze alimentari, di accoppiamento e di ovideposizione ma anche per evitare la colonizzazione di substrati sub-ottimali (VISSER, 1986; AGELOPOULOS *et al.*, 1999). Il processo di localizzazione dell'ospite da parte di un fitofago è in genere suddiviso in (i) localizzazione dell'habitat, (ii) localizzazione dell'ospite e (iii) accettazione dell'ospite. Nelle prime due fasi, gli insetti utilizzano principalmente stimoli chimici volatili emessi dalle piante mentre, nella terza, prevalgono stimoli chimici di contatto. In ciascuna fase, la scelta dell'insetto dipende dal bilancio tra stimoli positivi e negativi (DETHIER, 1982; MILLER & STRICKLER, 1984), come evidenziato anche in *S. granarius* (GERMINARA *et al.*, 2008). E' evidente che i composti volatili dei cereali, ospiti preferiti dai tre curculionidi, rappresentano un'importante fonte di molecole bioattive potenzialmente utilizzabili per la messa a punto di nuove strategie di controllo.

L'identificazione di composti volatili di origine vegetale attivi verso un fitofago richiede l'individuazione di una sorgente naturale attrattiva, l'estrazione e la caratterizzazione chimica dei composti volatili emessi, la dimostrazione che il sistema olfattivo dell'insetto è in grado di percepire almeno parte dei composti identificati, lo studio della risposta comportamentale dell'insetto verso diverse dosi di composti singoli e loro miscele. Per le tre specie di *Sitophilus* sono stati condotti studi relativamente ad una o più delle suddette fasi della ricerca che hanno portato all'identificazione di molecole ad attività attrattiva (caiomoni) e repellente (allomoni).

ATTRATTIVITÀ DI CEREALI E LORO ESTRATTI

L'attrattività di vari cereali verso gli adulti dei tre curculionidi è stata ampiamente dimostrata. Gli adulti di *S. granarius* sono attratti dagli odori emessi da cariossidi di frumento e l'attrattività del cereale conservato è maggiore rispetto a quella del frumento appena raccolto (LEVINSON & LEVINSON, 1978; LEVINSON & KANAUIA, 1981), probabilmente per un maggiore rilascio di alcune sostanze volatili attrattive (GERMINARA *et al.*, 2008). Entrambi i sessi della stessa specie rispondono positivamente ad estratti da cariossidi di frumento ottenuti con solventi a diversa polarità (LEVINSON & KANAUIA, 1982). Gli adulti di *S. oryzae* sono attratti dagli odori di riso,

mais, frumento e farro e, per alcuni di questi cereali, l'attrattività aumenta in seguito alla rottura della cariosside (TREMATERRA & GIRGENTI, 1989; TREMATERRA *et al.*, 1999). Effetti attrattivi verso *S. zeamais* sono riportati per le cariossidi di mais e riso e loro estratti (HONDA *et al.*, 1969; TIPPING *et al.*, 1986; TREMATERRA *et al.*, 2007; TREMATERRA, 2009) e per quelle di frumento tenero (UKEH *et al.*, 2010).

E' stato accertato che gli odori delle cariossidi rotte di alcuni cereali hanno effetti additivi, in alcuni casi sinergici, sull'attrattività del feromone di aggregazione in *S. oryzae* e *S. zeamais* (WALGENBACH *et al.*, 1987 a; TREMATERRA & GIRGENTI, 1989; PHILLIPS *et al.*, 1993; LIKHAYO & HODGES, 2000). L'uso combinato di tali stimoli permette di migliorare la sensibilità delle trappole a feromone per il monitoraggio dei curculionidi con vantaggi pratici evidenti in considerazione delle difficoltà di controllo dovute allo sviluppo endofitico degli stadi preimmaginali e della conseguente necessità di effettuare trattamenti tempestivi contro gli adulti.

IDENTIFICAZIONE DI COMPOSTI VOLATILI

La caratterizzazione chimica dei composti volatili emessi da diverse specie di cereali e prodotti derivati è stata oggetto di estesi studi soprattutto nel campo delle tecnologie alimentari. Tali ricerche hanno permesso di identificare non solo le diverse decine di composti che concorrono a formare l'aroma di vari cereali ma anche di chiarire le variazioni che i profili aromatici subiscono durante lo stoccaggio ed i vari processi di trasformazione.

Una caratteristica comune alle cariossidi dei diversi cereali è il rilascio limitato di sostanze volatili dovuto alla presenza del pericarpo e alla sua naturale azione protettiva (BULLARD & HOLGUIN, 1977; ZHOU *et al.*, 1999). Per tale motivo, in diversi lavori di identificazione si è fatto ricorso alla rottura meccanica della granella e al suo riscaldamento prima e durante l'estrazione. Tali trattamenti determinano un maggior rilascio di sostanze volatili ma non inducono variazioni qualitative apprezzabili della miscela odorosa (HOUGEN *et al.*, 1971).

I componenti principali degli odori dei diversi cereali sono composti alifatici saturi e insaturi a corta catena (aldeidi, alcoli e chetoni) e composti aromatici; in misura minore, si riscontrano anche idrocarburi e composti terpenici (MAGA, 1978; ZHOU *et al.*, 1999).

Nel complesso, le accurate indagini chimiche, condotte per la caratterizzazione dell'aroma dei cereali, danno un valido contributo allo studio dei semiochimici coinvolti nelle interazioni *Sitophilus* spp. e cereali.

PERCEZIONE OLFATTIVA DI SOSTANZE VOLATILI

La capacità del sistema olfattivo periferico di un insetto di percepire composti volatili può essere dimostrata e misurata attraverso tecniche elettrofisiologiche condotte a livello antennale (elettroantennografia, EAG), sensillare (Single Sensillum Recording, SSR) e cellulare (Single Cell Recording, SCR). Tali tecniche permettono di selezionare sostanze a presunta attività biologica in quanto un composto elettrofisiologicamente attivo in genere svolge, da solo o in combinazione con altri stimoli, un ruolo biologico (ROTUNDO, 1994).

Nelle tre specie di *Sitophilus*, la presenza di sensilli chemiorecettori è limitata alla regione terminale dell'ultimo antenno, come chiaramente evidenziato in *S. granarius* (LEVINSON & KANAUIA, 1982). Uno studio sulle risposte EAG di maschi e femmine di *S. granarius* e *S. zeamais* verso 32 composti volatili, identificati dalle cariossidi di diversi cereali (grano, mais, orzo, riso, avena, segale), ha dimostrato la capacità dei sistemi olfattivi di percepire un'ampia varietà di tali sostanze (GERMINARA *et al.*, 2002). Tra le due specie e tra i sessi della stessa specie esistono differenze di sensibilità olfattiva verso gli stessi composti, probabilmente dovute ad un diverso numero di neuroni olfattivi deputati alla loro percezione.

La sensibilità olfattiva di *S. granarius* è risultata maggiore di quella di *S. zeamais*. In entrambe le specie, gli alcoli ed i chetoni alifatici sono risultati i composti elettrofisiologicamente più attivi e le femmine hanno mostrato una maggiore capacità di discriminare tra gli odori di origine vegetale, probabilmente per l'esigenza di localizzare il substrato di ovideposizione. Del resto, per le specie le cui larve non sono in grado di allontanarsi da un substrato inadatto, come *Sitophilus* spp., l'individuazione di un sito di ovideposizione ottimale è di fondamentale importanza per la loro sopravvivenza (RENNICK, 1989).

RISPOSTE COMPORTAMENTALI

La risposta comportamentale (attrazione, repellenza) degli adulti delle tre specie di *Sitophilus* verso stimoli chimici volatili è stata studiata principalmente mediante "pitfall bioassays" ovvero biosaggi con trappola a caduta, nelle versioni a scelta doppia (PHILLIPS & BURKHOLDER, 1981) e singola (MORGAN *et al.*, 1998). Per *S. granarius*, è stata dimostrata la corrispondenza tra i risultati ottenuti mediante pitfall bioassay ed olfattometro ad Y (COLLINS *et al.*, 2004). Le condizioni sperimentali adottate in tali biosaggi non sono generalizzabili per le diverse specie e per ognuna di esse hanno richiesto opportuni ade-

guamenti al fine di ottimizzare le differenze tra le risposte allo stimolo ed al controllo.

Tra le sostanze volatili dei cereali, pentanale, maltolo e vanillina sono attrattivi per gli adulti di *S. oryzae* e svolgono un effetto additivo sulla risposta del curculionide al feromone di aggregazione (PHILLIPS *et al.*, 1993). Al contrario, in *S. zeamais* una miscela sintetica di volatili identificati dalle cariossidi di mais in combinazione con il feromone di aggregazione non ha indotto, rispetto al feromone, un significativo aumento delle catture nelle trappole (HODGES *et al.*, 1998).

Lo studio della risposta comportamentale degli adulti di *S. granarius* a diverse dosi di 21 composti volatili dei cereali EAG attivi ha individuato cinque sostanze attrattive (1-butanolo, 3-metil-1-butanolo, pentanale, maltolo, vanillina), dodici repellenti [1-esanolo, butanale, esanale, eptanale, (E)-2-esanale, (E,E)-2,4-nonadienale, (E,E)-2,4-decadienale, 2,3-butandione, 2-pentanone, 2-esanone, 2-eptanone, furfurale] e tre sostanze attrattive a dosi basse e repellenti a dosi elevate [1-pentanolo, (E,E)-2,4-eptadienale, fenilacetaldeide] (GERMINARA *et al.*, 2008). Saggiando gli stessi composti, alle medesime dosi, sono stati individuati 11 attrattivi e 3 repellenti per gli adulti di *S. zeamais* e 14 attrattivi e 7 repellenti per quelli di *S. oryzae* (dati non pubblicati). Il minor numero di composti attrattivi ed il maggior numero di repellenti, individuati per *S. granarius*, è probabilmente dovuto alla più limitata nicchia ecologica occupata da tale specie, presente solo negli ambienti di conservazione e, di conseguenza, alla maggiore necessità di evitare substrati sub-ottimali di alimentazione e di ovideposizione.

La formazione di alcuni composti repellenti può aumentare durante la conservazione dei cereali in seguito a processi degradativi a carico dei diversi componenti della cariossidi (PIGGOT *et al.*, 1991; HEINIÖ *et al.*, 2002; MOLTEBERG *et al.*, 1996), spesso innescati dallo sviluppo di microrganismi (MAGAN & EVANS, 2000). Un fenomeno comune ai tre curculionidi è la stretta correlazione tra la dose di tali composti e l'intensità della risposta di repellenza, indicativa di una notevole capacità di rilevare variazioni quantitative nel profilo odoroso dei cereali e di adottare opportuni comportamenti.

Studi sono stati condotti per valutare la capacità degli attrattivi e dei repellenti di interferire sul processo di localizzazione dell'ospite nelle tre specie di *Sitophilus*. Nel complesso, singole sostanze attrattive e loro miscele hanno una limitata capacità di competere con il substrato naturale mentre vari composti repellenti, da soli e ancor più in miscela, sono in grado di inibire o ridurre l'attrattività del substrato ospite verso gli adulti (GERMINARA *et al.*, 2007; GERMINARA *et al.*, 2011 a).

Per alcuni repellenti molto volatili è stata osservata anche un'elevata tossicità per inalazione. Tra questi, risultati del tutto comparabili a quelli di altri fumiganti naturali (RAJENDRAN & SRIRANJINI, 2008), sono stati mostrati dall'acido propionico e dalle aldeidi (*E*)-2-esenale, (*E*)-2-nonenale ed (*E,Z*)-2,6-nonadienale verso *S. granarius* e *S. oryzae* (GERMINARA *et al.*, 2007; HUBERT *et al.*, 2008) e dai chetoni 2-pentanone, 2-esanone e 2-eptanone verso *S. granarius* (GERMINARA *et al.*, 2011 a).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Studi elettrofisiologici e comportamentali dimostrano che sostanze volatili dei cereali sono coinvolte nei processi di localizzazione dell'habitat e dell'ospite delle tre specie di *Sitophilus* spp. Ricerche sono necessarie per individuare eventuali stimoli chimici di contatto probabilmente coinvolti nella fase di accettazione dell'ospite.

Sono stati identificati vari composti dei cereali, ad attività attrattiva (caiomoni) e repellente (allomoni), in grado di agire come modificatori del comportamento degli insetti e, quindi, potenzialmente utili per la messa a punto di nuove strategie ecosostenibili di lotta. Rispetto agli insetticidi di sintesi, infatti, i semiochimici sono più sicuri per la salute degli operatori e dei consumatori e a minor impatto per l'ambiente in quanto normalmente presenti in natura, attivi a basse dosi, facilmente biodegradabili e con bassissima tossicità verso i vertebrati.

Le sostanze attrattive mostrano buone possibilità di impiego per potenziare l'attività dei feromoni di aggregazione dei tre curculionidi e, quindi, per migliorare l'efficacia degli attuali sistemi di monitoraggio. La scarsa capacità, delle sostanze attrattive attualmente note, di competere con il substrato naturale non lascia intravedere ulteriori prospettive di applicazione pratica.

Risultati incoraggianti sono stati ottenuti con le sostanze repellenti. Alcune di esse, anche a basse dosi, inibiscono efficacemente l'orientamento degli adulti di *Sitophilus* spp. verso le cariossidi di cereale, probabilmente per un meccanismo di alterazione del blend odoroso non più riconosciuto dall'insetto, come dimostrato anche in altre specie (NAJAR-RODRIGUEZ *et al.*, 2010; CHA *et al.*, 2011). Tra le molecole repellenti, diverse sono classificate come sostanze sicure (GRAS, Generally Regarded as Safe) dalla Food and Drug Administration ed autorizzate all'uso come additivi in campo alimentare, in cui potrebbero trovare applicazione anche per la prevenzione delle infestazioni. Una possibilità è quella di preparare imballaggi repellenti per inibire la penetrazione degli insetti nelle confezioni (GERMINARA

et al., 2010; GERMINARA *et al.*, 2011 b). Gli stessi composti potrebbero essere utilizzati per creare barriere chimiche in grado di mascherare gli odori delle masse di cereali ed impedirne la localizzazione da parte degli insetti. Altra potenziale applicazione è la bioirritazione degli infestanti durante i trattamenti insetticidi con prodotti di contatto al fine di migliorarne l'efficacia in conseguenza della maggiore motilità indotta negli insetti (COX, 2004). Infine, l'attività fumigante, mostrata da alcuni repellenti, apre nuove prospettive di applicazione di tali molecole per il trattamento dei cereali durante lo stoccaggio.

Attualmente, la rapidità di degradazione e la conseguente bassa persistenza dei repellenti e dei fumiganti naturali sono i fattori principali che ne limitano l'applicazione su larga scala. In futuro, pertanto, lo sviluppo di applicazioni pratiche dipenderà dai risultati di ricerche indirizzate alla messa a punto di sistemi di rilascio controllato, in grado di preservare la stabilità e l'attività biologica delle molecole per il tempo necessario affinché esse possano svolgere efficacemente la loro azione.

RIASSUNTO

Allo scopo di individuare nuove molecole bioattive per migliorare le attuali strategie di controllo di *Sitophilus granarius* (L.), *S. oryzae* (L.) e *S. zeamais* Motschulsky, da diversi anni, numerose ricerche sono indirizzate alla valutazione dell'attività biologica di composti volatili dei cereali verso i tre curculionidi. Gli odori emessi dalle cariossidi di diversi cereali svolgono, in assenza di stimoli visivi, una marcata azione attrattiva verso gli adulti delle tre specie e tale attrattività aumenta con la rottura delle cariossidi per effetto di un maggior rilascio di composti volatili. Approfondite analisi chimiche hanno portato all'identificazione delle sostanze volatili emesse da diversi cereali e chiarito come esse variano durante lo stoccaggio ed i processi di trasformazione. Studi elettrofisiologici hanno dimostrato la capacità del sistema olfattivo antennale degli adulti di *Sitophilus* spp. di percepire un'ampia varietà di composti volatili dei cereali. In saggi olfattometrici, gli adulti delle tre specie hanno esibito risposte comportamentali di attrazione e di repellenza, spesso dipendenti dalla dose, verso vari composti EAG attivi. Diversi repellenti sono risultati efficaci nell'inibire l'attrattività delle cariossidi di cereali verso gli adulti dei curculionidi. Alcuni repellenti hanno anche una marcata tossicità per inalazione.

Nel complesso, gli studi indicano che composti volatili dei cereali svolgono un ruolo importante nel processo di ricerca dell'ospite in *Sitophilus* spp. e suggeriscono che le scelte degli insetti dipendono, almeno in parte, dal bilancio tra stimoli chimici attrattivi e repellenti. Sono discusse le principali prospettive di applicazione pratica dei composti bioattivi identificati per il controllo integrato dei tre curculionidi.

BIBLIOGRAFIA

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 semiochemicals in insect control*. - Pestic. Sci., 55: 225-35.

- BULLARD R.W., HOLGUIN G., 1977 – *Volatile components of unprocessed Rice (Oryza sativa L.)*. - J. Agric. Food Chem., 25: 99-103.
- CHA D.H., LINN C.E., TEAL P.E.A., ZHANG A., ROELOFS W.L., LOEB G.M., 2011 – *Eavesdropping on plant volatiles by a specialist moth: significance of ratio and concentration*. - PLoS ONE 6:e17033.
- CHAMBERS J., VAN WYK C.B., WHITE P.R., GERRARD C.M., MORI K., 1996 – *Grain weevil, Sitophilus granarius (L.): antennal and behavioral responses to male-produced volatiles*. - J. Chem. Ecol., 22: 1639-1654.
- COLLINS L.E., WAKEFIELD M.E., CHAMBERS J., COX P.D., 2004 – *Progress towards a multi-species lure: comparison of behavioural bioassay methods for multi-species attractants against three pests of stored grain*. - J. Stored Prod. Res., 40: 341-353.
- COX P.D., 2004 – *Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation*. - J. Stored Prod. Res., 40: 1-25.
- DETHIER V.G., 1982 – *Mechanism of host-plant recognition*. - Ent. Exp. et Appl., 31: 49-56.
- DOMENICHINI G., 1997 – *Atlante delle impurità solide negli alimenti*. Chirioti Editori, Pinerolo (To), Italia: 408 pp.
- GERMINARA G.S., ROTUNDO G., DE CRISTOFARO A., GIACOMETTI R., 2002 – *Risposte elettroantennografiche di Sitophilus granarius (L.) e S. zeamais Motschulsky a sostanze volatili dei cereali*. - Tec. Molit., 53: 27-34.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2007 – *Repellence and fumigant toxicity of propionic acid against adults of Sitophilus granarius (L.) and S. oryzae (L.)*. - J. Stored Prod. Res., 43: 229-233.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2008 – *Behavioral responses of adult Sitophilus granarius to individual cereal volatiles*. - J. Chem. Ecol., 34: 523-529.
- GERMINARA G.S., CONTE A., LECCE L., DI PALMA A., DEL NOBILE M.A., 2010 – *Propionic acid in bio-based packaging to prevent Sitophilus granarius (L.) (Coleoptera, Dryophthoridae) infestation in cereal products*. - Inno. Food Sci. Emerg. Technol., 11: 498-502.
- GERMINARA G.S., DE CRISTOFARO A., ROTUNDO G., 2011 a – *Bioactivity of short-chain aliphatic ketones against adults of the granary weevil, Sitophilus granarius (L.)*. - Pest Manag. Sci., doi:10.1002/ps.2272, in stampa.
- GERMINARA G.S., CONTE A., DE CRISTOFARO A., LECCE L., DI PALMA A., ROTUNDO G., DEL NOBILE M.A., 2011 b – *Electrophysiological and behavioral activity of (E)-2-hexenal in the granary weevil and its application in food packaging*. - J. Food Prot., doi:10.4315/0362-028X.JFP-11-142, in stampa.
- HEINIÖ R.-L., LEHTINEN P., OKSMAN-CALDENTY K.-M., POUTANEN K., 2002 – *Differences between sensory profiles and development of rancidity during long-term storage of native and processed oat*. - Cereal Chem., 79: 367-375.
- HODGES R.J., HALL D.R., MBUGUA J.N., LIKHAYO P.W., 1998 – *The responses of Prostephanus truncatus (Coleoptera: Bostrichidae) and Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) to pheromone and synthetic maize volatiles as lures in crevice or flight traps*. - Bull. Entomol. Res., 88: 131-139.
- HONDA H., YAMAMOTO I., YAMAMOTO R., 1969 – *Attractant for rice weevil Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Rhynchophoridae) from rice grains. 1. Bioassay method for the attractancy of rice grains to rice weevils*. - Appl. Entomol. Zool., 4: 23-31.
- HOUGEN F.W., QUILLIAM M.A., CURRAN W.A., 1971 – *Headspace vapors from cereal grains*. - J. Agric. Food Chem., 19: 182-183.
- HUBERT J., MÜNZBERGOVÁ Z., SANTINO A., 2008 – *Plant volatile aldehydes as natural insecticides against stored-product beetles*. - Pest Manag. Sci., 64: 57-64.
- LEVINSON H.Z., LEVINSON A.R., 1978 – *Dried seeds, plant and animal tissues as food favoured by storage insect species*. - Entomol. Exp. Appl., 24: 305-317.
- LEVINSON H.Z., KANAUIA K.R., 1981 – *Phagostimulatory responses of male and female Sitophilus granarius to newly harvested and stored wheat grains*. - Naturwissenschaften, 68: 44.
- LEVINSON H.Z., KANAUIA K.R., 1982 – *Feeding and oviposition behaviour of the granary weevil (Sitophilus granarius L.) induced by stored wheat, wheat extracts and dummies*. - Z. Angew. Entomol., 93: 292-305.
- LIKHAYO P.W., HODGES R.J., 2000 – *Field monitoring Sitophilus zeamais and Sitophilus oryzae (Coleoptera: Curculionidae) using refuge and flight traps baited with synthetic pheromone and cracked wheat*. - J. Stored Prod. Res., 36: 341-353.
- MAGA J.A., 1978 – *Cereal volatiles: a review*. - J. Agric. Food Chem., 26: 175-178.
- MAGAN N., EVANS P., 2000 – *Volatiles as an indicator of fungal activity and differentiation between species, and the potential use of electronic nose technology for early detection of grain spoilage*. - J. Stored Prod. Res., 36: 319-340.
- MILLER J.R., STRICKLER K.S., 1984 – *Finding and accepting host plants*. In: BELL W.J., CARDE R.J. (Eds.). Chemical ecology of insects. Chapman and Hall, London, pp. 127-157.
- MOLTEBERG E.L., MAGNUS E.M., BJØRGE J.M., NILSSON A., 1996 – *Sensory and chemical studies of lipid oxidation in raw and heat-treated oat flours*. - Cereal Chem., 73: 579-587.
- MORGAN C., SHERINGTON J., GUDRUPS I., BOWDEN N.S., 1998 – *The assessment of potential attractants to beetle pests: improvements to laboratory pitfall bioassay methods*. - J. Stored Prod. Res., 34: 59-74.
- NAJAR-RODRIGUEZ A.J., GALIZIA C.G., STIERLE J., DORN S., 2010 – *Behavioral and neurophysiological responses of an insect to changing ratios of constituents in host plant-derived volatile mixtures*. - J. Exp. Biol., 213: 3388-3397.
- PHILLIPS J.K., BURKHOLDER W.E., 1981 – *Evidence for a male produced aggregation pheromone in the rice weevil*. - J. Econ. Entomol., 47: 539-542.
- PHILLIPS J.K., CHONG J.M., ANDERSEN J.F., BURKHOLDER W.E., 1989 – *Determination of the enantiomeric composition of (R*,S*)-1-ethylpropyl 2-methyl-3-hydroxypentanoate, the male produced aggregation pheromone of Sitophilus granarius*. Entomol. - Exp. Appl., 51: 149-153.
- PHILLIPS T.W., JIANG X.-L., BURKHOLDER W.E., PHILLIPS J.K., TRAN, H.Q., 1993 – *Behavioral responses to food volatiles by two species of stored-product Coleoptera, Sitophilus oryzae (Curculionidae) and Tribolium castaneum (Tenebrionidae)*. - J. Chem. Ecol., 19: 723-734.
- PIGGOT J.R., MORRISON W.R., CLYNE J., 1991 – *Changes in lipids and in sensory attributes on storage of rice milled to different degrees*. - Int. J. Food Sci. Technol., 26: 615-628.
- RAJENDRAN S., SRIRANJINI V., 2008 – *Plant products as fumigants for stored-product insect control*. - J. Stored Prod. Res., 44: 126-135.
- RENWICK J.A.A., 1989 – *Chemical ecology of phytophagous insects*. - Experientia, 45: 223-228.
- ROTUNDO G., 1994 – *Il contributo dell' elettroanten-*

- nografia allo studio dei feromoni sessuali degli insetti*. Atti XVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Udine, 13-18 giugno: 385-397.
- SCHMUFF N.R., PHILIPS J.K., BURKHOLDER W.E., FALES H.M., CHEN C.-W., ROLLER P.P., MA M., 1984 – *The chemical identification of the rice weevil and maize weevil aggregation pheromone*. - Tetrahedron Lett., 25: 1533-1534.
- SÜSS L., LOCATELLI D.P., 2001 – *I parassiti delle derrate*. - Calderini Edagricole, Bologna, Italia, XIV+364 pp.
- TIPPING P.W., MIKOLAJCZAK K.L., RODRIGUEZ J.G., ZILKOWSKI B.W., LEGG D.E., 1986 – *Attraction of Sitophilus oryzae (L.) and S. zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculionidae) to extracts from two corn genotypes*. - J. Kansas Entomol. Soc., 59: 190-194.
- TREMATERRA P., 2009 – *Preferences of Sitophilus zeamais to different types of Italian commercial rice and cereal pasta*. - Bull. Insectol., 62: 103-106.
- TREMATERRA P., GIRGENTI P., 1989 – *Influence of pheromone and food attractants on trapping of Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera: Curculionidae): a new trap*. - J. Appl. Entomol., 108: 12-20.
- TREMATERRA P., FONTANA F., MANCINI M., SCIARRETTA A., 1999 – *Influence of intact and damaged cereal kernels on the behaviour of rice weevil, Sitophilus oryzae (L.) (Coleoptera Curculionidae)*. - J. Stored Prod. Res., 18: 115-119.
- TREMATERRA P., VALENTE A., ATHANASSIOU C.G., KAVALLIERATOS N.G., 2007 – *Kernel-kernel interactions and behavioural responses of the adults maize weevil Sitophilus zeamais Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae)*. - Appl. Entomol. Zool., 42: 129-135.
- UKEH A.D., BIRKETT M.A., BRUCE T.J.A., ALLAN E.J., PICKETT J.A., MORDUE A.J., 2010 – *Behavioural responses of the maize weevil, Sitophilus zeamais, to host (stored-grain) and non-host plant volatiles*. - Pest Manag. Sci., 66: 44-50.
- VISSER J.H., 1986 – *Host odor perception in phytophagous insects*. - Annu. Rev. Entomol., 37: 141-172.
- WALGENBACH C.A., BURKHOLDER W.E., CURTIS M.J., KHAN Z.A., 1987 a – *Laboratory trapping studies with Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae)*. - J. Econ. Entomol., 80: 763-767.
- WALGENBACH C.A., PHILLIPS J.K., BURKHOLDER W.E., KING G.G.S., SLESSOR K.N., MORI K., 1987b – *Determination of chirality in 5-hydroxy-4-methyl-3-heptanone, the aggregation pheromone of Sitophilus oryzae (L.) and S. zeamais Motschulsky*. - J. Chem. Ecol., 13: 2159-2169.
- ZHOU M., ROBARDS K., GLENNIE-HOLMES M., HELLIWELL S., 1999 – *Analysis of volatiles compounds and their contribution to flavor in cereals*. - J. Agric. Food Chem., 47: 3941-3953.

LA CONTAMINAZIONE ENTOMATICA NELLA FILIERA DEGLI ALIMENTI DI ORIGINE VEGETALE: CONTROLLO IGIENICO SANITARIO E LIMITI DI TOLLERANZA

MICHELE MAROLI (*)

(*) già *Dirigente di Ricerca, Dipartimento MIPI, Istituto Superiore di Sanità, Roma*, michele.maroli@gmail.com

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "L'Entomologia merceologica per la prevenzione e la lotta contro gli infestanti delle industrie alimentari". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 febbraio 2011

Pest infestation of vegetable food products: analysis and perspective of defect action levels

Food products, particularly the vegetable ones, are often subjected to several pests attack which can cause not only economic losses, but also health problems. My talk will deal with two studies carried out at the Istituto Superiore di Sanità, Rome, before my retirement.

In the first study, a total of 335 stored food samples were analysed during a period of ten years (1997-2006). Results are given with regards to: (i) category of the analysed food; (ii) level of infestation; (iii) identification of pest species; and (iv) geographical origin at regional level. An average of 33 analyses were performed each year, with a peak of 58 in 1998. Entomological contaminations were searched by macro- and microscopic analytical methods, as well as by filth-test analysis. Products analysed included more than 30 different categories of foods, the most common being pasta (30.4%), mushrooms (29.0%), flour (9.2%) and rice (6.9%). Among the samples examined, 94 (28.0%) resulted arthropod-free. The prevalence of infesting species was different depending upon the category of the analysed product. In particular, the significant increase of analyses on mushrooms (97/335, 30.0%) as compared with the previous 1988-1996 period (43/513, 8.4%), is discussed.

The second study, aimed to evaluate the natural arthropod infestation of edible mushrooms, was carried out on three categories of dried products ('extra', 'special' and 'commercial') on sale in Italy. Three different brands were examined for each category and compared to three brands of canned mushrooms. Samples of 15 and 100 g have been analyzed for dried and canned products, respectively. Six replicates were performed for each sample. Mushrooms contaminated by (i) insect holes alone, or (ii) fungivorous insect larvae were sorted and weighted. Insect larvae detected were counted and measured.

Brands of canned product showed both the lowest (14.7%) and the highest (76.7%) percentages of mushrooms infested by fungivorous larvae, while for the categories of dried mushrooms these values ranged between 38.3% and 69.3%. Insect larval stages belonging to Mycetophilidae and Muscidae families (Diptera) were the most common pests detected. A minimum of 11.7 ± 1.1 larvae/100 g and a maximum of 662.2 ± 373.7 larvae/15 g were detected in canned and "special" dried categories, respectively. Among the mushrooms infested by larvae > 2 mm, the canned category showed both the lower (8.0 ± 7.6) and the highest (370.2 ± 99.6) number of specimens. Our findings demonstrate that the levels of natural pest infestation in dried and canned mushrooms on sale in Italy are consistently high, and the contamination extent is independent from category and brand of mushrooms. The observed degrees of infestation are discussed with regard of the perspectives for establishing defect action levels.

KEY WORDS: Pest infestation, food products, analysis, defect action level, Istituto Superiore di Sanità.

INTRODUZIONE

L'igiene degli alimenti ha assunto in questi ultimi tempi sempre più importanza, sia per le tecnologie attualmente disponibili che per le modalità di consumo in rapida evoluzione. In questo particolare settore, l'Unione Europea ha posto la salute dei consumatori tra gli obbiettivi primari della propria azione normativa con la Direttiva 93/43 CE recepita in Italia con il D.L. n. 155/1997. La filiera alimentare (industria alimentare, ristorazione pubblica, laboratorio di produzione artigianale) deve garantire la igienicità e la qualità dei prodotti che immette al consumo, in tutte le fasi di fabbricazione, trasformazione, preparazione, confezionamento, deposito, trasporto, distribuzione, manipolazione, vendita e somministrazione.

La presenza di artropodi infestanti negli alimenti può costituire non solo un limite per la commerciabilità del prodotto, venendo a mancare i requisiti igienici, ma essere anche causa di danni per la salute umana. L'ingestione di parassiti (acari ed insetti o parti di essi) possono a volte: (i) provocare allergie di varia natura, reazioni cutanee, asma; (ii) essere causa di disturbi digestivi e lesioni di diversa entità alla mucosa intestinale; (iii) veicolare e trasmettere patogeni di varia natura. L'accettabilità e quindi la commerciabilità di un prodotto può a volte essere condizionata anche da un numero limitato di infestanti o di altri materiali estranei che a causa della loro ripugnanza non vengono consapevolmente mangiati.

Nell'ambito dei compiti istituzionali, l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) esegue le revisioni di

analisi dei contro-campioni di alimenti giudicati in prima istanza non regolamentari perché contaminati da parassiti in base alla legge n. 283 del 30 aprile 1962, art. 5, comma d.

La presente relazione sulla contaminazione entomologica degli alimenti prenderà in esame due studi da me condotti prima della cessazione dell'attività di ricerca presso l'ISS. Il primo studio riguarda i risultati dei controlli effettuati nel periodo 1997-2006 su 335 campioni di alimenti. Il secondo, che aveva lo scopo di valutare i livelli di infestazione naturale dei funghi porcini secchi, ha preso in considerazione le tre categorie di questo prodotto in commercio in Italia, ovvero "gli extra", "i speciali" e "i commerciali".

LE REVISIONI DI ANALISI EFFETTUATE PRESSO L'ISS

I risultati dello studio, analizzati in relazione alle diverse categorie di prodotti infestati e alle specie di artropodi identificate, sono stati presentati all'VIII Simposio *La difesa antiparassitaria nelle industrie*

alimentari e la protezione degli alimenti. Piacenza (KHOURY *et al.*, 2008).

Metodiche di analisi

L'esame entomologico dei campioni è stato condotto sia con le più comuni tecniche di diagnosi macro e microscopica, sia con metodi di micro-analisi quali il filth-test (MAROLI & KHOURY, 1996) applicato agli sfarinati ed ai prodotti di trasformazione. Particolare attenzione è stata posta all'esame della confezione onde poter accertare, laddove possibile, l'origine dell'infestazione, ovvero se di natura endogena o esogena, valutando anche il tipo di foro (entrata/uscita) eventualmente presente sulla confezione (Fig. 1).

Per l'analisi entomologica dei funghi secchi è stata utilizzata una procedura standard precedentemente descritta (MAROLI *et al.*, 2002) basata su un campione di 10 g. Per la maggior parte delle matrici alimentari contaminate è stata fatta diagnosi di specie dell'artropode infestante. In alcuni prodotti è stato identificato il genere e, laddove erano evidenti solo tracce di pregressa infestazione, o frammenti di

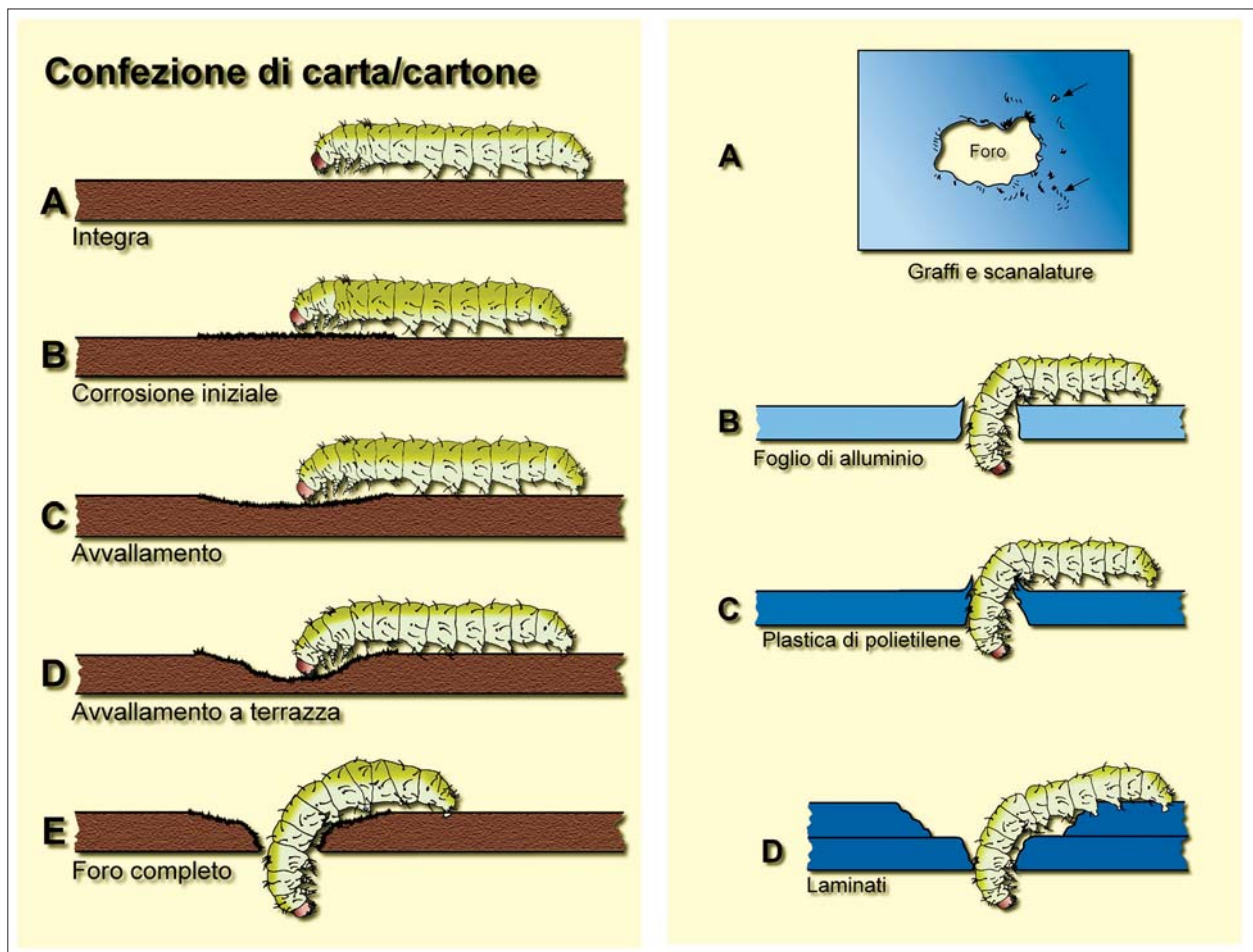


Fig. 1
Esempi di fori praticati da larve di Lepidotteri.

insetto, la diagnosi è stata possibile solo a livello di ordine e/o famiglia (DOMENICHINI, 1997; DOBIE *et al.*, 1991).

Provenienza campioni

Come già riportato la nota è relativa ai risultati delle analisi di revisione di 335 campioni di alimenti esaminati nel decennio (1997-2006). Il numero dei campioni è stato diverso secondo la provenienza delle regioni. Quelle che hanno richiesto un numero maggiore di revisioni di analisi sono: Lombardia (104), Lazio (51), Emilia Romagna (26) e Veneto (24), mentre dal Molise (3), Friuli Venezia Giulia e Calabria (2), Trentino Alto Adige e Basilicata (1) sono pervenute il minor numero di richieste. L'unica regione che non ha inviato richiesta di revisione è stata la Valle d'Aosta. Nella Fig. 2 sono riportate le percentuali di campioni analizzati per regione.

Alimenti analizzati

I campioni pervenuti in Istituto includevano 32 diverse categorie di prodotti alimentari (Figg. 3 e 4). Fra queste, pasta (30,4%), funghi (29,0%), sfarinati (9,2%), riso (6,9%) sono state le matrici con un numero maggiore di campioni esaminati. Il rimanente 7,7% dei campioni era costituito da altri prodotti alimentari fra i quali i più frequenti erano: torrone, tramezzini, fagiolini, cremini e caramelle.

Livelli di contaminazione entomologica riscontrata

Già in un precedenza avevo riportato i risultati delle analisi di revisione effettuate nel periodo 1988-1997 facendo considerazioni sui vari aspetti tecnici relativi alle analisi entomologiche e sulla necessità dell'introduzione di livelli di tolleranza per alcune matrici alimentari quali ad esempio funghi, fichi, datteri, etc. che potrebbero essere stati infestati "in pieno campo" (MAROLI *et al.*, 1997).

L'analisi entomologica del presente studio ha rilevato che 241/335 campioni (72,0%) erano stati contaminati da artropodi. La percentuale dei campioni contaminati e la presenza delle specie infestanti è stata diversa secondo le matrici alimentari analizzate. Per le quattro matrici con numero maggiore di campioni (*pasta*, *sfarinati*, *riso* e *funghi*) e per la *frutta secca* viene di seguito riportato la percentuale di campioni non idonei e le specie di artropodi infestanti identificate.

Pasta

Nella matrice pasta, 74/102 campioni (72,5%) sono risultati essere infestati. Fra le specie identificate, *Sitophilus oryzae* è stata quella più frequente (38,2%), seguita da altre specie di coleotteri: *Oryzae-*

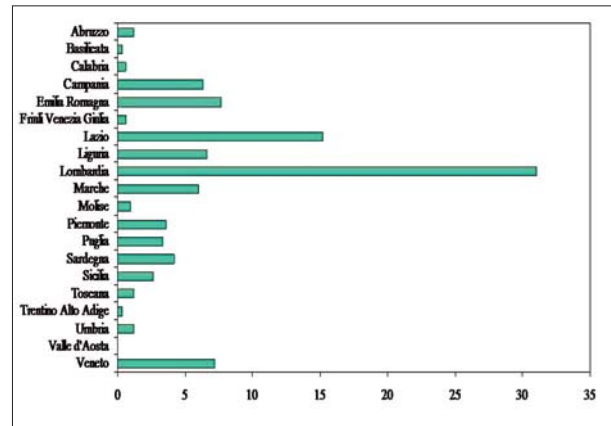


Fig. 2
Percentuali di campioni analizzati per regione.

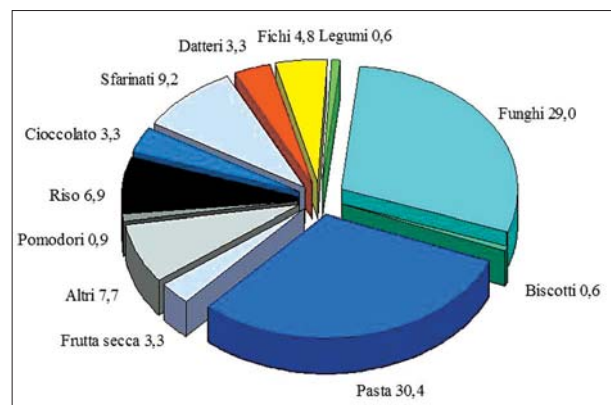


Fig. 3
Percentuali dei campioni riferiti alle categorie di prodotti.

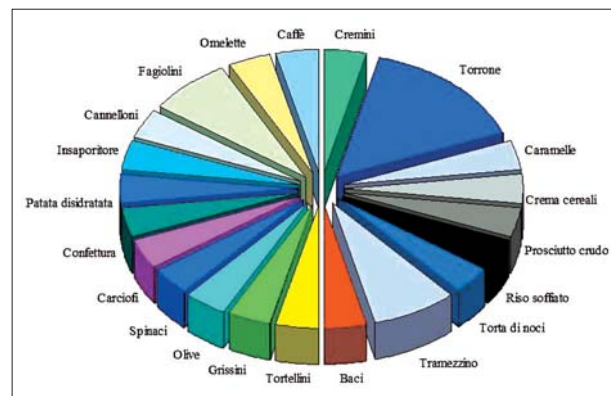


Fig. 4
Altre categorie di prodotti.

philus surinamensis, *Tribolium castaneum*, *Sitophilus granarius*, *Rhyzoperta dominica*, *Stegobium paniceum*.

Sfarinati

Dei 31 campioni di sfarinati analizzati 22 (70,9%) erano contaminati da insetti. L'infestazione da coleotteri è stata quella frequentemente riscontrata, in particolare da *Tribolium confusum*, uno dei più comuni infestanti dei molini.

Riso

L'82,6% delle confezioni di riso (19/23) è risultato infestato. Fra le specie identificate, *O. surinamensis* e *S. oryzae* sono state le specie infestanti il numero maggiore di campioni, seguite da *Plodia interpunctella*.

Funghi

Questa matrice, che ha incluso funghi secchi, conservati, liofilizzati e congelati, è risultata infestata al 90,7% (88/97 campioni). L'infestazione naturale da parte di ditteri fungivori appartenenti alle famiglie Mycethophilidae e Muscidae è stata prevalente; l'84,1% dei campioni presentava una infestazione da parte di stadi larvali delle due famiglie. Alcuni campioni poi, oltre che da Micetofili e Muscidi, erano stati attaccati da altri artropodi quali: Collembola (n. 6 campioni), Pyralidae (n. 4 campioni), Tenebrionidae (n. 2 campioni), *Ephestia elutella* (n. 1 campione), Psychodidae (n. 1 campione) e Formicidae (n. 1 campione).

Frutta secca

I campioni di frutta secca risultati contaminati sono stati 24/38 (63,2%). Le analisi hanno riguardato principalmente fichi (16) e datteri (11), seguito da un minor numero di campioni di pistacchi (4), noci (4) e mandorle (3). Gran parte dei campioni è risultata contaminata solo da frammenti di insetti (66,7%). Il numero di campioni contaminati per ciascuna categoria e le specie di artropodi infestanti sono riportati in Tabella 1.

Considerazioni finali

Numero campioni. Rispetto alla precedente nota (MAROLI *et al.*, 1997) il numero di matrici esaminate nel presente studio è stato inferiore, 335 campioni contro 513, con una diminuzione del 34,7%. Il numero medio di campioni analizzati per anno è stato non di molto superiore ai 33 con un massimo nel 1998 (58) e un minimo nel 2004 (11). La diminuzione del numero delle analisi, a partire dalla fine degli anni '90, potrebbe essere dovuta verosimilmente a due cause concomitanti: (i) un maggiore controllo nella filiera alimentare da parte delle aziende produttrici e dei punti vendita; (ii) un fattore economico/normativo dovuto all'entrata in vigore nel 1995 del DPR n. 754, art. 14 [servizi a pagamento] dove viene stabilito che l'ISS "rende a pagamento i servizi inerenti alle proprie funzioni, senza farsi luogo a rimborso alcuno", a modifica di quanto precedentemente in vigore dove invece, la quietanza versata doveva essere restituita al richiedente nel caso in cui la revisione non confermasse le conclusioni dell'analisi di prima istanza.

La diminuzione del numero di esami ha riguar-

Tabella 1 – Numero campioni contaminati ed infestanti osservati in alcune categorie di frutta secca.

Contaminante	Numero campioni infestati		
	Datteri	Fichi	Altri ¹
Specie			
<i>Ephestia kuehniella</i>	0	2 ³	0
<i>Nemapogon granella</i>	0	0	1
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	0	0	1
<i>Carpophilus</i> sp.	2	0	0
<i>Plodia</i> sp.	0	0	2
Frammenti di:			
Coleottero	2	1 ⁴	0
Lepidottero	4 ²	5	4
Totale	8	8	8

¹ Pistacchi, mandorle e noci; ² uno dei campioni era infestato anche da frammenti Muscidi; ³ uno dei campioni era infestato anche con *O. surinamensis*; ⁴ Il campione presentava una contaminazione anche da frammenti di Ditteri.

dato tutte le categorie di alimenti, ad eccezione dei funghi per i quali si è osservato un significativo aumento del numero di revisioni di analisi. Nel periodo 1988-1996, la matrice costituiva solo l'8,4% dei campioni (43/513) mentre nel periodo 1997-2006 il valore è salito al 29,0% (97/335). Le percentuali per ogni singola matrice dei due periodi di studio sono riportate nella Tabella 2. Interessante è anche notare come per il riso vi sia stata una significativa diminuzione delle richieste di revisione, il 6,9% dei campioni contro il 16,8 del precedente studio. Verosimilmente questo calo potrebbe essere dovuto ad un reale miglioramento delle condizioni di conservazione del prodotto in seguito all'uso della confezione "sotto vuoto".

Artropodi infestanti

Nella pasta *S. oryzae* è stata la specie più frequentemente reperita nei campioni, spesso osservata per trasparenza con l'ausilio di un transilluminatore, al fine di individuare più facilmente gli esemplari che evolvono all'interno della pasta. Il caratteristico apparato boccale di questo coleottero, capace di erodere le cariossidi del frumento e del riso, può perforare involucri di cartone anche più resistenti di quelli utilizzati nei pastifici. *O. surinamensis* è un altro comune coleottero della pasta, le cui larve, incapaci di attaccare le matrici più dure, approfittano delle erosioni provocate da altri insetti infestanti per continuare l'azione distruttiva.

T. confusum, coleottero spesso osservato negli sfarinati, si nutre di granella danneggiata da altri infestanti o di farine che, a causa della sua presenza, diventano scure e non commerciabili. Oltre alle impurità costituite da frammenti e spoglie larvali, *T. confusum*, come del resto *T. castaneum*, conta-

Tabella 2 – Categoria e numero di campioni esaminati nei due periodi.

Categoria	1997-2006*		1988-1996	
	Numero campioni	%	Numero campioni	%
Diverse matrici	26	7,7	56	10,9
Biscotti	2	0,6	12	2,4
Cioccolato	11	3,3	18	3,5
Datterì	11	3,3	30	5,8
Fichi	16	4,8	34	6,6
Frutta secca	11	3,3	15	2,9
Funghi	97	29,0	43	8,4
Legumi	2	0,6	20	3,9
Pasta	102	30,4	140	27,4
Pomodori	3	0,9	10	1,9
Riso	23	6,9	86	16,8
Sfarinati	31	9,2	49	9,5
Totale	335	100	513	100

*da MAROLI *et al.*, 1997.

mina le farine con nitrogeni e chinoni della cuticola, che rendono sgradevoli le farine.

I campioni di riso sono risultati per lo più infestati da Lepidotteri le cui larve posseggono un apparato boccale masticatore in grado di rosicchiare gli astucci di cartone. Le stesse larve, soprattutto quelle al primo stadio, passano facilmente attraverso le fessure esistenti in corrispondenza dei lembi incollati delle confezioni di cartone. È impossibile, invece, che gli adulti possano superare la barriera di una confezione chiusa, in quanto possiedono un apparato boccale di tipo succhiatore, generalmente atrofizzato nelle specie infestanti.

I funghi sono una derrata soggetta all'infestazione di insetti sia durante la breve vita vegetativa, sia durante l'essiccamento (quando viene praticato in modo artigianale), sia ancora nei magazzini e nei negozi. I Micetofili e i Muscidi sono ditteri che frequentano luoghi boscosi e umidi, le cui larve minano il gambo ed il cappello dei funghi durante il periodo di vegetazione. In sede di revisione di analisi l'esame macroscopico dei funghi dà talvolta esito negativo o rileva soltanto la presenza di "tramiti" prodotti dalle larve. La dissezione, invece, evidenzia spesso dei pezzi infarciti di larve.

I livelli di contaminazione dei funghi

Al fine di valutare i livelli di contaminazione dei campioni esaminati sono state introdotte 6 classi di contaminazione basate sul numero di larve presenti in 10 g di prodotto. L'andamento delle percentuali dei campioni nelle varie classi (1-10; 11-30; 31-50; 51-70; 71-100; >100 larve) è mostrato nella Fig. 5. Nella stessa figura, per confronto, sono riportati i dati di due precedenti studi (MAROLI *et al.*, 2002); LOCATELLI *et al.*, 1994). Circa il 22% dei campioni cadeva nella classe >100 larve/10 g. I rimanenti erano distribuiti con valori quasi simili

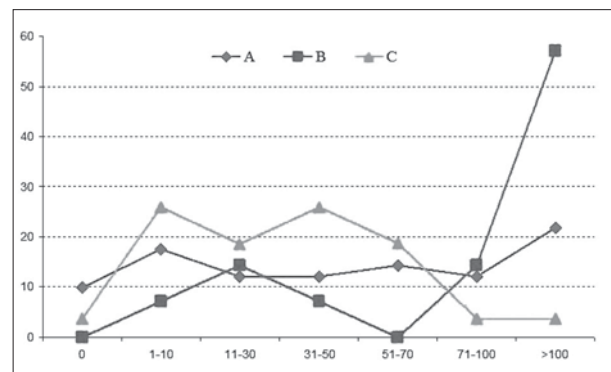


Fig. 5

Contaminazione entomica nei funghi analizzati. Percentuale dei campioni in sette classi di contaminazione: A, presente studio e per confronto B, dati da MAROLI *et al.* (2002) e C, dati da LOCATELLI *et al.* (1994)

(12,1-14,3%) nelle altre classi ad eccezione della classe 1-10 dove il numero dei campioni era maggiore (17,6%). I livelli di contaminazione osservati nella presente rassegna risultano ancora essere eccessivamente superiori sia ai livelli di accettabilità suggeriti dall'ISS¹ in Italia che a quelli della normativa americana (FDA, 1998)² che canadese (GOVERNMENT OF CANADA, 1999)³. A tale riguardo, è auspicabile, come già osservato da altri autorevoli colleghi, che il legislatore nell'ambito della revisione della normativa sulla filiera dei funghi introduca livelli di tolleranza per le larve fungivore.

¹ In seguito alla richiesta di parere da parte del Ministero della Sanità (702/56.64/372 del 15.05.1995) sulle impurità nei funghi epigei conservati, l'ISS ha suggerito di stabilire limiti di tolleranza per le larve di insetti parassiti nei funghi come segue: (i) categoria extra e speciale - assenti in 0,1 g di prodotto; (ii) categoria commerciale - non più di 5 larve/10 g di prodotto.

² In media 20 larve di insetto/15 g di fungo. Qualora la misura delle larve risulta essere ≥ 2 mm il livello viene ridotto a sole 5 larve/15 g di prodotto.

³ 10-20 larve < 2mm oppure 0-5 larve ≥ 2 mm

LA CONTAMINAZIONE ENTOMATICA DI CAMPO DEI FUNGHI SECCHI

Il largo consumo dei funghi secchi nel nostro paese ha fatto sì che spesso questa matrice alimentare fosse oggetto di attenzione da parte degli addetti preposti al controllo igienico delle derrate alimentari. In particolare i livelli di contaminazione entomatica “di campo” della matrice sono stati nell’ultima decade argomento di valutazione da parte di alcuni gruppi di studio (BORLENGHI *et al.*, 2002; LOCATELLI *et al.*, 1994; 2005a; 2005b; MAROLI *et al.*, 2002).

Sotto l’aspetto normativo, la legislazione italiana ha regolamentato la raccolta dei funghi epigei freschi definendo anche i vari aspetti della loro conservazione e commercializzazione [legge 23 agosto 1993 n. 352; DPR 14 luglio 1995 n. 376] ivi compreso la denominazione di vendita dei funghi porcini secchi [DM Industria 9 ottobre 1998 su GU 249 del 24 ottobre 1998]. Quest’ultimo decreto, da una parte ha posto dei limiti di accettabilità del numero di “tramiti”, le gallerie scavate da larve di Ditteri fungivori, presenti nei funghi secchi in commercio a seconda della categoria, dall’altra ha lasciato irrisolto il problema del numero delle larve di Ditteri fungivori eventualmente presenti. Di fatto, l’articolo 5 della legge n. 283 del 1962 vieta la vendita di merce “invasa da parassiti...”, senza indicare alcun limite di tolleranza per i contaminanti entomatici. Al contrario, sia la legislazione americana (FDA, 1998) che quella canadese (GOVERNMENT OF CANADA, 1999) fissano dei limiti di accettabilità/tollerabilità relativi al numero di larve di Ditteri presenti nei funghi a seconda della grandezza delle stesse (vedi note 2 e 3).

In uno dei lavori precedentemente citati (MAROLI *et al.*, 2002) è stato evidenziato che il livello d’infestazione da parte di larve di Micetofili e Muscidi nei funghi porcini secchi era di gran lunga superiore

ad un qualsiasi ragionevole livello di tolleranza; mediamente i valori di infestazione erano maggiori di 50 larve/10 g di prodotto. Tuttavia si poteva ipotizzare che 10 g potevano essere non rappresentativi della matrice alimentare in questione e quindi si poteva argomentare che tale livello fosse dovuto ad una sola fetta di fungo infestata da un gran numero di larve di insetto, essendo le rimanenti non contaminate. Difatti nello studio riportato il protocollo della metodica introdotta prevedeva la ricerca delle larve di insetto in un solo campione di 10 g di fungo in seguito a re-idratazione completa. Quindi è stato condotto uno studio “ad hoc” che ha incluso le tre categorie di funghi porcini secchi in commercio in Italia, “gli extra”, “i speciali” e “i commerciali”, nel quale si è voluto valutare, non solo il numero medio di larve presenti in un campione altamente rappresentativo, 15 g di fungo secco per 6 repliche (totale = 90 g), ma determinare anche la frazione della matrice infestata, espressa in percentuale peso in seguito a re-idratazione. I risultati di questo monitoraggio sono stati presentati all’VIII Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti” (MAROLI *et al.*, 2008)

Campioni analizzati

I campioni di funghi porcini analizzati nel presente studio sono stati acquistati presso 8 differenti punti vendita della città di Roma. Per ciascuna categoria sono state prese in considerazione tre marche diverse. Nella Tabella 3 sono riportate le confezioni necessarie per la costituzione del campione di 90 g, il prezzo a confezione ed al Kg. Per confronto sono state analizzate anche tre marche di funghi porcini conservati (Tabella 4).

Le analisi

I metodi di analisi utilizzati per la determinazione delle impurità entomatiche nei funghi fanno riferi-

Tabella 3 – Campioni di funghi porcini analizzati: categoria, marca, numero confezioni, prezzo a confezione e al chilogrammo.

Categoria funghi	Marca	Confezioni acquistate*	Confezione		Prezzo al Kg (€)
			Peso	Prezzo (€)	
Extra	A	2	50	4,90	98,00
“	B	2	50	6,99	139,00
“	C	2	50	5,49	109,00
Speciale	D	3	40	3,03	75,75
“	E	2	50	3,80	76,00
“	F	2	80	7,48	93,50
Commerciale	G	3	30	1,45	48,33
“	H	3	30	1,99	66,33
“	I	1	200	12,05	60,25
Conservati	L	1	1000	9,90	9,90
“	M	3	280	8,19	29,25
“	N	3	290	6,29	21,68

* Necessarie per costituire un campione di 90 g per 6 repliche di 15 g

Tabella 4 – Media grammi con tramiti di larve, con larve e numero di larve in tre marche di funghi: (i) secchi (extra, speciale e commerciale) e (ii) conservati; A-N, marche.

Categoria Marche	Media grammi in 6 repliche *	Media grammi “difettosi”		Larve (Micetofilidi/Muscidi)	
		Con tramiti (%)	Con larve (%)	Numero	≥ 2 mm
Extra					
A	52,0±1,1	14,8 (28,5)	36,0 (69,2)	122,5±31,5	81,0±34,4
B	53,5±2,8	6,7 (12,5)	20,5 (38,3)	190,8±97,8	40,3±11,3
C	54,0±5,7	6,3 (11,7)	24,3 (45,0)	71,7±43,0	27,8±16,1
Speciali					
D	53,0±2,4	14,2 (26,8)	25,3 (47,7)	88,3±27,6	42,3±22,7
E	56,3±2,2	6,0 (10,6)	28,3 (50,3)	339,2±151,5	41,7±32,0
F	57,0±3,9	6,2 (10,9)	29,2 (51,2)	662,2±373,7	108,8±87,8
Commerciali					
G	54,0±3,7	13,2 (24,4)	28,2 (52,2)	94,5±32,2	62,2±31,1
H	55,2±5,4	4,8 (8,7)	33,7 (61,0)	548,8±235,4	227,8±52,7
I	62,3±3,8	15,5 (24,9)	43,2 (69,3)	273,0±297,0	222,8±271,0
Conservati**					
L	96,0±8,9	14,8 (15,4)	73,6 (76,7)	37,6±16,1	29,8±19,0
M	100,0±0,0	1,5 (1,5)	71,2 (71,2)	570,5±109,9	370,2±99,6
N	100,0±0,0	5,5 (5,5)	14,7 (14,7)	11,7±11,1	8,0±7,6

* Corrispondenti a 15 g dopo reidratazione per i funghi secchi e 100 g di funghi conservati dopo sgocciolamento.

** Il numero delle larve reperite è riferito a 100 g del prodotto.

mento ad una procedura operativa standard validata presso l’ISS (MAROLI *et al.*, 2002). Tale procedura è stata aggiornata ai fini del presente studio. In breve, l’attuale procedura rispetto alla precedente prevede: (i) il prelievo di 6 aliquote di 15 g dal campione o comunque fino ad esaurimento dello stesso; (ii) la pesa e conta dei pezzi di fungo dopo reidratazione; (iii) la misura delle larve su vetrino graduato; (iv) la conta del numero di larve < 2 mm e quelle ≥ 2 mm; (v) il calcolo della percentuale m/m dei pezzi (con larve e con tramiti di larve). Il protocollo della procedura per intero è riportato in MAROLI *et al.*, 2008.

Livelli di infestazione riscontrati

Nella Tabella 4 sono riportati: (i) i valori medi percentuali dei grammi di fungo “difettosi” con solo tramiti di larve e quelli dei grammi contenenti larve di insetto, (ii) il numero medio di larve di Micetofilidi/Muscidi e il numero medio di larve ≥ 2 mm osservati in tre marche di funghi secchi (extra, speciali e commerciali) ed in tre di funghi conservati. Considerando la percentuale media dei grammi difettosi contenente larve di insetto, i valori minimi e massimi (14,7% e il 76,7%) sono stati riscontrati in due marche di funghi “conservati”. Per i funghi secchi tali valori si sono mantenuti sempre superiori al 38%. L’analisi entomologica ha evidenziato valori medi di infestazione dovuta a larve di Micetofilidi e Muscidi compresi tra un minimo di 11,7±11,1 in 100 g della categoria “conservati” ed un massimo di 662,2±373,7 in 15 g della categoria “speciali”. Molte delle larve reperite supera-

vano i 2 mm: il valore minimo (8,0±7,6) e massimo (370,2±99,6) sono stati evidenziati in due marche della categoria “conservati”.

In tutte le categorie di funghi esaminate, oltre a larve fungivore, sono stati rinvenuti altri artropodi infestanti; in particolare, è stata rilevata la presenza di: (i) Acari, in prevalenza Cryptostigmata; (ii) larve e adulti di Coleotteri; (iii) Collemboli; (iv) larve, pupe e adulti di Foridae; (v) Psocotteri nonché (vi) frammenti e uova di insetto (Tabella 5).

Quali limiti di tolleranza?

Il metodo di analisi utilizzato nel presente studio ha messo in evidenza che i livelli delle impurità entomologiche presenti nei funghi porcini in commercio in Italia sono ancora molto alti. L’elevato grado di infestazione del prodotto appare evidente dal gran numero di larve fungivore che in media sono presenti nelle aliquote esaminate (Fig. 6). Inoltre anche la frazione di grammi di funghi secchi difettosi con larve è sempre alta (38,3%-69,3%).

In base ai livelli di contaminazione osservati, nessuna delle marche analizzate risulta essere idonea al commercio sia per la legislazione italiana sia per quelle americana e canadese.

Inoltre, dai risultati delle analisi appare evidente che aumentando l’aliquota del campione (15 g per 6 repliche = 90 g) aumenta anche la percentuale dei campioni infestati da un numero di larve fungivore >100 (64,4%), mentre la percentuale è solo del 21,9% quando si esaminano aliquote di 10 g (Fig. 7).

In conclusione, il nostro studio ha dimostrato che

Tabella 5 – Artropodi rinvenuti nei campioni di funghi esaminati, riportati per categoria e marca di funghi secchi e conservati.

Marca	Acari*	Coleotteri	Collemboli	Ditteri**	Psocotteri	Uova di insetto	Frammenti di insetto Capsule***	Vari
<i>Secchi extra</i>								
A	2	–	3	–	–	7	–	–
B	3	–	2	Larva (1)	–	8	4	Tibia (1)
C	6	–	–	–	–	5	1	–
<i>Secchi speciali</i>								
D	2	Larva (2)	1	Adulto (1) Pupa (17)	–	62	–	Femore (1)
E	1	Larva (1)	2	Larva (6)	2	2	>5	–
F	2	Adulto (1)	6	–	–	–	>5	–
<i>Secchi commerciali</i>								
G	1	–	–	–	1	11	–	–
H	1	Larva (1)	4	–	–	–	>5	Zampa (1)
Torace (1)	–	Larva (1)	1	–	–	4	–	–
<i>Conservati</i>								
L	–	–	142	–	–	–	–	–
M	–	Larva (2)	–	–	–	–	>5	–
N	–	–	3	–	–	–	–	–

* In prevalenza Cryptostigmata; ** Foridae; *** Capsule cefaliche di Micetofilidi.

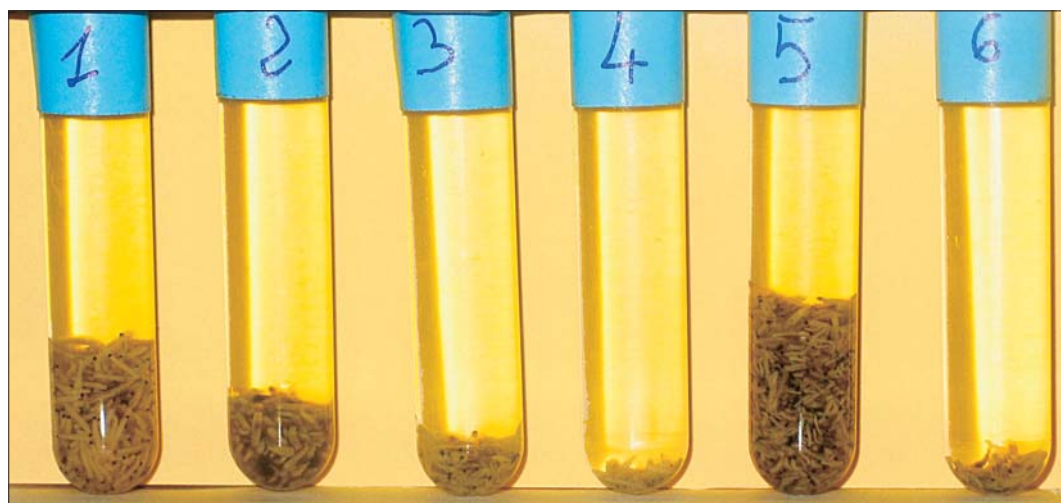


Fig. 6
Larve di ditteri presenti in 15 g di fungo secco (6 repliche) di una marca della categoria commerciale.

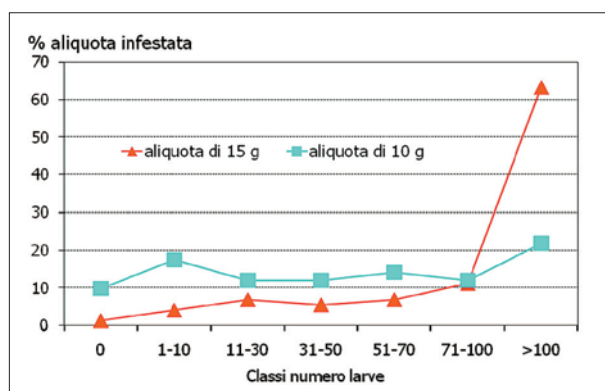


Fig. 7
Contaminazione entomologica nei funghi porcini secchi: percentuali delle aliquote esaminate in ciascuna classe di contaminazione.

non vi è un rapporto fra livelli crescenti di contaminazione entomologica, categorie di fungo e marche esaminate, potendo variare enormemente nell'ambito della stessa categoria. Tuttavia i valori minimi osservati per ciascuna categoria (Fig. 8) fanno ipotizzare che una filiera produttiva di questa matrice alimentare con infestazioni “di campo” limitate è possibile. Nel nostro studio, ad esempio, per una marca di funghi conservati la contaminazione entomologica osservata era di grado limitato essendo i grammi difettosi solo il 5,5% e 14,7%, rispettivamente con tramiti e con larve, ed il numero delle larve fungivore reperite era in media 11,7 di cui $8 \geq 2\text{mm}$. È auspicabile pertanto che la filiera del fungo

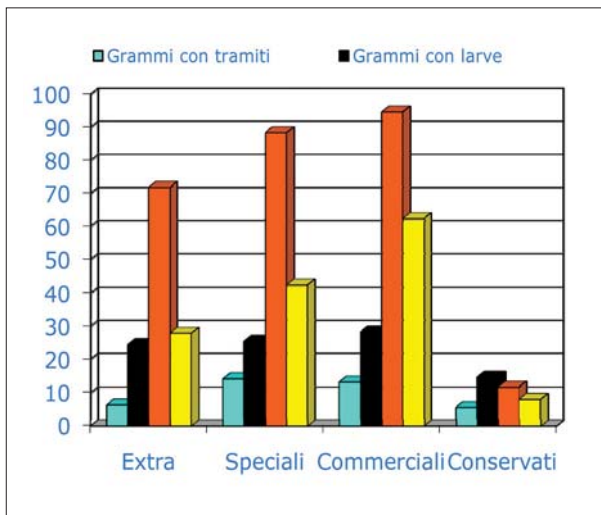


Fig. 8

Valori minimi della contaminazione entomologica "di campo" riscontrati in marche di funghi porcini Extra, marca C; Speciali, marca D; Commerciali, marca G; Conservati, marca N (Vedi Tabella 3).

porcino si adoperi a controllare all'origine la raccolta del fungo onde mettere in commercio un prodotto per il quale sia possibile porre dei limiti di tolleranza.

RIASSUNTO

I prodotti alimentari, in particolare quelli di origine vegetale, sono soggetti ad attacchi da parte numerose specie di insetti infestanti che possono causare seri problemi non solo di natura economica ma anche di natura igienica e sanitaria. La mia relazione riguarderà due studi sull'argomento condotti presso l'Istituto Superiore di Sanità, Roma, prima della cessazione delle mie attività di ricerca.

Nel primo studio sono riportati i risultati dei controlli effettuati presso l'Istituto Superiore di Sanità nel periodo 1997-2006 su 335 matrici. I dati sono analizzati in base alle diverse categorie di prodotti infestati, ai livelli d'infestazione, alle specie identificate, alla provenienza geografica dei campioni. Il numero medio di campioni analizzati per anno è stato non di molto superiore ai 33 con una punta massima di 58 nel 1998. Le regioni che hanno richiesto un numero maggiore di esami di analisi sono state: Lombardia (31,0%), Lazio (15,2%), Emilia Romagna (7,7), Veneto (7,2). L'esame parassitologico dei campioni per rilevare le contaminazioni entomologiche è stato eseguito sia mediante le comuni tecniche di diagnosi macro e microscopica sia con metodi di micro-analisi quali quelle del filth-test applicato agli sfarinati e ai prodotti di trasformazione. Su 335 campioni esaminati, 94 (28,0%) sono risultati non contaminati. I campioni erano rappresentati da oltre 30 diverse categorie di prodotti alimentari. Fra queste, pasta (30,4%), funghi (29,0%), sfarinati (9,2%), riso (6,9%), erano le categorie con un numero maggiore di campioni. La prevalenza delle specie infestanti è stata diversa a seconda delle categorie dei prodotti esaminati. Particolare attenzione merita l'aumento del numero di revisioni di analisi di funghi (97/335) rispetto al periodo 1988-1996 (43/513).

Il secondo studio, che aveva lo scopo di valutare i livelli di infestazione naturale dei funghi porcini secchi, ha preso in considerazione le tre categorie di questo prodotto in commercio in Italia, ovvero "extra", "speciali" e "commerciali". Tre differenti marche di funghi sono state esaminate per ciascuna categoria e confrontate con tre marche di funghi conservati. Campioni di 15 e 100 g. sono stati analizzati rispettivamente per i funghi secchi e conservati. Sono state costituite sei repliche per ciascun campione. Sono stati esaminati, registrati e pesati i funghi contaminati da (i) tramiti di larve e (ii) larve fungivore. Le larve rinvenute sono state contate e misurate.

I valori minimi e massimi (14,7 e 76,7) della percentuale media dei grammi difettosi contenente larve di insetti fungivori, sono stati riscontrati nei funghi "conservati". Per tutte le categorie di funghi secchi i valori sono stati tra il 38,3% e 69,3%. L'analisi entomologica ha evidenziato un'infestazione dovuta a larve di Ditteri appartenenti alle famiglie di Micetofili e Muscidi. Il valore minimo di $11,7 \pm 11,1$ larve/100 g ed il valore massimo di $662,2 \pm 373,7$ larve/15 g sono stati osservati rispettivamente nelle categorie conservati e speciali. Molte delle larve reperite superavano i 2 mm: il valore minimo ($8,0 \pm 7,6$) e massimo ($370,2 \pm 99,6$) è stato riscontrato in due marche della categoria conservati. I risultati del presente lavoro dimostrano che i livelli di infestazione naturali nei funghi secchi e conservati sono consistentemente alti indipendentemente dalla categoria e dalle marche in vendita. Il grado di infestazione naturale osservato viene discusso in relazione ai possibili livelli di tolleranza.

BIBLIOGRAFIA

- BORLENGHI A., SOMENZI C., ABLONDI L., BRAVI P., GARBAZZA C., PEDRAZZANI S., 2002 - *Controllo sanitario dei funghi commercializzati: esame morfobotanico, qualitativo e parassitologico*. - Atti del 7° Simposio "La Difesa antiparassitaria nelle Industrie alimentari e la Protezione degli Alimenti", Piacenza 18-20.IX.2002, Chiriotti Editori, Pinerolo: 456-461.
- D.L. (1997), n. 155 "Attuazione delle direttive 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l'igiene dei prodotti alimentari" (G.U. n. 136 del 13 giugno 1997) - Supplemento Ordinario n. 118.
- D.P.R. 754 21 settembre 1994 (G.U. n. 15 del 19 gennaio 1995).
- DEBBIE P., HAINES C.P., HODGES R.J., PRIVET P.F., REES D.P., 1991 - *Insects and Arachnids of tropical stored products: their biology and identification*. - NRI, VI+246 pp.
- DIRETTIVA CE93/43/CEE (G.U. L 175 del 19.7.1993). *Igiene dei prodotti alimentari*.
- DM dell'Industria del Commercio e dell'Artigianato 9 ottobre 1998 "Menzioni qualificative e che accompagnano la denominazione di vendita dei funghi secchi". GU 24 ottobre 1998 n. 249.
- DOMENICHINI G., 1997 - *Atlante delle impurità solide negli alimenti*. - Chiriotti Editori, Pinerolo, XVI+390 pp.
- DPR 14 luglio 1995, n. 376 "Regolamento concernente la disciplina della raccolta e commercializzazione dei funghi epigei freschi e conservati". GU 11 settembre 1995 n. 212.
- FDA, 1998 - Food defect action levels. Department of Health and Human Service, Public Health Service, Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition. Washington DC: 1-27.

- GOVERNMENT OF CANADA, 1999 - *Health Protection Branch Guidelines for the General Cleanliness of Food*. An Overview: 1-9.
- KHOURY C., BIANCHI R., MAROLI M., 2008 – *Le matrici alimentari di origine vegetale e le contaminazioni entomatiche in dieci anni di revisioni di analisi (1997-2006) presso l'Istituto Superiore di Sanità*. Atti dell'8° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”. Piacenza, 133-141.
- LEGGE 23 agosto 1993, n. 352 “Norme quadro in materia di raccolta e commercializzazione dei funghi epigei freschi e conservati”. GU 13 settembre 1993 n. 215.
- LEGGE 30 aprile 1962 n. 283 “Disciplina igienica della produzione e della vendita delle sostanze alimentari e delle bevande”. GU 4 giugno 1962 n. 139.
- LOCATELLI D.P., SÜSS L., GRUA P., 1994 – *Contaminazioni entomatiche dei funghi conservati*. - *Industrie Alimentari*, 33: 1084-1088.
- LOCATELLI D.P., SÜSS L., TREVISAN A., 2005a – *Ditteri fungivori in funghi essiccati*. - *Industrie Alimentari*, 44: 250-256.
- LOCATELLI D.P., SÜSS L., TREVISAN A., GRIONI S., 2005b – *Presenza di tramiti di Ditteri fungivori in funghi essiccati: aspetti legislativi*. - *Industrie Alimentari*, 44: 387-393.
- MAROLI M., FRUSTERI L., KHOURY C., 1997 – *Osservazioni sulla contaminazione entomatica di alcune categorie alimentari*. - Atti del 7° Simposio “La Difesa antiparassitaria nelle Industrie alimentari e la Protezione degli Alimenti”, Piacenza 24-26 .IX.1997, Chiriotti Editori, Pinerolo: 349-356.
- MAROLI M., KHOURY C., 1996 – *Impurità solide negli sfarinati e nei prodotti di trasformazione: metodo ufficiale di analisi (filth-test) e aspetti normativi*. – Rapporti ISTISAN 96/8, 48 pp.
- MAROLI M., KHOURY C., BIANCHI R., 2008 – *Funghi secchi e contaminazioni entomatiche di campo: metodiche di analisi e prospettive per la definizione di livelli igienici di accettabilità*. Atti dell'8° Simposio “La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti”. Piacenza, pp 142-150.
- MAROLI M., KHOURY C., BIANCHI R., AURELI P., 2002 – *Considerazioni sui livelli di contaminazione entomatica dei funghi secchi attualmente in commercio in Italia*. Atti del 7° Simposio “La Difesa antiparassitaria nelle Industrie alimentari e la Protezione degli alimenti”, Piacenza 18-20.IX.2002. Chiriotti Editori, Pinerolo: 462-471.

LA FILOGENESI DEGLI ESAPODI BASALI, ASPETTI CONTROVERSI E RECENTI ACQUISIZIONI

ANTONIO CARAPELLI (*) - FRANCESCO NARDI (*) - ROMANO DALLAI (*) - FRANCESCO FRATI (*)

(*) *Dipartimento di Biologia Evolutiva, Università di Siena, via A. Moro 2, 53100 Siena, Italia.*

Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Evoluzione ed adattamenti degli Artropodi – Contributi di base alla conoscenza degli insetti». Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 13 maggio 2011.

The phylogeny of basal hexapods, new data and controversial results

The application of novel techniques in molecular phylogenetics has opened to the study and critical reevaluation of the phylogenetic relationships among many and different animal groups, including arthropods. Such studies have sometimes produced reconstructions that are in conflict with well supported morphological phylogenies and have seldom lead to a reevaluation and/or dismission of phylogenetic hypotheses widely supported in the past.

In this contribution, the most important results of molecular phylogenetics on the phylogeny of hexapods are presented, with special reference to the relationships among basal hexapod groups. Special attention is given to supra-ordinal relationships and monophyly of five relevant groups (the “apterygotes”: Protura, Collembola, Diplura, Microcoryphia e Zygentoma), that constitute some among the most hotly debated issues in arthropod phylogeny. Areas of consensus/conflict between phylogenies obtained based on molecular and morphological data are further identified.

KEY WORDS: basal hexapods, Entognatha, molecular phylogenetics.

BACKGROUND MORFOLOGICO

Nonostante il grande numero di data set morfologici, paleontologici e molecolari che sono stati prodotti e i numerosi metodi di analisi applicati a questi, le relazioni filogenetiche fra i diversi gruppi di esapodi basali ed il problema della monofilia stessa degli esapodi *tout court* rimangono temi controversi (NARDI *et al.*, 2003a,b; DELSUC *et al.*, 2003; CAMERON *et al.*, 2004; GIRIBET *et al.*, 2004; BITSCH *et al.*, 2004; LUAN *et al.*, 2005; CARAPELLI *et al.*, 2007; REGIER *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2011).

I cinque gruppi di esapodi basali (Protura, Collembola, Diplura, Microcoryphia e Zygentoma), in passato inclusi nel taxon “Apterygota” oggi non più considerato valido (HENNIG, 1981; BITSCH & BITSCH, 1998, 2000; BRUSCA & BRUSCA 1990), sono tradizionalmente classificati in base alla struttura del loro apparato boccale. Tuttavia scenari evolutivi diversi sono stati proposti riguardo alle loro relazioni filogenetiche. La visione tradizionale (HENNIG, 1981; Kristensen, 1981) interpreta la presenza di pieghe della capsula cefalica che racchiudono le mandibole e le prime mascelle (condizione entotrofica) come il carattere sinapomorfico più importante per raggruppare Protura, Collembola e Diplura nel taxon Entognatha. Nel contesto degli Entognatha, Protura e Collembola sono in genere considerati come sister-groups, andando a formare il taxon Ellipura. Questi due ordini condividono numerosi

caratteri presumibilmente sinapomorfi, quali l'assenza di cerci (da qui il nome Ellipura), una condizione entotrofica maggiormente pronunciata, la presenza di unghie impari nel pretarso (KRISTENSEN, 1981) e la *linea ventralis* (un solco cuticolare ventrale che si estende longitudinalmente dal labium al torace). I Collembola sono probabilmente uno dei più antichi gruppi di artropodi terrestri, visto che sono stati ritrovati resti di esemplari dell'ordine risalenti al Devoniano (circa 400 milioni di anni fa) (HIRST & MAULIK, 1926). I collemboli, diversamente dai veri insetti presentano solamente 6 segmenti addominali e mancano di Tubuli Malpighiani per cui l'escrezione è affidata all'intestino medio, al tessuto adiposo e al tegumento il quale continua ad essere periodicamente sostituito anche negli esemplari adulti. I caratteri morfologici distintivi dei collemboli sono due organi peculiari: la furca ed il colloforo. La furca è un organo saltatorio che consente a questi esapodi basali di compiere brevi balzi per sfuggire ad un predatore; il colloforo o “tubo ventrale” è invece implicato nello scambio di liquidi con l'ambiente ed è funzionale nell'adesione al substrato. La furca e il tubo ventrale sono autoapomorfie: caratteri distintivi esclusivi di questo taxon. Sistematicamente i Collembola vengono classificati nei 3 sottordini Arthropleona, Symphypleona e Neelipleona, a seconda della morfologia corporea.

I proturi sono indubbiamente uno dei gruppi di esapodi più atipici e mostrano molteplici carat-

teri unici, quali: lo sviluppo anamorfico, l'assenza di antenne, la presenza di 12 segmenti addominali negli adulti, la posizione delle aperture genitali fra l'11^{mo} ed il 12^{mo} segmento addominale, oltre a peculiarità nella struttura dell'assonema spermatico (DALLAI, 1980, 1994) e nella segregazione del mesoderma (MACHIDA & TAKAHASHI, 2003). Essendo privi di antenne, il primo paio di zampe (anteriori) supplisce alla funzione sensoriale, mentre le altre quattro zampe sono utilizzate per la locomozione. Inoltre, lo sviluppo anamorfico è una condizione che i Protura condividono con alcuni miriapodi, mentre risulta una modalità di sviluppo unica fra gli esapodi. Viste le particolarità della loro morfologia, la monofilia degli Ellipura e la posizione dei Protura, nel contesto degli esapodi, rimangono controverse (DALLAI, 1980, 1989; BITSCH & BITSCH, 1998; D'HAESE, 2002; GIRIBET *et al.*, 2004).

L'ordine Diplura è formato da tre linee evolutive, Campodeoidea, Japygoidea e Projapygoidea. Alle caratteristiche comuni e distintive dei dipluri (cerci sull'ultimo segmento addominale, assenza di occhi, ecc.) sono contrapposte alcune evidenti differenze morfologiche tra le famiglie dell'ordine (ad es: forma dei cerci filiformi o a pinza; morfologia degli spermi e struttura degli ovari).

Negli ultimi vent'anni, le caratteristiche morfologiche condivise da Protura, Collembola e Diplura, *in primis* il tipo di apparato boccale (entognato) con pezzi inclusi in pliche cefaliche, sono state reinterpretate da diversi autori (KOCH, 1997; KRAUS, 1997; vedi più avanti nel paragrafo). Le nuove analisi morfologiche hanno quindi portato a non considerare più gli Entognatha come un gruppo monofiletico, in quanto la condizione entotrofica osservata in proturi, collemboli e dipluri potrebbe rappresentare un carattere convergente (BITSCH, 1994), che si è originato parallelamente anche in una grande varietà di altri artropodi non-esapodi, quali: chilopodi, pauropodi, diplopodi e onicofori (DALLAI, 1980; BITSCH, 1994; KRAUS, 1997). Nella visione tradizionale (HENNIG, 1981) gli Entognatha sono comunque considerati il sister-taxon degli Ectognatha (=Insecta *sensu stricto*; KRISTENSEN, 1981), altresì definiti dalla presenza di pezzi boccali, mandibole e mascelle, esposti (condizione ectotrofica) (KRISTENSEN, 1997; KLASS & KRISTENSEN, 2001, WHEELER *et al.*, 2001).

I due restanti gruppi di atterigoti, Microcoryphia e Zygentoma, noti anche come Thysanura *s.l.*, sono inclusi fra gli Ectognatha, insieme agli Pterygota. I Microcoryphia sono caratterizzati da un'articolazione delle mandibole monocondila e sono considerati il gruppo più basale fra gli Ectognatha, sister-group di Zygentoma+Pterygota. Questi ultimi condividono invece un'articolazione delle mandi-

bole dicondila, e pertanto prendono il nome di Dicondylia.

Fenomeni di convergenza evolutiva, dovuti ad adattamenti funzionali paralleli, possono rendere lo studio comparativo dei caratteri anatomici problematico e hanno portato, in alcuni casi, alla definizione di filogenesi non affidabili. Come già detto, fra gli atterigoti, l'entognatia di Protura, Collembola e Diplura è stata considerata dalla maggior parte degli autori del passato un buon carattere tassonomico a supporto della loro affinità, mentre si considera oggi una condizione acquisita indipendentemente, associata al particolare tipo di alimentazione di questi gruppi. A questo proposito, MANTON (1973, 1977) ha mostrato che il tipo di entognatia che caratterizza Protura, Collembola e Diplura è fondamentalmente diverso, suggerendo che questa condizione potrebbe essere stata acquisita indipendentemente nei tre gruppi. Questo tema è stato ripreso da KUKALOVÁ-PECK (1987) che, descrivendo la condizione semi-entotrofica (con mandibole e mascelle solo parzialmente esposte) nel dipluro japygide fossile *Testajapyx thomasi*, interpreta la condizione entognata dei moderni Diplura come un'acquisizione secondaria, parallela, ma indipendente da quella che caratterizza gli Ellipura. L'autrice altresì suggerisce il riposizionamento dei Diplura come sister taxon degli Ectognatha, con conseguente dismissione della monofilia degli Entognatha. In aggiunta a questa interpretazione sistematica di *Testajapyx thomasi*, che è stata peraltro messa ripetutamente in discussione (BITSCH, 1994; BOURGOIN, 1996), altre indicazioni a supporto della non monofilia degli Entognatha sono state proposte da KRAUS (1997) e KOCH (1997). Questi autori interpretano l'epimorfosi, cioè la condizione che vede tutti i segmenti addominali già presenti a partire dal primo stadio giovanile, come un carattere sinapomorfico di Diplura ed Ectognatha. Tuttavia anche i Collembola, fra gli Ellipura, mostrano un tipico sviluppo epimorfico mentre, come già detto, l'anamorfosi, cioè l'acquisizione di segmenti addominali aggiuntivi durante lo sviluppo che caratterizza anche alcuni miriapodi, potrebbe altresì essere una condizione plesiomorfa conservata dai Protura. Un'ulteriore potenziale sinapomorfia di Diplura+Ectognatha è la perdita dell'organo temporale (KOCH, 1997). Inoltre, alcuni caratteri ultrastrutturali legati ai tubuli accessori dell'assonema dello spermatozoo sono stati interpretati a supporto del posizionamento dei Diplura sulla linea evolutiva degli Ectognatha (DALLAI & AFZELIUS, 1999; DALLAI *et al.*, 2011), suggerendo ancora una volta la dismissione del taxon Entognatha. Infatti la presenza di tubuli accessori potrebbe essere considerata una condizione sinapomorfica di Diplura+Insecta *s.s.*, originatasi a partire

dal ramo evolutivo principale degli esapodi solo dopo la diversificazione di Protura e Collembola, che di tubuli accessori sono privi. Inoltre, entrambi i gruppi principali di dipluri, Campodeina e Japygina, mostrano tubuli accessori con 13 protofilamenti, a supporto della monofilia dei Diplura.

STYS & BILINSKI (1990), studiando l'apparato riproduttore femminile dei Diplura nel contesto degli esapodi basali, hanno inoltre ipotizzato che i Diplura (Japygina+Campodeina) potrebbero rappresentare un gruppo parafiletico, con i Campodeina posizionati come sister-taxon degli Ellipura, con cui condividono la presenza di ovarioli meroistici, indipendentemente degli Japygina che sono caratterizzati da una condizione panoistica. Gli ovari dei Protura sono, infatti, meglio interpretabili come secondariamente panoistici, cioè evolutisi a partire da una condizione iniziale di ovari meroistici politrofici. Inoltre, gli ovari di Protura, Collembola e Campodeina sono sacciformi, mentre quelli degli Japygina sono composti da ovarioli primariamente panoistici disposti in maniera segmentale, osservazione che ha portato STYS & BILINSKI (1990) ad ipotizzare per gli Japygina una condizione basale fra gli Entognatha. Nonostante queste osservazioni, la maggioranza degli autori supporta tuttora la monofilia dei Diplura. Riguardo alla loro posizione filogenetica, Kristensen (1997), pur accettandone la monofilia, sostiene che non esistano evidenze sufficienti per risolvere la tricotomia basale fra Ellipura, Diplura e Ectognatha, idea che verrà ripresa anche in seguito da WHEELER *et al.* (2001).

Un ulteriore punto conteso riguardo alla filogenesi degli atterigoti è la supposta monofilia degli Zygentoma. Fra questi i Lepidotrichidae, infatti, rappresentati dalla specie fossile *Lepidotrix pilifera* e dalla sola specie vivente *Tricholepidion gertschi*, mostrano caratteristiche della mandibola interpretabili a supporto di una loro collocazione come gruppo basale dei Dicondylia (KRISTENSEN, 1981; STANICZEK, 2000; BEUTEL & GORB, 2001), implicando la condizione parafiletica degli Zygentoma.

NATURA DEI DATI MOLECOLARI

Il disaccordo fra le ipotesi filogenetiche proposte da diversi autori su base morfologica ha stimolato l'acquisizione di data set alternativi e l'applicazione di metodi nuovi e più accurati per l'analisi dei dati. In questo contesto, l'analisi di dati molecolari, da soli o insieme a quelli morfologici, ha fornito nuovi e promettenti sistemi di caratteri indipendenti per studiare le relazioni filogenetiche a diversi livelli all'interno degli artropodi.

I data set molecolari possono essere classificati secondo schemi che ne mettono in luce le diverse caratteristiche: secondo il genoma da cui derivano (nucleare o mitocondriale), il tipo di gene (codificante per proteina o per RNA), o secondo la natura del dato analizzato (sequenze nucleotidiche o aminoacidiche, oppure dati strutturali, quali la posizione dei geni o la distribuzione degli introni). Ogni diverso marcatore molecolare ha le sue caratteristiche e peculiarità, che saranno qui descritte brevemente, che influenzano gli approcci metodologici all'analisi delle sequenze, nonché la loro applicabilità a problemi filogenetici diversi. Negli studi di relazioni filogenetiche "profonde", come nel caso di quelle fra i gruppi di esapodi basali, è appropriato l'uso di marcatori che evolvono lentamente (SIMON *et al.*, 1994) ed è necessaria una certa cautela quando si lavora con sequenze, o parti di sequenze, che sono molto divergenti. I geni che codificano per RNA ribosomali, presenti sia nel genoma nucleare (5.8S, 18S e 28S rDNA) che mitocondriale (12S e 16S rDNA), sono generalmente composti da un mosaico di regioni molto conservate intercalate da altre ipervariabili (SIMON *et al.*, 1994). Mentre queste ultime, che generalmente sono caratterizzate da eventi di sostituzione multipla e da indels (inserzioni e delezioni) di lunghezza variabile, sono problematiche sul fronte dell'allineamento (vedi sotto), le regioni più conservate possono contenere informazioni utili per la risoluzione di eventi filogenetici antichi. Rispetto ai geni in singola copia codificanti per subunità proteiche, i geni per rRNA nucleari sono generalmente più facili da amplificare mediante PCR, dal momento che sono presenti in centinaia di copie sul genoma. Un simile vantaggio tecnico si riscontra anche per i geni per rRNA mitocondriali, dal momento che copie multiple del genoma mitocondriale si trovano in ciascuna cellula. Come conseguenza di questi vantaggi tecnici, i geni ribosomali (da soli o in combinazione con dati morfologici) sono fra le prime sequenze ad essere state estensivamente applicate allo studio delle relazioni filogenetiche dei grandi gruppi di artropodi, includendo anche rappresentati dei taxa di atterigoti (WHEELER, 1989; FRIEDRICH & TAUTZ, 1995; WHITING *et al.*, 1997; GIRIBET & RIBERA, 1998, 2000; WHEELER *et al.*, 2001; D'HAESE, 2002; KJER, 2004; MALLATT *et al.*, 2004; LUAN *et al.*, 2005). L'affidabilità delle analisi filogenetiche basate su geni ribosomali è comunque fortemente influenzata dalla qualità dell'allineamento, un fattore critico in molti studi di questo tipo (Swofford *et al.*, 1996). A differenza dei geni codificanti per proteine, dove la definizione dell'omologia fra posizioni nucleotidiche è guidata dall'organizzazione delle sequenze in codoni, l'allineamento di geni per rRNA risulta più critico, e informazioni di natura strutturale sono

state talvolta utilizzate per migliorarlo, spesso con risultati promettenti (SIMON *et al.*, 1994; HICKSON *et al.*, 2000; PAGE, 2000; CARAPPELLI *et al.*, 2004; KJER, 2004).

I geni codificanti per proteine (protein coding genes, PCGs) forniscono un set di dati di sequenza diverso e indipendente. L'allineamento è in genere più affidabile, in quanto l'organizzazione in codoni, insieme alla possibilità di confrontare anche le relative traduzioni aminoacidiche, forniscono una guida per la definizione dell'allineamento. Una limitazione tecnica dei PCGs nucleari è che questi sono presenti nel genoma in singola copia, complicando talvolta la loro amplificazione mediante PCR. Inoltre, nei genomi diploidi, queste sequenze si possono trovare in forma eterozigote, anche se questo non è in genere un problema sostanziale quando si studiano relazioni filogenetiche antiche. Un terzo potenziale problema nell'utilizzo di PCGs è la possibile presenza di introni, variabili sia come numero che come lunghezza (ad esempio la sequenza codificante del gene EF-1 α nei collemboli è interrotta da 2-3 introni di medie dimensioni; Carapelli *et al.*, 2000) che complica l'amplificazione del gene a partire da DNA genomico. Questo problema può essere aggirato applicando la tecnica della RT-PCR su un isolato di mRNA (REGIER & SHULTZ, 1997). Tuttavia, se l'amplificazione del gene intero a partire da DNA genomico risulta possibile, la stessa presenza/assenza degli introni può essere interpretata in termini filogenetici e fornire un ulteriore set di dati potenzialmente informativo (CARAPPELLI *et al.*, 2000). Fino a poco tempo fa, solo un numero limitato di geni nucleari codificanti per proteine era stato applicato allo studio della filogenesi degli artropodi: gli Elongation Factor 1a e 2, la RNA polymerase II, gli istoni H3, U2 ed i geni *Hox* (REGIER & SHULTZ, 1997; COLGAN *et al.*, 1998; SHULTZ & REGIER, 2000; REGIER *et al.*, 2004, 2005; COOK *et al.*, 2001; GIRIBET *et al.*, 2004). Recentemente, grazie al consolidamento delle tecniche di amplificazione di sequenze retrotrascritte da RNA messaggeri (EST), è stato possibile ottenere un gran numero di dati di "filogenomica", basati sull'analisi dei trascrittomi, in grado di definire le relazioni filogenetiche tra le principali linee evolutive di artropodi in maniera più accurata (REGIER *et al.*, 2008; REGIER *et al.*, 2010; MEUSEMANN *et al.*, 2010; GIRIBET & EDGEcombe, 2012). In alcune di queste analisi sono state incluse anche sequenze provenienti da esapodi basali, sebbene in tutti i casi l'obiettivo degli autori era maggiormente indirizzato verso la ricostruzione delle ipotesi evolutive fra i gruppi principali di artropodi.

Un terzo marcatore molecolare, molto utilizzato per la ricostruzione di relazioni filogenetiche in diversi gruppi, inclusi gli artropodi, è il genoma mito-

condriale (BOORE, 1999). Alcune caratteristiche del DNA mitocondriale, quali la presenza di un gran numero di molecole per cellula, la generale assenza di ricombinazione, l'eredità esclusivamente matrilineare e la presunta ortologia dei geni nell'ambito dei Metazoa hanno fatto sì che questo marcatore sia stato largamente utilizzato per studiare le relazioni filogenetiche a molteplici livelli tassonomici (BALLARD *et al.*, 1992; SIMON *et al.*, 1994; CUROLE & KOCHER, 1999). La presenza sul genoma mitocondriale di un set conservato di geni (13 PCGs, 2 geni per rRNA e 22 per tRNA) e le sue dimensioni limitate (tipicamente 16-18 Kb), insieme alla disponibilità di approcci tecnici specifici al sequenziamento di questa molecola, hanno permesso la determinazione di un certo numero di sequenze complete di genomi mitocondriali in una varietà di taxa animali (BOORE, 1999). I tipi di informazione rilevanti in termini filogenetici estrapolabili da genomi mitocondriali completi sono le sequenze nucleotidiche dei geni per proteine e per RNA, le sequenze aminoacidiche dei PCGs ed il posizionamento dei geni sulla molecola. Le sequenze nucleotidiche o aminoacidiche di specifici PCGs possono essere analizzate individualmente o concatenate con lo scopo di migliorare la risoluzione e la robustezza dell'analisi (CAO *et al.*, 1994; GARCIA-MACHADO *et al.*, 1999). Grazie al sequenziamento di alcuni genomi mitocondriali completi in rappresentati dei taxa atterigoti, diversi data set multigenici che includono specie di esapodi basali sono disponibili per l'analisi (NARDI *et al.*, 2001; 2003a; NEGRISOLO *et al.*, 2004; CAMERON *et al.*, 2004; CARAPPELLI *et al.*, 2005; COOK *et al.*, 2005; CARAPPELLI *et al.*, 2007). Inoltre i geni mitocondriali sono talvolta usati in combinazione con sequenze nucleari e caratteri morfologici (GIRIBET *et al.*, 2001, 2004; PISANI *et al.*, 2004), permettendo lo sviluppo di data set di maggiori dimensioni. Per quanto siano generalmente più difficili da ottenere, tali data set multigenici generalmente migliorano sia la qualità che la robustezza delle analisi filogenetiche (SAVOLAINEN *et al.*, 2000; BAPTESTE *et al.*, 2002).

Un ulteriore tipo di carattere legato al genoma mitocondriale, e potenzialmente molto interessante per lo studio di filogenesi profonde, è l'ordine con cui i 37 geni sono disposti lungo la molecola, il "gene order" (BOORE, 1999). Essendo le traslocazioni di geni mitocondriali sulla molecola eventi rari e presumibilmente indipendenti, queste sono considerate essere meno suscettibili a cambiamenti omoplastici (convergenti) di altri tipi di mutazioni, e quindi sembrano in grado di fornire un segnale filogenetico potenzialmente più robusto ed affidabile. Un esempio paradigmatico si trova in BOORE *et al.* (1995, 1998), che hanno interpretato la traslocazione di un gene per tRNA come un forte supporto all'ipotesi di una

stretta relazione fra insetti e crostacei (Pancrustacea), portando alla dismissione della monofilia, tradizionalmente accettata, degli Atelocerata (Insecta+Myriapoda).

CONTRIBUTO DEI DATI MOLECOLARI PER LA FILOGENESI DEGLI ESAPODI

L'uso di dati molecolari ha portato negli ultimi due decenni ad una profonda rivisitazione delle ipotesi filogenetiche tradizionali relative alla collocazione dei diversi gruppi di esapodi basali. Tuttavia, nonostante la crescente quantità e qualità delle informazioni disponibili, molti dei risultati ottenuti risultano in disaccordo fra loro e anche in contrasto con alcune ipotesi sull'evoluzione degli esapodi basali largamente accreditate su base morfologica (BITSCH *et al.*, 2004; GIRIBET *et al.*, 2004).

Per tutti gli anni '90 ed oltre, le analisi condotte su dati molecolari non erano mirate specificamente allo studio degli esapodi basali e, con poche eccezioni (CARAPPELLI *et al.*, 2000; WHEELER *et al.*, 2001; GIRIBET *et al.*, 2004; LUAN *et al.*, 2005), qualche rappresentante degli esapodi basali veniva incluso solo sporadicamente in data set più ampi, con un campionamento di questi ultimi del tutto non uniforme (FRIEDRICH & TAUTZ, 1995; REGIER & SHULTZ, 1997, 2001; GIRIBET & RIBERA, 1998, 2000; GIRIBET & WHEELER, 1999; EDGEcombe *et al.*, 2000; SHULTZ & REGIER, 2000; COOK *et al.*, 2001; Giribet *et al.*, 2001; LAVROV *et al.*, 2004; MALLATT *et al.*, 2004; REGIER *et al.*, 2005).

In seguito agli studi di NARDI *et al.* (2001, 2003a), la possibile non monofilia degli esapodi viene per la prima volta proposta e, successivamente alla discussione che da questi è emersa (DELSUC *et al.*, 2003; NARDI *et al.*, 2003b), una attenzione maggiore è stata dedicata allo studio delle relazioni filogenetiche fra i diversi gruppi di esapodi basali e alla rivalutazione della monofilia di questi e degli Hexapoda *tout court* (BITSCH *et al.*, 2004; CAMERON *et al.*, 2004; GIRIBET *et al.*, 2004; KJER, 2004; NEGRISOLO *et al.*, 2004; REGIER *et al.*, 2004, 2005; CARAPPELLI *et al.*, 2007; MEUSEMANN *et al.*, 2010; REGIER *et al.*, 2010). A questo proposito, uno degli aspetti più discussi riguarda la supposta monofilia dei cinque ordini in cui gli esapodi basali vengono tradizionalmente divisi (Protura, Collembola, Diplura, Microcoryphia e Zygentoma). Questa è stata specificamente messa in discussione in passato per i Diplura (STYS & BILINSKI, 1990) e gli Zygentoma (KRISTENSEN, 1997; BITSCH & BITSCH, 2000; STANICZEK, 2000; BEUTEL & GORB, 2001). Al contrario, anche se la maggior parte degli studi disponibili ha preso in considerazione solo un numero limitato di specie in ciascuna linea evolu-

tiva, la monofilia di Protura, Collembola e Microcoryphia risulta ben corroborata dalla maggioranza delle analisi molecolari. I proturi sono probabilmente il taxon per cui esistono meno informazioni, seppure i pochi studi in cui siano state analizzate più sequenze hanno supportato la monofilia del gruppo (GIRIBET *et al.*, 2004; Kjer *et al.*, 2004; LUAN *et al.*, 2005). La monofilia dei Microcoryphia è similmente ben supportata, sia in base a dati solo molecolari che in data set combinati (GIRIBET *et al.*, 2004; KJER *et al.*, 2004). Eccezioni sono lo studio di COLGAN *et al.* (1998) su dati molecolari, anche se la monofilia del gruppo risulta supportata se questi vengono analizzati in combinazione con dati morfologici (EDGEcombe *et al.*, 2000), e quello di GIRIBET & RIBERA (2000), in cui le relazioni fra tre specie di Microcoryphia risultano instabili e la monofilia del gruppo dipende essenzialmente dai parametri usati nell'analisi.

I Collembola sono probabilmente il gruppo di esapodi basali per il quale si hanno dati molecolari più abbondanti. Tutte le analisi in cui sono stati inclusi gli otto genomi completi disponibili posizionano le specie dell'ordine nello stesso clade, indipendentemente dal numero di geni utilizzato, dal tipo di dati e dal metodo di analisi (NARDI *et al.*, 2003a,b; DELSUC *et al.*, 2003; LAVROV *et al.*, 2004; NEGRISOLO *et al.*, 2004; CAMERON *et al.*, 2004; CARAPPELLI *et al.*, 2005; CARAPPELLI *et al.*, 2007). La monofilia dei Collembola è stata inoltre supportata dall'analisi delle sequenze di 18S+28S rRNA (Giribet & RIBERA, 2000; Wheeler *et al.*, 2001; LUAN *et al.*, 2005), di un data set di 5 geni concatenati (GIRIBET *et al.*, 2004), del 18S rRNA (KJER *et al.*, 2004) e dei geni nucleari EF-1 α , EF-2 e POLII (SHULTZ & REGIER, 2000; REGIER *et al.*, 2004, 2005). Queste evidenze, insieme alle numerose caratteristiche morfologiche condivise dai collemboli (KRISTENSEN, 1981; BITSCH & BITSCH, 2000; D'HAESE, 2003), supportano fortemente la monofilia dell'ordine.

Molto più controversa risulta invece essere la monofilia dei Diplura, sia dal punto di vista delle evidenze morfologiche (STYS & BILINSKI, 1990), che molecolari. Le analisi di SHULTZ & REGIER (2000) e GIRIBET *et al.* (2001), che includono rappresentanti delle principali linee evolutive dell'ordine (Campodeina e Japygina), non supportano la monofilia dei Diplura. Nell'analisi combinata dei geni EF-1 α e Pol II, SHULTZ & REGIER (2000) presentano due ricostruzioni (basate su massima parsimonia e maximum likelihood) dove i Diplura risultano parafiletici, con le due specie *Eumesocampa frigidis* e *Metajapyx subterraneus* collocate rispettivamente vicino ai Collembola ed ai Microcoryphia, anche se la monofilia dei Diplura viene potenzialmente recuperata con l'aggiunta del gene EF-2 in un'analisi combinata (REGIER *et al.*, 2004). GIRIBET *et al.* (2001), usando un approccio

di “total evidence”, similmente supportano la non monofilia dei Diplura, con un inaspettato collocamento dei Japygidae vicino ai Balanidae (Crustacea). D'altra parte, le analisi di data set alternativi basati su 18S e 28S rRNA (GIRIBET & RIBERA, 2000; WHEELER *et al.*, 2001; KJER, 2004) o altri geni (GIRIBET *et al.*, 2004; CARAPELLI *et al.*, 2007; REGIER *et al.*, 2008; MEUSEMANN *et al.*, 2010; REGIER *et al.*, 2010) trovano supporto per la monofilia dei Diplura, lasciando la questione irrisolta.

Un ulteriore aspetto dibattuto risulta essere la monofilia degli Zygentoma, in alternativa al posizionamento di *Tricholepidion gertschi* (Lepidotrichidae) come sister-group dei rimanenti Dicondylia e conseguente parafila degli Zygentoma (nella loro accezione comune) rispetto agli Pterygota. Questo punto è stato specificamente analizzato da GIRIBET *et al.* (2004) utilizzando il più ampio campionamento di Zygentoma allora disponibile (5 specie da 3 famiglie, incluso *T. gertschi*). La monofilia degli Zygentoma (come peraltro quella dei Microcoryphia) è supportata dall'analisi dei dati molecolari mitocondriali (COMANDI *et al.*, 2009). D'altra parte, l'analisi combinata di dati molecolari e morfologici suggerisce un posizionamento alternativo di *T. gertschi* o alla base dei rimanenti Dicondylia (utilizzando il set di parametri più congruente) o insieme agli altri Zygentoma (applicando set di parametri sub-ottimali), seppur di nuovo con basso supporto statistico per i nodi chiave. L'analisi complessiva delle sequenze del 18S rRNA di KJER (2004), che include *T. gertschi* insieme ad altri due rappresentanti degli Zygentoma, similmente suggerisce la non monofilia degli Zygentoma, con *Lepisma* sp. + *Thermobia domestica* collocati in posizione basale agli altri Dicondylia e *T. gertschi* inaspettatamente posizionato fra gli Pterygota. Le notevoli incongruenze fra queste ricostruzioni riguardo alla posizione ed alla monofilia degli Zygentoma suggeriscono la necessità di raccogliere dati aggiuntivi e di migliorare il campionamento del gruppo.

Oltre alla monofilia dei singoli ordini, alcuni aspetti fra i più dibattuti ed interessanti nel contesto della filogenesi degli esapodi basali sono altresì rappresentati dalla relazioni filogenetiche fra ordini e dalla validità di alcuni raggruppamenti sopra-ordinali come gli Ellipura, gli Entognatha, i Dicondylia, e così degli stessi Hexapoda.

GIRIBET & RIBERA (2000) affrontano questo problema con uno studio ad ampio spettro delle relazioni fra gruppi di artropodi in cui si utilizza un'analisi combinata del gene completo del 18S e parziale del 28S rRNA da 139 taxa. Tuttavia la procedura di “direct optimization” applicata non supporta molti dei raggruppamenti tradizionali, quali Hexapoda, Entognatha ed Ellipura, e lascia molte domande

aperte. In un'analisi successiva, mirata allo studio delle relazioni filogenetiche degli esapodi e migliorata dall'aggiunta di marcatori molecolari e dati morfologici aggiuntivi, GIRIBET *et al.* (2004) trovano, invece, un certo supporto per la relazione fra Protura e Diplura, con conseguente dismissione degli Ellipura. Inaspettatamente il cluster Protura+Diplura si colloca in maniera stabile al di fuori di un gruppo costituito da Collembola, Ectognatha e alcuni Crustacea, negando quindi allo stesso tempo la monofilia di Entognatha ed Hexapoda. Anche se il supporto statistico della relazione fra Protura e Diplura è moderato, e i risultati dell'analisi sono condizionati in maniera determinante dai dati molecolari visto che l'albero basato su dati morfologici supporterebbe un posizionamento alternativo dei Diplura fra gli Ectognatha, questo studio ha l'indubitabile merito di aver incluso il più numeroso campionamento dai gruppi di esapodi basali disponibile fino ad allora. La relazione di sister-group fra Protura e Diplura ha trovato tuttavia supporto anche in altre analisi molecolari, come in GIRIBET & RIBERA (2000), KJER (2004), LUAN *et al.*, (2005), MEUSEMANN *et al.* (2010). L'analisi Bayesiana del data set di 18S rRNA presentata da KJER (2004), che include un cospicuo numero di specie per ciascun ordine, ha prodotto una ricostruzione filogenetica alternativa e ben supportata, dove gli Entognatha risultano monofiletici e Protura+Diplura si collocano come sister-group dei Collembola. In alternativa, una relazione fra Protura e Collembola è stata ottenuta, mediante un'analisi di “total evidence” basata su sequenze di 18S, 28S e dati morfologici, in WHEELER *et al.* (2001). Anche se il supporto statistico (Bremer support) risulta fortemente condizionato dai dati morfologici, ed in effetti nessuno dei nodi rilevanti per i gruppi di entognati risulta supportato dai soli dati molecolari, la monofilia degli Entognatha viene rifiutata, con i Diplura sister-group degli Ectognatha. D'altra parte, un raggruppamento di Diplura+Collembola è stato proposto da CARAPELLI *et al.* (2000) in base alla comune perdita di un introne nel gene per l'EF-1 α . L'analisi combinata dei geni EF-1 α , Pol II e EF-2 (REGIER *et al.*, 2004, 2005) supporta di nuovo la relazione fra Diplura e Collembola, anche se, in alcune circostanze, il raggruppamento alternativo di Diplura+Insecta non può essere escluso e, vista l'assenza di dati per i Protura, non è possibile in questo contesto testare la validità degli Ellipura. Dalla stessa analisi emerge anche una controversa relazione di sister group fra Microcoryphia e Zygentoma, che suggerirebbe una rivisitazione del gruppo Thysanura *sensu lato*, largamente rifiutato in tempi recenti. Da notare che, anche se forse non sufficienti per rivedere la posizione correntemente accettata sulla non monofilia dei Thysanura *sensu*

lato, alcuni studi recenti sulla morfologia delle mandibole in questi gruppi hanno messo in discussione l'utilità di alcuni caratteri tradizionali a supporto della monofilia dei Dicondylia (KOCH, 2001), suggerendo una certa cautela. Tuttavia tutte le altre analisi molecolari e combinate, con la sola eccezione di alcune proposte in WHEELER *et al.* (2001), supportano la visione largamente accettata che vede i Microcoryphia come il sister group dei Dicondylia (GIRIBET *et al.*, 2004; KJER, 2004; CARAPPELLI *et al.*, 2007; REGIER *et al.*, 2010).

Contemporaneamente a questi studi incentrati sugli esapodi basali, altri autori hanno affrontato in maniera più diretta il problema della filogenesi degli artropodi focalizzando la loro attenzione sull'uso della genomica mitocondriale, con lo scopo di ottenere nuovi dati e produrre una solida ricostruzione delle relazioni a livello di classi (BOORE *et al.*, 1995, 1998; GARCIA-MACHADO *et al.*, 1999; WILSON *et al.*, 2000; HWANG *et al.*, 2001; LAVROV *et al.*, 2004; NEGRISOLO *et al.*, 2004). Notevoli sforzi sono stati fatti per includere anche rappresentanti dei gruppi di atterigoti, portando all'ottenimento di 21 genomi completi (o quasi completi) da esapodi basali. Tali mitogenomi sono stati analizzati comparando sia le sequenze primarie che il "gene order". Incidentalmente, vista la velocità con cui questi genomi aggiuntivi sono stati sequenziati, nessuna delle analisi prodotte ha incluso tutte le sequenze disponibili. Inoltre, nessuna sequenza di genomi mitocondriali da rappresentanti dei Protura è stata disponibile fino a tempi più recenti.

Nonostante alcune aspettative ottimistiche (NARDI *et al.*, 2001), le traslocazioni geniche non sembrano essere informative per le relazioni filogenetiche fra ordini. Tutte le specie di atterigoti sequenziate ad oggi mostrano differenze limitate, rispetto al pattern considerato plesiomorfo per i Pancrustacea, e nessuno dei riarrangiamenti riportati sembra essere condiviso da rappresentanti di linee evolutive diverse. E' tuttavia degno di nota che i due collemboli appartenenti alla famiglia degli Onychiuridae, per i quali si ha informazione, condividono la stessa traslocazione del gene per il tRNA-SerUCN, suggerendo che, nei Collembola, il "gene order" mitocondriale potrebbe essere informativo ad un livello tassonomico più basso.

I genomi mitocondriali completi dei collemboli *Tetradontophora bielaniensis* e *Gomphiocephalus hodgsoni*, insieme a quello dello Zygentoma *Tricholepidion gertschi*, sono stati inizialmente analizzati in NARDI *et al.* (2001, 2003a) insieme ad altre specie di artropodi per le quali la sequenza completa del genoma mitocondriale era allora disponibile. Gli autori, seguendo un approccio conservativo, analizzano le sequenze aminoacidiche dei soli quattro

PCGs più conservati (*cytochrome oxidase I-III*, e *cytochrome b*) che potevano essere allineati in maniera non ambigua. L'analisi, sia secondo un principio di maximum likelihood che Bayesiano, supporta la non monofilia degli Hexapoda (Fig. 1A). Mentre la posizione basale di *T. gertschi* all'interno degli Ectognatha risulta in accordo con la visione accreditata su base morfologica, i due collemboli appaiono collocati, insieme, al di fuori di un gruppo composto da Ectognatha+Crustacea. In questa ricostruzione, seppur la monofilia dei Pancrustacea risulta supportata, gli Hexapoda, nella loro accezione comune, risultano difiletici piuttosto che monofiletici. Questi risultati hanno sollevato un certo scetticismo, che ha portato DELSUC *et al.* (2003) a rianalizzare il data set originale di NARDI *et al.* (2003a) ricodificando i nucleotidi in purine e pirimidine con lo scopo, nelle parole dell'autore, di "estrarre un segnale storico utile" usando un modello più realistico di evoluzione delle sequenze e ridurre, allo stesso tempo, gli effetti negativi della saturazione, dell'eterogeneità nella composizione in basi e dei diversi tassi di sostituzione fra siti. L'analisi Bayesiana sviluppata da DELSUC *et al.* (2003) recupera gli Hexapoda come monofiletici (con i Collembola sister-group degli Ectognatha), anche se con basso supporto statistico. Con lo scopo di chiarire questo aspetto maggior dettaglio, NARDI *et al.* (2003b) applicando un modello di variazione dei tassi di sostituzione secondo una distribuzione Γ , hanno analizzato di nuovo i dati in forma di sequenze aminoacidiche. Questa ulteriore analisi produce lo stesso risultato riportato in NARDI *et al.* (2003a), con gli Hexapoda difiletici ed un valore di likelihood maggiore della ricostruzione di DELSUC *et al.* (2003), indipendentemente dai taxa inclusi. L'ipotesi della non monofilia degli Hexapoda è stata in seguito supportata da NEGRISOLO *et al.* (2004) che, utilizzando tutti i geni mitocondriali e una varietà di metodi di analisi, ottengono di nuovo i Collembola esterni ad un gruppo di Crustacea+Entognatha, anche se con supporto moderato. L'ipotesi proposta in NARDI *et al.* (2003a,b) riguardo alla posizione dei Collembola viene successivamente criticata da CAMERON *et al.* (2004) in un lavoro mirato alla descrizione del genoma mitocondriale di un ulteriore esapode basale, *Nesomachilis australica* (Microcoryphia). Tuttavia, in nessuna delle analisi proposte, utilizzando sequenze nucleotidiche ed aminoacidiche di 12/13 PCGs mitocondriali e numerosi raggruppamenti di taxa, outgroups e metodi di analisi, gli Hexapoda vengono effettivamente recuperati da questi autori come monofiletici. Il posizionamento dei Collembola risulta comunque raramente risolto e spesso soggetto ad alcuni aspetti tecnici riguardanti il trattamento dei dati, la selezione dei geni e l'outgroup

utilizzato, portando gli autori a concludere che, mentre l'aggiunta di nuove sequenze potrebbe portare a ricostruzioni filogenetiche più corroborate, i dati di genomi mitocondriali da soli potrebbero anche essere insufficienti a risolvere in maniera non ambigua le relazioni filogenetiche fra gli esapodi basali.

Il problema della monofilia degli Hexapoda è stato inoltre affrontato da GIRIBET *et al.* (2004), le cui analisi favoriscono, nella maggior parte delle combinazioni di parametri, una collocazione dei Collembola fuori dal gruppo Crustacea+Insecta s.s. L'analisi di "consensus network" proposta in seguito da Holland *et al.* (2005), indica altresì che la posizione dei Collembola nel contesto delle relazioni filogenetiche degli esapodi dipende dal marcatore molecolare applicato. Le sequenze nucleotidiche mitocondriali sembrano infatti supportare la monofilia degli Hexapoda, mentre le sequenze aminoacidiche corrispondenti ne suggeriscono la parafilia. Dati recenti basati su analisi di filogenomica (REGIER *et al.*, 2008; TIMMERMANS *et al.*, 2008; MEUSEMANN *et al.*, 2010; REGIER *et al.*, 2010), nonostante includano un numero limitato di esapodi basali, sono invece in aperto contrasto con quelli ottenuti da studi di mitogenomica, supportando la visione "tradizionale" che vede tutti gli esapodi inclusi in un taxon monofiletico (Fig. 1B). Tale conclusione viene raggiunta anche da recenti interpretazioni di analisi combinate (data set basati su caratteri morfologici, reperti fossili e sequenze molecolari) (EDGEcombe, 2010; GIRIBET & EDGEcombe, 2012).

Con lo scopo di utilizzare i dati di genomica mitocondriale per studiare la collocazione dei Diplura, seppur nel difficile contesto di relazioni a livello di ordine, CARAPPELLI *et al.* (2005) determinano la sequenza completa del genoma del dipluro *Japyx solifugus* ed analizzano la sequenza aminoacidica dei quattro geni più conservati (come in NARDI *et al.*, 2003a,b). L'analisi Bayesiana di questo data set, supportata da test statistici sugli alberi, suggerisce che anche i Diplura, come già i Collembola, potrebbero collocarsi all'esterno di un gruppo Crustacea+Ectognatha, richiamando i risultati di GIRIBET *et al.* (2004). CARAPPELLI *et al.* (2007) effettuano un'analisi comprensiva di un cospicuo numero di mitogenomi tra i Pancrustacea, includendo anche 3 specie di dipluri. I risultati ottenuti supportano la monofilia dei Diplura ed un posizionamento dell'ordine (come nel caso dei Collembola) lontano dal clade degli Ectognatha (Fig. 1A). L'analisi Bayesiana incentrata sulla filogenesi degli artropodi proposta da COOK *et al.* (2005), utilizzando tutti i PCGs mitocondriali in un data set che include anche 4 Collembola e 2 Zygentoma, suggerisce di nuovo con un certo supporto che Crustacea ed Hexapoda

potrebbero essere mutualmente parafiletici. In questo studio, entrambi i gruppi di atterigoti considerati risultano monofiletici, con i Collembola ancora vicini ad alcuni Crustacea (Malacostraca) e gli Zygentoma come sister group degli Pterygota.

Un'ulteriore analisi, basata sull'uso di sequenze ribosomali nucleari 18S e 28S per risolvere le relazioni fra Protura, Collembola e Diplura, viene effettuata da Luan *et al.* (2005) includendo una buona rappresentanza di atterigoti (10 Protura, 12 Diplura, 10 Collembola, un Microcoryphia e un Zygentoma). I risultati principali di questo studio riguardano la monofilia di Protura, Collembola e Diplura e la relazione di sister-group fra Protura e Diplura, con l'esclusione dei Collembola.

Nonostante la quantità di dati raccolti, di analisi condotte e il numero cospicuo di rappresentanti dei gruppi basali di esapodi inclusi nelle analisi, il tema della monofilia degli Hexapoda e delle relazioni fra i cinque gruppi rimane tuttora controverso e dibattuto.

Recentemente, l'analisi di filomitogenomica è stata arricchita con la sequenza dell'intero mtDNA della specie di proturo *Sinentomon erythranum* (CHEN *et al.*, 2011), appartenente all'ultimo gruppo di "atterigoti" per il quale non erano conosciute informazioni sul genoma mitocondriale. L'mtDNA di *S. erythranum* presenta un cospicuo numero di caratteristiche molecolari inusuali, non riscontrabili nella maggioranza degli Hexapoda. Difatti, oltre ad essere relativamente corto (è composto da soli 14.491 nucleotidi, caratteristica che negli artropodi è stata osservata solo in ragni ed acari; MASTA & BOORE, 2004), esso presenta un elevato contenuto (52,4%) di basi T sul filamento sul quale sono orientati la maggior parte dei geni (nell'mtDNA dei metazoi, frequentemente, i 37 geni sono codificati da entrambi i filamenti). Inoltre, 18/22 geni codificanti per RNA di trasferimento degli aminoacidi (tRNA) hanno una struttura a quadrifoglio troncata, con alcuni "bracci" ridotti o addirittura completamente assenti. L'mtDNA di *S. erythranum* presenta anche alcune rilevanti differenze in termini di «gene order» (traslocazioni di geni sullo stesso filamento nucleotidico o fra eliche diverse) rispetto al modello basale riscontrato negli esapodi. Tuttavia, la caratteristica molecolare più interessante, in termini filogenetici, è rappresentata dalla posizione di uno dei due geni codificanti per l'aminoacido Leucina (Fig. 1C). Difatti, il *trnL(uaa)* si trova localizzato tra i geni *rrnL* e *nad1*, in posizione adiacente a *trnL(uag)*. Questo contrasta con il modello basale tipico di esapodi e crostacei, dove il *trnL(uaa)* si trova fra *cox1* e *cox2*, mentre è affine alla condizione osservata in miriapodi e chelicerati e più in generale al «gene order» considerato ancestrale per gli artropodi. Infatti, mentre la trasloca-

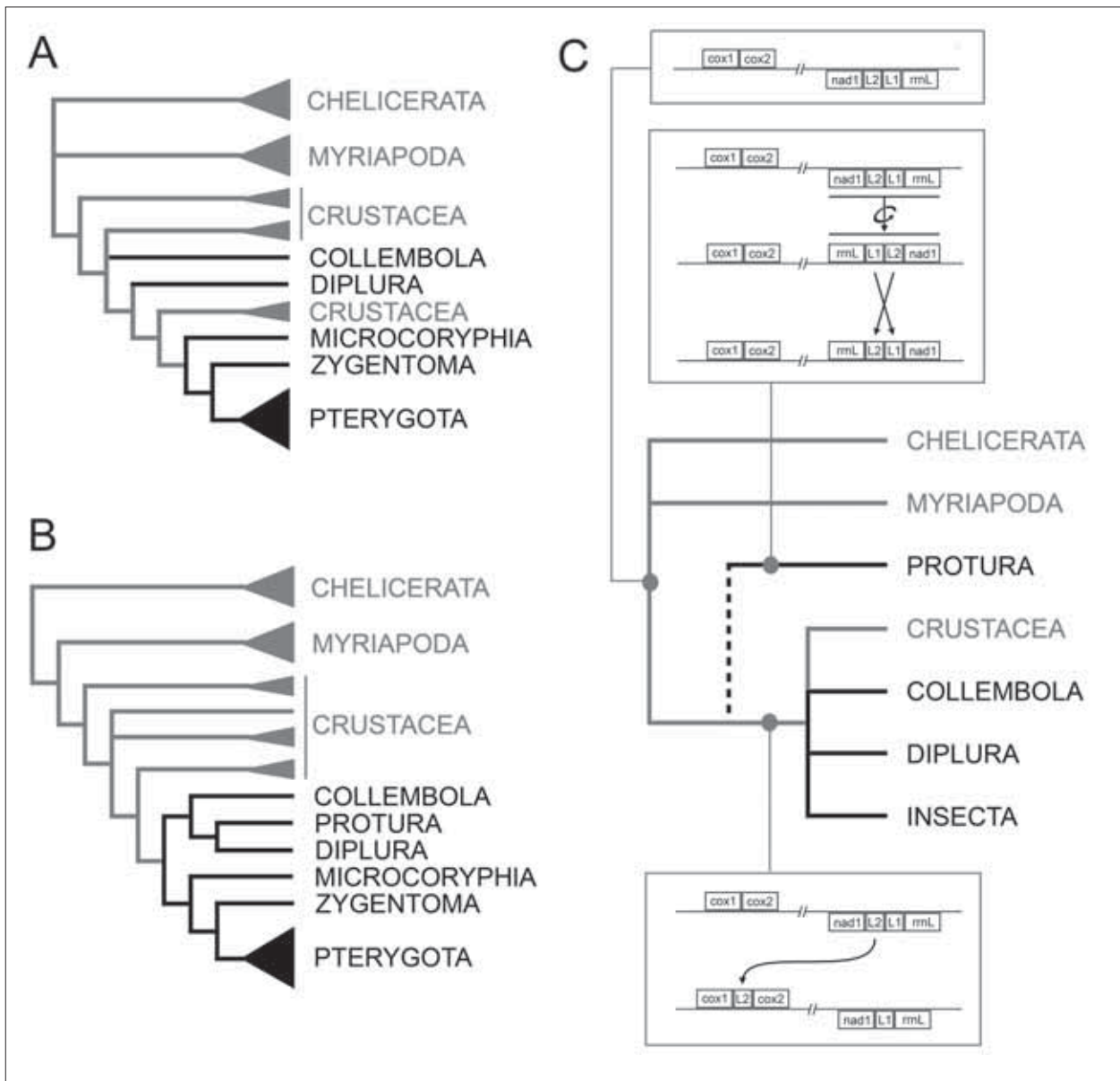


Fig. 1

Ipotesi filogenetiche alternative delle principali linee di Hexapoda (linee scure) nel contesto evolutivo degli Arthropoda. A: modificato da CARAPELLI *et al.* (2007); B: modificato da GIRIBET & EDGEcombe 2012; C: modificato da CHEN *et al.* (2011), in basso è mostrata una possibile sequenza di cambiamenti nel “gene order”.

zione di *trnL(uaa)* (da *trnL(uag)-trnL(uaa)-rrnL* a *cox1-trnL(uaa)-cox2*) è considerata un’importante sinapomorfia dei Pancrustacea, presumibilmente apparsa nell’antenato comune di esapodi e crostacei (BOORE *et al.*, 1998), in *S. erythranum* *trnL(uaa)* si trova nella posizione originaria (anche se ha scambiato di posto con *trnL(uag)*), suggerendo la possibilità che i Protura potrebbero effettivamente risultare estranei ai Pancrustacea.

Purtroppo, le sequenze codificanti per proteine di *S. erythranum* (in precedenza usate per ricostruire le relazioni filogenetiche intra- ed interordinali degli esapodi basali), dato l’estremo sbilanciamento in composizione nucleotidica di gran parte di questi

geni, non possono essere usate per un’analisi filogenetica comparativa tra taxa di artropodi, in quanto danno origine ad alberi filogenetici chiaramente influenzati dal ben noto fenomeno del “long branch attraction” (CHEN *et al.*, 2011). In ogni caso, i dati relativi al «gene order» sembrano mettere in dubbio la collocazione dei proturi alla base degli esapodi e, contestualmente, la monofilia stessa di quest’ultimo taxon. Inoltre, se confermate, le conclusioni proposte da CHEN *et al.* (2011) suggerirebbero scenari alternativi rispetto alle relazioni filogenetiche tradizionali dei proturi nei confronti degli altri ordini di esapodi basali e dei principali gruppi di artropodi.

CONCLUSIONI

Come appare in maniera evidente dalla revisione di quasi venti anni di lavoro nel campo della filogenesi molecolare applicate al problema delle relazioni fra gli esapodi basali, ancora ci sono molti punti oscuri e molti ambiti di conflitto, o inconsistenze, fra dati molecolari e morfologici, fra diversi data set molecolari e fra diversi metodi di analisi (vedi anche: BITSCH *et al.*, 2004). Tuttavia, l'accumularsi di evidenze molecolari ha, se non altro, indotto la comunità dei sistematici a rimettere in discussione e riconsiderare alcune ipotesi largamente accettate su base morfologica (HWANG *et al.*, 2001; NARDI *et al.*, 2003a; GIRIBET *et al.*, 2004).

Mentre la monofilia di ciascun ordine di atterigoti è quasi sempre ben supportata, con la possibile eccezione dei Diplura (GIRIBET *et al.*, 2001) e degli Zygentoma (GIRIBET *et al.*, 2004; KJER, 2004), le relazioni fra ordini sono ancora largamente incerte. Anche se solo pochi studi ad oggi hanno incluso rappresentanti dei Protura, e i primi genomi sono stati sequenziati solo di recente, la maggior parte delle analisi sembra supportare una loro relazione con i Diplura, che implicherebbe la dismissione degli Ellipura. Ulteriori dati di mitogenomica, da famiglie di proturi il cui mtDNA non è afflitto dai livelli di sbilanciamento nucleotidico osservati in *S. erythranum*, potrebbero aiutare a risolvere questo problema filogenetico così importante per ricostruire i "primi passi" dell'evoluzione degli Hexapoda.

In generale, un buon supporto si trova per gli Ectognatha, mentre il taxon Entognatha, già messo largamente in discussione su base morfologica, si ritrova raramente nelle analisi basate su dati molecolari. Inoltre, i dati di mitogenomica indicherebbero che alcuni gruppi di esopodi basali (quali i proturi) potrebbero anche non rappresentare linee.

Lo scenario evolutivo eventualmente risultante dalla non monofilia degli Hexapoda implicherebbe che la condizione esapode e la tagmosi tipica di questi potrebbero essersi originate indipendentemente due o più volte in linee evolutive diverse di Pancrustacea. Lo stesso si può dire per la terrestrializzazione, come discusso in NEGRISOLO *et al.* (2004), con il complesso dei numerosi adattamenti legati a questa condizione che potrebbero avere determinato l'evoluzione convergente di caratteristiche morfologiche simili.

Tuttavia, la mancanza di supporto per la monofilia degli Hexapoda in un certo set di dati (come in CAMERON *et al.*, 2004) non deve necessariamente essere interpretata come un'indicazione della non monofilia del gruppo, specialmente se non ci sono

scenari alternativi fortemente supportati (ma vedi NARDI *et al.*, 2003a, b; NEGRISOLO *et al.*, 2004; GIRIBET *et al.*, 2004) e se la maggior parte dei dati morfologici e di filogenomica effettivamente supportano la monofilia del gruppo (KRISTENSEN, 1981; BITSCH *et al.*, 2004; GIRIBET *et al.*, 2004; REGIER *et al.*, 2008; TIMMERMANS *et al.*, 2008; MEUSEMANN *et al.*, 2010; REGIER *et al.*, 2010). L'unica conclusione ragionevole che è possibile pertanto formulare oggi è che altro lavoro sarà necessario prima di raggiungere una soluzione soddisfacente del problema. A questo proposito sarà fondamentale l'utilizzo di nuovi marcatori molecolari ed un campionamento maggiore dei taxa atterigoti sia per geni nucleari che mitocondriali (GIRIBET *et al.*, 2004), oltre all'analisi ed all'approfondimento di sistemi di caratteri morfologici vecchi e nuovi. Inoltre un ruolo determinante sarà rappresentato dallo sviluppo di metodi migliori di analisi dei dati insieme ad una rivalutazione dettagliata e critica dei metodi correntemente applicati.

Con nessuna intenzione da parte nostra di affermare la superiorità di un tipo di dati sugli altri (molecolari *vs* morfologici), la disponibilità di più dati, insieme ad una migliore valutazione dell'affidabilità dei metodi di analisi applicati, non potrà che determinare un passo più in avanti nella produzione di uno scenario evolutivo più robusto per questi gruppi.

RIASSUNTO

Le nuove tecniche di filogenesi molecolare hanno permesso di studiare e rivalutare criticamente le relazioni filogenetiche fra molti e diversi gruppi animali, inclusi gli artropodi. Questi studi hanno talvolta prodotto ricostruzioni filogenetiche che sono in conflitto con quelle basate su dati morfologici e hanno portato ad una rivalutazione e/o dismissione di ipotesi largamente accettate in passato.

In questa comunicazione si descrivono i maggiori contributi alla filogenesi degli esapodi provenienti dall'analisi molecolare, con particolare riferimento al genoma mitocondriale ed alle relazioni fra i gruppi basali degli esapodi. In particolare ci si sofferma sulle relazioni e la monofilia stessa dei cinque gruppi interessati (gli "atterigoti": Protura, Collembola, Diplura, Microcoryphia e Zygentoma), che sono uno dei temi più dibattuti nel contesto della filogenesi degli artropodi. Si identificano inoltre le aree di consenso/conflitto fra le filogenesi prodotte su base molecolare e morfologica.

BIBLIOGRAFIA

- BALLARD J.W.O., OLSEN G.J., FAITH D.P., ODGERS W.A., ROWELL D.M., ATKINSON P.W., 1992 – *Evidence from 12S ribosomal RNA sequences that onychophorans are modified arthropods*. – *Science*, 258: 1345-1348.
BAPTESTE E., BRINKMANN H., LEE J.A., MOORE D.V., SENSE, C.V., GORDON P., DURUFLE L., GAASTERLAND T., LOPEZ P., MULLER M., PHILIPPE H., 2002 – *The analysis*

- of 100 genes supports the grouping of three highly divergent amoebae: Dictyostelium, Entamoeba, and Mastigamoeba. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 99: 1414-1419.
- BEUTEL R.G., GORB S.N., 2001 – *Ultrastructure of attachment specializations of hexapods (Arthropoda): evolutionary patterns inferred from a revised ordinal phylogeny.* - J. Zool. Syst. Evol. Research, 39: 177-207.
- BITSCH J., 1994 – *The morphological groundplan of Hexapoda: critical review of recent concepts.* - Ann. Soc. Entomol. Fr., 30: 103-129.
- BITSCH C., BITSCH J., 199. – *Internal anatomy and phylogenetic relationships among apterygote insects clades (Hexapoda).* - Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.), 34: 339-363.
- BITSCH C., BITSCH J., 2000 – *The phylogenetic interrelationships of the higher taxa of apterygote hexapods.* Zool. Scripta, 29: 131-156.
- BITSCH J., BITSCH C., BOURGOIN T., D'HAESE C.A., 2004 – *The phylogenetic position of early hexapod lineages: morphological data contradict molecular data.* - Syst. Entomol., 29:433-440.
- BOORE J.L., COLLINS T.M., STANTON D., DAHLER L.L., BROWN W.M., 1995 – *Deducing the pattern of arthropod phylogeny from mitochondrial DNA rearrangements.* – Nature, 376: 163-165.
- BOORE J.L., LAVROV D.V., BROWN W.M., 1998 – *Gene translocation links insects and crustaceans.* – Nature, 392: 667-668.
- BOORE J.L., 1999 – *Animal mitochondrial genomes.* - Nucl. Acid Res., 27: 1767-1780.
- BOURGOIN T., 1996 – *Phylogénie des Hexapodes. La recherche des synapomorphies ne fait pas toujours le cladisme!* - Bull. Soc. Fr., 121: 5-20.
- BRUSCA R.C., BRUSCA G.J., 1990 – *Invertebrates.* Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland Massachusetts.
- CAMERON S.L., MILLER K.B., D'HAESE C.A., WHITING M.F., BARKER S.C., 2004 – *Mitochondrial genome data alone are not enough to unambiguously resolve the relationships of Entognatha, Insecta and Crustacea sensu lato (Arthropoda).* – Cladistics, 20: 534-557.
- CAO Y., ADACHI J., JANKE A., PÄÄBO S., HASEGAWA M., 1994 – *Phylogenetic relationships among eutherian orders estimated from inferred sequences of mitochondrial proteins: instability of a tree based on a single gene.* - J. Mol. Evol., 39: 519-527.
- CARAPPELLI A., FRATI F., NARDI F., DALLAI R., SIMON C., 2000 – *Molecular phylogeny of the apterygoten insects based on nuclear and mitochondrial genes.* - Pedobiologia, 44: 361-373.
- CARAPPELLI A., SOTO-ADAMES F.N., SIMON C., FRATI F., NARDI F., DALLAI R., 2004 – *Secondary structure, high variability and conserved motifs for domain III of 12S rRNA in the Arthropoda (Hexapoda; Collembola).* - Insect Mol. Biol., 13: 659-670.
- CARAPPELLI A., NARDI F., DALLAI R., BOORE J.L., LIÒ P., FRATI F., 2005 – *Relationships between hexapods and crustaceans based on four mitochondrial genes. Volume 16.* - Edited by Koenemann S. & Jenner R.A. Boca Raton (FL; USA): CRC Press, Taylor and Francis Group; Crust. Issues; pp. 295-306.
- CARAPPELLI A., LIÒ P., NARDI F., VAN DER WATH E., FRATI F., 2007 – *Phylogenetic analysis of mitochondrial protein coding genes confirms the reciprocal paraphyly of Hexapoda and Crustacea.* - BMC Evol. Biol. 7 (suppl 2), S8.
- CHEN W.J., BU Y., CARAPPELLI A., DALLAI R., LI S., YIN W.Y., LUAN Y.X., 2011 – *The mitochondrial genome of Sinentomon erythranum (Arthropoda: Hexapoda: Protura): an example of highly divergent evolution.* - BMC Evol. Biol., 11: 315.
- COLGAN D.J., McLAUCHLAN A., WILSON G.D.F., LIVINGSTON S., MACARANAS J., EDGEcombe G.D., CASSIS G., GRAY M.R., 1998 – *Histone H3 and U2 snRNA DNA sequences and arthropod molecular evolution.* - Aust. J. Zool., 46: 419-437.
- COMANDI S., CARAPPELLI A., PODSIADLOWSKI L., NARDI F., FRATI F., 2009 – *The complete mitochondrial genome of Atelura formicaria (Hexapoda: Zygentoma) and the phylogenetic relationships of basal insects.* – Gene. 439: 25-34.
- COOK, C.E., SMITH, M.L., TELFORD, M.J., BASTIANELLO, A., AKAM, M., 2001 – *Hox genes and the phylogeny of the arthropods.* - Curr. Biol., 11: 759-763.
- COOK C.E., YUE Q., AKAM M., 2005 – *Mitochondrial genomes suggest that hexapods and crustaceans are mutually paraphyletic.* - Proc. R. Soc. B., 272: 1269-1304.
- CUROLE J.P., KOCHER T.D., 1999 – *Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes.* - Trends Ecol. Evol., 14: 394-398.
- DALLAI R., 1980 – *Considerations on Apterygota phylogeny.* - Boll. Zool., 47: 35-48.
- DALLAI R., 1989 – *Are Protura really insects?* In: Simonetta, A.M., Morris, S.C. (Eds.), The early evolution of Metazoa and the significance of the problematic taxa. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 263-269.
- DALLAI R., 1994 – *Recent findings on apterygotan sperm structure.* - Acta Zool. Fennica, 195: 23-27.
- DALLAI R., AFZELIUS B., 1999 – *Accessory microtubules in insect spermatozoa: structure, function and phylogenetic significance.* In: Cagnon, C. (Ed.), The male gamete: from basic knowledge to clinical applications. Cache River Press, Vienna, IL, pp. 333-350.
- DALLAI R., MERCATI D., CARAPPELLI A., NARDI F., MACHIDA R., SEKIYA K., FRATI F., 2011 – *Sperm accessory microtubules suggest the placement of Diplura as the sister-group of Insecta s.s.* - Arthropod Struct. & Dev., 40: 77-92.
- DELSUC F., PHILLIPS M.J., PENNY D., 2003 – *Comment on "Hexapod Origins: Monophyletic or Paraphyletic?"* – Science, 301: 1482d.
- D'HAESE C.A., 2002 – *Were the first springtails semi-aquatic? A phylogenetic approach by means of 28S rDNA and optimization alignment.* - Proc. R. Soc. Lond. B., 269: 1143-1151.
- D'HAESE C.A., 2003 – *Morphological appraisal of Collembola phylogeny with special emphasis on Poduromorpha and a test of the aquatic origin hypothesis.* - Zool. Scri., 32: 563-586.
- EDGEcombe G.D., WILSON G.D.F., COLGAN D.J., GRAY M.R., CASSIS G., 2000 – *Arthropod cladistics: combined analysis of Histone H3 and U2 snRNA sequences and morphology.* – Cladistics, 16: 155-203.
- EDGEcombe G.D., 2010 – *Arthropod phylogeny: an overview from the perspectives of morphology, molecular data and fossil record.* . - Arthropod Struct. & Dev., 39: 74-87.
- FRIEDRICH M., TAUTZ D., 1995 – *Ribosomal DNA phylogeny of the major extant arthropod classes and the evolution of myriapods.* – Nature, 376: 165-167.
- GARCIA-MACHADO E., PEMPERA M., DENNEBOUY N., OLIVA-SUAREZ M., MOUNOLOU J.C., MONNEROT M., 1999 – *Mitochondrial genes collectively suggest the paraphyly of crustacea with respect to insecta.* - J. Mol. Evol., 49: 142-149.

- GIRIBET G., RIBEIRA C., 1998 – *The position of arthropods in the animal kingdom: a search for a reliable outgroup for internal arthropod phylogeny*. - Mol. Evol. Phylogenet., 9: 481-488.
- GIRIBET G., WHEELER W.C., 1999 – *The position of arthropods in the animal kingdom: Ecdysozoa, islands, trees and the 'parsimony ratchet'*. - Mol. Phylogenet. Evol., 10: 1-5.
- GIRIBET G., RIBERA C., 2000 – *A review of arthropod phylogeny: New data based on ribosomal DNA sequences and direct character optimization*. - Cladistics, 16: 204-231.
- GIRIBET G., EDGECOMBE G.D., WHEELER W.C., 2001 – *Arthropod phylogeny based on eight molecular loci and morphology*. - Nature, 413: 157-161.
- GIRIBET G., EDGECOMBE G.D., CARPENTER J.M., D'HAESE C.A., WHEELER W.C., 2004 – *Is Ellipura monophyletic? A combined analysis of basal hexapod relationships with emphasis on the origin of insects*. - Org. Div. Evol., 4: 319-340.
- GIRIBET G., EDGECOMBE G.D., 2012 – *Reevaluating the arthropod tree of life*. - Annu. Rev. Entomol., 57: 167-186.
- HENNIG W., 1981 – *Insect phylogeny*. John Wiley and Sons, New York.
- HICKSON R.E., SIMON, C., PERREY S.W., 2000 – *The performance of several multiple-alignment programs in relation to secondary-structure features for an rRNA sequence*. - Mol. Biol. Evol., 17: 530-539.
- HIRST S., MAULIK, S., 1926 – *On same arthropod remains from the Rhynie chert (Old Red Sandstone)*. - Geological Magazine, 63: 69-71.
- HOLLAND B.R., DELSUC F., MOULTON V., 2005 – *Visualizing conflicting evolutionary hypotheses in large collections of trees: using consensus networks to study the origins of placentals and hexapods*. - Syst. Biol., 54: 66-76.
- HWANG U.W., FRIEDRICH M., TAUTZ D., PARK C.J., KIM W., 2001 – *Mitochondrial protein phylogeny joins myriapods with chelicerates*. - Nature, 413: 154-157.
- KJER K.M., 2004 – *Aligned 18S and insect phylogeny*. - Syst. Biol., 53: 506-514.
- KLASS K.D., KRISTENSEN N.P., 2001 – *The ground plan and affinities of hexapods: recent progress and open problems*. - Ann. Soc. Entomol. Fr., 37: 265-298.
- KOCH M., 1997 – *Monophyly and phylogenetic position of the Diplura (Hexapoda)*. - Pedobiol., 41: 9-12.
- KOCH M., 2001 – *Mandibular mechanisms and the evolution of hexapods*. - Ann. Soc. Entomol. Fr., 37: 129-174.
- KRAUS O., 1997 – *Phylogenetic relationships between higher taxa of tracheate arthropods*. Arthropod Relationships, Systematic Association special volume series 55, R.A. Fortey and R.H. Thomas, Chapman & Hall, London, pp. 295-303.
- KRISTENSEN N.P., 1981 – *Phylogeny of insect orders*. - Ann. Rev. Entomol., 26: 135-157.
- KRISTENSEN N.P., 1997 – *The groundplan and basal diversification of the hexapods*. Arthropod Relationships, Systematic Association special volume series 55, R.A. Fortey and R.H. Thomas, Chapman & Hall, London, pp. 281-293.
- KUKALOVÁ-PECK J., 1987 – *New Carboniferous Diplura, Monura and Thysanura, the hexapod groundplan, and the role of thoracic side lobes in the origin of wings (Insecta)*. - Can. J. Zool., 65: 2327-2345.
- LAVROV D., BROWN W.M., BOORE J.L., 2004 – *Phylogenetic position of the Pentastomida and (pan)crustacean relationships*. - Proc. R. Soc. Lond. B., 271: 537-544.
- LUAN Y., MALLATT J.M., XIE R., YANG Y., YIN W., 2005 – *The phylogenetic positions of three basal-hexapod groups (Protura, Diplura, and Collembola) based on ribosomal RNA gene sequences*. - Mol. Biol. Evol., 22: 1579-1592.
- MACHIDA R., TAKAHASHI, I., 2003 – *Embryonic development of a proturan Baculentulus densus (Imadaté): Reference to some developmental stages (Hexapoda: Protura, Acerentomidae)*. - Proc. Arthropod Embryol. Soc. Jpn. 38, 13-17.
- MALLATT J., GAREY J.R., SHULTZ J.W., 2004 – *Ecdysozoan phylogeny and Bayesian inference: first use of nearly complete 28S and 18S rRNA gene sequences to classify the arthropods and their kin*. - Mol. Phylogenet. Evol., 31: 178-191.
- MANTON S.M., 1973 – *The evolution of arthropodan locomotory mechanisms. Part 10. Locomotory habits, morphology and evolution of the hexapod classes*. - Zool. J. Linn. Soc., 51: 203-400.
- MANTON S.M., 1977 – *The Arthropoda: habits, functional morphology and evolution*. Clarendon Press, Oxford, pp. 494.
- MASTA S.E., BOORE J.L., 2004 – *The complete mitochondrial genome of the spider Habronattus oregonensis reveals rearranged and extremely truncated tRNAs*. - Mol. Biol. Evol., 21: 893-902.
- MEUSEMANN K., VON REUMONT B.M., SIMON S., ROEDING F., STRAUSS S., KÜCK, P., EBERSBERGER, I., WALZL, M., PASS G., BREUERS S., ACHTER V., VON HAESELER A., BURMEISTER T., HADRY S. H., WÄGELE J.W., MISOF, B., 2010 – *A phylogenomic approach to resolve the arthropod tree of life*. - Mol. Biol. Evol., 27: 2451-2464.
- NARDI F., CARAPPELLI A., FANCIULLI P.P., DALLAI R., FRATI F., 2001 – *The complete mitochondrial DNA sequence of the basal hexapod Tetrodontophora bielanensis: evidence for heteroplasmy and tRNA*. - Mol. Biol. Evol., 18: 1293-1304.
- NARDI F., SPINSANTI G., BOORE J.L., CARAPPELLI A., DALLAI R., FRATI F., 2003a – *Hexapod Origins: Monophyletic or Paraphyletic?* - Science, 299: 1887-1889.
- NARDI F., SPINSANTI G., BOORE J.L., CARAPPELLI A., DALLAI R., FRATI F., 2003b – *Response to Comment on "Hexapod Origins: Monophyletic or Paraphyletic?"* - Science, 301: 1482e.
- NEGRISOLO E., MINELLI A., VALLE G., 2004 – *The mitochondrial genome of the house centipede Scutigera and the monophyly versus paraphyly of myriapods*. - Mol. Biol. and Evol., 21: 770-780.
- PAGE R.D.M., 2000 – *Comparative analysis of secondary structure of insect mitochondrial small subunit ribosomal RNA using maximum weighted matching*. - Nucl. Acids Res., 28: 3839-3845.
- PISANI D., POLIG L.L., LYONS-WEILER M., HEDGES S.B., 2004 – *The colonization of land animals: molecular phylogeny and divergence times among arthropods*. - BMC Biology 2:1.
- REGIER J.C., SHULTZ J.W., 1997 – *Molecular phylogeny of the major arthropod groups indicates polyphyly of crustaceans and a new hypothesis for the origin of hexapods*. - Mol. Biol. Evol., 14: 902-913.
- REGIER J.C., SHULTZ J.W., 2001 – *Elongation Factor-2: a useful gene for arthropod phylogenetics*. Mol. Phylogenet. Evol., 20: 136-148.
- Regier J.C., Shultz J.W., Kambic R.E., 2004 – *Phylogeny of basal hexapod lineages and estimates of divergence times*. - Ann. Entomol. Soc. Am., 97: 411-419.
- REGIER J.C., SHULTZ J.W., KAMBIC R.E., 2005 – *Pancrustacean phylogeny: hexapods are terrestrial crusta-*

- ceans and maxillopods are not monophyletic.* - Proc. R. Soc. B., 272: 395-401.
- REGIER J.C., SHULTZ J.W., GANLEY A.R.D., HUSSEY A., SHI D., BALL ZWICK, B., STAJICH J.E., CUMMINGS M.P., MARTIN J.W., CUNNINGHAM W., 2008 – *Resolving arthropod phylogeny: exploring phylogenetic signal within 41 kb of protein-coding nuclear gene sequence.* - Syst. Biol., 57: 920-938.
- REGIER J.C., SHULTZ J.W., ZWICK A., HUSSEY A., BALL B., WETZER JOEL, R., MARTIN W., CUNNINGHAM C.W., 2010 – *Arthropod relationships revealed by phylogenomic analysis of nuclear protein-coding sequences.* - Nature, 463: 1079-1083.
- SAVOLAINEN V., CHASE M.W., HOOT S.B., MORTON C.M., SOLTIS D.E., BAYER C., FAY M.F., DE BRUIJN A.Y., SULLIVAN S., QIU Y.L., 2000 – *Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid atpB and rbcL gene sequences.* - Syst. Biol., 49: 306-362.
- SHULTZ J.W., REGIER J.C., 2000 – *Phylogenetic analysis of arthropods using two nuclear protein-encoding genes supports a crustacean + hexapod clade.* - Proc. R. Soc. Lond. B., 267: 1011-1019.
- SIMON C., FRATI F., BECKENBACH A., CRESPI B., LIU H., FLOOK P., 1994 – *Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved Polymerase Chain Reaction primers.* - Ann. Ent. Soc. of America, 87: 651-701.
- STANICZEK A.H., 2000 – *The mandible of silverfish (Insecta: Zygentoma) and mayflies (Ephemeroptera): Its morphology and phylogenetic significance.* - Zool. Anz., 239: 147-178.
- STYS P., BILINSKI S., 1990 – *Ovariole types and the phylogeny of hexapods.* - Biol. Rev., 65: 401-429.
- SWOFFORD D.L., OLSEN G.J., WADDELL P.J., HILLIS D.M., 1996 – *Phylogenetic inference.* In: Hillis D.M., Moritz C., and Mable B.K. (Eds.), Molecular systematics. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, pp. 407-514.
- TIMMERMANS M.J.T.N., ROELOFS D., MARIËN J., VAN STRAALEN N.M., 2008 – *Revealing pancrustacean relationships: phylogenetic analysis of ribosomal protein genes places Collembola (springtails) in a monophyletic Hexapoda and reinforces the discrepancy between mitochondrial and nuclear DNA markers.* - BMC Evol. Biol., 8: 83.
- WHITING M.F., CARPENTER J.C., WHEELER Q.D., WHEELER W.C., 1997 – *The Strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology.* - Syst. Biol., 46: 1-168.
- WHEELER W.C., 1989 – *The systematics of insect ribosomal DNA.* In B. Fernholm et al. (eds.), The Hierarchy of Life. Molecules and Morphology in Phylogenetic Analysis. Amsterdam. Elsevier. 307-321.
- WHEELER W.C., WHITING M., WHEELER Q.D., CARPENTER J.M., 2001 – *The phylogeny of the extant hexapod orders.* - Cladistics, 17: 113-169.
- WHEELER W.C., GLADSTEIN D.S., DELAET J., 2002 – *POY version 3.0.* Program and documentation available at <ftp.amnh.org/pub/molecular/poy>.
- WILSON K., CAHILL V., BALLMENT E., BENZIE J., 2000 – *The complete sequence of the mitochondrial genome of the crustacean Peneaus monodon: are malacostracan crustaceans more closely related to insects than branchiopods.* Mol. Biol. Evol. 17, 863-874.

I SEGMENTI DEGLI ARTROPODI, TRA EVOLUZIONE E SVILUPPO

ALESSANDRO MINELLI (*)

(*) *Università di Padova, Via Ugo Bassi 58 B, I 35131 Padova, Italia; alessandro.minelli@unipd.it*

Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Evoluzione ed adattamenti degli Artropodi – Contributi di base alla conoscenza degli insetti». Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 13 maggio 2011.

Arthropod segments between evolution and development

Modern comparative research on the genetic control of segmentation leads to a radical revision of the traditional conception of the segment as a priori given structural unit, that in the course of evolution can only be modulated in the number or launched in divergent specialization. In many cases, as in the Diplopoda, determining the number of segments in a given arthropod depends on an arbitrary choice about what is a segment. It is to be assumed that the segmental organization has evolved several times in the Metazoa, in particular we can not speak of homology between the segments of annelids and arthropods. Even a single individual can have multiple serial structures distinct and independent of each other in terms of ontogeny and phylogeny. The mechanisms through which variation in the number of segments can be achieved by modulating development are varied and not necessarily dependent on changes in the activity of a posterior proliferative region.

KEY WORDS: segment, evo-devo, homology, development, evolvability.

COS'È UN SEGMENTO?

I nostri Artropodi sono gli *Insecta* di Linneo, gli *ἐντομα* (entoma) di Aristotele. Mentre il nome che designa oggi il grande phylum fa riferimento alla natura articolata delle appendici di questi animali, il termine latino usato da Linneo, così come il suo preciso equivalente greco che troviamo in Aristotele, descrive l'aspetto più ovvio dell'organizzazione dell'asse principale del corpo, vale a dire la sua suddivisione in parti ripetitive, la sua natura segmentale. La restrizione postlinneana del nome *Insecta* ad una parte soltanto degli Artropodi nulla toglie all'ovvio fatto che tutti gli Artropodi sono *animalia insecta*. Di fronte a nozioni entrate già in tempi antichi a far parte delle nostre conoscenze sul mondo della natura, si potrebbe essere indotti a considerare la nozione di segmento come definitivamente acquisita e degna solo di qualche attenzione nei casi in cui l'organizzazione di un artropodo può lasciare incerti sui confini fra le successive unità segmentali che formano il corpo. Questo succede, ad esempio, nei Diplopodi, nei quali può essere ancora messo in discussione se si debbano riconoscere tanti segmenti quante sono le paia di zampe dell'animale o se non sia invece più opportuno attribuire natura di segmento a ciascuno di quegli 'anelli', più o meno completi, in cui si articola il tronco. Dei Diplopodi avremo occasione di parlare nuovamente, ma il loro caso invita

fin d'ora a soffermarci un poco sulla questione di fondo: cos'è un segmento?

Il segmento è, innanzitutto, un'unità di organizzazione morfologica e funzionale. Lo vediamo bene, per esempio, nel tronco di una scolopendra, dove possiamo riconoscere una successione di unità strutturali (in numero di 21 nelle specie delle nostre regioni) articolate fra loro, provviste di un paio di zampe ciascuna e delimitate da un tergite dorsale e da uno sternite ventrale. A questi 21 segmenti pediferi possiamo aggiungere senza incertezze una ventiduesima unità, anche se le sue appendici, anziché essere zampe locomotorie, sono invece un paio di forcipule velenifere, e anche a dispetto del fatto che a questo segmento forcipulare non corrispondono un tergite e uno sternite completi e liberi, come negli altri casi. Segmenti privi di appendici si riconoscono inoltre all'estremità posteriore del corpo, ma sul loro numero (due? tre?) regna qualche incertezza.

Se dal tronco di una scolopendra ci spostiamo a considerare il capo dello stesso animale, la nozione di segmento può ancora applicarsi, ma in un senso molto differente da quello, intuitivo, che ci ha guidato nella descrizione della regione provvista di zampe. Il capo è provvisto di tre paia di appendici (mandibole, mascelle prime, mascelle seconde), che possono suggerire l'opportunità di riconoscere, nella regione del capo in cui queste appendici sono presenti, un egual numero di segmenti, ma questa 'guida' viene meno nella metà anteriore del capo.

Ci sono tuttavia delle ragioni che ci inducono a riconoscere una natura segmentale anche a questa parte del corpo. Queste ragioni, consolidate da un'ormai lunghissima tradizione, sono in parte di natura anatomica (la presenza di un neuromero, cioè un centro nervoso pari, per ogni segmento del corpo) e in parte di natura embriologica, vista l'evidente organizzazione seriale, nell'embrione, del futuro capo dell'animale. Ne deriva la diffusa nozione secondo la quale il capo di un artropodo corrisponderebbe ad un certo numero di segmenti fusi tra loro. Nel caso degli Insetti, questi segmenti sarebbero probabilmente sei, anche se non manca chi ne vorrebbe invece riconoscere sette, attribuendo il labrum o il clypeolabrum ad un ipotetico segmento distinto da quello oculare (es., SCHMIDT-OTT *et al.*, 1994, 1995; URBACH & TECHNAU, 2003; ma vedi BITSCH & BITSCH, 2010). La nozione di 'fusione', tuttavia, risulta ambigua nella misura in cui non separa la dimensione ontogenetica da quella filogenetica (KRELL, 1992; MINELLI, 2003). Dal punto di vista dello sviluppo, sarà l'osservazione diretta a dirci se la struttura fortemente integrata delle parti che costituiscono il capo di un insetto o di un altro artropodo risulta o meno dall'integrazione strutturale (dunque, fusione in senso letterale) di unità seriali che si presentano separate e distinte in uno stadio precoce dello sviluppo. Nella dimensione filogenetica, converrebbe parlare piuttosto dell'incorporazione nel tagma cefalico di un certo numero di segmenti, ammesso di poterli riconoscere come distinti nei progenitori delle forme attuali. Lascero fuori dalla discussione seguente l'aspetto filogenetico, per aggiungere invece alcune osservazioni sull'aspetto ontogenetico della delimitabilità e delimitazione effettiva dei segmenti.

Oggi possiamo affrontare lo studio della comparsa nell'embrione di un'organizzazione segmentale utilizzando, oltre ai metodi dell'embriologia descrittiva, anche quelli della genetica dello sviluppo. In effetti, fu proprio lo studio di alcuni mutanti di *Drosophila* con vistosi difetti nell'organizzazione segmentale (NÜSSLEIN-VOLHARD & WIESCHAUS, 1980) ad aprire, trent'anni fa, la strada verso quella che sarebbe presto diventata la moderna genetica dello sviluppo, una disciplina che, a sua volta, avrebbe fornito gli strumenti più potenti per affrontare sul piano sperimentale lo studio dell'evoluzione dei meccanismi dello sviluppo. Quelle ormai classiche ricerche su *Drosophila* dimostrarono sia il coinvolgimento di numerosi geni nel dare origine alla suddivisione dell'embrione in segmenti, sia il fatto che il più precoce pattern segmentale riconoscibile nell'embrione del moscerino non corrisponde esattamente alla successione delle unità morfologiche seriali che saranno poi riconoscibili nella larva e nel-

l'adulto, bensì ad una sequenza di parasegmenti, ciascuno dei quali contribuisce per metà alla formazione di un segmento e per metà alla formazione del segmento successivo (vedi ad es. LAWRENCE, 1992). In quegli anni, comunque, l'espressione 'geni della segmentazione' diventò popolare ed ancor oggi essa ricorre con una certa frequenza, sia nella letteratura specialistica che nelle opere di carattere didattico (vedi ad esempio CARROLL *et al.*, 2004). Negli anni a noi più vicini, tuttavia, si è compreso che le funzioni in cui sono coinvolti questi geni (o, meglio, le proteine da essi codificate) non sono tali da giustificare veramente tale qualifica. Come hanno scritto HEJNOL & MARTINDALE (2008), "There are no such things like 'segmentation', 'eye', 'heart' or 'limb' genes. There are just molecules that can bind to DNA or interact with receptors, phosphorylate other molecules, etc."

SEGMENTI AMBIGUI

La nozione di segmento, dunque, ha per lo meno una duplice valenza: da un lato, il segmento è un'unità morfofunzionale ben riconoscibile nell'architettura corporea dell'animale; dall'altro esso sarebbe una sorta di archetipo dell'organizzazione corporea, al quale sarebbe possibile e opportuno riferire anche quelle parti del corpo in cui la morfologia esterna non rivela alcuna suddivisione degna di un *insectum*.

Origini embrionali a parte, è dunque più opportuno riferirsi all'anatomia interna, quando la morfologia esterna è poco informativa? Nel caso di animali segmentati diversi dagli Artropodi, strutture seriali degne di attenzione sono di sicuro le vertebre dei Vertebrati (limitatamente però al tronco e alla coda) oppure i sacchetti celomatici e i metanefridi degli Anellidi. In tutti e tre i casi, però, un riferimento importante è quello offerto dall'asse longitudinale principale del sistema nervoso, con la sua successione di gangli e di nervi laterali. Non è detto, tuttavia, che con questo siano risolti tutti i nostri problemi.

Prendiamo ad esempio il caso delle sanguisughe. In questi anellidi, la superficie del corpo è suddivisa in anelli il cui numero è di molto superiore a quello delle unità riconoscibili, nell'anatomia interna, utilizzando come riferimento i gangli nervosi, oppure i metanefridi, per la parte del corpo in cui si estende la loro sequenza. Fin dalla seconda metà dell'Ottocento si è consolidata la scelta di chiamare segmenti le unità riconoscibili dall'anatomia interna, riconoscendo agli anelli esterni solo il valore di suddivisioni secondarie (molto spesso, 3 oppure 5 per segmento). Per qualche tempo, tuttavia, tra gli studiosi di Irudinei si contrapposero due scuole: quella

di GRATIOLET (1862) e di WHITMAN (1886, 1892), che fissava proprio nel cuore di due paia successive di gangli nervosi il limite anteriore ed il limite posteriore, rispettivamente, di un segmento, mentre la scuola di MOORE (1898, 1900) e di CASTLE (1900) riconosceva invece a ciascuna coppia di gangli una posizione centrale all'interno del segmento. Moderni studi sullo sviluppo embrionale delle sanguisughe (vedi una sintesi in SHANKLAND & SAVAGE 1997) hanno rivelato un *cell lineage* che per successive suddivisioni di una serie di teloblasti ectodermici e mesodermici dà origine a 32 gruppi di cellule, capostipiti di altrettanti segmenti che corrispondono molto bene ai segmenti già riconosciuti dai morfologi sulla base dell'anatomia interna e sostanzialmente in registro con la cadenza segmentale indicata da MOORE e CASTLE. Ci siamo, dunque? Forse, ma non sempre. Nei Policheti del genere *Pectiniaria*, l'articolazione del corpo in segmenti sembra ben riconoscibile anche dall'aspetto esterno dell'animale, con la sua regolare successione di parapodi. C'è dunque bisogno di verificare come sono distribuiti i gangli, lungo la catena gangliare ventrale dell'animale? Forse sì, ma è proprio allora che cominciano i problemi. Se teniamo per buona la scansione segmentale suggerita dai parapodi, *Pectiniaria* avrebbe tre paia di gangli per segmento (NILSSON, 1912)...

Ma è ora di restringere definitivamente l'attenzione agli Artropodi. Questa restrizione del campo di indagine non ci garantisce, tuttavia, una tranquilla applicabilità della nozione di segmento.

Nei Crostacei Notostraci, per esempio, non vi è una corrispondenza precisa fra le paia di appendici del tronco e i segmenti in cui si articola la corrispondente regione del corpo. Ambiguità nella delimitazione dei segmenti del tronco sono molto diffuse nei Miriapodi e non si limitano alla presenza, già ricordata, di 'diplosegmenti' nel tronco dei Diplopodi. All'interno dei Chilopodi, per esempio, gli Scutigeromorfi hanno un tronco provvisto di soli otto tergiti a fronte di 15 paia di zampe. Nella maggior parte dei Pauropodi troviamo sei tergiti a fronte a 9-10 paia di zampe. Nei Sinfili, il numero dei tergiti è invece superiore rispetto a quello delle paia di zampe (15-24 tergiti contro 11-12 paia di zampe). È probabile che queste discrepanze dipendano dal fatto che i meccanismi responsabili della produzione di un'organizzazione segmentale della parte dorsale dell'animale siano in qualche misura indipendenti dai meccanismi responsabili dell'organizzazione segmentale della parte ventrale. Quanto meno, questo è il risultato degli studi di JANSSEN *et al.* (2004) sul diplopodo *Glomeris marginata*.

Nell'ambito degli Insetti, non sono rare le situazioni in cui di un ipotetico segmento non rimane che

la parte dorsale o, più raramente, solo quella ventrale. Il segmento 'normale e completo' dei nostri manuali si riduce presto a semplice modello ideale, di fronte alle architetture più diverse che troviamo, ad esempio, nell'addome di moltissimi Imenotteri. Straordinaria fra tutte è l'organizzazione del complesso pterotoracico degli Odonati, dove i due mesoepimeri sembrano... dimenticarsi della loro natura di scleriti plurali, per venirsi a fondere dorsalmente lungo la linea mediana, interrompendo così la continuità fra il vistoso tergite protoracico e quanto rimane del tergite mesotoracico.

Considerare il segmento come il modulo primario, se non unico, dell'architettura del tronco di un artropodo significa ignorare sia la grande indipendenza che spesso dimostrano moduli strutturali più piccoli (un tergite, un pleurite etc.), sia la frequente formazione di moduli più estesi, alla cui costruzione concorrono due o più segmenti, oppure parti di segmenti diversi (ammesso, naturalmente, che la delimitazione dei segmenti si possa considerare non ambigua). Tornando ai Diplopodi, se è vero che gli 'anelli' o 'diplosegmenti' rappresentano ovvie unità morfofunzionali, è anche vero che le due paia di appendici di uno stesso anello o diplosegmento possono differenziarsi in modo drammaticamente diverso, come avviene nei maschi di molte specie, dove un paio ha funzione genitale (gonopodi), mentre l'altro paio conserva una normale struttura di zampa locomotoria.

GLI ARTROPODI E GLI ALTRI ANIMALI SEGMENTATI: OMOLOGIA TRA SEGMENTI?

Di fronte a comportamenti morfologici così diversi, alla base dei quali ci sono vicende ontogenetiche e quadri di espressione genica molto vari (quest'ultimi, peraltro, ancora assai imperfettamente conosciuti), è necessario chiedersi se tutte le unità che noi chiamiamo segmenti siano in realtà omologhe tra loro. Il problema può essere affrontato a livelli diversi.

Ci possiamo chiedere, innanzitutto, se (o fino a che punto) sia legittimo considerare omologhe le unità seriali che riconosciamo nel corpo di un artropodo, di un anellide e di un vertebrato. In secondo luogo, ci possiamo chiedere se tutte le serie di strutture ripetitive di uno stesso animale siano necessariamente parti di una stessa serie di unità segmentali. Infine, possiamo chiederci se tutti gli elementi siano strettamente omologhi tra loro all'interno di una stessa serie di segmenti in uno stesso animale.

Il primo problema è stato molto dibattuto negli ultimi vent'anni, per due diverse ragioni. Da un lato, gli studi filogenetici su base molecolare hanno messo

presto in forse l'ipotetica stretta affinità fra i due grandi gruppi di animali invertebrati segmentati, gli Anellidi e gli Artropodi, un'affinità che aveva suggerito a CUVIER (1816) di raggrupparli in una delle sue quattro divisioni (*embranchements*) del Regno Animale, quella degli Articulata. Se gli Anellidi hanno invece affinità più strette con i Molluschi che con gli Artropodi, e quest'ultimi, da parte loro, risultano più affini ai Nematodi che agli Anellidi, si presenta subito una nuova e forse inattesa questione: i segmenti degli Artropodi sono omologhi ai segmenti degli Anellidi?

In termini di filogenesi, la questione si traduce in un'alternativa fra due possibilità: (a) i segmenti degli Anellidi e quelli degli Artropodi sono tra loro omologhi e quindi i due phyla, anche se non sono più da considerare ciascuno il più prossimo parente dell'altro, derivano comunque da un antenato segmentato, ma l'organizzazione segmentata è andata perduta, separatamente, sia nei gruppi più prossimi agli Anellidi (nei Molluschi, per esempio), sia nei gruppi più prossimi agli Artropodi (in particolare, nei Nematodi); oppure (b) l'ultimo antenato comune agli Anellidi e agli Artropodi non era segmentato, e quindi l'organizzazione segmentata si è evoluta separatamente nelle due linee evolutive.

Con questo dilemma arriviamo dritti dritti all'altro punto di partenza dal quale possiamo affrontare la questione, vale a dire allo studio dei meccanismi ontogenetici attraverso i quali si formano i segmenti negli Anellidi e negli Artropodi e, in particolare, dell'identità dei geni coinvolti nel processo, e nel modo in cui essi si esprimono. I dati fin qui raccolti in proposito sembrano escludere un'origine comune dei segmenti degli Artropodi e degli Anellidi. Va anche detto che all'interno degli Artropodi la produzione dei segmenti procede in modo abbastanza vario e spesso piuttosto diverso da quanto potrebbe suggerire *Drosophila*, troppo presto (e troppo spesso) assunta come organismo modello anche in riferimento a processi, come la produzione dei segmenti, in cui i Ditteri, e soprattutto i Ditteri Brachiceri, esemplificano invece una situazione molto derivata. Quanto è noto per *Drosophila* può essere comunque messo oggi a confronto con quanto è noto per altri Esapodi come *Schistocerca*, *Apis*, *Tribolium*, ma anche per Crostacei (*Artemia*), Chilopodi (*Lithobius*, *Strigamia*), Diplopodi (*Glomeris*) e Aracnidi (l'acaro *Archegozetes* e il ragno *Cupiennius*). Una bella sintesi sull'argomento è stata presentata da HUGHES & KAUFFMAN (2002).

A confronto con questo significativo insieme di studi su rappresentanti dei diversi cladi principali di Artropodi, le attuali conoscenze sulla genetica

dei processi che realizzano l'architettura segmentata degli Anellidi sono ancora piuttosto limitate. Una comparazione globale, tuttavia, mostra grosse difformità fra i due phyla, sia per quanto riguarda il complesso dei geni più direttamente coinvolti, sia per il fatto che negli Artropodi la suddivisione del corpo in segmenti riguarda primariamente l'ectoderma e i suoi derivati, mentre negli Anellidi il corrispondente processo riguarda in primo luogo il mesoderma (MINELLI & BORTOLETTO, 1988; HANNIBAL *et al.*, 2012). Non si può certo ignorare il ruolo che geni omologhi (ad esempio *engrailed*) hanno sia nella segmentazione degli Artropodi che in quella degli Anellidi, così come il fatto che il gene *Notch* risulta coinvolto nella formazione di nuovi segmenti sia negli Aracnidi (STOLLEWERK *et al.*, 2003) così come nei Vertebrati. Ritengo tuttavia che ciò non giustifichi la tesi di alcuni studiosi (ad esempio, DAMEN, 2007), secondo i quali basterebbero questi indizi per obbligarci a postulare l'esistenza di un antenato comune segmentato, non solo fra Anellidi e Artropodi, ma anche fra questi due phyla e i Vertebrati. In altre parole, un corpo segmentato sarebbe proprio una delle caratteristiche di Urbilateria, l'ipotetico antenato comune di tutti i Bilateri (es., KIMMEL, 1996; DE ROBERTIS, 1997; HOLLAND *et al.*, 1997; HOLLAND & HOLLAND, 1998; PALMEIRIM *et al.*, 1997; CHRIST *et al.*, 1998; BALAVOINE & ADOUTTE, 2003). Ma una simile ricostruzione non è mai risultata dall'applicazione dei rigorosi metodi comparativi della moderna filogenetica.

Nel sottolineare come una comune origine dei segmenti degli Artropodi e degli Anellidi (per non parlare dei Vertebrati) risulti oggi assai improbabile, sia per i risultati degli studi di genetica comparata dello sviluppo, sia per quanto emerge dalle ricostruzioni filogenetiche su base molecolare, è opportuno aggiungere che una serena rivisitazione della nozione di segmento, e una consapevolezza della pluralità di accezioni in cui il termine viene correntemente applicato nella descrizione o nell'interpretazione dell'architettura corporea degli Artropodi e di altri Metazoi, obbligano ad ammettere che la qualifica di segmentale potrebbe essere applicata, sia pure con le opportune qualificazioni, anche nel caso di phyla in cui alle strutture seriali riconoscibili lungo l'asse principale del corpo il termine di segmento è stato in genere negato (MINELLI & FUSCO, 2004). Alludo, per esempio, agli zoniti dei Chinorinchi, ma anche alle strutture seriali di un mollusco come *Neopilina* e alle stesse proglottidi delle tenie, che pure non sono lontane, da un punto di vista organizzativo, dal rappresentare una catena di individui uniti tra loro, almeno in via temporanea.

SERIE DI SERIE

Il secondo problema (se, cioè, strutture seriali diverse di uno stesso animale si debbano sempre ritenere come aspetti diversi di un'unica serie di unità segmentali ripetute) ammette di sicuro una risposta negativa nel caso dell'anfiosso e dei Vertebrati, dove neuomeri e miomeri da un lato, e branchiomeri dall'altra, rappresentano due serie di per sé separate, che solo in via secondaria possono entrare in registro fra loro. Nel caso degli Artropodi parlano nella stessa direzione i risultati, già ricordati, delle recenti ricerche sui meccanismi con cui si realizzano le strutture seriali della metà dorsale e della metà ventrale di *Glomeris*, ed è del tutto probabile che una simile duplicità di serie sia riconoscibile negli altri miriapodi che presentano una discordanza fra scleriti tergali e unità pedifere.

La terza questione, infine, riguarda l'omologia seriale fra tutte le unità riconosciute come segmenti lungo l'asse principale del corpo di uno stesso animale. Nell'anfiosso, per esempio, le prime 5-6 paia di somiti si formano simultaneamente, mentre le successive vi si aggiungono sequenzialmente (CONKLIN, 1932). Nel caso dei Policheti, una vecchia tradizione (vedi ad es. IWANOFF, 1928) riconosceva in molti casi un primo gruppo di segmenti larvali anteriori, seguito da una lunga serie di segmenti postlarvali; una distinzione sostanzialmente negata da DOHLE (1979), ma forse troppo sbrigativamente. Nel caso degli Artropodi, vale la pena di considerare, quanto meno, la contrapposizione fra i pochissimi segmenti anteriori riconoscibili in un nauplius e quelli che si formeranno caudalmente ad essi nel corso dello sviluppo di tutti i crostacei che appunto come nauplius iniziano il loro sviluppo postembrionale (MINELLI, 2001). Una contrapposizione simile (se non addirittura esattamente sovrapponibile) si osserva nei Trilobiti, con i pochissimi segmenti anteriori che formavano il minuscolo protaspis, stadio giovanile paragonabile in certo senso al nauplius dei crostacei, e i segmenti che comparivano successivamente, attraverso i vari stadi di meraspis fino all'organizzazione definitiva dell'holaspis.

È ormai ben documentato che i meccanismi che forniscono una struttura segmentale alla parte anteriore del capo degli Insetti (il cosiddetto prosocephalon) sono fondamentalmente diversi dai processi che danno origine all'organizzazione segmentata della parte posteriore del capo, del torace e dell'addome (GROSSNIKLAUS *et al.*, 1994; VINCENT *et al.*, 1997; ROGERS & KAUFMAN, 1997; WIMMER *et al.*, 1997). Quindi, nella misura in cui una sovrapponibilità dei meccanismi di sviluppo che danno origine a due strutture può essere considerata come una ragione per considerare omologhe quest'ultime, i seg-

menti del prococephalon non sarebbero omologhi a quelli del resto del corpo. La mancanza (cf. JÜRGENS & HARTENSTEIN, 1993; ROGERS & KAUFMAN, 1996, 1997; WIMMER *et al.*, 1997) in questa regione di qualsiasi espressione dei geni *pair-rule*, il cui ruolo nella segmentazione è stato ampiamente studiato in *Drosophila* e in altri artropodi, ha contribuito qualche tempo fa a suggerire l'opportunità di riconoscere, nell'organizzazione degli insetti, cinque tagmi, anziché i tre tradizionali, separando la metà anteriore del capo (prosocephalon) da quella posteriore (gnathocephalon), mentre – sempre sulla base dei pattern di espressione genica – converrebbe distinguere la parte anteriore dell'addome (i primi sette segmenti) come 'addome in senso stretto', in contrapposizione ad un post-addome (AKAM *et al.*, 1988).

STABILITÀ ED EVOLVABILITY DEL NUMERO SEGMENTALE

Nell'ambito degli Artropodi vi sono vasti cladi all'interno dei quali il numero di segmenti che formano il corpo è singolarmente fisso, accanto ad altri nei quali lo stesso numero varia anche fra specie assai vicine. A volte, questo numero appare conservato anche a dispetto di profonde differenze nella natura dei singoli segmenti e delle corrispondenti appendici, differenze a volte così profonde da mettere in discussione i limiti tradizionali fra le regioni (tagmata) del corpo. Pensiamo, ad esempio, ai numerosi casi in cui uno o più paia di appendici hanno assunto il significato di massillipedi, determinando un più o meno distinto passaggio del corrispondente segmento (o dei corrispondenti segmenti) da un tagma postcefalico al tagma cefalico.

In effetti, se il segmento che porta le zampe raptatorie delle mantidi o delle mantispe ha una sua complessiva identità toracica al pari di quello degli altri Dittiotteri o, rispettivamente, degli altri Planipenni, è però vero che il segmento che negli Isopodi porta un paio di massillipedi risulta largamente incorporato nel tagma cefalico piuttosto che nel più caudale pereon, e lo stesso vale per i Decapodi e per altri Malacostraci.

Anche a prescindere dalla specializzazione delle appendici, la maggiore stabilità della composizione segmentale del corpo dell'animale rispetto alla suddivisione in regioni del suo corpo è esemplificata anche dagli Omotteri Psilloidei, nei quali il confine fra capo e protorace risulta evanescente nelle ninfe, per comparire però nell'adulto.

Quanto agli Insetti nel loro complesso, dobbiamo prendere un po' le distanze dalla tradizione manualistica che assegna loro un pacchetto prefissato di 6 segmenti cefalici, 3 segmenti toracici e 11 seg-

menti addominali. Le ragioni più serie per una rivisitazione di questa nozione non risiedono tanto nelle sopra accennate incertezze circa il numero di segmenti riconoscibili nel capo (un numero che comunque è probabilmente costante in tutto il clade) o nell'esistenza di casi in cui viene in qualche modo messo in discussione il confine fra i tagmi, come nelle psille oppure negli Imenotteri Apocriti, con il loro propodeo in condizione di 'segmento toracico onorario', quanto nel fatto che il numero effettivo di segmenti addominali è assai diverso nei vari gruppi, a volte anche fra taxa filogeneticamente assai vicini e non di rado anche fra i due sessi della stessa specie. Di fronte a questa diversità, limitarsi a parlare di gradi diversi di fusione di alcuni dei segmenti originari non ci aiuta a formulare domande utili a proposito delle strade seguite dall'evoluzione morfologica dell'addome degli Insetti e, soprattutto, a riguardo delle modificazioni che hanno interessato i meccanismi con cui i segmenti vengono generati nel corso dello sviluppo. La questione è ulteriormente complicata dal fatto che in moltissimi Olometaboli il numero di segmenti addominali riconoscibili nell'adulto è inferiore a quello dei segmenti addominali presenti nella larva. Senza dimenticare la condizione, sostanzialmente opposta, dei Ditteri Blafariceridi, nei quali il corpo della larva è articolato in 'macrosegmenti' dei quali il primo corrisponde a capo più torace più primo segmento addominale e i successivi a porzioni, pressappoco bisegmentali, dell'addome.

La biologia evoluzionistica dello sviluppo degli ultimi trent'anni ha fornito, come si è detto, molte informazioni utili alla comprensione dei meccanismi che generano l'organizzazione segmentata di un certo numero di Artropodi appartenenti a linee evolutive diverse (es., PATEL 1994; DAVIS & PATEL, 1999, 2002; PEEL, 2004; PEEL *et al.* 2005), ed ha anche iniziato a fornire informazioni importanti a proposito dell'evoluzione della tagmosi e, più in generale, della specificazione dell'identità dei singoli segmenti (vedi ad es. HUGHES & KAUFMAN, 2002; ERIKSSON *et al.*, 2010). Sappiamo ancora molto poco, invece, sui modi in cui interpretare in termini di modificazioni dei meccanismi di sviluppo sia la stabilità nel numero complessivo di segmenti corporei che si riscontra in alcuni cladi di Artropodi, sia i cambiamenti nel numero di segmenti che caratterizzano la storia evolutiva, sia antica che recente, degli altri cladi.

Ancora incerta, innanzitutto, è l'esistenza di un qualche grado di plasticità fenotipica, che consentirebbe variazioni nel numero di segmenti in dipendenza da fattori ambientali, a parità di genotipo. Modeste indicazioni in tal senso vengono da due recenti lavori sul chilopodo geofilomorfo *Strigamia maritima*, nel quale un aumento della temperatura

di incubazione da 10°C a 18°C determinerebbe un aumento medio nel numero di segmenti pari a 1,5 unità (VEDEL *et al.*, 2008, 2010).

A prescindere da questo caso, rimane il problema generale: come viene controllato geneticamente il numero di segmenti del corpo, e come è possibile modificare questo numero? Le nostre conoscenze sono ancora molto limitate, vi sono tuttavia elementi utili per iniziare ad affrontare il problema dell'evolubilità del numero dei segmenti negli Artropodi, vale a dire delle strade, per un cambiamento in questo carattere, che i meccanismi di sviluppo rendono più o meno probabili (HENDRIKSE *et al.*, 2007).

Per affrontare il problema è necessario, a mio avviso, partire da due premesse. In primo luogo, non c'è motivo di pensare che i cambiamenti evolutivi nel numero di segmenti siano sempre, necessariamente, il risultato di variazioni di un medesimo meccanismo, o di una medesima tappa dello sviluppo. In secondo luogo, non c'è motivo di credere che tali cambiamenti siano, o siano sempre, da attribuire alla diversa, modulabile attività di una regione proliferativa posteriore, subterminale. In concreto, mi limito qui ad accennare a due esempi di aumento nel numero di moduli segmentali.

Il primo esempio è fornito dal lungo vitino di vespa (peziolo) degli Imenotteri Sfecidi del genere *Ammophila*, che è formato in apparenza da due segmenti, ma un facile esercizio di anatomia comparata può ricondurre entrambe le unità al primo segmento libero (successivo al propodeo) dell'addome. Infatti, il 'segmento' anteriore del peziolo di *Ammophila* corrisponde alla metà sternale, richiusa dorsalmente, del segmento omologo degli altri Apocriti, mentre il 'segmento posteriore' corrisponde alla metà tergale, richiusa su se stessa ventralmente. In questo caso, uno scorrimento longitudinale della parte dorsale rispetto alla parte ventrale di un 'archetipico' segmento addominale ha creato, di fatto, un incremento nel numero delle unità segmentali (morfologiche e funzionali) che formano il corpo dell'animale.

Il secondo esempio riguarda i Chilopodi, un gruppo di Artropodi dal lungo corpo segmentato, per i quali è stato da tempo suggerito un meccanismo ontogenetico basato sulla precoce duplicazione, eventualmente ripetuta, di un piccolo numero di segmenti primari (MAYNARD SMITH, 1960; MINELLI & BORTOLETTO, 1988; MINELLI, 2000). Se questo modello è valido, ci si deve attendere che in questi Artropodi il numero complessivo dei segmenti del corpo debba variare in maniera discontinua e anche per 'salti', se il processo di raddoppio dei segmenti primari viene iterato una volta di più che nella forma d'origine, determinando una duplicazione (più o meno esatta) del numero dei segmenti. Ebbene, un incremento numerico di questa natura sembra essere

avvenuto in un genere sudamericano di Scolopendromorfi, all'interno del quale esiste una specie (*Scolopendropsis duplicata*) che può presentare 39 oppure 43 segmenti pediferi, mentre la specie più affine (*Scolopendropsis bahiensis*) ne presenta 21 oppure 23 (CHAGAS *et al.*, 2008). È da osservare che tutti gli Scolopendromorfi conosciuti all'infuori di *S. duplicata* presentano un numero di segmenti pediferi pari a 21 oppure a 23 e che il clamoroso incremento nel numero di segmenti che caratterizza questa specie non impedisce di riconoscere la sua stretta affinità con *S. bahiensis*, suggerendo una data alquanto recente per la loro separazione (MINELLI *et al.*, 2009).

BIBLIOGRAFIA

- AKAM M., DAWSON I., TEAR G., 1988 – *Homeotic genes and the control of segment diversity*. - Development, Suppl., 104: 123-134.
- BALAVOINE G., ADOUTTE A., 2003 – *The segmented Urbilateria: a testable scenario*. - Integr. Comp. Biol., 43: 137-147.
- BITSCH J., BITSCH C., 2010 – *The tritocerebrum and the clypeolabrum in mandibulate arthropods: segmental interpretations*. - Acta Zool (Stockholm), 91: 249-266.
- CARROLL S.B., GRENIER J.F., WEATHERBEE S.D., 2004 – *Dal DNA alla diversità – evoluzione molecolare del progetto corporeo animale*. Zanichelli, Bologna, 240 pp.
- CASTLE W.L., 1900 – *The metamerism of the Hirudinea*. - Proc. Am. Acad. Arts Sci. 35: 285-303.
- CHAGAS-JÚNIOR, A., EDGEcombe, G.D., MINELLI, A. 2008 – *Variability in trunk segmentation in the centipede order Scolopendromorpha: a remarkable new species of Scolopendropsis Brandt (Chilopoda: Scolopendridae) from Brazil*. - Zootaxa, 1888: 36-46.
- CHRIST B., SCHMIDT C., HUANG R., WILTING J., 1998 – *Segmentation of the vertebrate body*. - Anat. Embryol., 197: 1-8.
- CONKLIN E.G., 1932 – *The embryology of the Amphioxus*. - J. Morphol., 54: 69-118.
- CUVIER G., 1816 – *Le règne animal distribué d'après son organisation, pour servir de base à l'histoire naturelle des animaux et d'introduction à l'anatomie comparée*. - Deterville, Paris, 4 voll.
- DAMEN W.G.M., 2007 – *Evolutionary conservation and divergence of the segmentation process in arthropods*. - Developmental Dynamics, 236: 1379-1391.
- DAVIS G.K., PATEL N.H., 1999 – *The origin and evolution of segmentation*. - Trends Genet., 15: 68-72.
- DAVIS G.K., PATEL N.H., 2002 – *Short, long and beyond: molecular and embryological approaches to insect segmentation*. - Annu. Rev. Entomol., 47: 669-699.
- DE ROBERTIS E.M., 1997 – *The ancestry of segmentation*. - Nature, 387: 25-26.
- DOHLE W., 1979 – *Vergleichende Entwicklungsgeschichte des Mesoderms bei Articulaten*. - Z. Zool. Syst. Evolutionsforsch., Beiheft 1: 120-140.
- ERIKSSON B.J., TAIT N.N., BUDD G.E., JANSSEN R., AKAM M., 2010 – *Head patterning and Hox gene expression in an onychophoran and its implications for the arthropod head problem*. - Dev. Genes Evol., 220: 117-122.
- GRATIOLET P., 1862 – *Recherches sur l'organisation du système vasculaire dans la sangue médicinale et l'aulastome vorace*. - Ann. Sci. Nat (Zool.), 17(4): 174-225.
- GROSSNIKLUS U., CADIGAN K.M., GEHRING W.J., 1994 – *Three maternal coordinate systems cooperate in the patterning of the Drosophila head*. - Development, 120: 3155-3171.
- HANNIBAL R.L., PRICE A.L., PATEL N.H., 2012 – *The functional relationship between ectodermal and mesodermal segmentation in the crustacean, Parhyale hawaiiensis*. - Dev. Biol., 361: 427-438.
- HEJNOL A., MARTINDALE M.Q., 2008 – *Acoel development indicates the independent evolution of the bilaterian mouth and anus*. - Nature, 456: 382-386.
- HENDRIKSE J.L., PARSONS T.E., HALLGRÍMSSON B., 2007 – *Evolvability as the proper focus of evolutionary developmental biology*. - Evol. Dev., 9: 393-401.
- HOLLAND L.Z., HOLLAND N.D., 1998 – *Developmental gene expression in amphioxus: new insights into the evolutionary origin of vertebrate brain regions, neural crest, and rostro-caudal segmentation*. - Am. Zool., 38: 647-658.
- HOLLAND L.Z., KENE M., WILLIAMS N.A., HOLLAND N.D., 1997 – *Sequence and embryonic expression of the amphioxus engrailed gene (AmphiEn): the metameric pattern of transcription resembles that of its segment-polarity homolog in Drosophila*. - Development, 124: 1723-1732.
- HUGHES C.L., KAUFMAN T.C., 2002 – *Hox genes and the evolution of the arthropod body plan*. Evol. Dev., 4: 459-499.
- IWANOFF P.P., 1928 – *Die Entwicklung der Larvalsegmente bei den Anneliden*. - Z. Morphol. Ökol. Tiere, 10: 62-161.
- JANSSEN R., PRPIC N.M., DAMEN W.G., 2004 – *Gene expression suggests decoupled dorsal and ventral segmentation in the millipede Glomeris marginata (Myriapoda: Diplopoda)*. - Dev. Biol., 268: 89-104.
- JÜRGENS G., HARTENSTEIN V. 1993 – *The terminal region of the body plan*. In: The Development of *Drosophila melanogaster*, vol. 1, ed. M. Bate & A. Martínez Arias, pp. 687-746. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- KIMMEL C.B., 1996 – *Was Urbilateria segmented?* - Trends Gen., 12: 329-331.
- KRELL F.-T., 1992 – *Verschmelzung von Antennomeren (Symphysocerie) als Regelfall bei Temnorhynchus repandus Burmeister, 1847, sowie phylogenetische, taxonomische, faunistische und nomenklatorische Anmerkungen zu diversen Taxa dieser Gattung (Coleoptera. Scarabaeoidea, Melolonthidae, Dynastinae, Pentodontini)*. - Dtsch. Ent. Ztschr., 39: 295-367.
- LAWRENCE P.A., 1992 – *The making of a fly*. Blackwell, Oxford, XIII+228 pp.
- MAYNARD SMITH J., 1960 – *Continuous, quantized and modal variation*. - Proc. R. Soc. Lond., B, 152: 397-409.
- MINELLI A., 2000 – *Holomeric vs. meromeric segmentation: a tale of centipedes, leeches, and rhombomeres*. - Evol. Dev., 2: 35-48.
- MINELLI A., 2001 – *A three-phase model of arthropod segmentation*. - Dev. Genes Evol., 211: 509-521.
- MINELLI A., 2003 – *The development of animal form*. Cambridge University Press, Cambridge, XVIII+323 pp.
- MINELLI A., BORTOLETTO S., 1988 – *Myriapod metamerism and arthropod segmentation*. - Biol. J. Linn. Soc., 33: 323-343.
- MINELLI A., CHAGAS-JÚNIOR A., EDGEcombe G.D., 2009 – *Saltational evolution of trunk segment number in centipedes*. - Evol. Dev., 11: 318-322.
- MINELLI A., FUSCO G., 2004 – *Evo-devo perspectives on segmentation: model organisms, and beyond*. - Trends Ecol. - Evol., 19: 423-429.
- MOORE J.P., 1898 – *A description of Microbdella biannulata with especial regard to the constitution of the leech somite*. - Proc. Acad. Nat. Sci. Philadelphia, 5: 50-73.
- MOORE J.P., 1900 – *Hirudinea and Oligochaeta collected in the Great Lakes region*. - Bull. Bur. Fish. 25: 153-172.

- NILSSON D., 1912 – *Beiträge zur Kenntniss des Nervensystems bei Polychaeten.* - Zool. Bijdr. Uppsala 1: 85-161.
- NÜSSEIN-VOLHARD C., WIESCHAUS E., 1980 – *Mutations affecting segment number and polarity in Drosophila.* - Nature, 287: 795-801.
- PALMEIRIM I., HENRIQUE D., ISH-HOROWICZ D., POURQUIÉ O., 1997 – *Avian hairy gene expression identifies a molecular clock linked to vertebrate segmentation and somitogenesis.* - Cell, 91: 639-648.
- PATEL N.H., 1994 – *The evolution of arthropod segmentation: insights from comparisons of gene expression patterns.* - Development, Suppl.: 201-207.
- PEEL A., 2004 – *The evolution of arthropod segmentation mechanisms.* - BioEssays, 26: 1108-1116.
- PEEL A.D., CHIPMAN A.D., AKAM M., 2005 – *Arthropod segmentation: beyond the Drosophila paradigm.* - Nature Rev. Gen., 6: 905-916.
- ROGERS B.T., KAUFMAN T.C., 1996 – *Structure of the insect head as revealed by the EN protein pattern in developing embryos.* - Development, 122: 3419-3432.
- ROGERS B.T., KAUFMAN T.C., 1997 – *Structure of the insect head in ontogeny and phylogeny: a view from Drosophila.* - Int. Rev. Cytol., 174: 1-84.
- SCHMIDT-OTT U., GONZALEZ-GAITAN M., JÄCKLE H., TECHNAU G.M., 1994 – *Number, identity, and sequence of the Drosophila head segments as revealed by neural elements and their deletion patterns in mutants.* - Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 91: 8363-8367.
- SCHMIDT-OTT U., GONZALEZ-GAITAN M., TECHNAU G.M., 1995 – *Analysis of neural elements in head-mutant Drosophila embryos suggests segmental origin of the optic lobes.* - Wilhelm Roux's Arch. Dev. Biol., 205: 31-44.
- SHANKLAND M., SAVAGE R.M., 1997 – *Annelids, the segmented worms.* In: Embryology. Constructing the organism. S.F. Gilbert & A.M. Raunio eds. Sinauer Ass., Sunderland, Ma., pp. 219-235.
- STOLLEWERK A., SCHOPPEMEIER M., DAMEN W.G.M., 2003 – *Involvement of Notch and Delta genes in spider segmentation.* - Nature, 423: 863-865.
- URBACH R., TECHNAU G.M., 2003 – *Segment polarity and DV patterning gene expression reveals segmental organization of the Drosophila brain.* Development, 130: 3607-3620.
- VEDEL V., APOSTOLOU Z., ARTHUR W., AKAM M., BRENA C., 2010 – *An early temperature-sensitive period for the plasticity of segment number in the centipede Strigamia maritima.* - Evol. Dev., 12: 347-352.
- VEDEL V., CHIPMAN A.D., AKAM M., ARTHUR W., 2008 – *Temperature dependent plasticity of segment number in an arthropod species: the centipede Strigamia maritima.* - Evol. Dev., 10: 487-492.
- VINCENT A., BLANKENSHIP J.T., WIESCHAUS E., 1997 – *Integration of the head and trunk segmentation systems controls cephalic furrow formation in Drosophila.* - Development, 124: 3747-3754.
- WHITMAN C.O., 1886 – *The leeches of Japan.* - Quart. J. Microsc. Sci., 26: 317-416.
- WHITMAN C.O., 1892 – *The metamerism of Clepsine.* In Festschrift zum 70. Geburtstage R. Leuckart's. - Engelmann, Leipzig, pp. 385-395.
- WIMMER E.A., COHEN S.M., JÄCKLE H., DESPLAN C., 1997 – *buttonhead does not contribute a combinatorial code proposed for Drosophila head development.* - Development, 124: 1509-1517.

BIOLOGICAL AND MORPHOLOGICAL ADAPTATIONS IN THE PRE-IMAGINAL PHASES OF THE BEETLE FAMILY MELOIDAE

MARCO A. BOLOGNA (*) - ANDREA DI GIULIO (*)

(*) *Dipartimento di Biologia Ambientale, Università Roma Tre, Viale G. Marconi 446, 00146 Roma, Italy; bologna@uniroma3.it*
Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Evoluzione ed adattamenti degli Artropodi – Contributi di base alla conoscenza degli insetti». Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 13 maggio 2011.

Biological and morphological adaptations in the pre-imaginal phases of the beetle family Meloidae

The information on the diversified radiation in both morphology and biology, which occurred in the beetle family Meloidae (Coleoptera, Tenebrionoidea) at the pre-imaginal stage, is here synthetically reviewed and illustrated. During the past twenty years, the combination of an intensive research activity on larval morphology and biology, jointed to molecular phylogenetic studies, led to reconsider several previous phylogenetic hypotheses apparently stable. A new scenario on the evolutionary history of this remarkable beetle family is here presented and critically discussed.

KEY WORDS: Meloidae, hypermetaboly, larval morphology, larval biology, adaptive radiation, phylogeny

INTRODUCTION

The Meloidae is a beetle family with about 120 genera and 3000 species, primarily distributed in temperate steppic and arid regions, and in subtropical and tropical savannas or other open habitats. These insects, commonly known as blister beetles and morphologically very heterogeneous (Fig. 1) are virtually cosmopolitan, absent only from New Zealand, Antarctica and most Polynesian islands. Adults are mostly diurnal and phytophagous, feeding on leaves and/or flower parts of several plant families.

Blister beetles are of particular interest because of their importance to applied science (biological control of grasshoppers, pharmacology, veterinary and agricultural problems) as well as their distinctive biology (hypermetamorphic development, parasitoid larval habits, defensive attributes, and diverse courtship behaviour). BOLOGNA (1991) published the most recent extensive review of meloid systematics, bionomics and biogeography. Two recent phylogenetic studies, based respectively on adult and larval morphology, and behaviour (BOLOGNA and PINTO, 2001: Fig. 2a), afterwards implemented by the addition of molecular evidences (BOLOGNA *et al.*, 2008a), slightly differ in considering four (Eleticinae; Nemognathinae; Tetraonycinae; Meloinae) or only three subfamilies greatly differenced (Eleticinae; Nemognathinae; Meloinae, including Tetraonycini). In the present review, we adopted the BOLOGNA *et al.* (2008a) classification (Fig. 2b).

Focusing on the pre-imaginal biology and morphology of the family, a pioneering contribution to the knowledge of the Meloidae biology is the gorgeous monograph made by BEAUREGARD (1890), which exhaustively treated the pharmacological, anatomical and biological characteristics of the family. Of particular significance are the extensive studies of larval biology and morphology made by Auguste Cros between 1910 and 1945, and those published by PAOLI (1932, 1937), while, after the second world war, some North American students widely improved our knowledge on larval morphology and biology of this beetle family, particularly focusing on the New World fauna (e.g. MAC SWAIN, 1956; SELANDER & WEDDLE, 1969; PINTO, 1991). Additional information on Old World taxa were published by Bologna and collaborators in several contributions (BOLOGNA, 2003; BOLOGNA and ALOSI, 1992, 1994; BOLOGNA and PINTO, 1992, 1995, 1998; PINTO and BOLOGNA, 1993; BOLOGNA and LAURENZI, 1995; BOLOGNA *et al.*, 2001; 2002; 2008b; BOLOGNA and DI GIULIO, 2002, 2003, 2006, 2008; DI GIULIO *et al.* 2002a, 2002b, 2003, 2005, 2010; TURCO *et al.*, 2006a, 2006b; DI GIULIO and BOLOGNA, 2007; SETTANNI *et al.*, 2009).

Aim of the present review is to synthesize critically the information on the diversified radiation in both morphology and biology, which occurred in this family at the pre-imaginal stage. Our knowledge on these topics has greatly improved



Fig. 1.

Morphological diversity of blister beetles. Eleticinae, Derideini: *Iselma flavipennis* (a); Nemognathinae, Nemognathini: *Zonitis immaculata* (b), *Zonitoschema* cfr. *coccinea* (c); Meloinae, Lyttini: *Lydtus sanguinipennis* (d), *Berberomeloe majalis* (e), *Lydomorphus thoracicus* (f); Meloinae, Mylabrini: *Hycleus polymorphus* (g); Meloinae, Epicautini: *Epicauta albobittata* (h); Meloinae, Meloini: *Meloe proscarabaeus* (i).

in the last twenty years, allowing at a new scenario surprisingly amending several previous hypotheses.

GENERAL INFORMATION ON PRE-IMAGINAL BIOLOGY OF MELOIDAE

In the subfamily Meloinae eggs are placed in the soil, while in the Tetraonycini and in Nemognathinae are laid under flowers, bracts, or in a few taxa (Horiini, some *Sitaris* Latreille, *Stenoria* Mulsant, *Allendesalazaria* Martinez de la Escalera) inside their host nests or under stones (*Tricrania* LeConte) (BOLOGNA 1991). The only studied species of the basal Eleticinae subfamily (*Eletica wahlbergi* Fahraeus), oviposits under barks by an ovipositor, which lacks in the most derived subfamilies (PINTO *et al.*, 1996), while in the southern African genus *Iselma* Haag-Rutenberg, oviposition on shrubby plants is suspected (BOLOGNA *et al.*, 2001).

No information is available on the larval food of the Eleticinae, but in the genus *Eletica* Dejean, it could consist of larvae of other insects occurring

under barks (PINTO *et al.*, 1996; BOLOGNA *et al.*, 2001). Most meloid larvae are predaceous: the Epicautini and most Mylabrini feed on grasshopper (Acridoidea) egg pods, the remaining tribes on the provisions and immature stages of various aculeate Hymenoptera, particularly wild bees (Apoidea) of different families. A few genera of Lyttini (*Australytta* Bologna) and Mylabrini (*Ceroctis* Marseul) attack other aculeate hymenopterans (Vespoidea and Sphecoidea, see BOLOGNA 1983, 1991 for a review), and larvae of few *Epicauta* Dejean are reported to feed on eggs of their own species or of other congeners (SELANDER 1981, 1982). Hypotheses about possible predation on Isoptera is discussed below.

In the typical form of meloid hypermetamorphosis, the larva passes through four distinct phases before entering the pupal stage. Development takes place in the bee nests, in the grasshopper egg-cases and in the soil, or in some Nemognathinae in wood. Each phase is characterized by a distinctive morphology and function: triungulin (T), first grub (FG), coarctate (C), and second grub (SG) (SELANDER & MATHIEU, 1964). The triungulin or

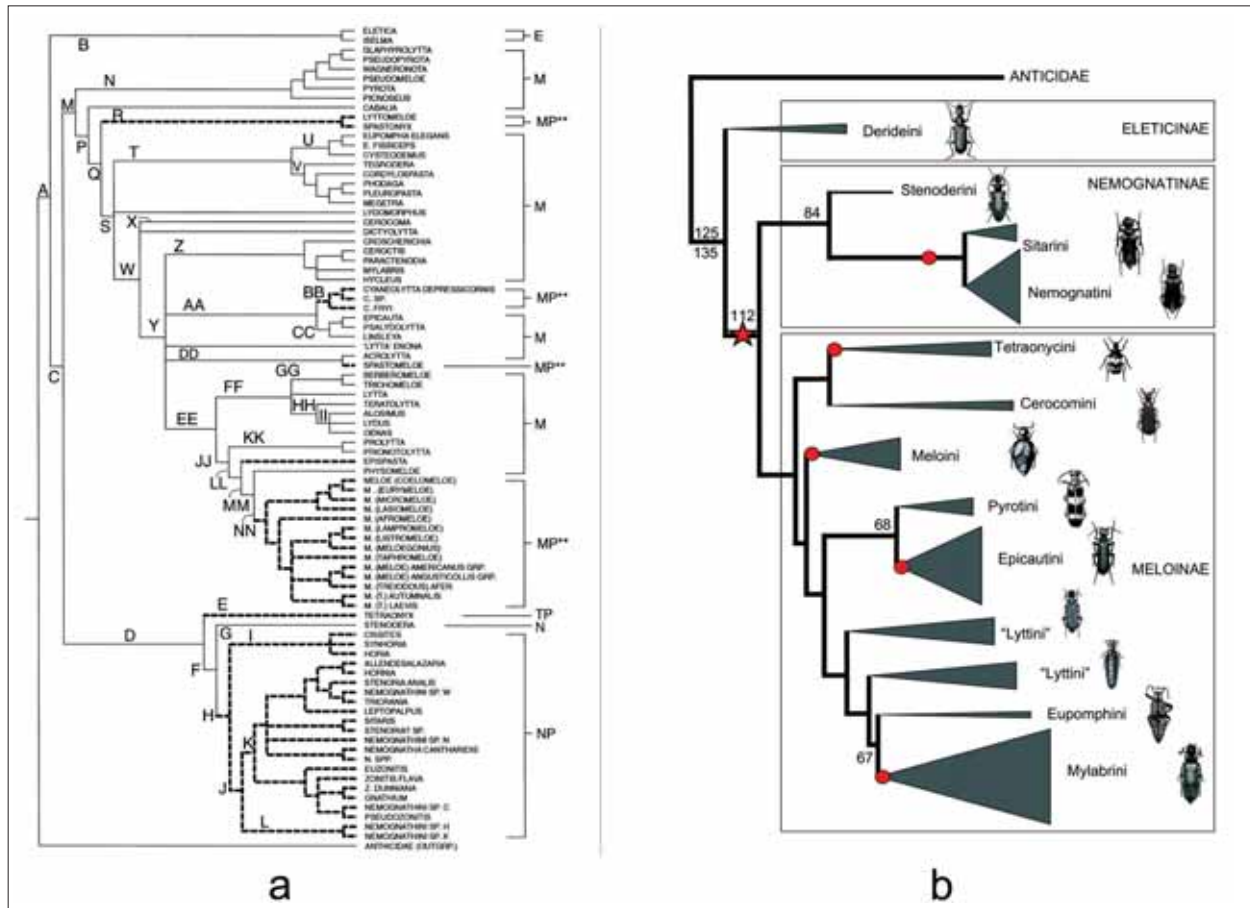


Fig. 2

(a) Cladogram from BOLOGNA and PINTO (2001), showing the repeated evolution of phoresy in Meloidae. Acronyms: E = Eleticinae, M = Meloinae, N = Nemognathinae, T = Tetraonycinae, P = phoretic genera. Phoretic lineages indicated by thickened dashed lines. (b) Classification of meloid subfamilies and tribes according to BOLOGNA *et al.* (2008).

first instar, is a campodeiform larva, well sclerotized and highly mobile, which represents the dispersing and host finding phase. The first instar larva of most Meloinae attains the food source directly, walking on the ground and looking for the host nest. Triungulins of Nemognathinae, Meloinae Tetraonycini, several Meloini and some Lyttini genera (*Meloe* Linnaeus, *Epispasta* Selander, *Lyttomeloe* Denier, *Spastomeloe* Selander, and *Spastonyx* Selander), attain the host nest by phoresy, attaching to the adult bees collecting pollen. Larval biology of the genus *Cyaneolytta* Péringuey is still unknown, but triungulins of several species of this genus are phoretic on large Coleoptera Carabidae (such as *Anthia* Weber, *Thermophilum* Basilewsky, *Cypholoba* Chaudoir), which are termitophilous, inducing the suspect of larval predation inside termite nests (BOLOGNA *et al.*, 1990; DI GIULIO *et al.*, 2003). The triungulin (T) attains the food source (honey, eggs, larvae of host) and feeds; afterwards it molts to the first grub (FG), a scarabaeiform larva, scarcely mobile, feeding on the host. After passing through four feeding

similar instars, FG typically molts to the coarctate phase (C) or hypnotheca, the inactive sixth instar, which is the most distinctive ontogenetic stage, characterized by a long diapause. The second grub (SG) follows the C and reverts to a phase similar to the FG but not feeding. This instar may prepare a pupal chamber or remains within the exuvia of the coarctate, as in *Meloe* and the Nemognathinae (CROS, 1940; SELANDER & WEDDLE, 1969). In most Nemognathinae instars VI–VII (FG) remain inside the cuticle of the previous feeding instars until metamorphosis. The pupal stage (P) is relatively short lived compared to the coarctate. Some variations on this scheme were described in the literature (SELANDER & WEDDLE, 1969; 1972)

NEW HYPOTHESES ON THE EVOLUTION OF LARVAL MORPHOLOGY AND BIOLOGY

Until fifteen years ago the hypermetamorphic larval development was considered a synapomorphic condition of the entire family Meloidae. In addition,

some relevant classifications (CROS, 1940; MACSWAIN, 1956; BOLOGNA, 1991), were based on the overestimation of the presence of phoretic triungulins in several taxa. The recent discovery of eleticine larvae (PINTO *et al.*, 1996; BOLOGNA *et al.*, 2001) greatly amended this scenario, some morpho-ethological studies re-evaluated the value of phoretic habits in the Meloinae tribes (BOLOGNA and PINTO, 2001: Fig. 2a), and molecular phylogenetic studies (BOLOGNA *et al.*, 2008) defined in a new way the relationships of several genera and tribes, in particular evidencing that Tetraonycini are neither a distinct subfamily nor a tribe of Nemognathinae,

but a specialized tribe of Meloinae. Molecular studies on the tribe Lyttini (BOLOGNA and PITZALIS, Unpublished), will incorporate in this tribe some genera, such as *Cyaneolytta* and *Spastonyx* Selander, which have been previously referred to Epicautini or Meloini respectively.

As discussed, Eleticinae are the basal group of Meloidae, according to both morphological (adult and larvae) and molecular evidences (PINTO *et al.*, 1996; BOLOGNA *et al.*, 2001; BOLOGNA *et al.*, 2008). First instar larvae are not typical triungulins, but are more similar to those of other Tenebrionoidea families (Fig. 3). Consequently hypermetaboly must be con-

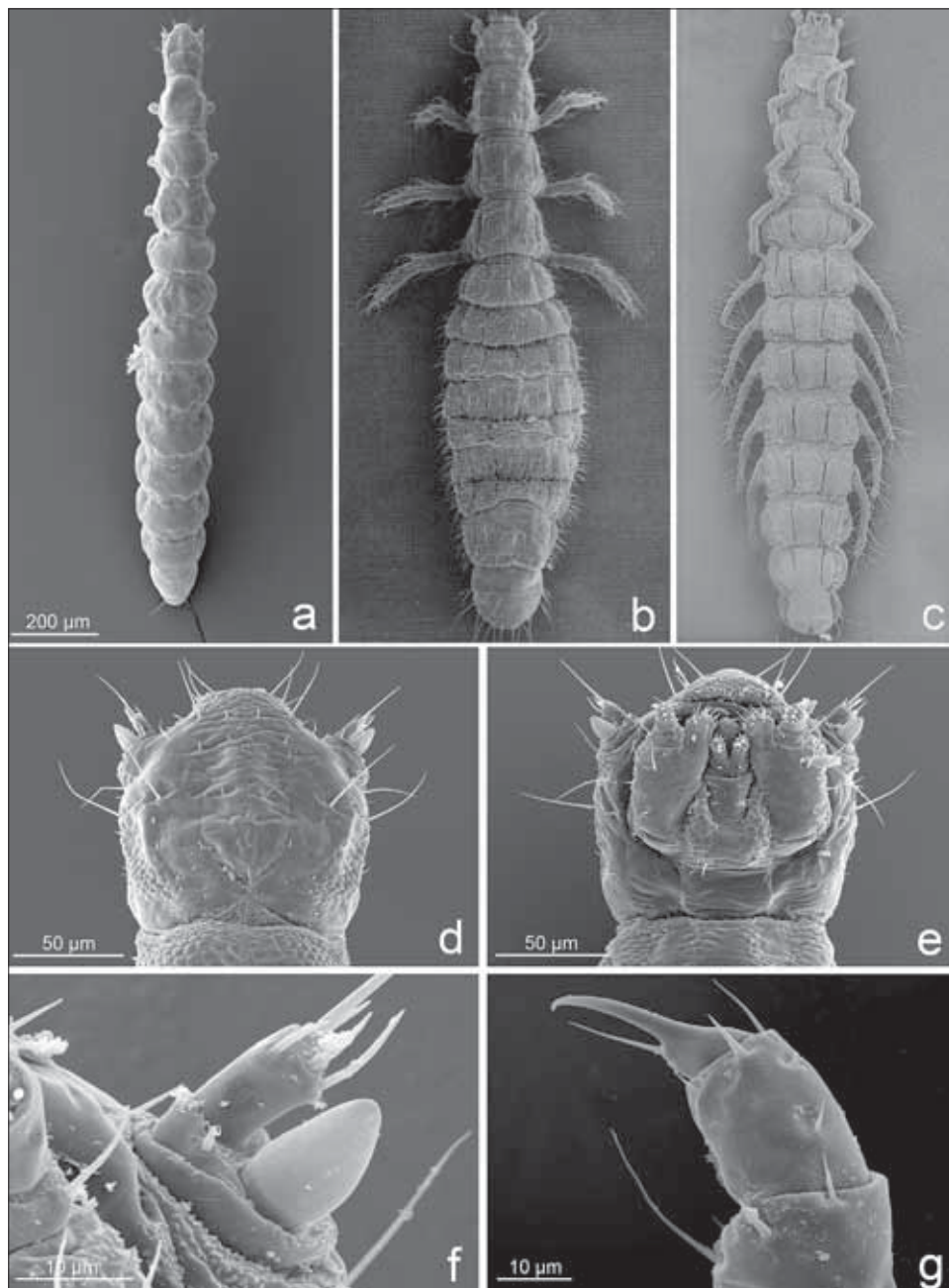


Fig. 3

First instar larvae of Eleticinae. *Iselma flavipennis*: (a) habitus, dorsal view; (d) head, dorsal view; (e) head, ventral view; (f) left antenna, ventral view; (g) right fore-leg, claw. *Eletica rubripennis*: (b) habitus, dorsal view. *Eletica wahlbergi*: (c) habitus, ventral view.

sidered a derived condition of Nemognathinae and Meloinae rather than a synapomorphy of the family. Interestingly, recent studies on the family Ripiphoridae (BOLOGNA and DI GIULIO, unpublished), evidenced a parallel situation with typical tenebrionoid primitive larvae in the two basal subfamilies, compared with the most derived subfamilies.

The evolution of parasitism and hypermetaboly supported a great radiation in larval morphology and biology. According to adult morphology, the Palearctic Nemognathinae tribe Stenoderini is the basal group of this subfamily. This basal position

is strongly supported by both molecular evidences and larval morphology (BOLOGNA *et al.*, 2002; BOLOGNA *et al.*, 2008): triungulins of the genus *Stenoderus* Eschscholtz seem to be non-phoretic and show some features similar to those of Meloinae (Fig. 4). The phoresy in all remaining three nemognathine tribes (Horiini, Nemognathini and unpublished new tribe), appears a derived condition in the subfamily. A gradient of specialization to phoretic habits and specialized parasitic biology is clearly recognizable in triungulins of these tribes (Fig. 5), especially as concerns the morphology of legs, mouthparts and abdom-

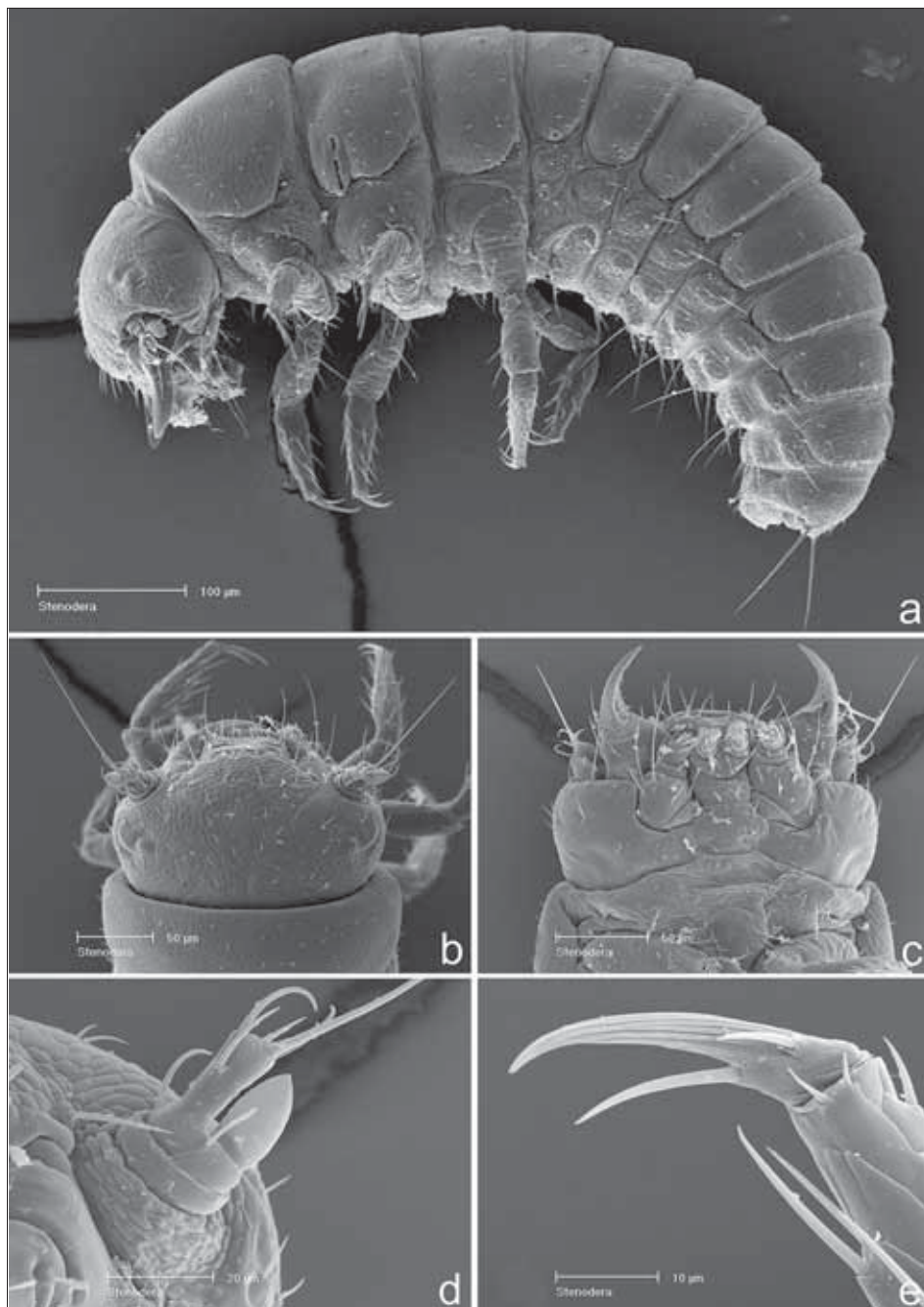


Fig. 4

First instar larvae of Nemognathinae Stenoderini. *Stenoderus puncticollis*: (a) habitus, left lateral view; (b) head, dorsal view; (c) head, ventral view; (d) left antenna, ventral view; (e) right fore-leg, claw.

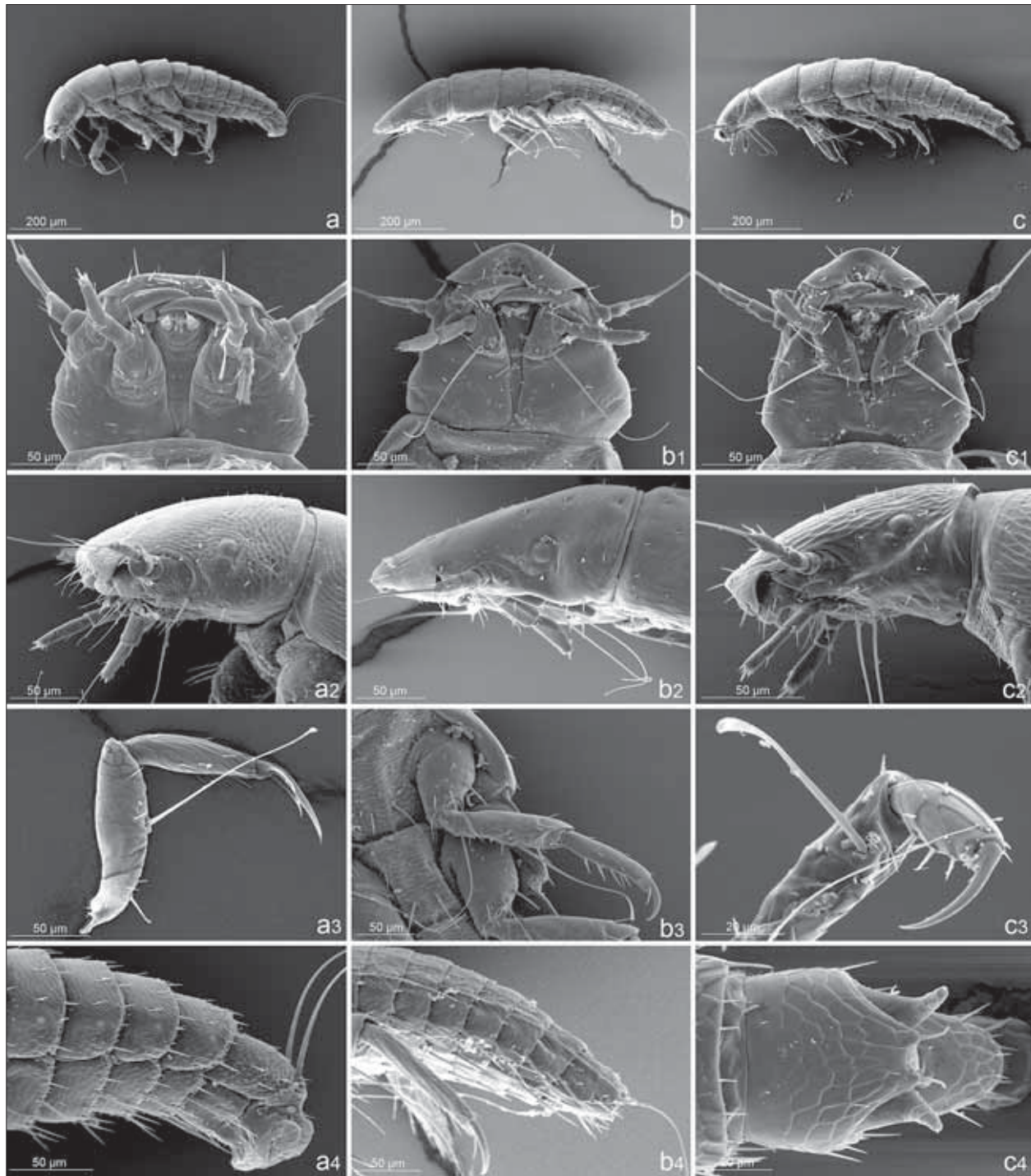


Fig. 5

First instar larvae of Nemognathinae. Unpublished new tribe: *Palaestra rufipennis* (a) habitus, left lateral view; (a1) head, ventral view; (a2) head, left lateral view; (a3) fore-leg, posterior view; (a4) apex of abdomen, left lateral view. Horiini: *Synboria testacea* (b) habitus, left lateral view; (b1) head, ventral view; (b2) head, left lateral view; (b3) fore-leg, anterior view; (b4) apex of abdomen, left lateral view. Nemognathini: *Euzonitis rubida* (c) habitus, left lateral view; (c1) head, ventral view; (c2) head, left lateral view; (c3) apex of fore-leg, posterior view; (c4) apex of abdomen, dorsal view.

inal spiracles. Some genera of Nemognathini, such as *Stenoria* Mulsant, show impressive adaptations to the phoresy, such as the evolution of a “trident” claw (claw and lateral modified setae), which totally parallels that of some *Meloe* (subgenera *Lampromeloe* Reitter, *Meloe* Linnaeus, *Treiodus* LeConte).

The evolutionary history of the most speciose and

branched subfamily Meloinae, probably is comparable to that of Nemognathinae, but with repeated and complex events of trophic and dispersal specializations. The basal condition can be considered that of a campodeiform, non-phoretic first instar larva, attaining the host nest by active movement. This plesiomorphic condition is widely spread in the

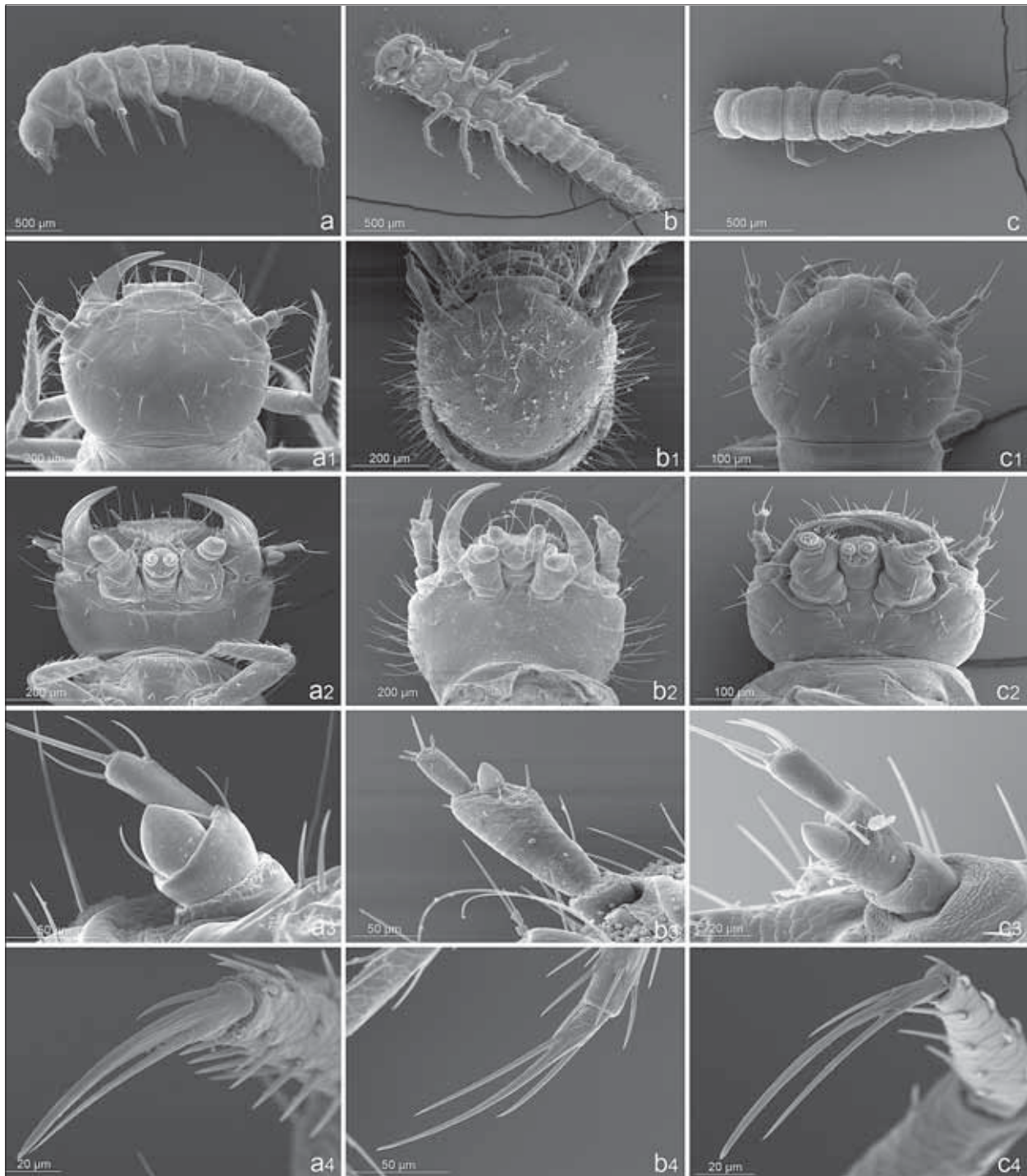


Fig. 6

First instar larvae of Meloinae. Lyttini: *Berberomeloe insignis* (a) habitus, left lateral view; (a1) head, dorsal view; (a2) head, ventral view; (a3) right antenna, ventral view; (a4) left mid-leg, claw. Mylabrini: *Actenodia chrysomelina* (b) habitus, ventral view; (b1) head, dorsal view; (b2) head, ventral view; (b3) left antenna, ventral view; (b4) fore-leg, claw. Cerocomini: *Diaphorocera chrysoprasis* (c) habitus, dorsal view; (c1) head, dorsal view; (c2) head, ventral view; (c3) left antenna, dorsal view; (c4) fore-leg, claw.

tribes Cerocomini, Lyttini (Fig. 6), Pyrotini and Eupomphini. Starting from this condition, several specializations can be evidenced, and the adaptation to phoresy apparently evolved separately at least five times in the subfamily. Among Lyttini, we recognized the extreme adaptation to phoresy on carabid beetles and the possible trophic specialization to feed

on termite eggs occurring in the genus *Cyaneolytta* (DI GIULIO *et al.*, 2003) but also the trophic adaptation to feed on Masaridae wasps by larvae of *Australytta* Bologna (BOLOGNA, 2003). In the tribe Mylabrini, almost all described species are predators on the Acridodidea cocoons; probably this is a derived condition in the subfamily, but very few taxa, particu-

larly *Ceroctis*, mirror the plesiomorphic feeding habit, but feeding on Sphecidae rather than on Apoidea. In addition, according to the larval morphology, the genus *Croscherichia* Pardo Alcaide probably evolved the phoresy, still never confirmed. Another example of trophic novelty is represented by the tribe Epicautini, almost homogenously feedings on grasshopper's eggs.

Greatly diverging from the plesiomorphic condition, is the larval morphology and biology of the tribes Meloini (Fig. 7) and Tetraonycini (Fig. 8). The first includes only few genera of the New World, all parasites of Apoidea and extremely specialized to phoresy. In the past, the first instar larvae of Tetraonycini represented an enigma: accord-

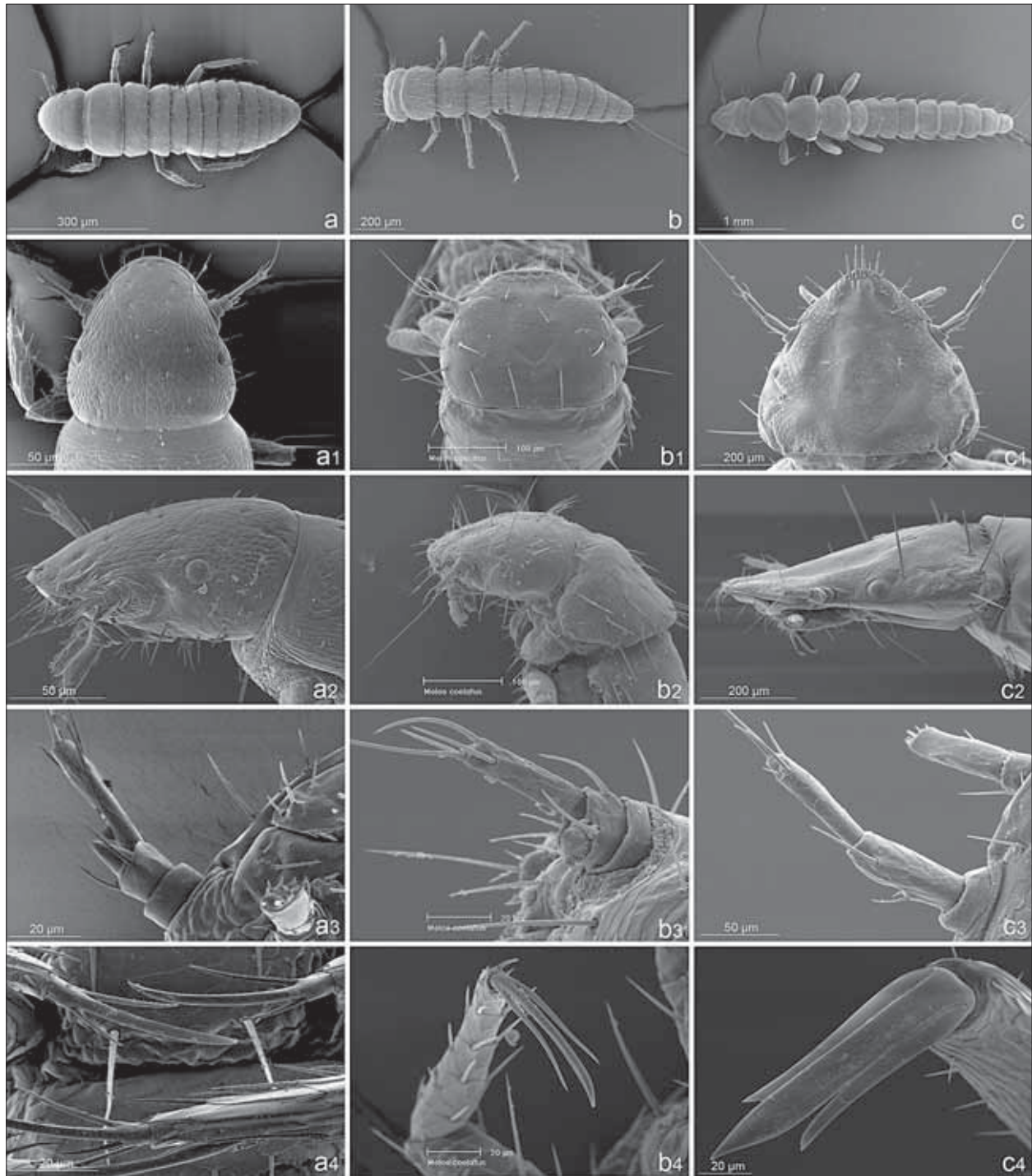


Fig. 7

First instar larvae of Meloinae. Meloini: *Meloe* (*Eurymeloe*) sp. (a) habitus, dorsal view; (a1) head, dorsal view; (a2) head, left lateral view; (a3) right antenna, ventral view; (a4) fore- and mid-legs, claws. *Meloe* (*Mesomeloe*) *coelatus*: (b) habitus, dorsal view; (b1) head, dorsal view; (b2) head, left lateral view; (b3) left antenna, dorsal view; (a4) fore-leg, claw. *Meloe* (*Lampromeloe*) *cavensis* (c) habitus, dorsal view; (c1) head, dorsal view; (b2) head, left lateral view; (b3) left antenna, dorsal view; (a4) fore-leg, claw.

ing to their morphology they were included in a distinct family or a subfamily of Meloidae (MACSWAIN, 1956), or considered as a derived tribe of Nemognathinae (SELANDER, 1991), and finally positioned as tribe of Meloinae according to adult morphology and molecular evidences (BOLOGNA *et al.*, 2008).

Finally, the tribe Meloini summarizes similar

events in its evolutionary history. The basal genus *Physomeloe* Reitter shows a non-phoretic tringulin, while the genus *Meloe* and others, such as *Epispasta* Selander (DI GIULIO *et al.*, 2005), have phoretic larva. In *Meloe* a progressive trend in specialization to phoresy is clearly recognizable from the basal subgenus *Eurymeloe* Reitter, through slightly derived subgenera such as *Taphromeloe* Reitter, to

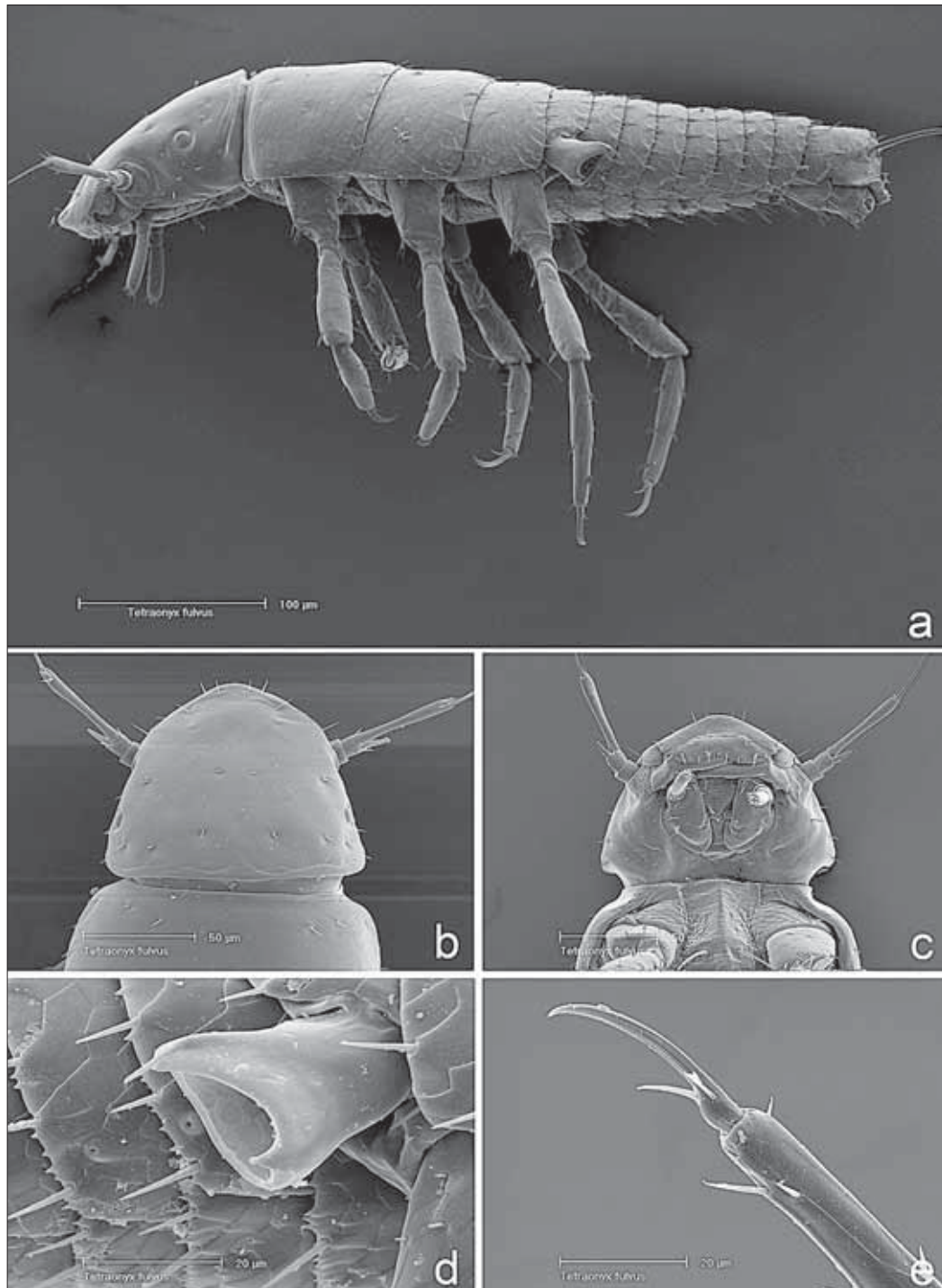


Fig. 8

First instar larvae of Tetraonycinae Tetraonycini. *Tetraonyx fulvus*: (a) habitus, left lateral view; (b) head, dorsal view; (c) head, ventral view; (d) right abdominal spiracle I; (e) right fore-leg, claw.

the extremely derived subgenera *Lampromeloe* and *Meloe* (BOLOGNA and PINTO, 1992, 1995, 1998; PINTO and BOLOGNA, 1993; BOLOGNA and ALOISI, 1994; DI GIULIO *et al.*, 2002a). Specializations concern primarily the shape of the head, with spiniform frontal setae in *Lampromeloe*, of the claws more or less trident-shaped (*Lampromeloe*, *Meloe*, *Treiodus*), of the abdominal spiracles (*Meloe-gonius*), and partially parallel the specializations evolved in all other phoretic groups, even if phylogenetically very distinct.

In conclusion the combination of an intensive research activity on larval morphology and biology, jointed to molecular phylogenetic studies led to consider a new scenario on the evolutionary history of this remarkable beetle family. However, the present knowledge is far to be complete, since many genera are still to be discovered or more deeply investigated.

ACKNOWLEDGEMENTS

Many thanks to John D. Pinto, University of California at Riverside, and Federica Turco, Queensland Museum, Brisbane, for their continuous and long collaboration and their suggestions.

RIASSUNTO

ADATTAMENTI BIOLOGICI E MORFOLOGICI NEGLI STADI PREIMAGINALI DEI COLEOPTERA MELOIDAE

Viene proposta una nuova interpretazione filogenetica e adattativa della radiazione morfologica e biologica avvenuta negli stadi di sviluppo dei Coleoptera Meloidae (Tenebrionoidea). In questa famiglia è stato descritto da oltre due secoli il processo di sviluppo olometabolico, denominato ipermetabolismo o ipermetamorfosi, che include 7 distinte fasi, ed è strettamente legato a fenomeni di parassitismo verso altri insetti, con stadi larvali tra loro molto differenziati, sia da un punto di vista morfologico sia comportamentale e biologico. In particolare, caratteristico di questo gruppo di insetti, è lo stadio quiescente di pseudopupa, ma molto rilievo è sempre stato dato in letteratura alla specializzazione alla foresia su Apoidea, vettori che spesso sono anche ospiti, del primo stadio larvale denominato triungulino. La convergenza in alcune forme e fasi nello sviluppo ha indotto ad erronee interpretazioni di relazioni filogenetiche dei Meloidae con i Coleoptera Ripiphoridae, ma anche con gli Strepsiptera. Le indagini personalmente condotte negli ultimi 20 anni, sia sulla filogenesi (con tecniche morfologiche e molecolari) sia sulla morfo-ecologia larvale, hanno portato ad una rilettura del tutto nuova della biologia preimaginale di questi insetti. In primo luogo è stato scoperto che la sottofamiglia basale delle Eleticinae non presenta adattamenti larvali al parassitismo, ma probabilmente solo a predazione su altri insetti subcorticicoli o endofiti. A questa condizione plesiomorfa di può far seguire una radiazione di adattamenti al paras-

sitismo molto variegati, perlopiù su Apoidea, ma anche Acridoidea e forse Isoptera. Nella sottofamiglia delle Nemognathinae, a parte forse la tribù basale degli Stenoderini, di cui si conoscono le larve primarie, ma non la biologia, tutte le altre tribù presentano larve di I stadio fortemente adattate alla foresia e al parassitismo nei confronti di Apoidea. Nella sottofamiglia delle Meloinae, la foresia della larva di I stadio appare il risultato di distinti e ripetuti processi adattativi, evolutisi in almeno 6 distinte linee filogenetiche di differenti tribù. Proprio in questa famiglia è molto più variegata la morfologia del I stadio, ma anche la biologia larvale e la tipologia di ospiti.

REFERENCES

- BEAUREGARD H., 1890 – *Les insectes vesicants*. Félix Alcan, Paris, XVI + 544 pp., 34 pls.
- BOLOGNA M.A., 1983 – *Utilizzazione dei dati biologici nella sistematica dei Meloidae (Coleoptera)*. - Atti XII Congr. naz. Entomol., Roma 1980, 2: 21-36.
- BOLOGNA M.A., 1991 – *Coleoptera Meloidae*. - Fauna d'Italia. XXVIII. Calderini, Bologna, XIV+541 pp.
- BOLOGNA M.A., 2003 – *Australytta, a new blister beetle genus from Southern Africa (Coleoptera: Meloidae)*. - Ann. Soc. Entomol. France, 39: 139-152.
- BOLOGNA M.A., ALOISI G., 1992 – *Systematics of Lydomorphus Fairmaire 1882, with a description of the first instar larva of L. dusaulti (Coleoptera Meloidae)*. - Trop. Zool., 5: 55-71.
- BOLOGNA M.A., ALOISI G., 1994 – *Systematics and bionomics of Physomeloe Reitter, with description of the first instar larva (Coleoptera Meloidae)*. - EOS, Rev. Españ. Entomol., 69: 45-56.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A., 2002 – *Review of the Southern African genus Prolytta Kaszab, with a description of the first instar larva, and bionomic and taxonomic remarks (Coleoptera, Meloidae)*. - Invert. System., 16: 177-194.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A. 2003 – *Eggs and first instar larval morphology of Prionotolytta binotata (Péringuey, 1888), an endemic southern African species (Coleoptera, Meloidae)*. - Afr Entomol., 11: 199-203.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A., 2006 – *Revision of the genus Teratolytta (Coleoptera: Meloidae)*. - Eur. J. Entomol., 103: 137-161.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A., 2008 – *Revision of the genus Trichomeloe Reitter, with the description of new species and first instar larvae (Coleoptera: Meloidae)*. - Contrib. Zool., 77: 227-248.
- BOLOGNA M.A., LAURENZI M., 1994 – *Descriptions of the triungulins of Synhoria testacea (Fabricius) and of another undetermined African species (Coleoptera: Meloidae) with data on Horiini larvae*. - Afr. Entomol, 2: 155-162.
- BOLOGNA M.A., PINTO J.D., 1992 – *A review of Meloe (Taphromeloe), including a description of the first instar larva of M.(T.) erythrocnemus and comments on the classification of the tribe Meloini (Coleoptera: Meloidae)*. - Proc. Entomol. Soc. Washington, 94: 299-308.
- BOLOGNA M.A., PINTO J.D., 1995 – *The triungulin of two Palaearctic Meloe subgenera: Lasiomeloe Reitter and Micromeloe Reitter (Coleoptera, Meloidae), with bionomic and taxonomic notes*. - Boll. Zool., 62: 383-393.
- BOLOGNA M.A., PINTO J.D., 1998 – *A review of the Afrotropical species of Meloe (Coleoptera, Meloidae) with description of first instar larvae, a key to species and an annotated catalogue*. - Trop. Zool., 11: 19-59.
- BOLOGNA M.A., PINTO J.D., 2001 – *Phylogenetic studies of*

- the Meloidae (Coleoptera), with emphasis on the evolution of phoresy.* - Syst. Entomol., 26: 33-72.
- BOLOGNA M.A., ALOISI G., VIGNA TAGLIANTI A., 1990 – *Phoretic association of some African Cyaneolytta with Carabids, and morphology of first instar larvae in Meloini (Coleoptera, Meloidae).* - Trop. Zool., 3: 159-180.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A., PINTO J.D., 2002 – *Review of the genus Stenoderus with a description of its first instar larva (Coleoptera: Meloidae).* - Europ. Journal of Entomology, 99: 299-313.
- BOLOGNA M.A., DI GIULIO A., PITZALIS M., 2008b – *Systematics and biogeography of the genus Actenodia (Coleoptera: Meloidae: Mylabrini).* - Syst. Entomol., 33: 319-360.
- BOLOGNA M.A., FATTORINI S., PINTO J.D., 2001 – *Review of the primitive blister beetle genus Iselma with description of the first instar larva (Coleoptera: Tenebrionoidea: Meloidae).* - Afr. Entomol., 9: 105-129.
- BOLOGNA M.A., OLIVERIO M., PITZALIS M., MARIOTTINI P., 2008a – *Phylogeny and evolutionary history of the blister beetles (Coleoptera, Meloidae).* - Mol. Phyl. Evol., 48: 679-693.
- CROS A., 1940 – *Essai de classification des Meloides algériens.* - VI Congr. Intern. Entomol Madrid, 1935: 312-338.
- DI GIULIO A., BOLOGNA M.A., 2007 – *Description of the first instar larva of Euzonitis rubida with remarks on the systematics of the subfamily Nemognathinae (Coleoptera: Meloidae).* - Entomol. Fenn., 18: 102-109.
- DI GIULIO A., ABERLENC H.P., VIGNA TAGLIANTI A., BOLOGNA M.A., 2003 – *Definition and description of larval types of Cyaneolytta (Coleoptera Meloidae) and new records on their phoretic association with Carabidae (Coleoptera).* - Trop. Zool., 16: 165-187.
- DI GIULIO A., BOLOGNA M.A., PINTO J.D. 2002a – *Larval morphology of Meloe of the subgenus Mesomeloe: inferences on its phylogenetic position and a first instar larval key to the Meloe subgenera (Coleoptera: Meloidae).* - Ital. J. Zool., 69: 339-344.
- DI GIULIO A., PINTO J. D., BOLOGNA M. A., 2005 - *Larval morphology of the Neotropical genus Episparta (Coleoptera, Meloidae).* Canad. Entomol., 137: 657-671.
- DI GIULIO A., PINTO J.D. , BOLOGNA M.A., 2010 – *Comparative morphology of first instar larvae of Meloidae (Coleoptera, Tenebrionoidea) from Australia.* - Acta Entomol. Mus. Nat. Prague, 50: 335-336.
- DI GIULIO A., TURCO F., BOLOGNA M.A., 2002b - *Larval morphology of the genus Cerocomia and phylogenetic implications (Coleoptera, Meloidae).* - Entomol. Fenn., 13: 105-112.
- MACSWAIN J. W., 1956 - *A classification of the first instar larvae of the Meloidae (Coleoptera), Univ. California Publ. Entomol., 12: i-iv, 1-182.*
- PINTO J. D., 1991 – *The taxonomy of North American Epicauta (Coleoptera: Meloidae), with a revision of the nominate subgenus and a survey of courtship behaviour.* - Univ. California Publ. Entomol., 110: i-ix, 1-372, 40 pls.
- PINTO J.D. , BOLOGNA M.A., 1993 – *The first instar larvae of Meloe afer and M. occultus, with a clarification of antennal structure in larval Meloe (Coleoptera: Meloidae).* - Coleopt. Bull., 47: 340-348.
- PINTO J.D., BOLOGNA M.A., BOUSEMAN J.K., 1996 – *First-instar larvae, courtship and oviposition in Eleticia: amending the definition of the Meloidae (Coleoptera: Tenebrionoidea).* - Syst. Entomol., 21: 63-74.
- PAOLI G., 1932 – *Osservazioni sulla biologia del Doclostaurus maroccanus Thnb. in Italia nelle fasi gregarie e solitarie e sull'azione di alcuni Insetti parassiti.* - Nuovi Ann. Agric., 12: 627-639.
- PAOLI G., 1937 – *Studi sulle cavallette di Foggia (Doclostaurus maroccanus Thnb.) e sui loro oofagi (Ditteri-Bombiliidi e Coleotteri Meloidi) ed acari ectofagi (Eritreidi e Trombididi).* - Redia, 23: 27-202, 3 pls.
- SELANDER R.B., 1981 – *Evidence of a third type of larval prey in blister beetles (Coleoptera: Meloidae).* - J. Kansas Entomol. Soc., 54: 757-783.
- SELANDER, R.B., 1982 – *Further studies of predation on meloid egg by meloid larvae (Coleoptera),* - J. Kansas Entomol. Soc., 55: 427-441.
- SELANDER, R.B., WEDDLE R.C., 1969 – *The ontogeny of blister beetles (Coleoptera, Meloidae). II. The effects of age of triungulin larvae at feeding and temperature on development.* In: Epicauta segmenta. - Ann. Entomol. Soc. Am., 62: 27-39.
- SELANDER, R.B., WEDDLE R.C., 1972 – *The ontogeny of blister beetles (Coleoptera, Meloidae). III. Diapause termination in coarctate larvae of Epicauta segmenta.* - Ann. Entomol. Soc. Am., 65: 1-17.
- SETTANNI C., DI GIULIO A., FINOIA M.G., BOLOGNA M.A., 2009 – *Intra- and interspecific analysis of first instar larval morphology in the blister beetle genus Berberomeloe Bologna 1989 (Coleoptera: Meloidae).* - Zootaxa, 2089: 52-64.
- TURCO F. , DI GIULIO A., BOLOGNA M.A. 2006a - *First-instar larval morphology in the subtribe Lydina (Coleoptera, Meloidae, Lyttini), with discussion on its systematic value.* - Deutsche Entomol. Zeits., 53: 213-222.
- TURCO F. , DI GIULIO A., BOLOGNA M.A. 2006b – *The first larval description in the genus Diaphorocera (Coleoptera: Meloidae: Cerocomini): D. chrysopras Fairmaire.* - Zootaxa, 1295: 29-39.

CEPHALIC STRUCTURES AND SPECIAL FEEDING HABITS IN LARVAE OF CECIDOMYIIDAE (INSECTA, DIPTERA): BIODIVERSITY, EVOLUTION AND ECOLOGY IN ACTION

MARIO SOLINAS (*)

(*) Department of Agricultural and Environmental Sciences, Entomology, Perugia - University Borgo XX Giugno, 06122 Perugia, Italy.
msolinas_35@libero.it

Lettura tenuta durante la Giornata culturale «Evoluzione ed adattamenti degli Artropodi – Contributi di base alla conoscenza degli insetti». Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 13 maggio 2011.

Cephalic structures and special feeding habits in larvae of Cecidomyiidae (Insecta, Diptera): biodiversity, evolution and ecology in action

The head of larvae of Cecidomyiidae is very small, characteristically shaped, lacking eyes or ocelli, and apparently adapted mainly to perform functions such as searching for nearby food and ingesting it. The general head structure as well as the main cephalic cuticular structures such as the *hypostomal bridge*, *genal reinforcements*, *postocciput*, and especially *mandibles*, have been investigated comparatively in larvae of nine species of Cecidomyiinae grouped in three ecological categories, regardless of phylogenetic affinities, namely: Phytophagous (herbivores: insect pests, biological control agents on plants): *Monarthropalpus flavus* (Schränk), *Neolasioptera martelli* Nijveldt, *Fabomyia medicaginis* (Rübsaamen), Mycophagous (biological control agents on pathogenic fungi): *Mycodiplosis erysiphe* Rübsaamen, *M. tremulae* Kieffer, *Lasioptera berlesiana* Paoli, and Zoophagous (biological control agents on herbivores): *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani), *Dicrodiplosis pseudococci* (Felt), *Feltiella acarisuga* (Vallot). All of these species show the above mentioned cephalic structures peculiarly fitting (adapted to) food characteristics and feeding habits of the species concerned. These cases are discussed as manifestations of functional biodiversity, adaptive and convergent evolution, and evolutionary ecology.

KEY WORDS: Comparative functional morphology, convergent adaptive evolution, evolutionary ecology.

INTRODUCTION

The head of larvae of Cecidomyiidae is normally very small (Fig 1, H), characteristically shaped, lacking eyes or ocelli, and apparently adapted mainly to perform functions such as searching for nearby food and ingesting it. At rest, the head is completely retracted into an anterior distinct portion of the prothorax (Fig. 1, PR), within which the brain and the suboesophageal ganglion are located. The head capsule (Fig. 2) contains: a relatively large *tentorium* (T), supporting a conspicuous ingesting pharyngeal pump (PH), a relatively large hypopharyngeal salivary pump (Hp), two joint sockets for the two mandibles' mesad joint; a pair of well developed mandibles medially articulated, as just mentioned, on the anterior tentorial arms (Fig. 3); the muscles moving the mouth parts as well as the conspicuous dilators of the pumps; and obviously the cephalic terminations of the sensory nervous system.

In order to enable the mouth parts and the pumps to function properly, the head walls bear some strategically hardened areas which, together with the head capsule endoskeleton, give the head its required rigidity and strength (SOLINAS, 1968).

Larvae of most (probably all) Cecidomyiidae have a sucking mouth-type by which they ingest plant or animal juices. Depending on the nature of the food source and the mode of attack by the larvae to obtain liquid nutrient (i.e. through cutting plant tissue, or lapping sap from gall walls, or piercing rust-spores or mildew-conidia or the skin of an arthropod, etc.), the head must undergo two main kinds of stresses: (a) uniaxial-longitudinal-bending stresses, and (b) longitudinal-compressive stresses. Thus, depending on the intensity of those stresses, the head walls are adequately strengthened in particular by the development and hardening (sclerotization) of: a *hypostomal bridge* (Figs. 4-12, Hb), *genal reinforcements* (Gr), and *postocciput* (P).

But the most important structures involved in taking food are, obviously, the mouth parts, and especially the mandibles. The labrum, maxillae and labium are always fleshy and they function as a sucking cup; while the mandibles are always hardened and well developed, and each one consists (Figs. 2-12, MD) of a main body, rather flat laterally, on which arise: two joint-processes (a mesad, morphologically anterior, condyle, CO; and a lateral one, rather irregular in shape, Ljp), and three lobes (a frontal or

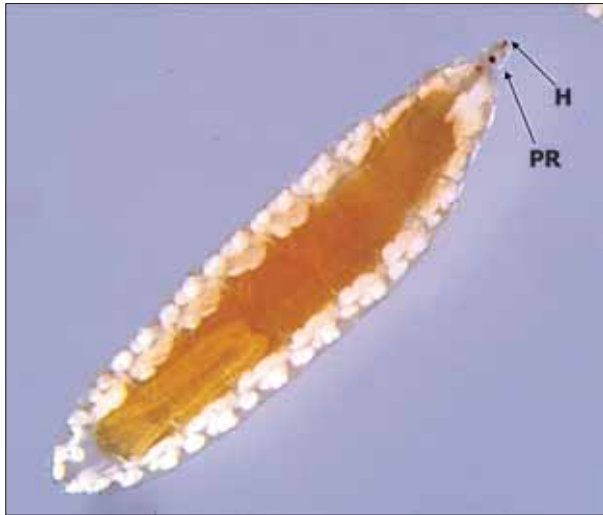


Fig. 1

Mature larva of *Aphidoletes aphidimyza* Rondani. Fresh whole mount: H, head; PR, prothorax anterior distinct portion.

incisive lobe, IN; a dorsal lobe and a ventral lobe, which bear the tendons of the protractor/elevator and the retractor/depressor muscles respectively). The mandibles articulate by their condyle to the anterior tentorial arms (paraclypeal phragmata) forming a horse-shoe-shaped apodeme (Fig 3, T), and by the lateral joint-process (Ljp) to a pleurostomal reinforcement (“pleurostomal apodeme”) so that each of the mandibles lies and moves (turning on the condyle) each one in a nearly sagittal

plane so that the incisive lobe is moved up and down (i.e., forward and backward) by muscles attached to the *postocciput* (SOLINAS, l.c.).

In relation to the feeding behaviour, the general head structure as well as the main cephalic cuticular structures such as the *hypostomal bridge* (Hb), *genal reinforcements* (Gr), *postocciput* (P), and especially *mandibles* (MD), have been investigated comparatively in larvae of nine species of the sub-family Cecidomyiinae grouped into three ecological categories, irrespective of their phylogenetic relationships and taxonomic assignments to genus, tribe, or even supertribe. These are: Phytophagous species (herbivores, potential insect pests, and biological control agents of plants), namely *Monarthropalpus flavus* (Schrank), *Neolasioptera martelli* Nijveldt, *Fabomyia medicaginis* (Rübsaamen), Mycophagous species (biological control agents of pathogenic fungi): *Mycodiplosis erysiphes* (Rübsaamen), *M. tremulae* Kieffer, *Lasioptera berlesiana* Paoli, and Zoophagous species (biological control agents of herbivores): *Aphidoletes aphidimyza* (Rondani), *Dicrodiplosis pseudococci* Felt, *Feltiella acarisuga* (Vallot).

This is a new version of an older paper of mine written in Italian and lacking Figures (SOLINAS, 1969) whose main results were presented at the XVII International Congress of Entomology (HAMBURG, 1984). My intention now is to reinterpret the results as case studies of functional biodiversity,

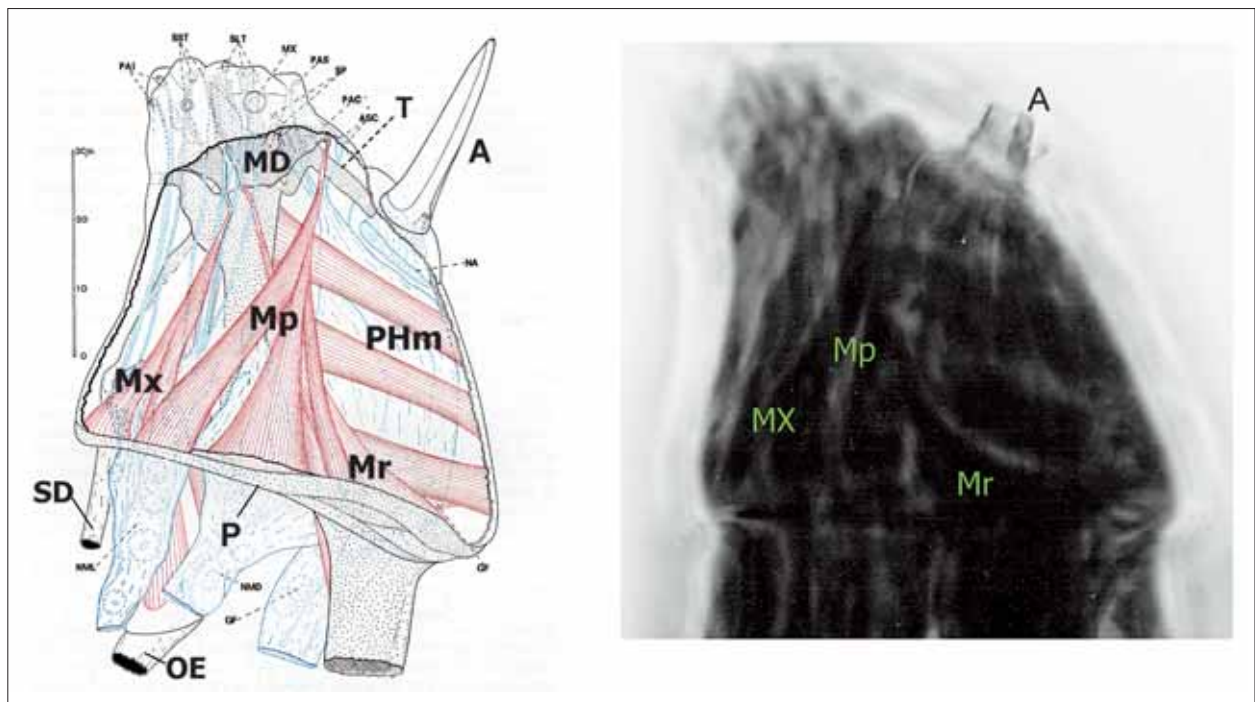


Fig. 2

Head of mature larva of *Aphidoletes aphidimyza*. (Left, from Solinas 1968, modified) Camera lucida diagram cut open to display internal organs: MD, mandibles; Mp, mandibular protractor/elevator muscles; Mr, mandibular retractor/depressor muscles; Mx, maxillary muscles; OE oesophagus; PHm, pharyngeal dilator muscles; SD, salivary duct; T, tentorium. And Phase-contrast micrograph of same subject.

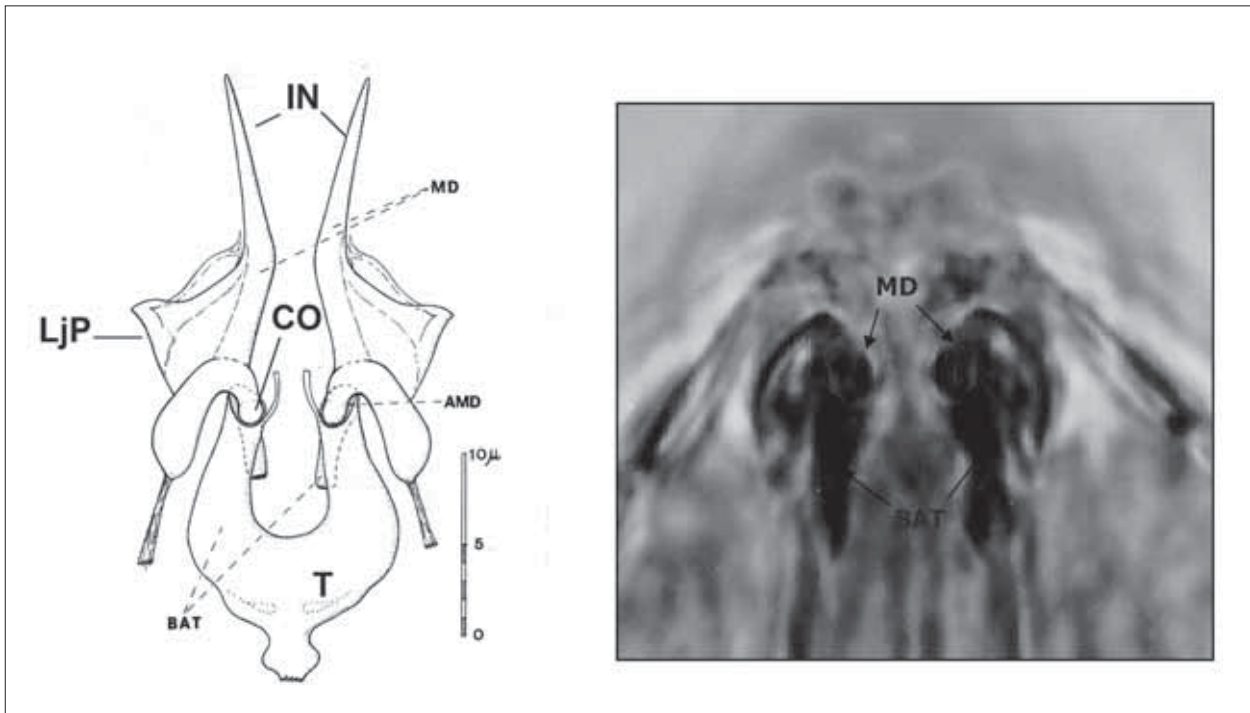


Fig. 3

(Left, from Solinas 1968, modified) Camera lucida diagram of mandibles naturally articulated on tentorium anterior arms from *Aphidoletes aphidimyza* mature larva: BAT, tentorium anterior arms; CO, mandibular condyle; LjP, lateral joint process; MD, mandibles; T, tentorium. And Phase-contrast micrograph of same subject.

convergent adaptive evolution, and/or evolutionary ecology, and at the same time and through the same subjects, wishing to make a modest contribution to a deeper understanding of the basic assertion of Edward O. Wilson in his opening lecture at the XX ICE (Firenze, 1996): «*Insect diversity is one of the most important but least understood phenomena in science today. It has profound implications for our understanding of evolution and ecology*».

DESCRIPTIONS

The main cephalic structures that appear to be modified as a result of adaptation to different categories of food source and related feeding behaviours are:

- hypostomal bridge (Hb in Figs);
- genal reinforcements (Gr);
- postocciput (P);
- mandibles (MD).

Obvious morphological variations have been observed also in other features such as the relative size and general shape of the head (Figs 4-12), antennal dimensions, relative size of the pharyngeal and salivary pumps, and postoccipital apodemes' extension; but their adaptive interpretation is not always obvious.

Phytophagous larvae

(herbivores: potential agricultural insect pests, or biological control agents on plants)

Monarthropalpus flavus (Schrank): supertribe Cecidomyiidi, unplaced to tribe (GAGNÉ, 2010);

Neolasioptera martelli Nijveldt: supertribe Lasiopteridi, tribe Alycaulini (GAGNÉ, l.c.);

Fabomyia medicaginis (Rübsaamen): supertribe Lasiopteridi, tribe Dasineurini (GAGNÉ, l.c.).

The larvae of these species develop in a similar environment, i.e., within plant tissues on which they feed by performing similar feeding behaviours, but there are some important differences in the food source consistency, with corresponding specific differences in the head strength of the larvae, i.e., the extent of development and consistency of the cephalic structures in question.

Monarthropalpus flavus is a very common species in the Palaearctic Region (popular name: Boxwood Leafminer), developing on *Buxus spp.* leaves within leaf blisters produced by the larvae themselves by feeding on quite soft mesophyll. Correspondingly we find the extent of development and consistency of the larval cephalic structures (Fig 4) as follows:

- hypostomal bridge (Hb) moderately developed and gradually hardened (sclerified) backwards;

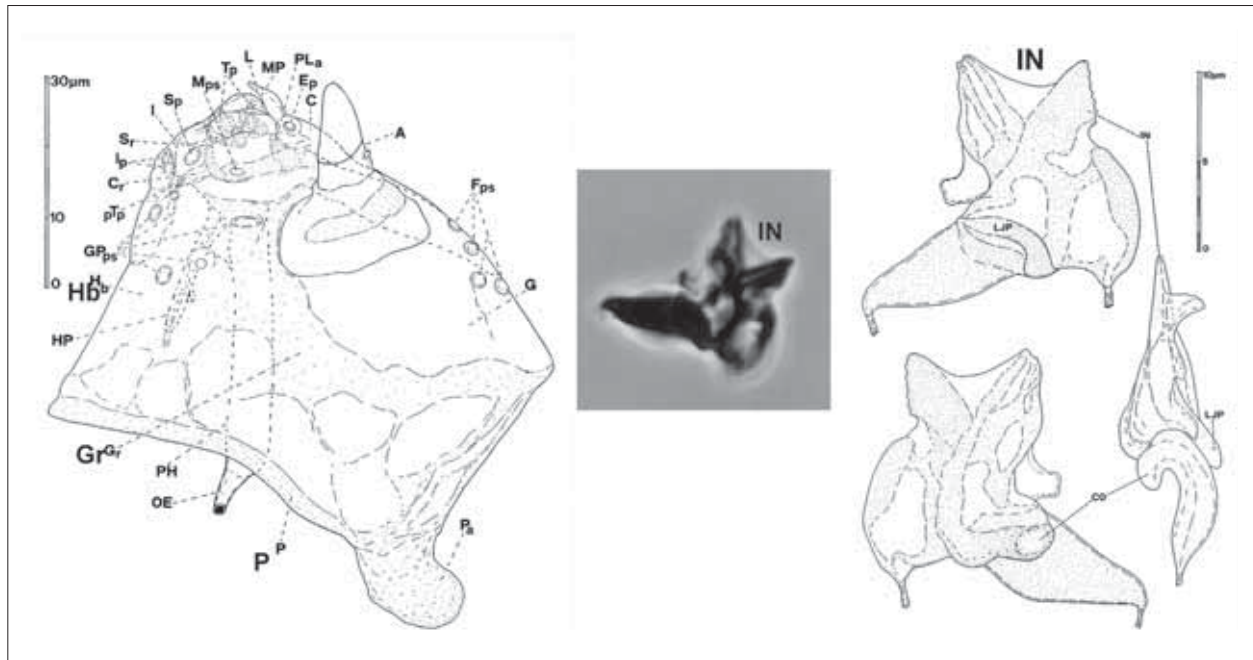


Fig. 4

Monarthropalpus flavus (Schränk). (Left) Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; Gr, genal reinforcement; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of right mandible lateral (morphologically posterior) aspect. (Right) Camera lucida diagrams of right mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

- b) genal reinforcements (Gr) moderately hardened, extended from the hypostomal bridge up to postocciput;
- c) postocciput (P) completely encircling the “foramen occipitalis” and moderately sclerified;
- d) mandibles (MD) well developed, having incisive lobe (IN) rather wide and showing a ventral portion quite rigid and terminating with a subtly serrate margin, and a dorsal portion quite soft and flexible.

Moreover the head capsule looks stubby and bears very short postoccipital apodemes (Pa). Pharyngeal pump (PH) and even more so the hypopharyngeal (HP), apparently scarcely developed.

Neolasioptera martelli larvae develop within the leaves of *Agave* sp., feeding on a resistant fibrous mesophyll, without producing any kind of gall (NijvelDT, 1967).

The principal difference from the previous case is in the quality of the food source, as *Agave* mesophyll is harder than that of *Buxus*.

Neolasioptera larvae, as expected, have a head capsule that is generally stronger than in the previous species, and having (Fig. 5):

- a) hypostomal bridge (Hb) longer and harder;
- b) genal reinforcements (Gr) moderately thicker than adjacent areas, mainly extended towards the mouth parts;

- c) postocciput (P) completely encircling the “foramen occipitalis” and quite stronger;
- d) mandibles (MD) well developed, having incisive lobe (IN) lanceolate, much wider especially on the ventral portion which terminates in a sharp six-toothed margin; while the dorsal portion is soft and flexible as in the previous species, but remarkably more reduced.

Moreover the head capsule is more elongate than in *Monarthropalpus*, and bears postoccipital apodemes (Pa) almost as long as the head; and there is a remarkable development of both hypopharyngeal (salivary) (HP) and especially Pharyngeal (PH) pumps.

Fabomyia medicaginis larvae develop within a leaf gall that they induce on *Medicago* spp by feeding on the juices that they osmotically extract (by means of saliva) from and lap up on the gall inner walls (HEATH, 1961; SOLINAS, 1965).

Thus the larval feeding behaviour does not require special effort nor any cutting tool, and the cephalic structures in question, as expected, appear as follows (Fig. 6):

- a) hypostomal bridge (Hb) moderately developed and moderately hardened (sclerified) backwards; just as in *Monarthropalpus*;
- b) genae (G) without any reinforcement;
- c) postocciput (P) completely encircling the “for-

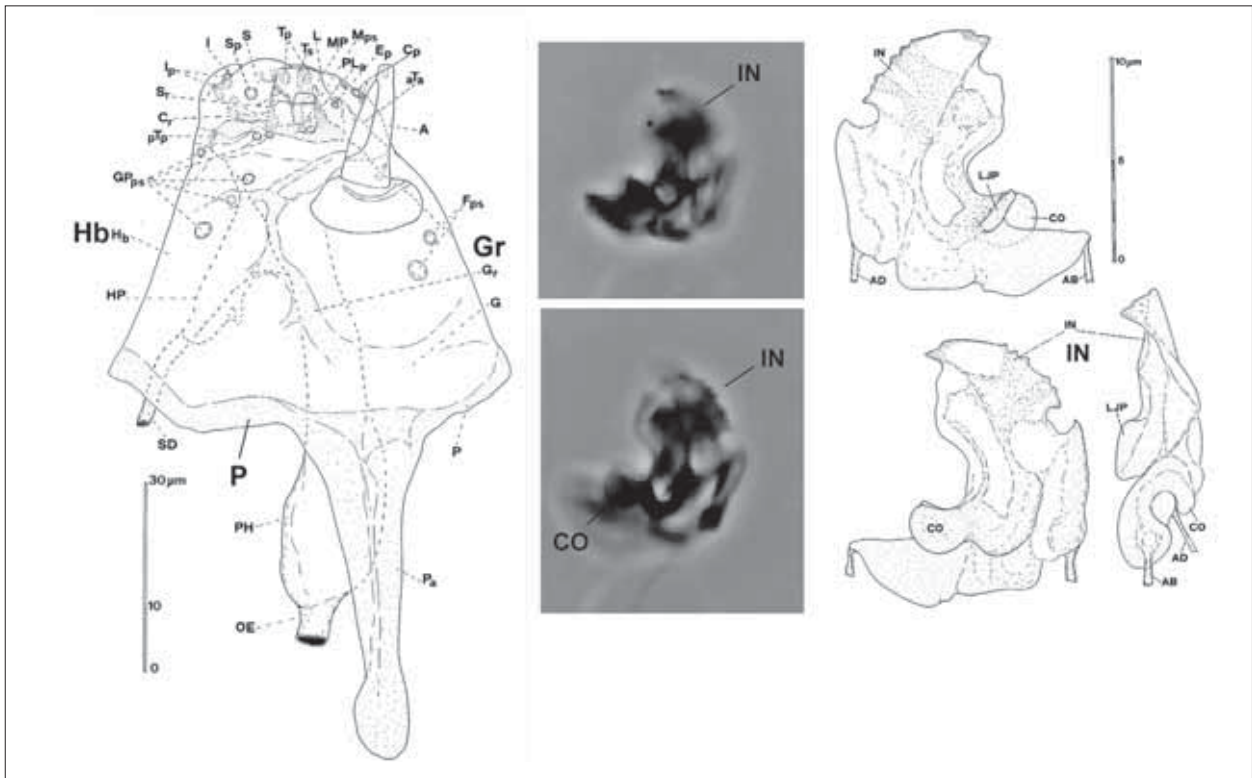


Fig. 5

Neolasioptera martelli Nijveldt. Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; Gr, genal reinforcement; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciptut; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral (up) and mesad aspects. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

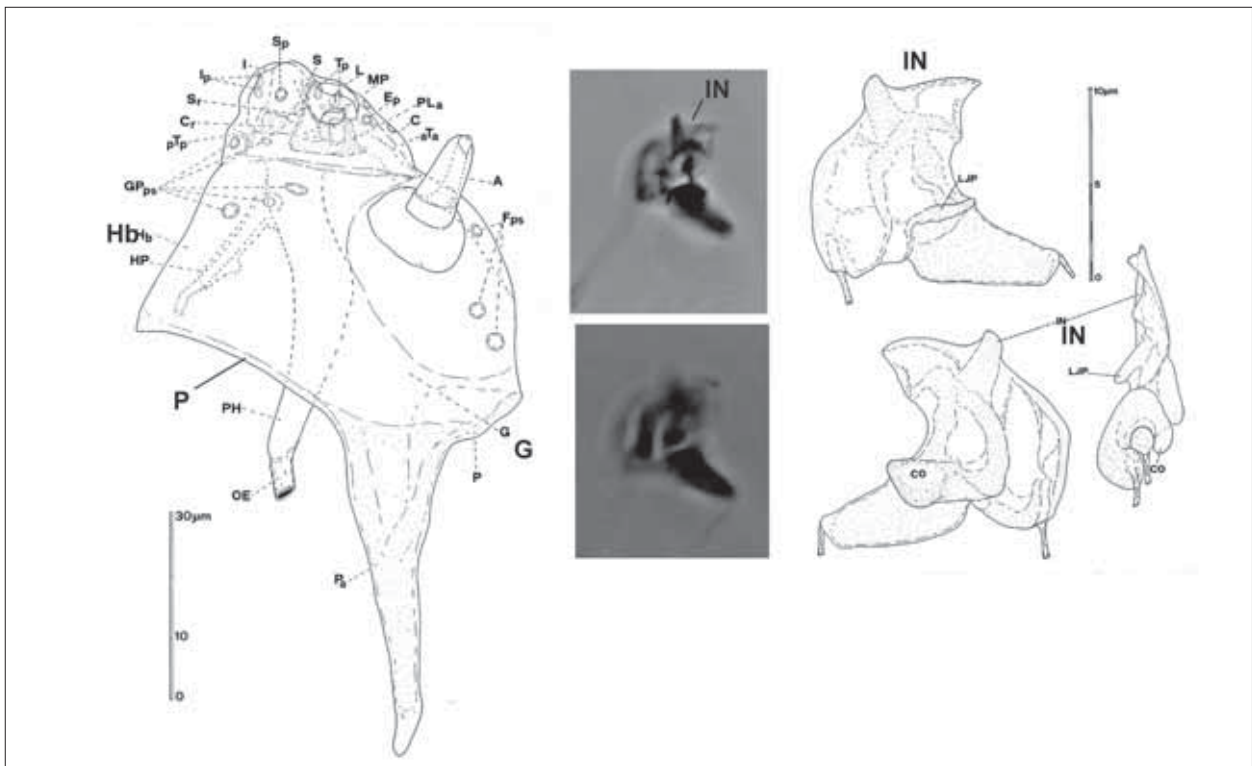


Fig. 6

Fabomyia medicaginis (Rübsaamen). Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; G, genae; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciptut; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral (up) and mesad aspects. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

men occipitalis” and moderately sclerotized; just as in *Monarthropalpus*;

d) mandibles (MD) well developed, having incisive lobe (IN) rather wide, almost entirely soft and flexible except for an inner reinforcement ending forwards with a sort of spatula.

Moreover the head capsule looks rather stubby, moderately sclerified and bearing postoccipital apodemes (Pa) as long as the head and well sclerotized. Pharyngeal (PH) and hypopharyngeal (HP) pumps moderately developed.

Mycophagous larvae

(potential biological control agents
on phytopathological fungi)

Mycodiplosis erysiphes (Rübsaamen): supertribe Cecidomyiidi, tribe Mycodiplosini (GAGNÉ, l.c.);

M. tremulae Kieffer,

Lasioptera berlesiana Paoli: supertribe Lasiopteridi, tribe Lasiopterini (GAGNÉ, l.c.).

The larvae of these species although mycophagous, show important differences in specific feeding habits depending on the quality of the food

source, i.e., the two *Mycodiplosis* feed on the content of soft mildew conidia or harder rust spores, respectively, while *Lasioptera* normally feeds on juices from fungal mycelium. Consequently, as expected, we find specific differences in the head strength of the larvae (i.e. the extent of development and consistency of the cephalic structures in question), and especially in the mandibles.

Mycodiplosis erysiphes larvae are free living on plants attacked by mildews. They grip and pierce single conidia (one by one) to suck up the internal content.

The larval cephalic structures, as expected, appear appropriately specialized, as follows (Fig. 7):

- hypostomal bridge (Hb) relatively short and rather strong;
- genal reinforcements (Gr) quite strong and extended from postocciput up to the peristomal area where they appear bent ventrally and eventually connected to each other;
- postocciput (P) completely encircling the “foramen occipitalis”, remarkably strong on both sides of the head capsule (on which mandibular muscles attach: Fig 2), and less sclerified on the rest, especially dorsally;
- mandibles (MD) much larger than in the previ-

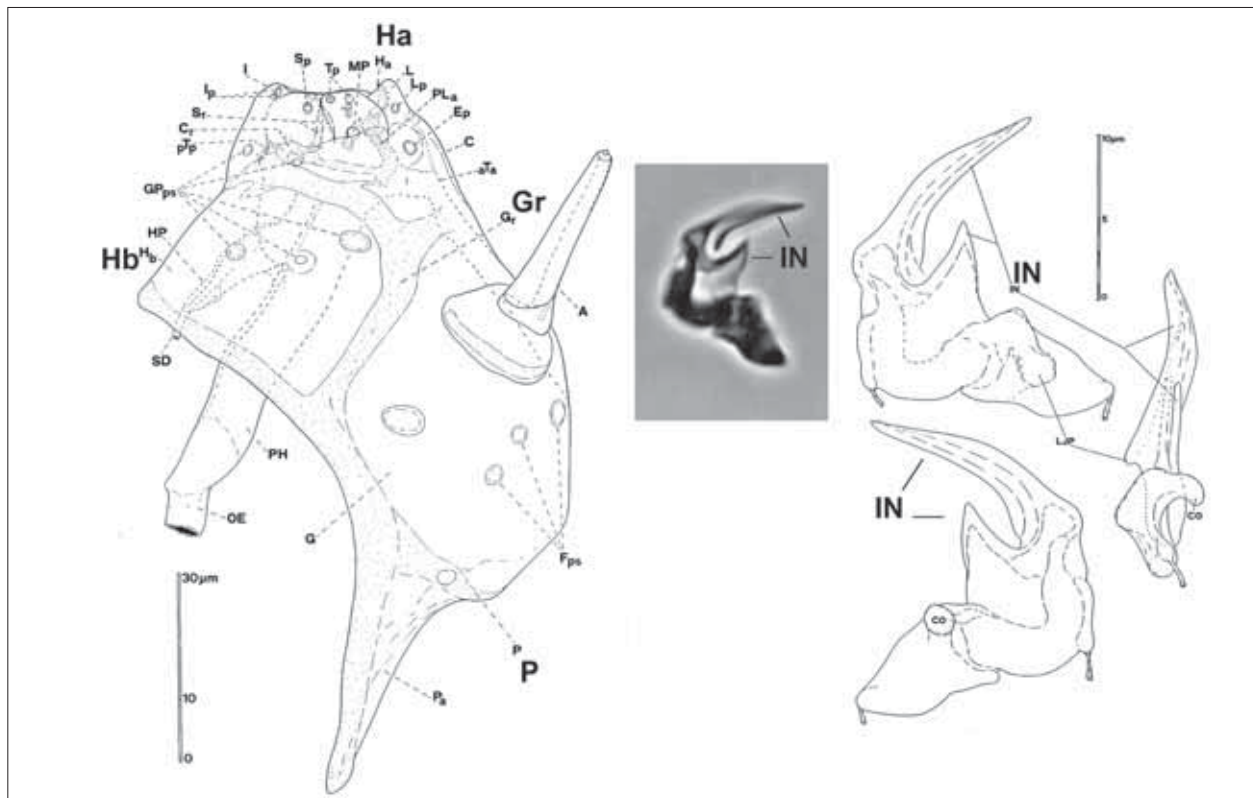


Fig 7

Mycodiplosis erysiphes (Rübsaamen). Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; Gr, genal reinforcement; Ha, hooklike apodemes (labral?); Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral aspect. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

ous species, especially concerning the incisive lobe (IN) which is divided into two tooth-like branches, a lower one much longer and stylet-shaped, and an upper branch roughly triangular with very sharp edges, peculiarly adapted to pierce and cut mildew conidia.

Particularly remarkable is the unusual presence (may be typical of *Mycodiplosis*; see below) of a pair of internal longitudinal apodemes, on either side of the peristome and briefly projecting downwards with a hook-like (Ha) termination on either side of and just beneath the labrum. These hook-like structures may help the larval head to grip single mildew conidia against the leaf surface to be easily pierced by the mandibles.

Moreover the head capsule looks quite strong, moderately elongate and bearing postoccipital apodemes (Pa) well sclerified and about as long as half of the head.

Mycodiplosis tremulae larvae are free living on *Populus* spp. leaves attacked by rust fungi. They grip and pierce single spores (uredospores) to suck up

the internal content, displaying a feeding behaviour similar to the previous species.

The principal difference from the previous case consists in the obviously harder wall of the rust spores (compared with that of mildew conidia), which conceivably requires a stronger effort to be pierced.

The larval cephalic structures are, as expected, stronger as a whole, yet similar to those of the previous species, which is not surprising as both species belong to the same genus. In detail (Fig. 8), we find:

- hypostomal bridge (Hb) relatively short and quite strong;
- genal reinforcements (Gr) shaped and extended as in the previous species but obviously thicker;
- postocciput (P) shaped and extended just as in the previous species but obviously thicker, especially on each side on which the mandibular muscles attach;
- mandibles (MD) big and shaped as in the previous species, except for the incisive lobe (IN) which has the lower branch more rigid and thick-

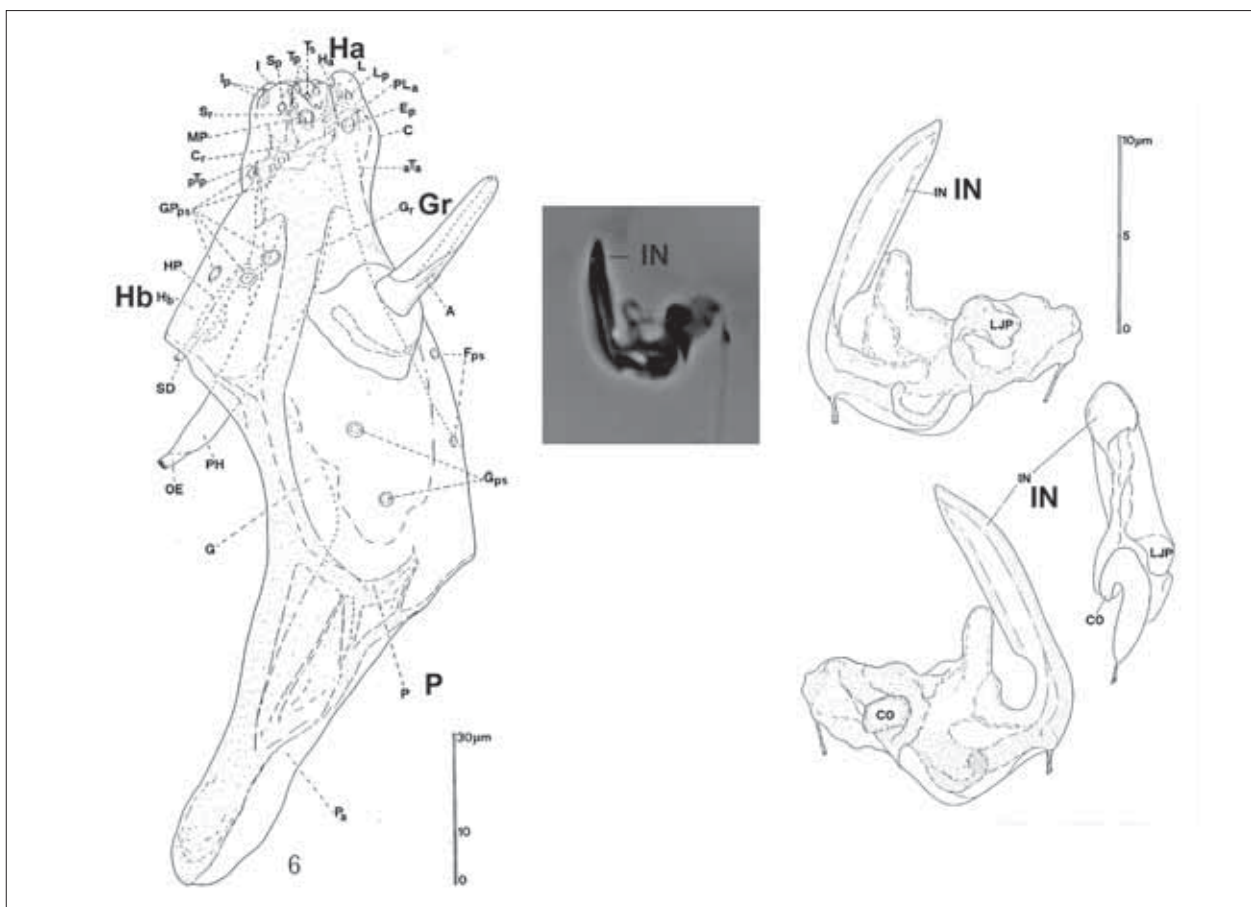


Fig- 8

Mycodiplosis tremulae Kieffer. Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; Gr, genal reinforcement; Ha, hooklike apodemes (labral?); Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral aspect. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

er, whereas the upper branch looks irregularly shaped and rather soft;

As in the previous species, a remarkable pair of internal longitudinal apodemes are present, on either side of the peristome and shortly projecting downwards with a hook-like (Ha) termination on either side of the labrum. These hook-like structures conceivably help the larval head to grip single uredospores against the substratum (leaf surface) to be easily pierced by the mandibles.

Moreover the head capsule looks even stronger and more elongate than in *M. erysiphes*, and bears postoccipital apodemes (Pa) well sclerotized and about 2/3 as long as the head.

Lasioptera berlesiana larvae live and develop by piercing the invading mycelium of the phytopathogenic fungus *Sphaeropsis dalmatica* (Thüm.) Gigante, whose juices the larvae feed on within the burrows produced by *Bactrocera oleae* in olive fruits. But at the beginning of their development the *Lasioptera* larvae first prey on the egg or newly hatched larva of *Bactrocera* (or even on its own conspecifics) within the oviposition puncture of the latter (SOLINAS, 1967 and references therein).

The general and feeding behaviour of *Lasioptera* differs considerably from *Mycondiplosis*, and the extent of development and hardness of the cephalic structures in question appear quite different, especially the mandibles, as follows (Fig. 9):

- hypostomal bridge (Hb) hard and relatively long;
- genal reinforcements considerably thicker than adjacent areas, especially approaching the peristome;
- postocciput (P) completely encircling the “foramen occipitalis” and well sclerified especially on either side of the head on which the mandibular muscles attach;
- Mandibles (MD) comparatively smaller than in the *Mycondiplosis* species, with incisive lobe (IN) completely different and rather resembling in shape that of *Neolasioptera* (see above) but having a five-toothed cutting edge and with the two median teeth remarkably projecting, thus particularly suitable also for the above mentioned predation.

Moreover the head as a whole appears rather strong and bearing postoccipital apodemes slightly shorter than the head and well sclerotized.

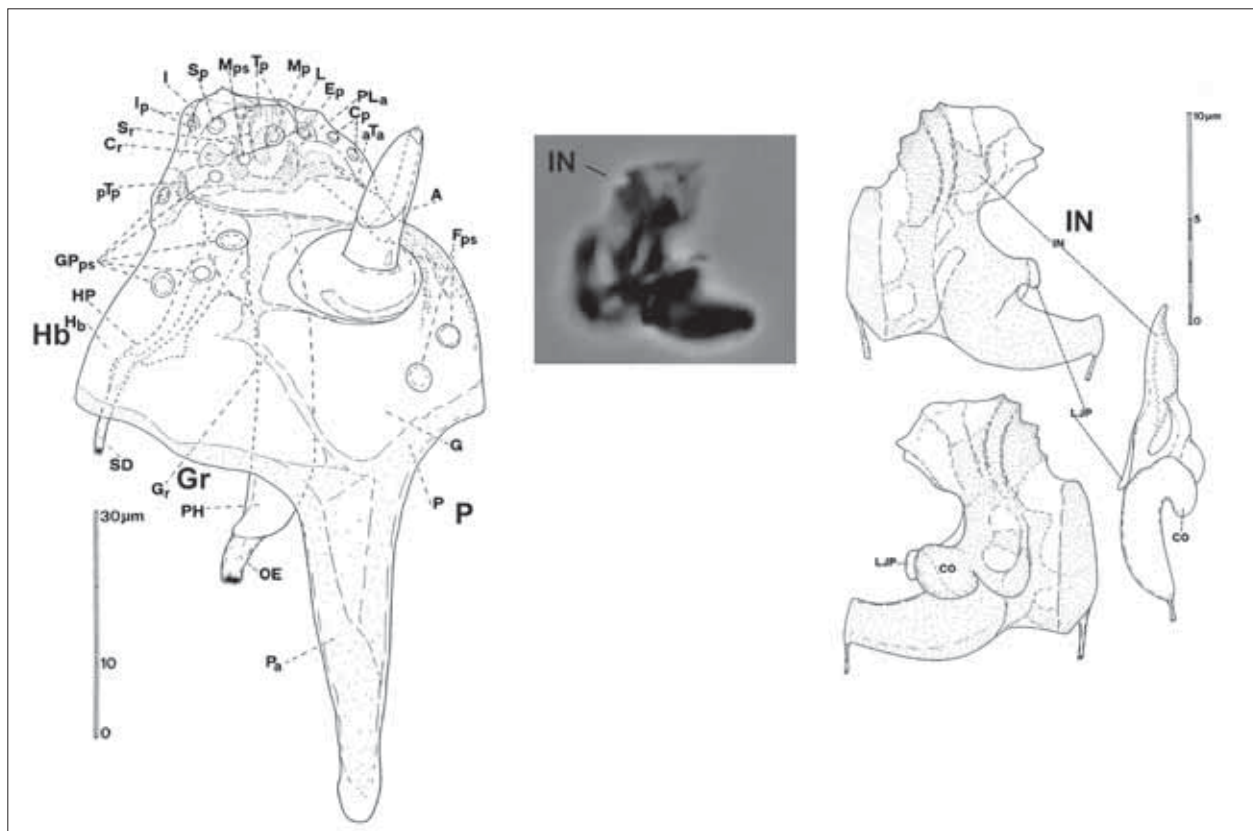


Fig. 9

Lasioptera berlesiana Paoli. Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; Gr, genal reinforcement; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral aspect. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

Zoophagous larvae

(biological control agents on arthropods)

Aphidoletes aphidimyza (Rondani): supertribe Cecidomyiidi, tribe Aphidoletini (GAGNÉ, l.c.);

Dicrodiplosis pseudococci (Felt): supertribe Cecidomyiidi, tribe Lestodiplosini (GAGNÉ, l.c.);

Feltiella acarisuga (Vallot): supertribe Cecidomyiidi, tribe Lestodiplosini (GAGNÉ, l.c.).

The larvae of these species are all predaceous and free-living among the colonies of their preys on which they live, ecologically speaking, as natural biological control agents. Also they display very similar feeding habits, all of them having a piercing-sucking mouth-type (Figs 10-12) by which they seize (using the fleshy outer mouth parts as a whole like a sucker) and pierce the victim (by very sharp mandibles), and violently inject into it saliva that immediately paralyzes the victim and partially digests its inner tissues to make them suitable to be sucked up.

All of these larvae show (Figs. 10-12) a head

quite strong and protrusible, helped by a pair of relatively long and rigid postoccipital apodemes (Pa); while hypopharyngeal (salivary, HP) and pharyngeal (PH) pumps are remarkably large, as expected.

There are also obvious morphological specific differences, as follows (compare Figs 10, 11, 12), but they are not easily interpretable functionally.

Aphidoletes aphidimyza larvae are specialist predators on many species of Aphids, widespread and also commercially marketed as biological control agents on agricultural pests.

The cephalic structures concerning feeding behaviour of this species are in detail as follows (Fig 10):

- hypostomal bridge (Hb) strong and comparatively long;
- genal reinforcements lacking;
- postocciput (P) completely encircling the “foramen occipitalis” and well sclerified especially on either side on which the mandibular muscles attach;

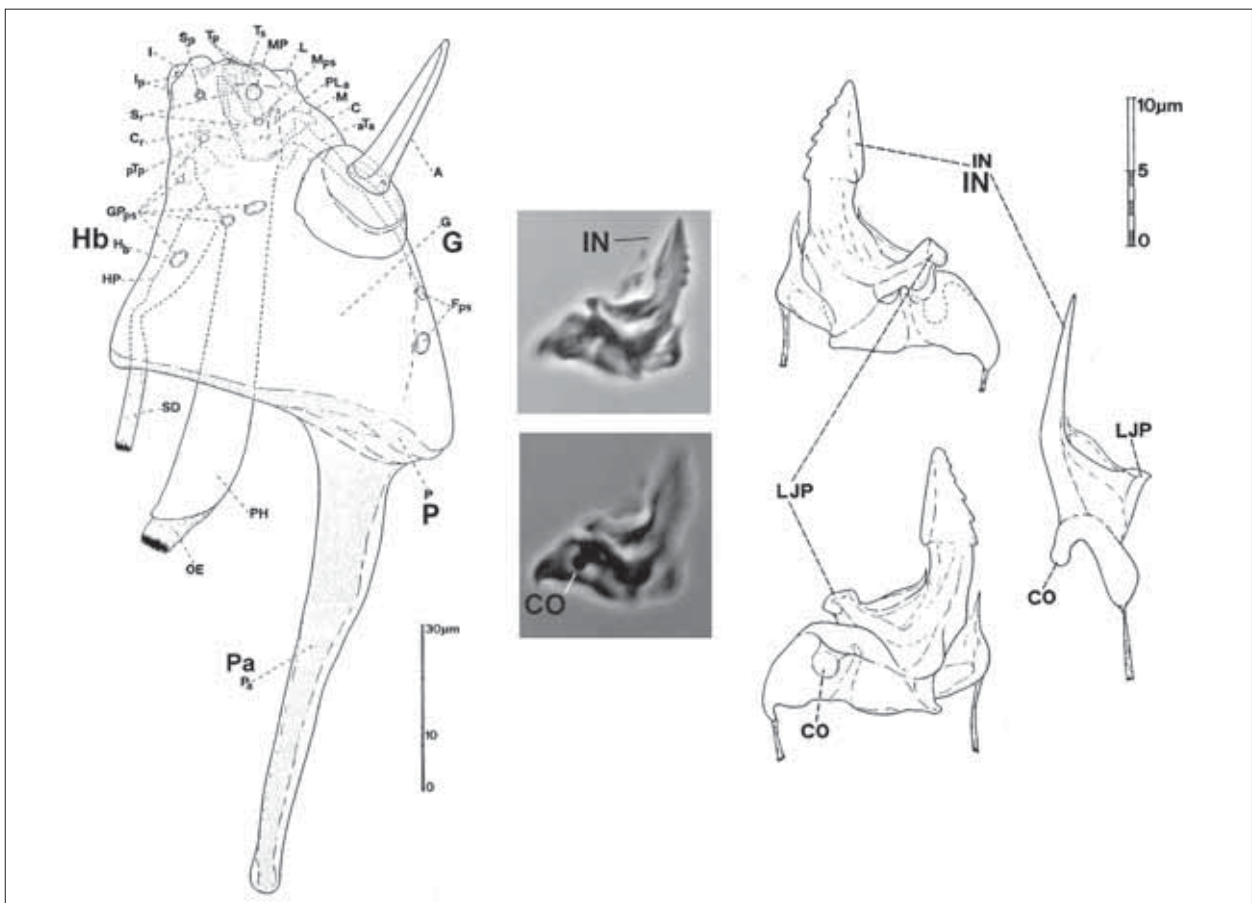


Fig. 10

Aphidoletes aphidimyza (Rondani). Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; G, genae; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral (up) and mesad aspects. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

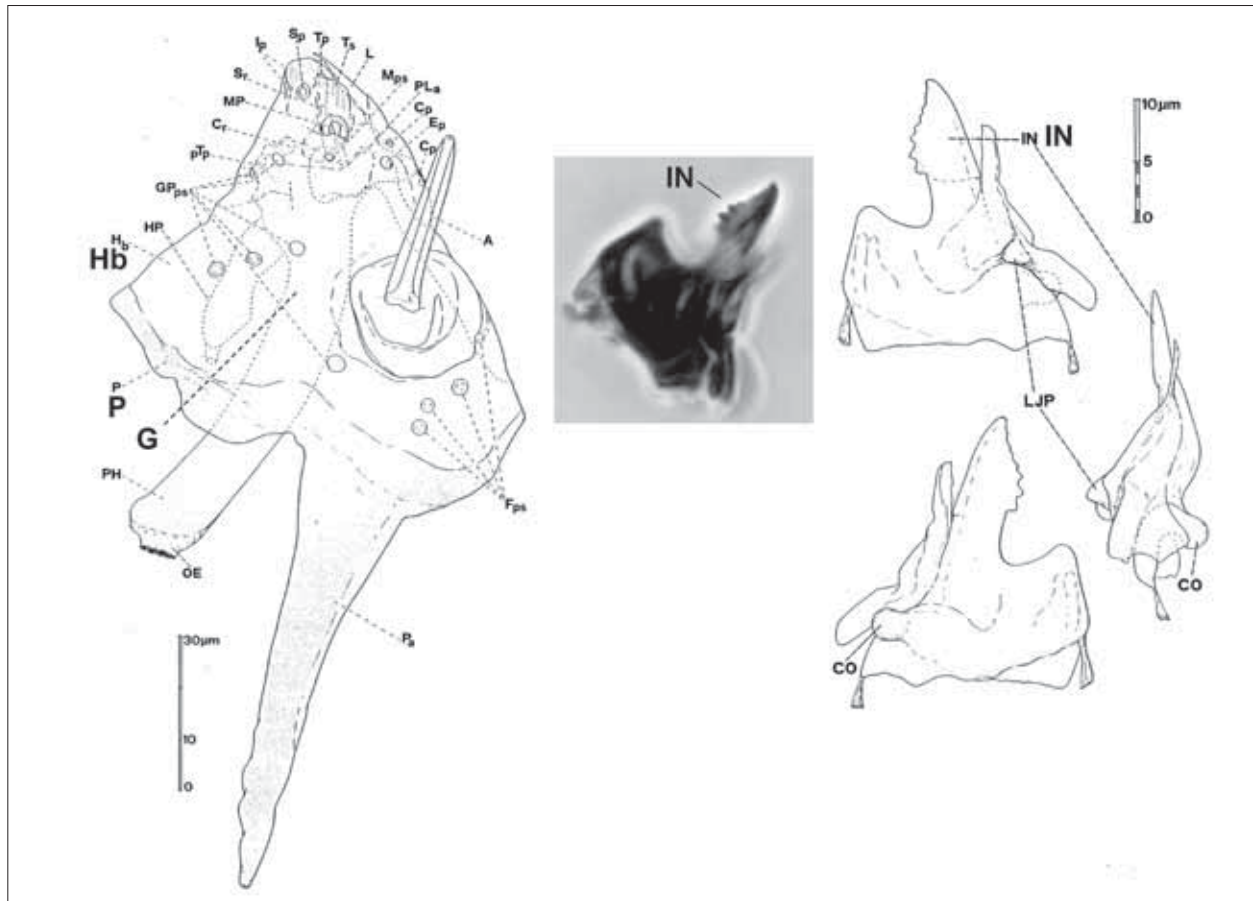


Fig. 11

Dicrodiplosis pseudococci (Felt). Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; G, genae; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciptut; Pa, postocciptal apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of left mandible lateral aspect. (Right) Camera lucida diagrams of left mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

d) Mandibles (MD) relatively big, entirely sclerotized and rather rigid, with incisive lobe (IN) lancet-like, directed forwards and having lower edge sharp and serrate (with 7-8 forwards gradually decreasing teeth).

Moreover the head as a whole appears rather strong, slightly longer than its basal diameter, and bearing postocciptal apodemes (Pa) well sclerotized and notably longer than the head itself.

Dicrodiplosis pseudococci larvae develop as biological control agents among colonies of *Planococcus citri* Risso (Citrus Mealybug) whose eggs (within ovisacs) they feed on by piercing and sucking them (BODENHEIMER, 1951; HARRIS, 1968).

The cephalic structures concerning feeding habits of this species are in detail as follows (Fig 11):

- a) hypostomal bridge (Hb) strong and moderately long;
- b) genal reinforcements lacking, just as in the previous species;
- c) postocciptut (P) as in the previous species;

d) Mandibles (MD) notably stronger and bigger than in the previous species, with incisive lobe (IN) similar in shape to the latter but somewhat stubbier and having the proximal teeth comparatively bigger.

Moreover the head as a whole appears rather strong, obconic, slightly longer than its basal diameter, and bearing postocciptal apodemes (Pa) well sclerotized and almost as long as the head.

Feltiella acarisuga larvae are specialist predators on spider mites, with a cosmopolitan distribution and are also commercially marketed as biological control agents for use against *Tetranychus spp.* They develop among colonies of the latter, whose eggs as well as juveniles or adults they feed on by piercing and sucking them (ROBERTI, 1954).

The cephalic structures concerning feeding habits of this species are in detail as follows (Fig 12):

- a) hypostomal bridge (Hb) moderately sclerotized;
- b) genal reinforcements lacking, as in both previous species;

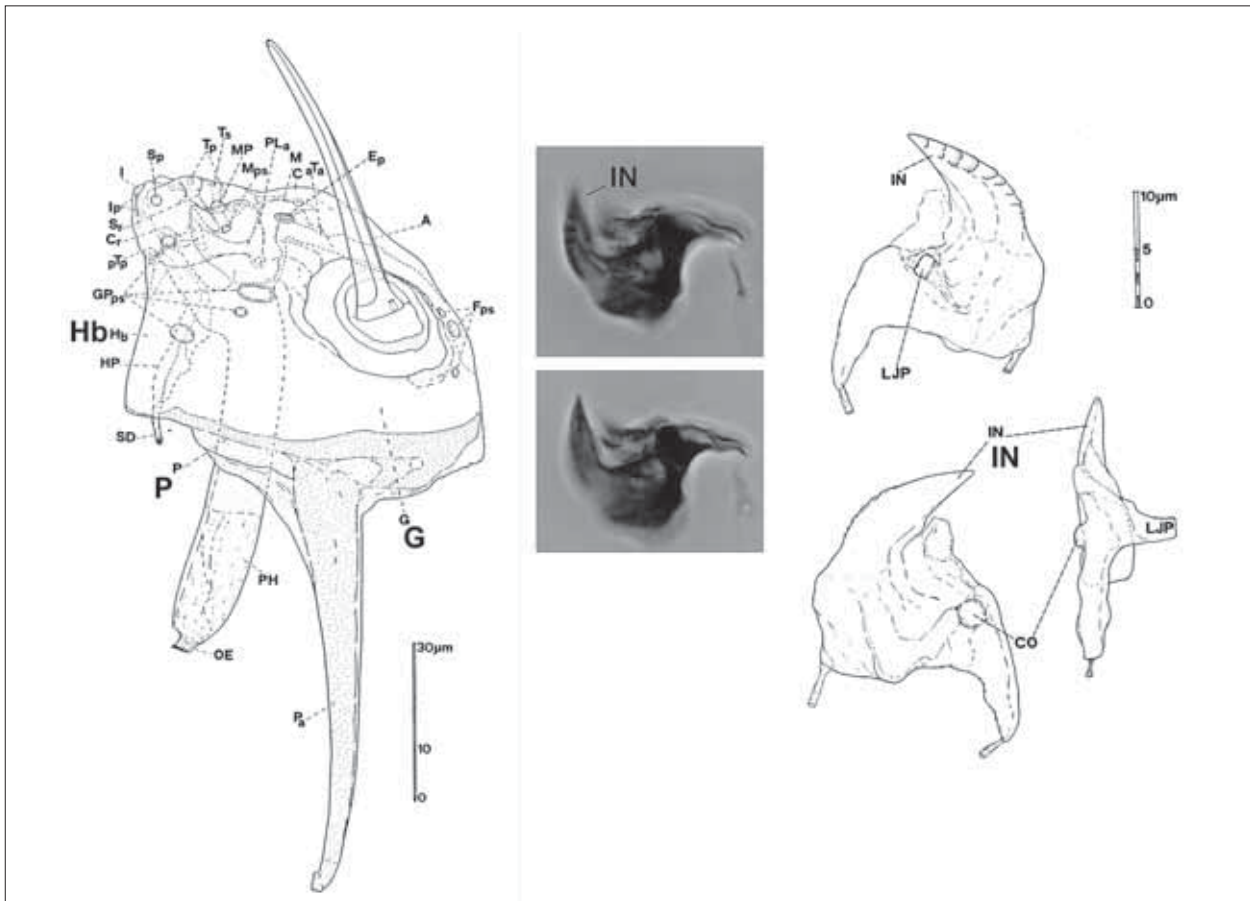


Fig. 12

Feltiella acarisuga (Vallot). Camera lucida diagram of head left aspect: A, antenna; G, genae; Hb, hypostomal bridge; Hp, hypopharynx; P, postocciput; Pa, postoccipital apodemes; Ph, pharynx. (Central) Phase-contrast micrograph (Zeiss III Photomicroscop, objective Ph3, Planapo 63/1.4 oel) of right mandible lateral (up) and mesad aspects. (Right) Camera lucida diagrams of right mandible (clockwise): lateral, dorsal and mesad aspects. IN, mandibular incisive lobe.

- c) postocciput (P) as in both previous species;
- d) Mandibles (MD) notably strong and big as in the previous species, but with incisive lobe (IN) somewhat different in shape and even stubbier, having upper edge straight and lower one strongly convex and serrate, and terminating with a very sharp point.

Moreover the head as a whole appears moderately strong, very stubby (notably shorter than its basal diameter), and bearing postoccipital apodemes (Pa) well sclerotized and longer than in both previous species (1+1/2 as long as the head).

DISCUSSION

The above descriptions of the larval cephalic structures appear to be more or less strictly connected with both (a) the stresses the head is required to undergo, and (b) the task the mandibles have to accomplish in obtaining food.

In detail:

Hypostomal bridge (Hb) and genal reinforcements

(Gr) are both more or less strong and extended depending on the high or low consistency of the food source respectively. In fact, these structures are: (a) moderately strong in *Monantrhopalpus buxi* which feeds on soft gall tissue; (b) rather strong in *Neolasioptera martelli* which feeds on fibrous plant tissue; and (c) quite weak in *Fabomyia medicaginis* that just laps up sap from the gall walls.

These structures appear relatively strong in the mycophagous species, and especially in *Mycodiplosis tremulae* which must pierce the hard wall of rust-uredospores.

Whereas in the zoophagous species the hypostomal bridge looks moderately strong and the genal longitudinal reinforcements are lacking. But this might be “the exception that proves the rule”, i.e., the remarkable sharpness of the mandible incisive lobe (IN, Figs 10, 11, 12) may considerably reduce the head effort required for the mandibles to pierce the prey skin.

The postocciput is more or less strong especially on either side of the head (where the mandibular muscles connect) according to the effort intensity

the mandibles are required to exert. So this structure is comparatively weak (less sclerotized than in all the other species considered) on either side of the head in *Fabomyia medicaginis* (Fig. 6) only.

The postoccipital apodemes do not seem to bear particular adaptations to the larval feeding behaviour; only in the zoophagous species are they obviously connected with the need for the head to be promptly retracted after having been thrust by means of blood pressure to cling to the prey.

The mandibles, and especially the incisive lobe, always display the highest degree of morphological adaptation to the larval feeding behaviour, or the quality of food source.

The hookshaped apodemes slightly projecting on either side of the labrum of both *Mycodiplosis* species (Ha, Figs 7 and 8) seem to help to grip mildew-conidia or rust-spores respectively. Moreover this feature might support the MÖHN'S (1955) suggestion that *Mycodiplosis* species are primitively mycophagous.

CONCLUDING REMARKS

From the above reported descriptions and discussion, what contribution might be drawn for better understanding of evolution and ecology in the light of biodiversity of insects?

The case studies presented here may be considered as simple observational examples of how natural selection prepared phytophagous species, as well as mycophagous and zoophagous ones, endowing them with appropriate tools together with suitable behaviours to be properly introduced into the homeostatic mechanisms necessary to maintain the ecosystems they belong to, through fulfilling their own ecological service within the same.

In fact, we know that herbivores (as primary consumers and demographic regulators of green plants, within natural ecosystems), as well as predators (i.e., secondary consumers, or biological control agents on herbivores) and fungus eating species (i.e., biological control agents on fungi), gradually enter the ecological successions as components of the homeostatic mechanisms that ensure ecological balance and stability necessary for the ecosystem to function properly, develop and mature up to a climax stage under the prevailing environmental conditions.

In other words, evolution and ecology always work together, remaining distinct from each other where principles are concerned, but not in the final results, which are not easily attributable to the former or the latter separately, given the inevitable interdependency between the two categories of phenomena, whereby they appear always present

and working within one other, in a reciprocal relationship, as if running towards or after each other, in order to produce together the biodiversity eventually we see and enthusiastically admire.

It is normally accepted that the evolutionary, morphological, taxonomical and ecological success achieved by insects represents the visible outcome of their impressive biological diversity, which can be detected at any organizational level: genes, molecules, organic systems, cells, organisms, ecosystems.

Ultimately, biodiversity seems to be represented by the multiple options, i.e., the most varied useful (rarely necessary) multiplicity of elements, simultaneously agents and effects of the fantasy of life itself, offered at every step of the organizational process to evolution (natural selection) as well as to ecology (ecological successions) to eventually produce what is needed for life itself to continue to go on, continuously improving, within a continuously changing biosphere.

Such wide considerations of mine maybe not very legitimately drawn from so few and limited study cases, yet I feel somewhat encouraged by the famous Plinius' assertion: "*Rerum natura nusquam magis quam in minimis tota*" (Plinius the Elder – *Naturalis Historiae*, XI).

ACKNOWLEDGEMENTS

I am very grateful to KEITH HARRIS, formerly Director of the CABI International Institute of Entomology and well-known applied entomologist and taxonomist, with a particular interest in Diptera Cecidomyiidae, for kindly reviewing a draft of this paper.

REFERENCES

- BODENHEIMER F.S., 1951 – *Citrus Entomology in the Middle East*. Junk, The Hague, The Netherlands, 663 pp.
HARRIS K.M., 1968 – *A systematic revision and biological review of the cecidomyiid predators (Diptera: Cecidomyiidae) on world Coccoidea (Hemiptera: Homoptera)*. - Trans. R. Entom. Soc. London, vol. 119, Pt. 13, pp. 401-494.
HEATH G.W., 1961 – *An investigation into leaf deformation in Medicago sativa caused by the gall midge Jaapiella medicaginis* Rübs. - Marcellia, supplement. vol. XXX: 185-198.
GAGNE R.J., 2010 – *Update for a Catalog of the Cecidomyiidae (Diptera) of the world*. (File can be downloaded from: http://ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/12754100/Gagne_2010_World_Catalog_Cecidomyiidae.pdf)
MÖHN E., 1955 – *Beitrage zur sistematik der Larven der Itonididae (=Cecidomyiidae, Diptera)*. 1. Teil: Porricon-

- dylinae und Itonidinae Mitteleuropas.* - Zoologica, Stuttgart, 38, pp. 129-247.
- NIJWELDT W., 1967 – *Neolasioptera martelli* sp.n., a gall midge injuring *Agave* in Mexico. - Entomologische Berichten, Deel, 27: 125-127.
- ROBERTI D., 1946 – *La Phaenobremia aphidimyza* (Rond.) (Diptera - Cecidomyiidae) predatrice di *Aphis* (Doralis) *frangulae* Koch. «Boll. Ist. Entom. Bologna», vol. XV: 233-256.
- ROBERTI D., 1954 – *I simbrionti degli Acari fitofagi.* - Boll. Entom. Agr. «Filippo Silvestri», vol. 13, pp. 285-302.
- SOLINAS M., 1965 – *Studi sui Ditteri Cecidomyiidi. II. Jaapieila medicaginis* Rübs e *Anabremia inquilina* n.sp. - Entomologica, Bari, vol. I: 211-281.
- SOLINAS M., 1967 – *Osservazioni biologiche condotte in Puglia sulla Prolasioptera berlesiana Paoli, con particolare riferimento ai rapporti simbiotici col Dacus oleae Gmel. e con la Sphaeropsis dalmatica (Thüm.) Gigante.* - Entomologica, vol. III: 129-176.
- SOLINAS M., 1968 – *Morfologia, Anatomia e organizzazione funzionale del capo della larva matura di Phaenobremia aphidimyza* (Rondani). - Entomologica, vol. IV: 7-44.
- SOLINAS M., 1969 – *Adattamenti morfologici nel capo delle larve di Ditteri Cecidomyiidi a regime dietetico specializzato.* Atti VIII Congr. Naz. It. Entomologia (Firenze, 4-7/09/1969): 70-92.
- SOLINAS M., 1984 – *Morphological adaptations of the head and mouth parts of some Cecidomyiidae larvae to their feeding behaviour.* XVII International Congress of Entomology, Hamburg (August 20-26, 1984), Abstract volume: 944.

GLI ORGANI ESCRETORI DEGLI INSETTI

ROMANO DALLAI (*)

(*) Dipartimento di Biologia Evolutiva - Università degli Studi di Siena

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti» - Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 novembre 2011.

The insect excretory organs

A general overview of the insect excretory organs is described. After a short discussion on the origin of the Malpighian Tubules, details on these organs, nephrocytes, labial kidney and rectal papillae are reported. These organs serve for osmotic and ionic regulation. Malpighian Tubules of Diptera derive early from ectodermal cells that evaginate from the primitive hindgut. In many insects *principal* and *stellate* cells are present; the former cells derive from the primordial buds, while stellate cells derive from mesenchymal population of mesodermal cells. The principal cells are numerous and mediate transepithelial active transport of cations (largely K^+) whilst the stellate are scattered cells involved in a passive anion elimination (Cl^-), thus producing a water passive movement. *Drosophila* and mammalian kidney development show remarkable similarities as the recruitment of the stellate cells.

Labial kidney are present in the basal Hexapods and are homologous with coxal glands of Arachnida and antennal glands of Crustaceans. As occurs in the podocytes of Vertebrate kidney, pedicels extend from the cell and contact the basal lamina. Between two adjacent pedicels, slits membranes are present. Labial kidney are probably involved in the ultrafiltration of the haemolymph and in the reabsorption of proteinaceous molecules.

Nephrocytes derive from embryonic mesoderm. They are characterized, as the podocytes of the labial kidney, by peripheral prolongations reaching the basal lamina. Also in these examples, slits or diaphragms are present between two contiguous pedicels and at their level haemolymph is filtered. An active endocytosis is also found.

The hindgut is involved in a further control of osmoregulation by special structures such as rectal papillae and rectal pads. The rectum in many insects is active in the transport of Cl^- and serves for maintaining ionic homeostasis. For this purpose cells differentiate membrane specializations as membrane stacks provided with an active ATPase and scalariform intercellular junctions. The presence of a compartment (infundibulum) beneath the cortical cells is important at the level of the rectal pads or papillae for the storage of fluids from the gut lumen. The medullary cells present in the ventral region of the infundibulum, may be involved in the ion transporting system from the infundibulum to the haemolymph and vice versa.

KEY WORDS: Malpighian Tubules, Nephrocytes, Labial Kidney, Rectal Papillae.

Il sistema escretore svolge fundamentalmente una funzione simile in tutti gli organismi multicellulari. Esso consiste nella eliminazione dei prodotti tossici, in particolare i metaboliti azotati, nel garantire l'omeostasi ed il mantenimento dell'equilibrio ionico e dell'acqua. Anche negli Insetti l'apparato escretore è impegnato in analoghe funzioni, anche se, in alcuni di essi, i Tubuli Malpighiani, gli organi specializzati per la escrezione, possono svolgere temporaneamente funzioni accessorie.

Gli Insetti, i più evoluti fra gli Artropodi, durante l'embriogenesi, vanno incontro ad una progressiva riduzione, fino alla scomparsa, della cavità celomatica tipica, circondata da una parete mesodermica. Con l'eccezione di alcuni bassi Esapodi, quali i Collemboli, i Dipluri ed i Tisanuri *sensu lato*, ancora provvisti di residui di celoma sotto forma di nefridi o reni labiali (reni cefalici), tutti gli pterigoti hanno, come risultato della scomparsa del celoma secondario, un sinceloma, più comune-

mente noto come emocele. La cavità celomatica scompare e le pareti mesodermiche si risolvono in tessuti ed organi diversi quali il vaso dorsale, il corpo grasso, i muscoli del corpo e quelli viscerali (BATE, 1993; RIECHMANN *et al.*, 1997) (Fig. 1A-D). Come conseguenza della scomparsa delle pareti mesodermiche, le strutture escrettrici metanefridiali di altri Invertebrati risultano assenti. Solo nei Chelicerati e nei Crostacei e in qualche Miriapodo persistono ancora organi con funzione escretoria che ricordano i metanefridi, quali le ghiandole coxali ed i nefridi antennali (o ghiandole antennali), anche se in questi, manca il caratteristico nefrostoma ciliato.

I principali organi escretori degli Insetti sono i seguenti: i Tubuli Malpighiani, i Reni labiali dei bassi Esapodi ed i Nefrociti. Svolgono altresì una funzione escrettrice sia cellule libere nell'emolinfa, sia l'intestino posteriore a livello dell'ileo e del retto, ove sono differenziati organi specializzati per questa

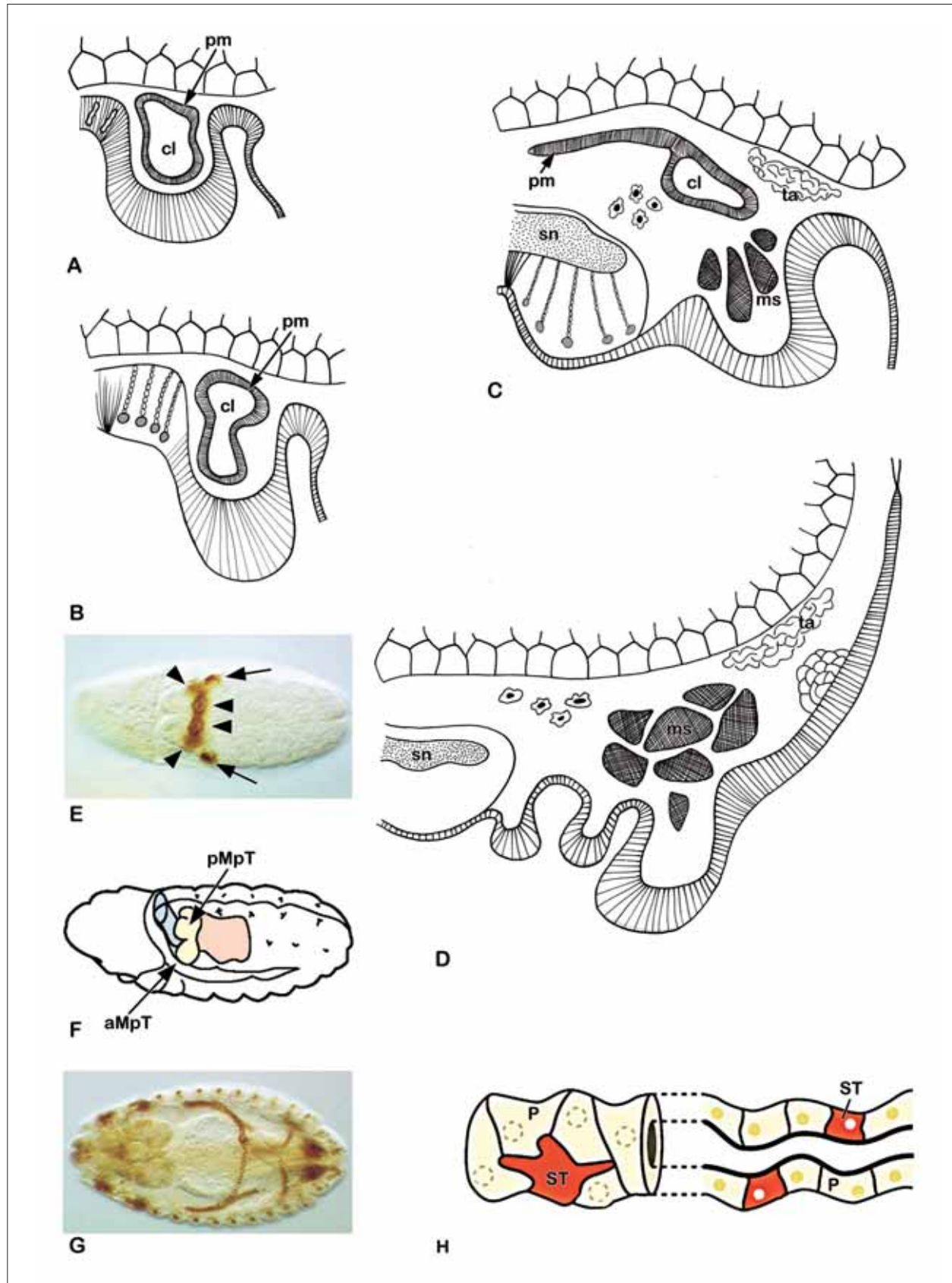


Fig. 1

A, D - Sequenza della progressiva riduzione (da 12 a 23 giorni) del celoma secondario (cl) fino alla sua scomparsa durante l'embriogenesi di *Tachycineta sp.* (Orthoptera); ms, muscoli; pm, parete mesodermica; Sn, sistema nervoso; ta, tessuto adiposo (da Anderson, 1972, modificato). E, F, G - Rappresentazione schematica dello sviluppo dei Tubuli Malpighiani in un embrione di *Drosophila*. Notare i 4 gruppi di cellule al fondo della invaginazione proctodeale (teste di freccia): da quelli centrali si formeranno i 2 tubuli posteriori (pMpT), mentre da quelli laterali si formeranno i 2 tubuli anteriori (aMpT) (da BEYENBACH *et al.*, 2010). H - Aspetto di un Tubulo Malpighiano di *Drosophila* con cellule principali (P) e cellule stellate (ST) (da BEYENBACH *et al.*, 2010).

funzione, quali le papille rettali e le “rectal pads”. Anche le cellule adipose svolgono un’attività escretice

TUBULI MALPIGHIANI

Con poche eccezioni tutti gli Pterygota hanno differenziato dei Tubuli Malpighiani, così chiamati da Meckel nel 1829, ma scoperti da Malpighi come “vasa varicosa” nel 1669 (in WIGGLESWORTH, 1972).

I Tubuli Malpighiani svolgono una funzione escretice, che era già stata ipotizzata da HEROLD (1815) e poi confermata da Bugnatelli (1815) (in WIGGLESWORTH, 1972), che rinvenne acido urico nel liquido escreto. I Tubuli Malpighiani sono in numero variabile (2 nei Coccidi, 4 nei Tisanotteri e nei Ditteri, definiti pertanto come insetti oligonefrici, oppure possono essere numerosi come accade in vari Ortoteroidi e Imenotteri, che vengono definiti insetti polinefrici).

I Tubuli Malpighiani sono diverticoli a fondo cieco presenti alla fine dell’intestino medio o all’inizio del post intestino. Essi sboccano a livello del piloro, ma in punti diversi, così che la loro posizione ha dato origine in passato a controversie circa la loro origine embriologica. Secondo alcuni autori essi si formerebbero dall’apice della invaginazione proctodeale, a partire da cellule indifferenziate; secondo altri autori, invece, essi avrebbero un’origine endodermica, come l’intestino medio, di cui ripeterebbero la stessa struttura, con cellule microvillate. Comunemente, tuttavia, i Tubuli Malpighiani sono ritenuti avere un’origine ectodermica. In *Periplaneta americana*, studiando il tipo di giunzioni intercellulari presenti nell’epitelio dei Tubuli Malpighiani di questo Blattodeo, fu osservata la coesistenza della giunzione intercellulare di tipo *pleated septate*, tipica degli epitelii ectodermici, con la *smooth septate*, nota solamente fra le cellule dell’intestino medio che, come noto, è di origine endodermica. Il dato pertanto lasciava supporre in questo insetto un’origine mista delle cellule dei Tubuli Malpighiani (DALLAI, 1976a) (Fig. 2A-C). Lo stesso quadro relativamente alla presenza di due modelli giunzionali fu anche descritto da LACOMBE (1976) e da SKAER *et al.* (1979) in *Musca*, *Rhodnius* ed *Apis*.

I dati embriologici più recenti ottenuti su *Drosophila* (DOW e DAVIES, 2001; DENHOLM *et al.*, 2003; JUNG *et al.*, 2005; DENHOLM e SKAER, 2009; BEYENBACH *et al.*, 2010), tuttavia, non lasciano dubbi sull’origine ectodermica dei Tubuli Malpighiani in questo Dittero. Questi, infatti, prenderebbero origine, durante l’embriogenesi, da abbozzi di cellule ectodermiche presenti al fondo della invaginazione proctodeale (*hindgut primordium*) che si sviluppano

secondo un preciso programma. Tale programma prevede varie fasi: inizialmente si ha una specificazione cellulare dovuta ai geni *Kruppel* (Kr) e *cut* che agiscono in concerto, successivamente si ha la formazione della struttura tubulare del Tubulo Malpighiano. Le cellule presenti al fondo della invaginazione proctodeale mantengono la loro polarità. Le cellule centrali, proliferando, formeranno i due tubuli diretti posteriormente, mentre le altre cellule, poste lateralmente, daranno origine ai due tubuli anteriori. Quattro o cinque divisioni cellulari successive completeranno il tubulo. Molti altri geni sono implicati nella fase di sviluppo e completamento dei Tubuli Malpighiani (BEYENBACH *et al.*, 2010) (Fig. 1E-F).

I Tubuli Malpighiani di molti insetti presentano due tipi cellulari: *cellule principali* e *cellule stellate* (Fig. 1G). Durante l’allungamento del tubulo, infatti, cellule mesenchimatiche provenienti dal mesoderma si integrano con quelle numerose già presenti e che hanno dato forma al tubulo. Queste cellule, di provenienza più tardiva, per la loro forma, sono definite *cellule stellate*. Esse esprimono il fattore *TipTop* e il suo ortologo *Teashirt*, e la proteina *Hibris*. Nei mutanti per quest’ultima proteina, le cellule stellate non si integrano con quelle principali; gli embrioni sopravvivono, ma gli adulti hanno vita breve. Le cellule principali, di derivazione ectodermica, sono più numerose e sono soprattutto impegnate nel trasporto di cationi (K^+) nel lume attraverso scambi protoni/cationi, mentre le cellule stellate determinano il movimento di acqua attraverso l’eliminazione di Cl^- e acquaporina.

Per quanto riguarda il reperimento delle cellule stellate, è stata osservata una forte somiglianza fra lo sviluppo dei Tubuli Malpighiani di *Drosophila* e lo sviluppo dei reni dei Mammiferi.

Anche l’ormone ecdisone svolge una importante funzione durante lo sviluppo dei Tubuli Malpighiani, determinando sia il numero che la regolare distribuzione delle cellule stellate lungo il tubulo. Inoltre, è stato osservato che l’espressione delle due proteine integrina e acquaporina è ridotta nel caso sia assente il segnale per l’ecdisione (GAUTAM & TAPADIA, 2010).

La ultrastruttura delle cellule epiteliali dei Tubuli Malpighiani è semplice e ricorda quella delle cellule dell’intestino medio, essendo come queste provviste di microvilli apicali. Le cellule, tuttavia, possono avere diversa struttura e distribuzione. Nel caso di *Rhodnius prolixus* il segmento distale dei tubuli presenta cellule binucleate con citoplasma ricco di formazioni cristalline, e microvilli apicali contenenti mitocondri (WIGGLESWORTH e SALPETER, 1962; BRADLEY, 1985). Questa regione è secretoria e contribuisce alla eliminazione di cloruri di Na^+ e K^+ , salificandoli, oltre che alla eliminazione di acqua. A

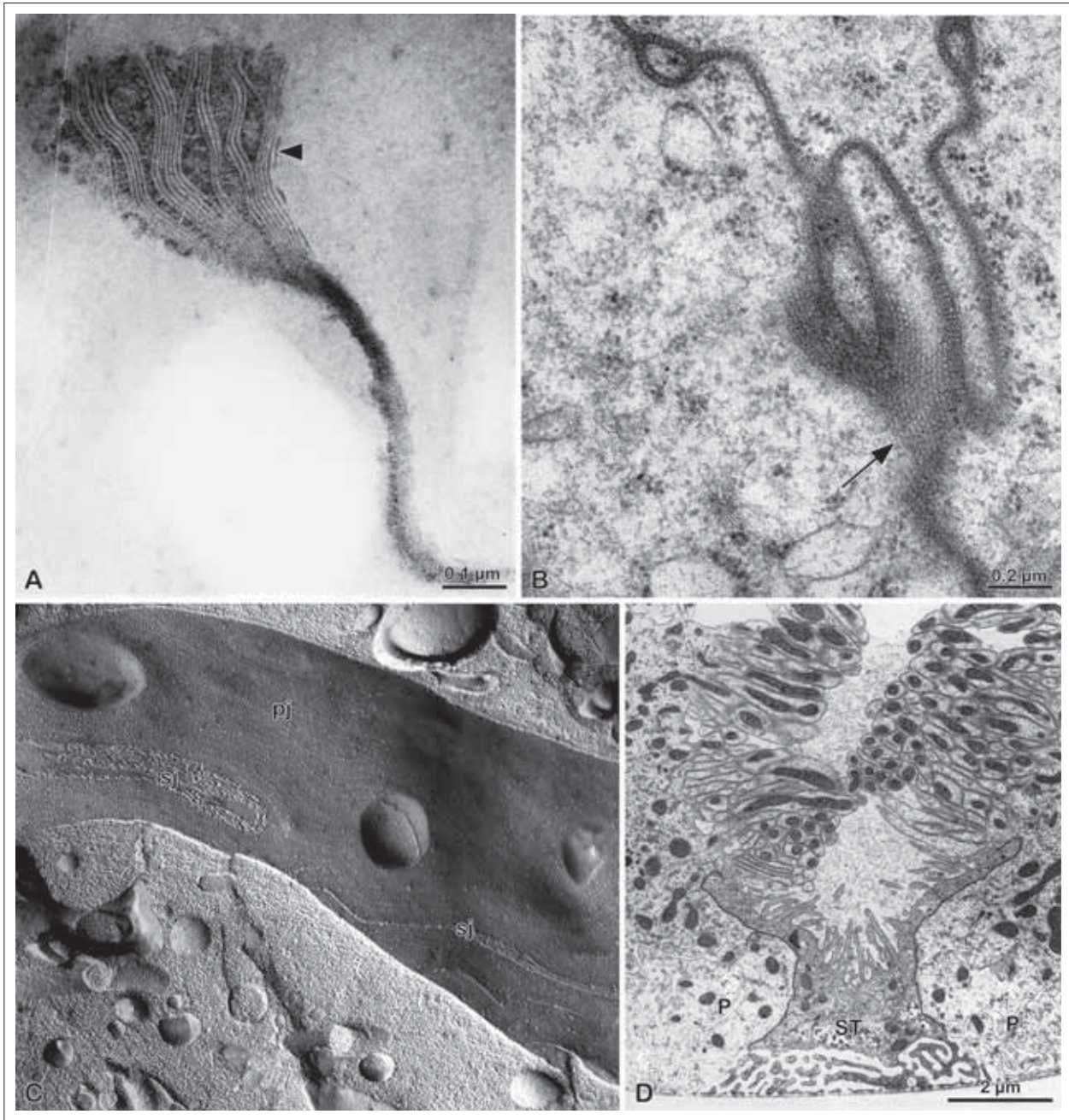


Fig. 2

A, B - Aspetto della smooth septate junction (A) e della pleated septate junction (B) dopo infiltrazione del tessuto con nitrato di lantanio. Notare l'aspetto sinuoso e continuo dei setti intercellulari della prima (testa di freccia) e quello a nido d'ape della seconda (freccia) (da DALLAI, 1976a). C - Replica ottenuta con la tecnica del freeze-fracture, per mostrare l'aspetto della membrana plasmatica fratturata, con i due modelli di giunzione intercellulare: smooth septate junction (sj) e pleated septate junction (pj), riconoscibili per le particelle intramembrana fuse nel primo tipo e distinte nel secondo (da DALLAI, 1976a). D - Sezione dell'epitelio di un Tubulo Malpighiano per mostrare le cellule principali (P) e quelle stellate (ST) (da BRADLEY, 1998, modificato).

questa regione ne segue un'altra le cui cellule non presentano inclusioni cristalline. La porzione basale dei tubuli è quella impegnata nel riassorbimento di KCl e acqua dall'urina primaria (MADDRELL, 1981) (Fig. 3A). A livello di questa regione si possono rilevare microvilli di grosse dimensioni contenenti microtubuli; per la somiglianza con strutture presenti in altri organismi, queste strutture sono state definite assopodi (BRADLEY e SATIR, 1979). Nei Ditteri,

che non presentano una regionalizzazione strutturale, ma sono uniformi sotto questo aspetto, sono state ugualmente descritte 2 tipi di cellule: *cellule principali* e *cellule stellate* (Fig. 2D); le prime sono grandi e deputate alla produzione di urina, ricche di formazioni cristalline, con microvilli provvisti di mitocondri e con una particolare specializzazione di membrana al loro apice (portasomi), strutture probabilmente coinvolte nel trasporto di ioni H^+ nel

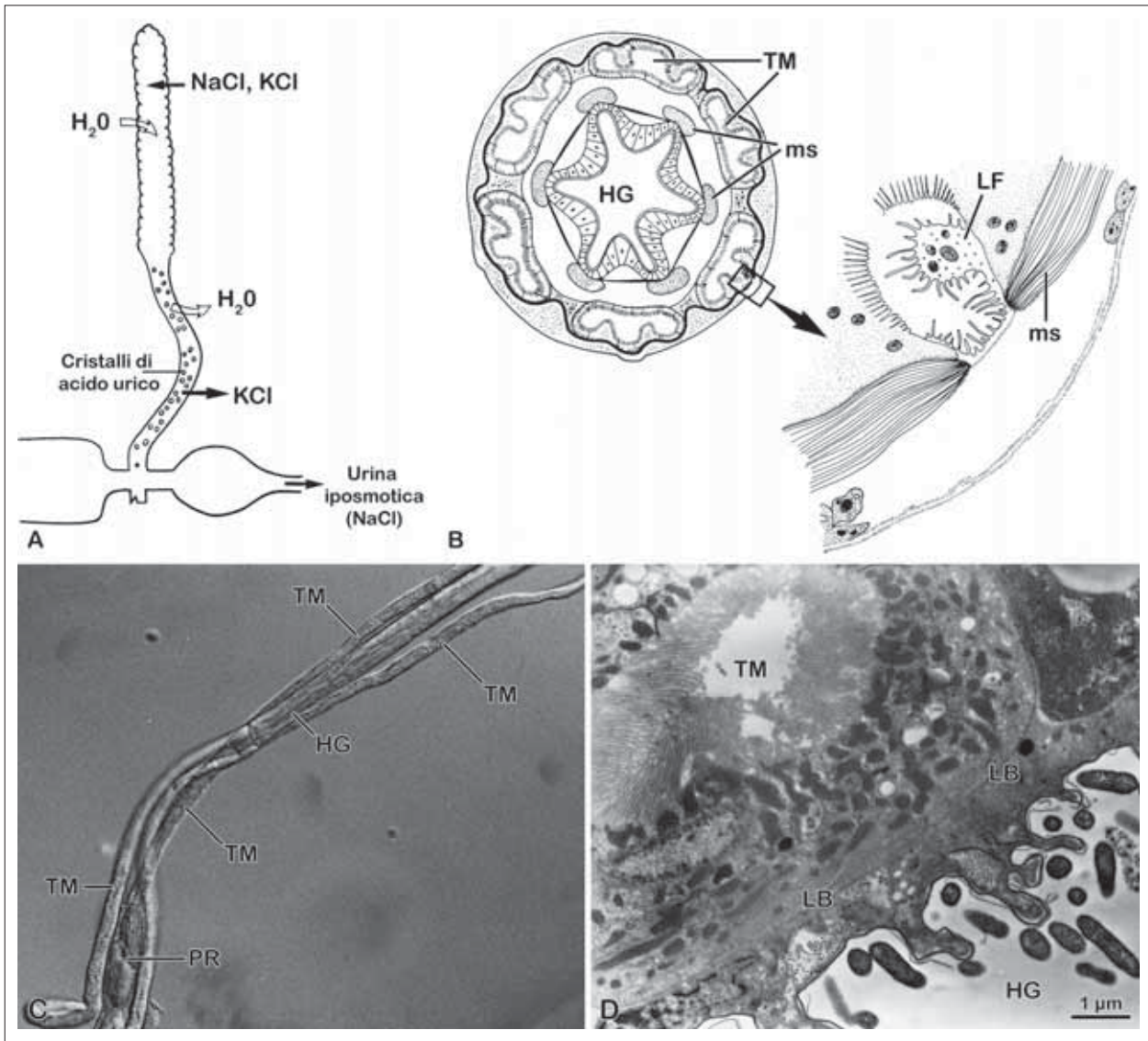


Fig. 3

A - Rappresentazione schematica di un Tubulo Malpighiano di *Rhodnius prolixus* mostrandone l'attività funzionale che si realizza ai diversi livelli (da BRADLEY, 1998). B - Disegno schematico della struttura dei criptonefridi a livello del postintestino (HG) di *Tenebrio*. Notare la disposizione dei Tubuli Malpighiani (TM) e la presenza delle cellule leptofragma (LF). ms, muscoli circolari e longitudinali (da NOBLE-NESBITT, 1998, semplificato). C - Tubuli Malpighiani (TM) e postintestino (HG) del Tisanottero *Frankliniella occidentalis* per mostrare i due tubuli posteriori aderenti al postintestino. PR, papille rettali (da DALLAI *et al.*, 1991). D - Micrografia elettronica del postintestino della specie precedente per mostrare l'adesione di un Tubulo Malpighiano posteriore (TM) all'epitelio del postintestino (HG). Una sottile lamina basale (LB) separa i due epiteli (da DALLAI *et al.*, 1991).

sistema vacuolare apicale, contenente ATPasi. Le cellule stellate sono piccole e non contengono cristalli. I loro microvilli sono corti e non presentano né mitocondri, né portosomi. Il loro ruolo sembrerebbe quello di attuare un transito passivo di ioni, oppure di svolgere funzioni di riassorbimento (PANNABECKER *et al.*, 1993).

La maggior parte degli insetti hanno Tubuli Malpighiani con diversi tipi cellulari. Nei Blattodei (*Periplaneta americana* e *Blattella germanica*), le cellule apicali di ogni Tubulo Malpighiano non contengono cristalli e i microvilli sono corti e mancano di mitocondri. La porzione centrale è secernente e contiene sia cellule principali che cellule stellate. La

parte prossimale dei tubuli presenta un solo tipo cellulare e questa regione sbocca in una ampolla.

Un esempio particolare di specializzazione dei Tubuli Malpighiani, che prevede la presenza di più tipi cellulari, riguarda i criptonefridi dei Coleotteri, Lepidotteri e Neurotteri. In *Tenebrio molitor*, la porzione distale dei tubuli presenta due tipi cellulari: grandi cellule primarie e piccole cellule leptofragma (Fig. 3B); queste ultime hanno microvilli privi di mitocondri. La regione è rivestita da uno strato di cellule che mantengono il tubulo aderente all'intestino retto e lo isolano dall'emolinfa. Le cellule del leptofragma sono in contatto con l'emolinfa, attraverso piccole fenestrature dello strato cellulare di rivestimento. I leptofragma

secernono KCl nel lume del tubulo e determinano un ritardo nel transito di acqua. Il risultato è che si produce una soluzione concentrata di KCl. Tale soluzione, ipertonica rispetto all'emolinfa, è utilizzata per il recupero di acqua per via osmotica dal lume rettale, rendendo le feci più compatte (MORDUE *et al.*, 1980; NOBLE-NESBITT, 1998).

Una semplice adesione alla regione rettale dei due Tubuli Malpighiani posteriori è presente anche nei Tisanotteri (DALLAI *et al.*, 1991) (Fig. 3C-D). A questo livello vi sono numerosi mitocondri su ambedue i versanti, quello intestinale e quello dei tubuli, separati da una sottile lamina basale. La particolare disposizione ha fatto ipotizzare un possibile transito di fluidi attraverso i due compartimenti.

RENI LABIALI (RENI CEFALICI)

Questi organi escretori, presenti a livello della capsula cefalica, sono noti sotto nomi diversi in vari atteggiamenti (FRANÇOIS, 1998), mentre mancano negli Pterygota. Essi sono omologhi alle ghiandole antenali dei Crostacei e alle ghiandole coxali degli Aracnidi (KUMMEL, 1967). I reni labiali sono presenti nei Collemboli (ALTNER, 1968) e nei Dipluri Japigidi, entrambi privi di Tubuli Malpighiani, (DALLAI e CALLAINI, 1979) (Fig. 4A-B), sono presenti nei Tisanuri (GABE, 1967; HAUPT, 1969), che tuttavia hanno Tubuli Malpighiani ridotti e contorti, e nei Dipluri Campodeidi (DALLAI e BURRONI, 1982) provvisti di corti Tubuli Malpighiani. I reni labiali mancano nei Proturi, che presentano, invece, papille malpighiane (DALLAI, 1976b) (Fig. 4C).

Tipicamente ogni rene labiale, consta di 3 parti: un sacco, un tubulo contorto ed un dotto escretore (Fig. 4D).

Il sacco ha un epitelio con cellule molto differenziate, i podociti, similmente ai nefrociti. Queste cellule sono provviste di prolungamenti ramificati, i pedicelli digitiformi, che raggiungono la lamina basale.

Fra l'apice di due pedicelli adiacenti è teso un denso setto di 4-8nm. Le cellule sono caratterizzate dalla presenza di un apparato di Golgi ben sviluppato. La lamina basale è spessa 25-40nm e circonda l'intero sacco (Fig. 4E). L'analogia strutturale di queste cellule con i podociti del rene dei Vertebrati e quella dei nefrociti ha fatto ipotizzare una analoga funzione di ultrafiltrazione, che si attuerebbe a livello della lamina basale e del setto divisorio dei pedicelli. La presenza di "coated vesicles", di lisosomi e di vescicole lisce ha fatto anche suggerire la presenza di un processo di riassorbimento di molecole proteiche ed una loro successiva degradazione ad opera dei lisosomi, con rilascio nel lume di vescicole di urina primaria per esocitosi.

Il tubulo contorto presenta un epitelio microvillato, privo di portasomi, e di invaginazioni della membrana basale, associata a numerosi mitocondri.

La porzione basale del tubulo presenta pochi, corti ed irregolari microvilli apicali.

I due tubuli contorti dei reni cefalici si riuniscono e sboccano in un dotto escretore ectodermico e pertanto con cellule rivestite apicalmente di una cuticola. Il dotto comune si apre fra il labium e l'ipofaringe nei Tisanuri *sensu lato* e nella doccia ventrale nei Collemboli e nei Dipluri; un apparato muscolare controlla l'emissione dell'urina (FRANÇOIS, 1998).

NEFROCITI

Queste cellule, descritte per la prima volta da KOWALEVSKY (1889) (in WIGGLESWORTH, 1972) che le definì "Storage Kidneys", sono in grado di accumulare materiali provenienti dall'emolinfa. In *Drosophila* ne esistono di 2 tipi: *nefrociti pericardiaci* o dorsali e *nefrociti periesofagei*, che formano una sorta di collana intorno all'esofago (Fig. 5A-B). In altri insetti sono stati descritti anche nefrociti liberi, nel tessuto adiposo e in altri tessuti, definiti *nefrociti disseminati*. I nefrociti derivano dal mesoderma cardiaco, che dà anche origine al cuore e alle ghiandole linfatiche produttrici degli emociti (CROSSLEY, 1972; RUGENDORFF *et al.*, 1994; MANDAL *et al.*, 2004).

I nefrociti periesofagei derivano da cellule mesodermiche presenti nel capo. La funzione principale dei nefrociti è quella di regolare la composizione dell'emolinfa attraverso una attiva filtrazione ed endocitosi. La loro caratteristica ultrastrutturale principale è quella di formare alla periferia una sorta di labirinto di lacune separate da processi digitiformi. Fra queste digitazioni sono presenti delle sottili fessure larghe circa 30nm attraversate da densi setti che funzionano come diaframmi filtranti (DALLAI *et al.*, 1994; DENHOLM e SKAER, 2009) (Fig. 5D). Ogni nefrocito è circondato da una lamina basale di aspetto lasso. L'emolinfa viene filtrata prima da questa lamina e poi dai diaframmi e finalmente subisce un processo di endocitosi. Particelle più grandi di 10-12 nm sono escluse dalla filtrazione. È interessante notare come l'organizzazione periferica dei nefrociti sia sovrapponibile a quella dei pedicelli dei podociti presenti nel rene dei vertebrati (Fig. 5C), che come è noto, svolgono ugualmente una funzione di filtrazione. Anche in queste cellule sono presenti processi digitiformi distanti circa 30-50nm; come i nefrociti, inoltre, sono rivestiti da una lamina basale carica negativamente. Si è ipotizzato che i nefrociti degli insetti possano accumulare temporaneamente tossine che poi rilascerebbero, con o senza alcuna modifica, nei Tubuli Malpighiani.

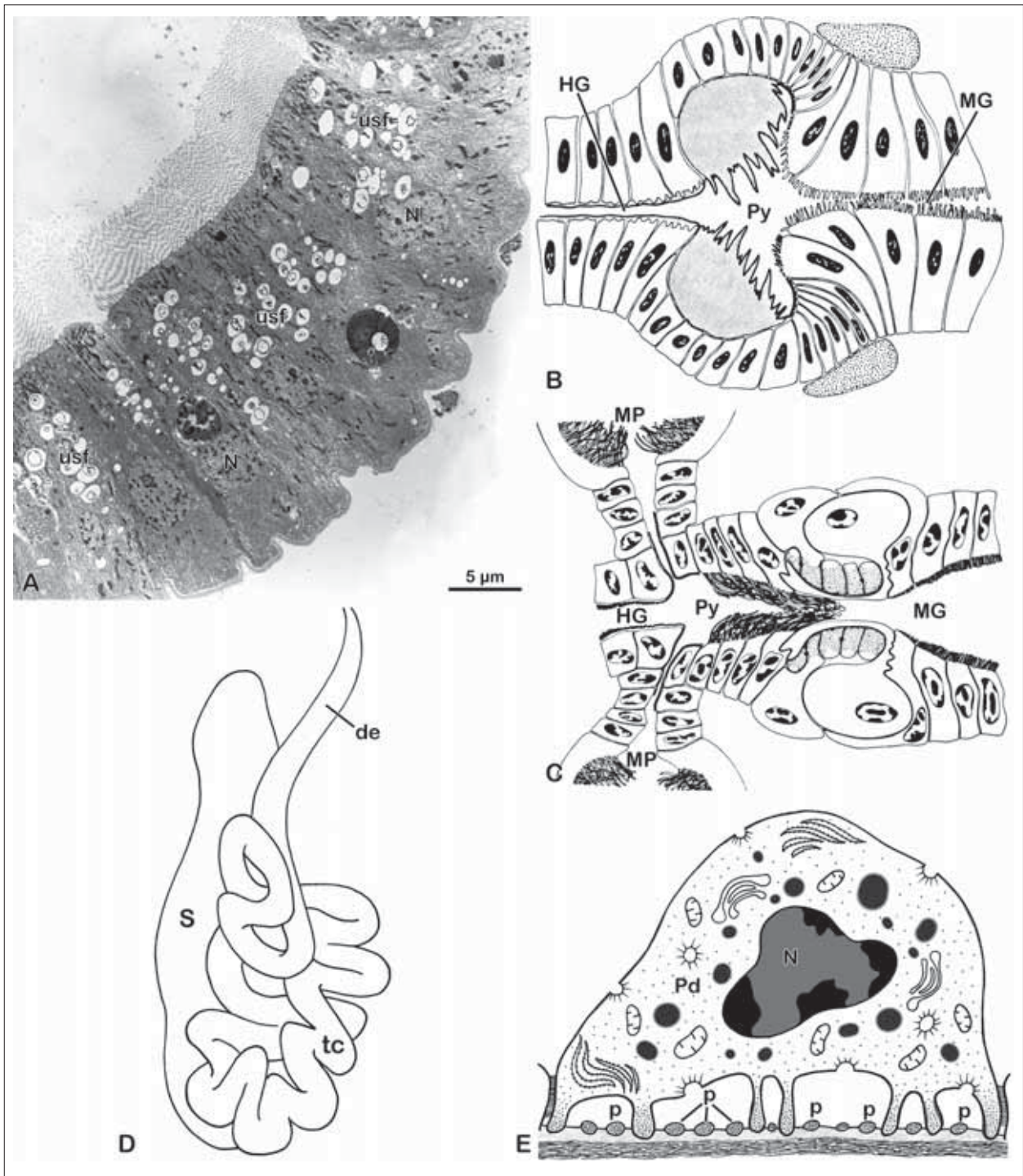


Fig. 4

A - Micrografia elettronica dell'epitelio dell'intestino medio del Collembolo *Orchesella villosa* per mostrare i numerosi urosferiti (usf) nel citoplasma; N, nuclei. B - Disegno schematico della regione pilorica (Py) di un Collembolo. I Tubuli Malpighiani sono assenti in questo gruppo di Esapodi basali.; HG, intestino posteriore; MG, intestino medio (da DALLAI, 1980). C - Disegno schematico per mostrare la regione pilorica (Py) di un Proturo. HG, intestino posteriore; MG, intestino medio; MP, Papille Malpighiane (da DALLAI, 1976b). D - Disegno schematico di un rene labiale di *Campodea* sp.; de, dotto escretore; S, sacculo; tc, tubulo contorto (da FRANÇOIS, 1998, modificato). E - Rappresentazione schematica delle cellule apicali del sacculo (podociti) di un rene labiale di *Campodea* sp. N, nucleo; p, pedicelli (da FRANÇOIS, 1998, modificato).

L'INTESTINO POSTERIORE

Il retto è il tratto intestinale in cui si verifica un ulteriore controllo della osmoregolazione (BRADLEY, 1985). In *Periplaneta americana*, questo tratto è inte-

ressato ad un intenso movimento di acqua e ioni (WALL *et al.*, 1975). In molti insetti, tuttavia, il retto non appare particolarmente attivo in queste funzioni e serve piuttosto come deposito di urina e feci, prima che questi prodotti siano espulsi all'esterno.

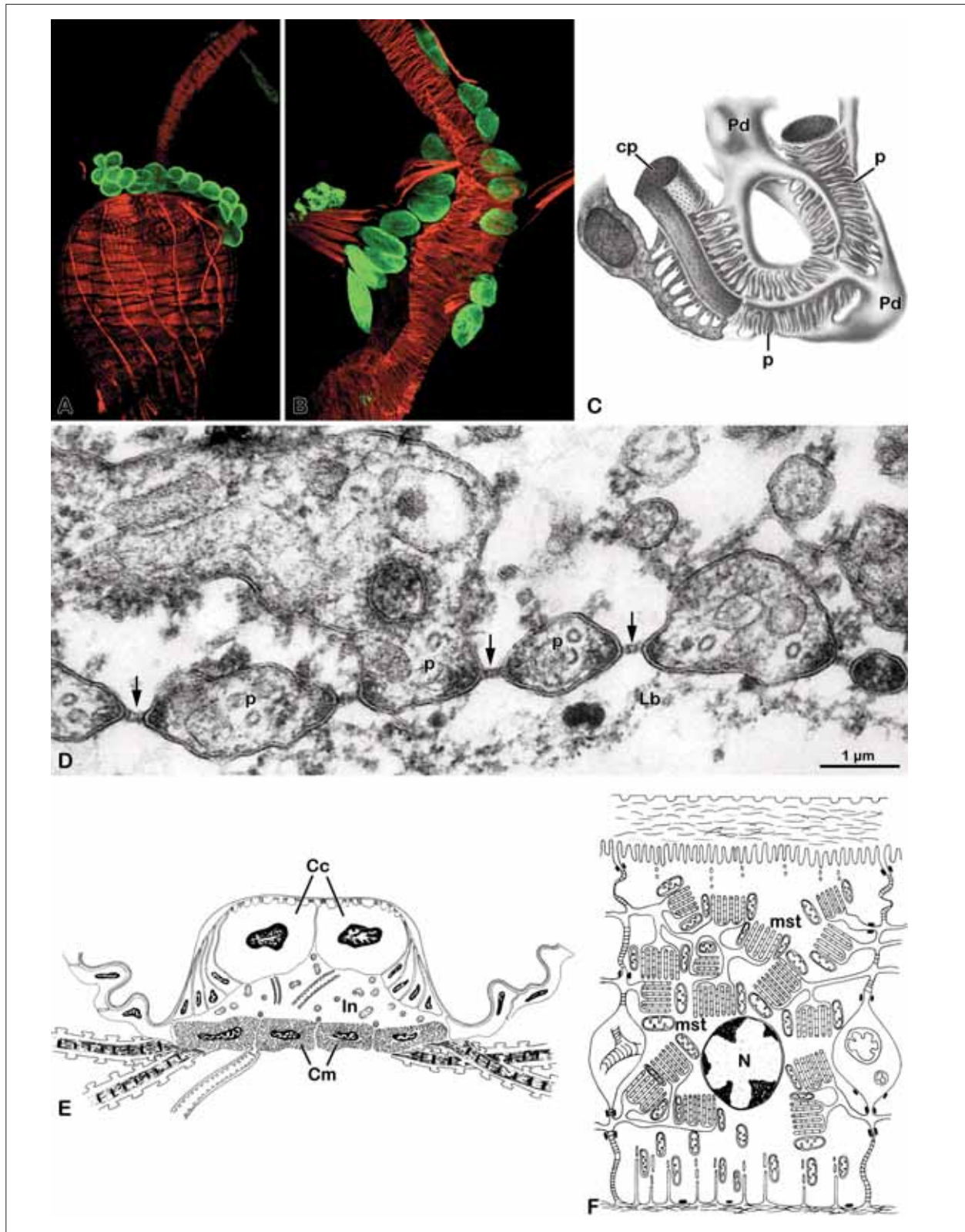


Fig. 5

A, B - Nefrociti periesofagei (A) e nefrociti pericardiaci (B), di una larva di *Drosophila* dopo trattamento con un anticorpo contro una glicoglobulina della famiglia Sticks e Stones (verde) e con falloidina per evidenziare i fasci muscolari contenenti actina (rosso) (per gentile concessione di DENHOLM e SKAER, 2009). C - Disegno schematico di podociti (Pd) con i loro numerosi pedicelli (p) nel glomerulo renale di un Vertebrato. cp, capillare fenestrato (da BLOOM e FAWCETT, 1970). D - Micrografia elettronica della regione periferica di un nefrocito di larva di *Ceratitis capitata*. Notare i pedicelli (p) fra i quali sono presenti delle fessure di filtrazione (freccie). Lb, lamina basale (da DALLAI *et al.*, 1994). E - Disegno schematico di una “rectal pad” del tricottero *Stenophylax permistus*. Notare al di sotto delle grandi cellule corticali (Cc), la cavità definita infundibulum (In), delimitata ventralmente dalle cellule medullari (Cm) (da CIANFICCONI *et al.*, 1985). F - Disegno schematico di una cellula della papilla rettale di *Ceratitis capitata*, per mostrare le particolari formazioni definite “membrane stacks” (mst) prodotte dalla associazione dei ripiegamenti della membrana plasmatica laterale con i mitocondri. A questo livello si localizza una forte attività ATPasica. (N, nucleo) (da DALLAI *et al.*, 1985).

In *Pieris brassicae* e vari Cicadidae per esempio, è la porzione più anteriore dell'intestino, l'ileo, ad essere interessata alla funzione di riassorbimento di Na^+ e K^+ e urina prodotti dai Tubuli Malpighiani (CHEUNG e MARCHALL, 1973; Nicolson, 1976). In questi casi, le cellule epiteliali dell'ileo, di solito piccole, risultano ricche di mitocondri e la membrana plasmatica apicale appare ripetutamente invaginata e con attività ATPasica evidente.

L'organizzazione strutturale del retto è stata oggetto di molti studi, che hanno messo in luce come le variazioni osservate siano in relazione all'ambiente di vita dell'insetto e al tipo di filtrato prodotto dai Tubuli Malpighiani, nel senso che l'intestino retto è responsabile delle modificazioni finali dell'urina, prima della sua eliminazione all'esterno con le feci.

Se consideriamo quello che accade in un insetto a vita terrestre, per esempio una cavalletta, si può notare che i Tubuli Malpighiani producono un fluido isosmotico rispetto all'emolinfa, ricco di K^+ e Cl^- e povero di Na^+ . Gli zuccheri e gli amminoacidi dell'emolinfa attraversano passivamente l'epitelio a bassa concentrazione. Molti composti organici tossici, non metabolizzabili, sono trasportati attivamente nel filtrato dei Tubuli Malpighiani. Il retto serve a mantenere l'omeostasi ionica, ed è pertanto impegnato nel recupero del Cl^- presente nel filtrato. A tale scopo il retto deve essere provvisto, nella membrana plasmatica apicale, di una pompa molto attiva per questo ione. Tale trasporto di Cl^- è indipendente dal Na^+ e richiede basse concentrazioni di K^+ nel lume. Questo ione sarà successivamente recuperato a livello del retto.

La ultrastruttura delle cellule apicali delle papille rettali ha evidenziato caratteristiche formazioni, le "membrane stacks", originate dalla associazione dei mitocondri presenti numerosi in questa regione ed i ripiegamenti della membrana plasmatica laterale di due cellule adiacenti (Fig. 5F); a questo livello, sono state messe in evidenza giunzioni intercellulari di tipo scalariforme ed una attiva ATPasi (BERRIDGE e GUPTA, 1968; BERRIDGE and OSCHMAN, 1972); molto verosimilmente queste specializzazioni sono la sede di un intenso trasporto ionico. Analogamente, nelle "rectal pads", i mitocondri prendono contatto con invaginazioni della membrana plasmatica laterale (OSCHMAN e WALL, 1969; DALLAI *et al.*, 1985a; 1985b). In entrambe le specializzazioni, assume molta importanza la presenza di uno spazio o lacuna (*infundibulum*), sottostante le cellule corticali della papilla o della "pad", delimitato ventralmente da uno strato di *cellule medullari* con struttura peculiare, caratterizzata da numerose invaginazioni della membrana plasmatica e da mitocondri (Fig. 5E). È stato ipotizzato che queste cellule posseggano una doppia polarità e che partecipino al processo di

osmoregolazione (CIANFICCONI *et al.*, 1985); esse potrebbero essere altresì coinvolte nel controllo ionico dei fluidi accumulati nell'infundibulo provenienti dal lume intestinale, e controllino il loro passaggio nell'emocele.

Il retto è dunque il tratto intestinale nel quale si attua il riassorbimento dei nutrienti e degli amminoacidi presenti nel lume prima della loro eliminazione all'esterno. Lo schema di filtrazione isosmotica a livello dei Tubuli Malpighiani, brevemente descritto, ed il riassorbimento selettivo nel retto, è ciò che accade in generale nel sistema escretore degli insetti. Attività particolari, diverse da quelle descritte, accadono nelle specie che vivono in ambienti diversi, ed in particolare in quelle che abitano acque salmastre iperosmotiche, come per esempio accade in specie del genere *Aedes*.

BIBLIOGRAFIA

- ALTNER H., 1968 – *Die ultrastruktur der Labialnephridien von Onychiurus quadricellatus (Collembola)*. - Journal Ultrastructure Research, 24: 349-366.
- BATE M., 1993 – *The mesoderm and its derivatives*. In: The Development of *Drosophila melanogaster*. M. Bates M. e Martinez-Arias A. (eds.). Cold Spring Harbor Lab. Plainview, N.Y., pp 1013-1090
- BERRIDGE M.J., GUPTA B.L., 1968 – *Fine structural localization of adenosine triphosphatase in the rectum of Calliphora*. - Journal of Cell Science, 3: 17-32.
- BERRIDGE M.G., OSCHMAN J.L., 1972 – *Transporting Epithelia*. Academic Press, N.Y., 91pp.
- BEYENBACH K.W., SKAER H., DOW J.A.T., 2010 – *The Developmental, Molecular, and Transport Biology of Malpighi Tubules*. - Annual Review of Entomology, 55: 351-374.
- BRADLEY T.J., SATIR P., 1979 – *Insect axopods*. - Journal of Cell Science, 35: 165-175.
- BRADLEY T.J., 1985 – *The Excretory System: Structure and Physiology*. In: Comprehensive Insect Physiology Biochemistry and Pharmacology, Kerkut G.A and Gilbert L.I. (eds) vol. 4, pp.421-465.
- BRADLEY T.J., 1998 – *Malpighian Tubules*. In: Microscopic Anatomy of Invertebrates, Harrison F.W. and Locke M (eds.) vol.11B Insecta, Wiley-Liss Inc., pp.809-829.
- CHEUNG W.W.K., MARCHALL, A.T., 1973 – *Water and ion regulation in cicadas in relation to xylem feeding*. - Journal of Insect Physiology, 19: 1801-1816.
- CIANFICCONI F., CORALLINI SORCETTI C., MORETTI G., DALLAI R., 1985 – *Ultrastructural organization of the rectal pads in adult Stenophylax permistus McL. (Trichoptera)*. - Bollettino di Zoologia, 52: 375-391.
- CROSSLEY A.C., 1972 – *The ultrastructure and function of pericardial cells and other nephrocytes in an insect Calliphora erythrocephala*. - Tissue and Cell, 4: 529-560.
- DALLAI R., CALLAINI G., 1979 – *Comparative analysis of the Collembola pyloric region (Insecta, Apterygota)*. - Monitore Zoologico Italiano, 13: 45-66.
- DALLAI R., 1976a – *Septate and continuous junctions associated in the same epithelium*. - Journal Submicroscopic Cytology, 8: 163-174
- DALLAI R., 1976b – *Fine structure of the pyloric region and Malpighian papillae of Protura. (Insecta, Apterygota)*. - Journal of Morphology, 150: 727-762.

- DALLAI R., 1980 – *Considerations on Apterygota phylogeny*. - Bollettino di Zoologia, 47: 25-48.
- DALLAI R., BURRONI D., 1982 – *Fine structure of the pyloric region and Malpighian papillae of Diplura*. - Memorie della Società Entomologica Italiana, 60: 125-135.
- DALLAI R., MORETTI G., CIANFICCONI F., CORALLINI SORCETTI C., 1985 – *Freeze-fracture study of the rectal pads in Stenophylax permistus McL. (Trichoptera)*. - Bollettino di Zoologia, 52: 407-420.
- DALLAI R., SALVATICI P., FANCIULLI P.P., VEGNI TALLURI, M., 1985B – *Membrane specializations in the rectal papillae of Ceratitis capitata (Diptera)*. - Bollettino di Zoologia, 52: 195-202.
- DALLAI R., RIPARBELLI G., CALLAINI G., 1994 – *The cytoskeleton of the ventral nephrocytes of Ceratitis capitata larva*. - Cell and Tissue Research, 275: 529-536.
- DALLAI R., DEL BENE G., MARCHINI D., 1991 – *The ultra-structure of Malpighian Tubules and hindgut of Frankliniella occidentalis (Pergande) (Thysanoptera, Thripidae)*. - International Journal of Insect Morphology and Embryology, 20: 223-233.
- DENHOLM B., SKAER H., 2009 – *Bringing together components of the fly renal system*. - Current Opinion in Genetics and Development, 19: 526-532.
- DENHOLM B., SUDARSAN V., PASALODOS-SANCHEZ S., ARTERO R., LAWRENCE P., MADDRELL S., BAYLIES M., SKAER H., 2003 – *Dual origin of the renal tubules in Drosophila: mesodermal cells integrate and polarize to establish secretory function*. - Current Biology, 13: 1052-1057.
- DOW J.A.T., DAVIES S.A., 2001 – *The Drosophila melanogaster Malpighian tubule*. - Advances of Insect Physiology, 28: 1-83.
- FRANÇOIS J., 1998, – *Labial Kidney*. In: Microscopic Anatomy of Invertebrates, Harrison F.W. and Locke M. (Eds) vol. 11B Insecta, Wiley-Liss Inc., pp.831-840.
- GABE M., 1967 – *Donné histologiques sur le rein céphalique des Thysanoures (Insectes Aptérygotes)*. - Annales de la Société Entomologique Française, 3: 681-713.
- GAUTAM N.K., TAPADIA M.G., 2010 – *Ecdysone signalling is required for proper organization and fluid secretion of stellate cells in the Malpighian tubules of Drosophila melanogaster*. - International Journal of Developmental Biology, 54: 635-642.
- HAUPT J., 1969 – *Zur Feinstruktur der Labialniere des silberfischens Lepisma saccharina (Thysanura, Insecta)*. - Zoologische Beiträge, 15: 139-170.
- JUNG A.C., DENHOLM B., SKAER H., AFFOLTER M., 2005 – *Renal tubule development in Drosophila: a closer look at the cellular level*. - Journal of the American Society of Nephrology, 16: 322-328.
- KUMMEL G., 1967 – *Die Podozytien*. - Zoologische Beiträge, 13: 245-263.
- LACOMBE M., 1976 – *Zonula continua*. In: Mitteldarm und den Malpighischen gefassten von Honigbienen (Insecta, Hymenoptera). - Zoomorphologie, 85: 17-22.
- MADDRELL S.H.P., 1981 – *The functional design of the insect excretory system*. - Journal of Experimental Biology, 90: 1-15.
- MANDAL L., BANERJEE U., HARTENSTEIN V., 2004 – *Evidence for a fruit fly hemangioblast and similarities between lymph-glands haematopoiesis in fruit fly and mammal aorta-gonadal-mesonephros mesoderm*. - Nature Genetics, 36: 1019-1023.
- MORDUE W., GOLDSWORTHY G.J., BRADY J., BLANEY W.M., 1980 – *Insect Physiology*. - Blackwell Scientific Publications, Oxford, 108 pp.
- NICOLSON S.W., 1976 – *Diuresis in the cabbage white butterfly, Pieris brassicae: water and ion regulation and the role of the hindgut*. - Journal of Insect Physiology, 22: 1623-1630.
- NOBLE-NESBITT J., 1998 – *Hindgut with Rectum*. In: Microscopic Anatomy of Invertebrates; Harrison F.W. and Locke M. (eds.) vol.11B, Insecta Wiley-Liss Inc. pp 759-808.
- OSCHMAN J.L., WALL B.J., 1969 – *The structure of the rectal pads of Periplaneta Americana L. with regard to fluid transport*. - Journal of Morphology, 127: 475-510.
- PANNABECKER T.L., HAYES T.K., BEYENBACH, K.W., 1993 – *Regulation of epithelial shunt conductance by peptide leucokinin*. - Journal of Membrane Biology, 132: 63-76.
- RIECHMANN V., IRION U., WILSON, R., GROSSKORTENHAUS R., LEPTIN M. 1997 – *Control of cell fates and segmentation in the Drosophila mesoderm*. - Development, 124: 2915-2922.
- RUGENDORFF A., YOUNOSSI-HARTENSTEIN A., HARTENSTEIN V., 1994 – *Embryonic origin and differentiation of the Drosophila heart*. Roux's Archives of Developmental Biology, 266-280.
- SKAER H., HARRISON J.B., LEE W.M., 1979 – *Topographical variations in the structure of the smooth septate junction*. - Journal of Cell Science, 37: 373-389.
- WALL B.J., OSCHMAN J.L., SCHMIDT B.A., 1975 – *Morphology and function of Malpighian tubules and associated structures in the cockroach, Periplaneta americana* - Journal of Morphology, 146: 265-306.
- WEAVERS H., PRIETRO-SANCHE S., GRAWE F., GARCIA-LOPEZ A., ARTERO R., WILSCH-BRAUNINGER M., RUIZ-GÓMEZ M., SKAER H., DENHOLM B., 2009 – *The insect nephrocyte is a podocyte-like cell with filtration slit diaphragm*. - Nature, 457: 322-326.
- WIGGLESWORTH W.B., 1972 – *The principles of Insect Physiology*. 7th ed., London Chapman and Hall, 827 pp.
- Wigglesworth W.B., Salpeter M.M., 1962 – *Histology of the Malpighian tubules of Rhodnius prolixus Stal (Hemiptera)*. - Journal of Insect Physiology, 8: 299-307.

LO STUDIO DEL RUOLO DEI TUBULI MALPIGHIANI

BARBARA GIORDANA (*)

(*) DiPSA, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133 Milano

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti» - Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 novembre 2011.

Functional studies on the roles of Malpighian Tubules

From the first studies on the secretions collected from the Malpighian Tubules and the determination of their composition, to the isolation of the tubule *in vitro* in the "Ramsay assay", their microperfusion for correct electrophysiological measurements, to the recent genomic, transcriptomic and proteomic studies, for a deeper understanding of already known functions and for the discovery of new unexpected roles.

KEY WORDS: epithelial physiology, Malpighian Tubules *in vitro*, ion and water transport measurements, electrophysiology, functional genomics and integrative physiology.

Come verrà illustrato dagli interventi che seguiranno, i Tubuli Malpighiani sono stati identificati già dalle prime indagini come strutture epiteliali deputate alla regolazione ionica ed osmotica dei liquidi intracorporei dell'insetto e come organo escretore: studi successivi e recentissimi approcci sperimentali hanno però permesso di evidenziare molte nuove competenze.

Le successive relazioni mostreranno gli straordinari risultati ottenuti e i modelli cellulari e molecolari che descrivono alcuni dei ruoli, vecchi e nuovi, di questo epitelio. Qui si accennerà brevemente all'evoluzione delle tecniche sperimentali che hanno fornito i dati funzionali, che nel tempo hanno portato all'elaborazione dei complessi modelli ora proposti.

L'avvento della microscopia elettronica nella seconda metà del secolo scorso aveva fornito, a partire dagli anni '50, una notevole mole di informazioni sulla struttura delle membrane biologiche e degli epiteli in generale, ponendo ai fisiologi interessati a queste strutture nuovi interrogativi e creando l'esigenza di nuove tecniche per chiarire la loro funzione, come sede degli scambi di ioni e molecole tra l'ambiente interno dell'organismo e il mondo esterno. Le basi teoriche e sperimentali per lo studio della fisiologia del trasporto transepiteliale sono state poste all'inizio degli anni '50 del secolo scorso da Hans Ussing all'Università di Copenhagen (LARSEN, 2002). Ussing utilizzò la pelle di rana come epitelio modello, ed elaborò i fondamenti teorici per lo studio sperimentale del trasporto di ioni, chiarendo per primo le proprietà del trasporto attivo transepiteliale di sodio, un

processo praticamente ubiquitario mediato da quella che fu allora definita una "pompa" (USSING e ZERHAN, 1951), solo più tardi identificata con la sodio/potassio ATPasi. Ussing inventò un apparato sperimentale che ebbe grande fortuna, ed è tuttora largamente usato, definito convenzionalmente "Ussing chamber": sia la definizione di Ussing chamber che gli scopi per cui può essere utilizzata si ritrovano in Wikipedia, insieme con una foto dell'inventore. L'apparato, ora facilmente acquistabile, è costituito da due emicamere in mezzo alle quali viene interposto il tessuto epiteliale che si vuole studiare. Le soluzioni fisiologiche che bagnano i due lati dell'epitelio, di composizione variabile a seconda della provenienza del tessuto e del tipo di sperimentazione, sono collegate a una opportuna strumentazione elettrofisiologica per la misura della differenza di potenziale elettrico transepiteliale, e della corrente generata dal movimento degli ioni che attraversano l'epitelio. Il passaggio di ioni e molecole attraverso l'epitelio isolato può essere monitorato con una marcatura con radioisotopi o sonde fluorescenti.

Ussing è considerato il padre della fisiologia dei trasporti transepiteliali (LARSEN, 2002), ma negli stessi anni, un contributo fondamentale alla conoscenza dei meccanismi di trasporto di elettroliti e di acqua, così come delle complesse regolazioni ormonali cui questi movimenti sono soggetti, veniva sviluppato nella Unit of Insect Physiology (Zoology Department, Cambridge University, U. K.) diretta da Sir Vincent Wigglesworth, il padre della moderna fisiologia degli insetti, grazie alla messa a punto di un preparato sperimentale molto

ingegnoso per la sperimentazione su una struttura tubulare di minime dimensioni come sono appunto i Tubuli del Malpighi. Lo studio della funzione dei tubuli a Cambridge era stato iniziato prima della II guerra mondiale proprio da Wigglesworth (WIGGLESWORTH, 1931 a, b, c). Successivamente, Wigglesworth dedicò la maggior parte del suo impegno scientifico allo studio degli ormoni che regolano la metamorfosi, ma mantenne il suo interesse per i Tubuli Malpighiani, pubblicando una prima descrizione al TEM della morfologia fine dell'epitelio tubulare e del ruolo dei tubuli nella escrezione di acido urico (WIGGLESWORTH e SALTER, 1962).

Presso la Unit of Insect Physiology, che nel corso degli anni ha ospitato per periodi di studio molti insigni entomologi, la sperimentazione sui Tubuli Malpighiani fu attivamente proseguita da J. Arthur Ramsay, che nel 1954 pubblicò un lavoro in cui presentava una brillante soluzione tecnica per il loro studio funzionale: l'apparato sperimentale descritto (RAMSAY, 1954) era costituito da un recipiente in vetro con la base ricoperta da uno strato di cera, in cui veniva versata paraffina liquida a ricoprire una goccia di liquido, costituito nel lavoro originale da emolinfa di *Carausius morosus*, il fasmide da cui provenivano i tubuli in studio. Il tubulo dissezionato dall'insetto era immerso nella goccia di emolinfa e la sua parte aperta prossimale, corrispondente allo sbocco a livello della giunzione tra intestino medio e posteriore, era immersa nella paraffina. Via via che il tubulo secerneva fluido, si formava una goccia di secreto di dimensioni crescenti al capo aperto: la quantità di fluido prodotto nel tempo veniva calcolata misurando al microscopio binoculare il raggio della goccia sferica che si formava e che aumentava via via di dimensione. La composizione ionica del fluido secreto poteva essere continuamente determinata rimuovendone piccole quantità. Ramsay ritenne necessario introdurre anche una piccola bolla di ossigeno in prossimità del liquido che bagnava il tessuto per garantirne l'ossigenazione, condizione che successivamente si rivelò inutile e che fu quindi abbandonata. Sperimentazioni successive (MADDERELL, 1969) chiarirono anche che non era necessario inserire il tubulo in emolinfa e che l'organo manteneva una buona sopravvivenza se immerso in soluzioni fisiologiche di opportuna composizione.

Un decennio più tardi, questa tecnica fu utilizzata, sempre a Cambridge, anche da Michael J. Berridge (1964), che negli anni a venire diventerà molto noto per i suoi successivi studi sul ruolo dell'inositolo trifosfato e del calcio come secondi messaggeri intracellulari (BERRIDGE, 2005). Ber-

ridge applicò la medesima tecnica anche a un'altra struttura epiteliale di minime dimensioni, i tubuli che formano le ghiandole salivari, avviando lo studio della regolazione ormonale della secrezione e delle vie intracellulari di trasmissione del segnale (BERRIDGE, 1968).

Nella recentissima fotografia visibile nel sito <http://www6.ufrgs.br/laprottox/en/what-we-do/research-lines/ureases-non-catalytic-properties/insecticidal-activity-0>, il "Ramsay assay" è applicato allo studio di un Tubulo Malpighiano dell'emittero *Rhodnius prolixus*, insetto ematofago in cui, dopo un pasto di sangue, i tubuli sono in grado di aumentare di più di 1000 volte la velocità di secrezione, così da riuscire a smaltire rapidamente l'ingente quantità di fluido ingerito con il pasto. Questi tubuli di grandi dimensioni furono oggetto di studio già nel 1931 da parte di WIGGLESWORTH (1931 a, b, c,) e in seguito, sempre a Cambridge, da parte di Simon H. Maddrell, che ha pubblicato fino a oggi numerosissimi lavori sulla identificazione funzionale dei meccanismi coinvolti nella secrezione di acqua e ioni e, specialmente, sulla complessa regolazione ormonale che modula la quantità di fluido prodotto (MADDERELL, 2003, 2009). MADDERELL (1969) perfezionò l'apparato sperimentale di Ramsay, rendendolo più simile a quello attualmente in uso, in modo da rendere più facile l'osservazione e la misura della secrezione di fluido in più tubuli, o in porzioni di tubuli, sperimentando su numerosi tubuli (fino a 20) contemporaneamente. Utilizzando soluzioni fisiologiche con composizioni ioniche opportunamente modificate e vari tipi di inibitori classici, Maddrell dimostrò funzionalmente nel lavoro citato che il fluido secreto in seguito a stimolazione da parte di un ormone diuretico, era isosmotico e che la sua composizione ionica suggeriva la presenza nell'epitelio di specifici trasportatori.

Ben presto vennero anche sviluppate, prima da Berridge (BERRIDGE e PRINCE, 1972) e poi da Maddrell (O'DONNELL e MADDERELL, 1984), tecniche opportune per misurare la differenza di potenziale elettrico generato dall'epitelio tubulare, tecniche in seguito riesaminate e perfezionate da ISAACSON e NICOLSON (1989). I fondamenti teorici e il complesso sistema sperimentale per le misure elettrofisiologiche attualmente in uso in diversi laboratori, è stato però elaborato più recentemente da Klaus Beyenbach e il suo gruppo alla Cornell University (Ithaca, USA), nel corso delle loro numerose ricerche sui movimenti ionici e di fluido, e sugli ormoni e i neuropeptidi che controllano la secrezione, nei Tubuli Malpighiani di *Aedes aegypti* (PANNABECKER *et al.*, 1992; YU e BEYENBACH, 2002; WU e BEYENBACH, 2003;

BEYENBACH, 2003; BEYENBACH e PIERMARINI, 2011). Nella sua Review del 2003, Beyenbach sottolinea l'attualità del "Ramsay assay" per una esatta determinazione *in vitro* della quantità e della composizione del fluido secreto dal tubulo, ed evidenzia l'importanza della microper fusione del tubulo per ottenere corrette misure elettrofisiologiche (come già anticipato da ISAACSON e NICOLSON nel 1989). Le strumentazioni necessarie per la raccolta dei dati, e il modello dell'attività funzionale dell'epitelio risultante dall'elaborazione dei risultati ottenuti, sono chiaramente schematizzati in una figura riportata nel lavoro di YU e BEYENBACH (2002), in cui è messa bene in evidenza l'importanza per il ruolo funzionale del tubulo dei due tipi cellulari che formano l'epitelio di *Aedes aegypti*, le cellule principali e le cellule stellate. Il preparato sperimentale prevede che il tratto di tubulo di interesse venga dissezionato e che le due estremità vengano fatte aderire a due micropipette, attraverso le quali fluisce la soluzione che perfonde il lume del tubulo. All'interno di una delle due pipette è presente l'elettrodo che serve per misurare la differenza di potenziale elettrico transepiteliale, e un secondo elettrodo che permette di iniettare corrente elettrica, per determinare la resistenza elettrica totale del tessuto. Un microelettrodo convenzionale impala una cellula principale e permette di misurare il voltaggio sia a livello della membrana plasmatica apicale che basolaterale, e di valutare le rispettive resistenze. Parallelamente, viene calcolata anche la resistenza della via paracellulare, costituita dal complesso giunzionale tra le cellule epiteliali adiacenti. Tutte le misure sono determinate rispetto al microelettrodo di terra posto nel fluido peritubulare, in cui è immerso il tubulo microperfuso. I dati raccolti permettono l'elaborazione del circuito elettrico equivalente della secrezione transepiteliale degli elettroliti coinvolti nel trasporto transepiteliale.

I numerosi risultati ottenuti con l'approccio elettrofisiologico hanno portato a una descrizione accurata dei movimenti ionici che hanno luogo a livello della membrana plasmatica rivolta verso l'emolinfa o verso il lume tubulare, alla identificazione del diverso ruolo svolto dalle cellule principali, dalle cellule stellate e dalle giunzioni settate nella permeazione degli ioni, e alla comprensione del rapido modificarsi degli eventi cellulari che portano a un ampio incremento della secrezione tubulare in presenza di neuropeptidi e ormoni diuretici (BEYENBACH, 2003; BEYENBACH e PIERMARINI, 2011).

Julian Dow entra nel laboratorio di Maddrell a Cambridge nel 1977 e, pur collaborando con lui

fino a tempi relativamente recenti (DOW *et al.*, 1994), prosegue autonomamente la ricerca sui Tubuli Malpighiani all'Università di Glasgow (U. K.), applicando oltre alle tecniche tradizionali fin qui viste, i nuovi approcci sperimentali che seguono all'era della genomica: la trascrittomica, la proteomica e la metabolomica. Con la collega Shireen Davies, Dow sottolinea nei suoi scritti (DOW e DAVIES, 1999, 2003, 2006; DOW, 2007), e dimostra nelle sue recenti sperimentazioni (DOW e DAVIES, 2006;), la sostanziale convergenza tra gli strumenti della genomica funzionale, che mira alla comprensione della funzione di ogni gene presente nel genoma, e gli scopi della "integrative physiology", intesa come lo studio di come i prodotti genici sono tra loro coordinati in cellule e tessuti per svolgere precise funzioni integrate nell'intero organismo.

Sia l'approccio sperimentale *in vitro* tradizionale a livello di organo, tessuto, cellula e molecola, che lo studio della funzione attraverso il silenziamento o la modificazione del gene, hanno portato, come descritto nei contributi che seguono, a una più profonda comprensione del ruolo già noto svolto dai Tubuli Malpighiani (BEYENBACH *et al.*, 2009, 2011; DOW e DAVIES, 2006; BEYENBACH *et al.*, 2010), e alla identificazione di nuovi inaspettati compiti (MCGETTIGHAN *et al.*, 2005; DOW e DAVIES, 2006; CHAHINE e O'DONNELL, 2011; LABBÈ *et al.*, 2011).

RIASSUNTO

Dai primi studi sul volume e la composizione del fluido prodotto a livello della porzione distale del Tubulo Malpighiano, al suo isolamento *in vitro* nel "Ramsay assay", alla microper fusione tubulare e l'applicazione di corrette misure elettrofisiologiche, fino ai recenti studi trascrittomici e proteomici che hanno portato a una più profonda comprensione del ruolo omeostatico ed escretorio del tubulo e alla scoperta di nuove inaspettate funzioni.

BIBLIOGRAFIA

- BERRIDGE M.J., 1965 – *The physiology of excretion in the cotton stainer Dysdercus fasciatus Signoret. III. Nitrogen excretion and ionic regulation.* - J. Exp. Biol., 43: 535-52.
- BERRIDGE M.J., 2005 – *Unlocking the secrets of cell signaling.* - Annu. Rev. Physiol. 67: 1-21.
- BERRIDGE M.J., PATEL N.G., 1968 – *Insect salivary glands: stimulation of fluid secretion by 5-hydroxytryptamine and cyclic AMP.* - Science, 162: 462-63.
- BERRIDGE M.J., PRINCE W.T., 1972 – *Transepithelial potential changes during stimulation of isolated salivary glands with 5-hydroxytryptamine and cyclic AMP.* - J. Exp. Biol., 56: 139-153.
- BEYENBACH K.W., 2003 – *Transport mechanisms of diuresis in Malpighian tubules of insects.* - J. Exp. Biol., 206: 3845-3856.
- BEYENBACH K.W., SKAER H., DOW J.A.T., 2010 – *The*

- developmental, molecular and transport biology of Malpighian tubules.* - Annu. Rev. Entomol., 55: 351-374.
- BEYENBACH K.W., BAUMGART S., LAU K., PIERMARINI P.M., ZHANG, S., 2009 – *Signaling to the apical membrane and to the paracellular pathway: changes in the cytosolic proteome of Aedes Malpighian tubules.* - J. Exp. Biol., 212: 329-340.
- BEYENBACH K.W., PIERMARINI P.M., 2011 – *Transcellular and paracellular pathways of transepithelial fluid secretion in Malpighian (renal) tubules of the yellow fever mosquito Aedes aegypti.* - Acta Physiologica, 202: 387-407.
- CHAHINE S., O'DONNELL M.J., 2011 – *Interactions between detoxification mechanisms and excretion in Malpighian tubules of Drosophila melanogaster.* - J. Exp. Biol., 214: 462-468.
- DOW J.A.T., DAVIES S.A., 1999 – *The Drosophila Malpighian tubule: an epithelial model for integrative physiology.* - Comp Biochem Physiol., A124: S49-S49.
- DOW J.A.T., DAVIES S.A., 2003 – *Integrative physiology and functional genomics of epithelial function in a genetic model organism.* - Physiol. Rev., 83: 687-729.
- DOW J.A.T., 2007 – *Integrative physiology, functional genomics and the phenotype gap: a guide for comparative physiologists.* - J. Exp. Biol., 210: 1632-1640.
- DOW J.A.T., DAVIES S.A., 2006 – *The Malpighian tubule: rapid insights from postgenomic biology.* - J. Insect Physiol., 52: 365-378.
- DOW J.A.T., MADDRELL S. H. P., GÖRTZ A., SKAER N.V., BROGAN S., KAISER, K., 1994 – *The Malpighian tubules of Drosophila melanogaster: a novel phenotype for studies of fluid secretion and its control.* - J. Exp. Biol., 197: 421-428.
- ISAACSON L., NICOLSON S., 1989 – *A reappraisal of the oil-gap technique for the measurement of transtubular potentials in insect epithelia.* - J. exp. Biol., 141: 429-440.
- LABBÉ R., CAVENEY S., DONLY C., 2011 – *Expression of multidrug resistance proteins is localized principally to the Malpighian tubules in larvae of the cabbage looper moth, Trichoplusia ni.* - J. Exp. Biol., 214: 937-944.
- LARSEN E.H., 2002 – *H. H. Ussing – scientific work: contemporary significance and perspectives.* - Biochim. Biophys. Acta, 1566: 2-12.
- MADDRELL S.H.P., 1963 – *Excretion in the blood-sucking bug Rhodnius prolixus Stal. I. The control of diuresis.* - J. Exp. Biol., 40: 247-256.
- MADDRELL S.H.P., 2009 – *Insect homeostasis: past and future.* - J. Exp. Biol., 212: 446-451.
- MCGETTIGAN J., MCLENNAN R.K.J., BRODERICK K.E., KEAN L., ALLAN A.K., CABRERO P., REGULSKI M.R., POLLOCK V.P., GOULD G.W., DAVIES S.A., DOW J.A.T., 2005 – *Insect renal tubules constitute a cell-autonomous immune system that protects the organism against bacterial infection.* - Insect Biochem. Mol. Biol. 35, 741-754.
- O'DONNELL J.M., MADDRELL S.H.P., 1984 – *In vitro techniques for studies of Malpighian tubules.* In: Measurement of Ion Transport and Metabolic Rate in Insects. (ed. T.J. Bradley, T.A. Miller), pp. 5-18. New York: Springer-Verlag.
- PANNABECKER, T.L., ANESHANSLEY, D.J., BEYENBACH, K.W., 1992 – *Unique electrophysiological effects of dinitrophenol in Malpighian tubules.* - Am. J. Physiol. 263: R609-R614.
- RAMSAY J.A., 1954 – *Active transport of water by the Malpighian tubules of the stick insect, Dixippus morosus (Orthoptera; Phasmidae).* - J. Exp. Biol., 31: 104-113.
- USSING H. H., ZERAHN K., 1951 – *Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin.* - Acta Physiol. Scand. 23: 110-127.
- WIGGLESWORTH V.B., 1931a – *The physiology of excretion in a blood-sucking insect Rhodnius prolixus (Hemiptera, Reduviidae). I. Composition of the urine.* - J. Exp. Biol. 8: 411-427.
- WIGGLESWORTH V.B., 1931b – *The physiology of excretion in a blood-sucking insect Rhodnius prolixus (Hemiptera, Reduviidae). II. Anatomy and histology of the excretory system.* - J. Exp. Biol., 8: 428-441.
- WIGGLESWORTH V.B., 1931c – *The physiology of excretion in a blood-sucking insect Rhodnius prolixus (Hemiptera, Reduviidae). III. The mechanism of uric acid excretion.* - J. Exp. Biol., 8: 443-451.
- WIGGLESWORTH V.B., SALPETER M.M., 1962 – *Histology of the Malpighian tubules in Rhodnius prolixus Stal. (Hemiptera).* - J. Insect Physiol., 8: 299-230.
- WU D.S., BEYENBACH K.W., 2003 – *The dependence of electrical transport pathways in Malpighian tubules on ATP.* - J. Exp. Biol., 206: 233-243
- YU M.J., BEYENBACH K.W., 2002 – *Leucokinin activates Ca²⁺-dependent signal pathway in principal cells of Aedes aegypti Malpighian tubules.* - Am J. Physiol. 283: F499-F508.

I TUBULI MALPIGHIANI NEI PROCESSI DI DETOSSIFICAZIONE E DIFESA

MORENA CASARTELLI (*)

(*) Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Milano, via Celoria 26, 20133 Milano; morena.casartelli@unimi.it
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti» - Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 novembre 2011.

Role of Malpighian Tubules in detoxification processes and immunity

The Malpighian tubules and the rectum form the key excretory and osmoregulatory organs of the insect. Recently, functional genomic studies performed in *Drosophila melanogaster* have uncovered new tubules functions. Microarray analysis shows that organic solutes transporters dominate tubule transcriptome, a clear indication that this organ has the ability to excrete a wide range of organic solutes and xenobiotics. Moreover, the tubule expresses very high levels of cytochrome P450s and glutathione-S-transferases. These evidences are a clear indication that the tubule plays a major role in metabolism and detoxification of both endogenous organic solutes and xenobiotics, such as insecticides.

In addition, the tubules are involved in the immune response. This organ is capable of sensing bacterial challenge and mounting an effective killing response by secretion of antimicrobial peptides, entirely independent of the fat body, the canonical immune tissue.

KEY WORDS: Malpighian Tubules; *Drosophila*; excretion of organic solutes; detoxification; antimicrobial peptides.

Negli insetti i Tubuli Malpighiani, insieme all'intestino posteriore, rappresentano le strutture deputate all'osmoregolazione e all'escrezione. I meccanismi di trasporto coinvolti nella produzione dell'urina primaria e quelli responsabili del riassorbimento di acqua, ioni e altri soluti a livello del retto sono stati ben caratterizzati così come la loro regolazione ad opera di specifici neuropeptidi (BEYENBACH e PIERMARINI, 2011; BEYENBACH *et al.*, 2010; BEYENBACH *et al.*, 2009; YU e BEYENBACH, 2004).

Recentemente è emerso che i Tubuli Malpighiani svolgono altre funzioni oltre a quelle tradizionalmente attribuite a questo organo. Essi hanno infatti un ruolo importante anche nei processi di detossificazione e nella risposta immunitaria. Il coinvolgimento dei tubuli in questi processi è emerso soprattutto grazie a studi di genomica funzionale. In tali ricerche è stato utilizzato come organismo modello *Drosophila melanogaster*, insetto che per differenti ragioni, alcune delle quali qui di seguito elencate, rappresenta un ottimo animale modello per questo tipo di indagini. 1) Il suo genoma è stato completamente sequenziato. Disporre di un genoma interamente sequenziato offre molti vantaggi se si considera che la genomica funzionale si basa sulla trascrittomica e sulla proteomica. Le analisi mediante microarray per esaminare il profilo di espressione di un gene o per identificare una proteina sulla base di una breve sequenza, sono operazioni relativamente

semplici e rapide se si dispone di un genoma interamente sequenziato. 2) Gli approfonditi studi di genetica eseguiti in questo insetto hanno permesso di avere oggi a disposizione circa 20.000 mutanti, un numero impressionante se si considera che il suo genoma contiene circa 14.000 geni. Gli enormi progressi nella manipolazione genica di questo insetto permettono oggi di silenziare o overesprimere uno specifico gene esclusivamente in un determinato tessuto o addirittura in un determinato tipo cellulare presente in un tessuto. 3) Infine, i risultati ottenuti in *D. melanogaster* sono generalmente validi anche per altre specie di insetto, condizione fondamentale perché un organismo possa essere considerato un valido modello.

Come la genomica funzionale ha permesso di chiarire il coinvolgimento dei Tubuli Malpighiani nei processi di detossificazione? Mediante microarray è stato possibile stabilire quali geni presentano elevati livelli di espressione in questo organo e quali hanno un elevato fattore di arricchimento, indice del fatto che svolgono uno specifico ruolo nei tubuli (WANG *et al.*, 2004; DOW e DAVIES, 2006). Tra i 50 geni maggiormente espressi figurano, come atteso, molti geni costitutivi (housekeeping genes), ossia geni che vengono attivamente trascritti e tradotti ad un livello relativamente elevato e che codificano per proteine ed enzimi fondamentali per la vita di ogni cellula. Ma se non si considera questa categoria, i geni più rappresentati tra i primi 50 codificano per traspor-

tatori di soluti organici. Questa categoria di proteine è particolarmente rappresentata anche nella top 50 dei geni che presentano un elevato fattore di arricchimento. Il coinvolgimento dei Tubuli Malpighiani nell'escrezione di soluti organici non è un dato sorprendente perché è noto da tempo che questo organo è coinvolto nell'eliminazione di metaboliti secondari e di sostanze tossiche. Gli studi funzionali volti a chiarire il meccanismo coinvolto sono però scarsi, perché i gruppi di ricerca interessati allo studio di questo organo hanno maggiormente concentrato l'attenzione sul trasporto di ioni e acqua. Per questa ragione i dati emersi dagli studi di genomica funzionale sono particolarmente interessanti e fanno riflettere sulla possibilità che la clearance dei soluti organici potrebbe in realtà essere uno dei ruoli più importanti svolto dai tubuli. Occorre anche tenere presente che queste strutture formano l'urina primaria, un liquido isosmotico che solo grazie all'intervento del retto può raggiungere una osmolarità differente da quella dell'emolinfa. Nei processi di osmoregolazione la formazione dell'urina primaria rappresenta quindi solo la prima tappa, mentre è indispensabile per l'eliminazione dei soluti organici. Lo scarso interesse nei confronti dell'escrezione dei soluti organici è dipeso anche dal fatto che storicamente tale processo è stato considerato un meccanismo dipendente esclusivamente dal movimento di liquido attraverso l'epitelio dei tubuli, considerato un epitelio "leaky", ossia un epitelio con una via paracellulare particolarmente permeabile, attraverso cui potevano quindi permeare, insieme all'acqua, anche composti organici. Si riteneva che tali sostanze potessero muoversi per diffusione passiva attraverso questa via di permeazione, avendo sempre a disposizione un gradiente favorevole per il loro movimento dall'emolinfa al lume del tubulo, dove la loro concentrazione era costantemente mantenuta bassa dal continuo fluire di liquido lungo il lume del tubulo stesso. Oggi però questa teoria non è più valida. Ciò dipende dal fatto che sono state identificate differenti famiglie di trasportatori che mediano un trasporto attivo di soluti organici, che tali trasportatori sono stati recentemente caratterizzati dal punto di vista funzionale nei Tubuli Malpighiani (LINTON e O'DONNELL, 2000; TORRIE *et al.*, 2004; O'DONNELL, 2009) e che, come precedentemente descritto, presentano elevati livelli di espressione in questo organo. Inoltre, come dimostrato da BAYENBACH (2003 a, b), i Tubuli Malpighiani sono in realtà un epitelio "tight", ossia un epitelio con una via paracellulare poco permeabile, sebbene con valori della resistenza transepiteliale piuttosto bassi, caratteristica propria degli epitelii "leaky".

Tali valori di resistenza non sono da imputare ad una elevata permeabilità attraverso la via paracellulare, ma dipendono dall'attività della pompa protonica espressa sulla membrana apicale delle cellule epiteliali del tubulo che estrude, con estrema efficienza e con grande dispendio di ATP, H^+ nel lume tubulare. Ciò che rende questo epitelio a bassa resistenza non è quindi un'elevata permeabilità della via paracellulare, ma è l'elevata permeabilità ionica attraverso la via transcellulare, in cui domina l'attività della pompa protonica. La presenza di specifici trasportatori per i soluti organici nell'epitelio dei tubuli assicura una clearance più efficace di un'ampia gamma di metaboliti e xenobiotici rispetto a quella che si avrebbe se l'unico meccanismo coinvolto fosse la diffusione attraverso la via paracellulare. Inoltre, la scarsa permeabilità di questa via di permeazione riduce il possibile flusso di queste sostanze nella direzione contraria, ossia dal lume all'emolinfa, e la presenza di specifici trasportatori permette, mediante la regolazione della loro espressione, un fine controllo della funzionalità dell'epitelio. Grazie agli studi di genomica funzionale è stato anche possibile stabilire quali sono i trasportatori per soluti organici espressi ad elevati livelli nei Tubuli Malpighiani. Tra questi vanno ricordate le proteine di trasporto appartenenti alla superfamiglia ATP-Binding Cassette, alla classe dei trasportatori per i cationi organici, a quella dei trasportatori per gli anioni organici e alla classe dei *Multidrug efflux transporters*. Questi trasportatori hanno una bassa specificità di substrato, possono legare e traslocare attraverso le membrane molecole anioniche, cationiche o neutre, e spesso le differenti classi mostrano una parziale sovrapposizione nella specificità di substrato. Tra i ligandi di queste proteine possiamo ricordare ormoni, nucleotidi ciclici, prodotti del metabolismo secondario, ma anche xenobiotici. Molti di questi trasportatori sono coinvolti nell'escrezione di sostanze tossiche, inclusi gli insetticidi, e sono particolarmente interessanti perché possibili responsabili di fenomeni di resistenza (DOW e DAVIES, 2006; LESPINE *et al.*, 2006; LABBÉ *et al.*, 2011) e perché possono rappresentare un possibile target per il controllo degli insetti.

La presenza nei Tubuli Malpighiani di trasportatori per i soluti organici ha permesso di chiarire la resistenza dei tubuli stessi all'ouabaina (TORRIE *et al.*, 2004), un glicoside di origine vegetale, che blocca la Na^+/K^+ ATPasi, a cui risultano insensibili molti tessuti epiteliali degli insetti. La pompa Na^+/K^+ ATPasi è un trasportatore espresso ad alti livelli nella membrana basolaterale delle cellule principali del tubulo e ha un importante ruolo nella funzionalità di questo organo. Infatti, sebbe-

ne una mutazione letale in uno dei due alleli che codifica per la subunità alfa di questo trasportatore non determini effetti significativi sulla velocità di secrezione basale, la presenza di una sola copia funzionale del gene causa una importante riduzione della risposta del tubulo in seguito a stimolazione con neuropeptidi diuretici. Come precedentemente sottolineato, la pompa Na^+/K^+ ATPasi espressa nei Tubuli Malpighiani è insensibile all'ouabaina e quindi la funzionalità di questo organo non viene alterata da questo metabolita delle piante altamente tossico. È stato dimostrato che la resistenza alla ouabaina nei tubuli di *Drosophila* è determinata dalla sua attiva escrezione ad opera di proteine di trasporto appartenenti alla classe dei trasportatori per gli anioni organici (OATP, Organic Acid Transporter Proteins) (TORRIE *et al.*, 2004). Come precedentemente sottolineato, questi trasportatori, nonostante il nome, hanno una bassa specificità di substrato e traslocano substrati anionici, cationici e neutri. L'evidenza che i Tubuli Malpighiani abbiano meccanismi attivi di escrezione potenzialmente in grado di eliminare una ampia gamma di soluti organici, incluse sostanze potenzialmente tossiche, rende centrale il ruolo dei tubuli nei processi di detossificazione. Inoltre, in questo organo sono espressi ad alti livelli e mostrano un importante fattore di arricchimento anche geni che codificano per enzimi coinvolti nelle fasi I e II dei meccanismi di detossificazione (WANG *et al.*, 2004; DOW e DAVIES, 2006). Tra questi vanno ricordati geni che codificano per enzimi appartenenti alla famiglia dei citocromo P450, coinvolti nella fase I, e geni che codificano per differenti glutathione-transferasi, enzimi detossificanti di fase II. Considerando che i Tubuli Malpighiani formano l'urina primaria, essi rappresentano il tessuto ideale per monitorare la "qualità" dell'emolinfa e per svolgere quindi un'efficace attività di detossificazione mediante la metabolizzazione delle molecole tossiche e la loro eliminazione per escrezione, che rappresenta la fase III del processo di detossificazione.

Le potenziali capacità detossificanti dei Tubuli Malpighiani hanno suscitato particolare interesse anche perché in molti insetti la resistenza agli insetticidi è stata attribuita all'overespressione di enzimi coinvolti nei processi di detossificazione dagli xenobiotici (FEYEREISEN, 1995). In *Drosophila melanogaster* numerosi citocromo P450 e glutathione-transferasi sono coinvolti nella resistenza al DDT e a insetticidi di nuova generazione, come i neonicotinoidi o i piretroidi (FEYEREISEN, 1995, 1999; DABORN *et al.*, 2002; BOGWITZ *et al.*, 2005). Quindi accanto al corpo grasso, organo tradizionalmente considerato responsabile dei pro-

cessi di detossificazione, anche i Tubuli Malpighiani sembrano svolgere un ruolo importante. In un recente lavoro è stata monitorata, in differenti tessuti di *Drosophila*, l'espressione del gene *Cyp6g1* che codifica per un citocromo P450 (YANG *et al.*, 2007). Questo enzima è espresso in differenti tessuti (corpo grasso, intestino medio, ghiandole salivari, cuticola), ma presenta livelli di espressione particolarmente elevati nei Tubuli Malpighiani. Inoltre, il silenziamento di questo gene esclusivamente nelle cellule principali del tubulo, rende l'insetto molto più sensibile al DDT, e la sua overespressione in queste cellule conferisce all'insetto una maggiore capacità di sopravvivenza dopo trattamento con l'insetticida. Al contrario, il silenziamento del gene in altri tessuti, come ad esempio il corpo grasso, non determina variazioni della sensibilità dell'insetto al DDT. Questi dati indicano che, sebbene il gene *Cyp6g1* sia espresso in differenti tessuti, la manipolazione dei livelli di espressione esclusivamente nei Tubuli Malpighiani influenza la sopravvivenza dell'insetto, altra evidenza che attribuisce a questo organo una funzione primaria nei processi di detossificazione.

Sebbene sia noto da tempo che i Tubuli Malpighiani degli insetti siano in grado di eliminare le molecole tossiche e che esposizioni a tali sostanze, sia naturali che di sintesi, siano associate ad un aumento dell'attività degli enzimi detossificanti, solo recentemente in *D. melanogaster* è stata dimostrata una stretta connessione tra il metabolismo delle sostanze tossiche mediata dagli enzimi detossificanti e i processi di escrezione (CHAHINE e O'DONNELL, 2011). In particolare, la somministrazione orale di sostanze tossiche determina nei Tubuli Malpighiani una alterazione nell'espressione di geni che codificano per enzimi detossificanti e un contemporaneo aumento dell'attività dei trasportatori per i soluti organici. In questo organo avviene quindi una fine regolazione che permette di ottimizzare l'eliminazione delle sostanze tossiche.

Come sottolineato in precedenza, è stato recentemente dimostrato che i Tubuli Malpighiani svolgono un ruolo importante anche nella risposta immunitaria. Negli insetti la prima linea di difesa è rappresentata dai tessuti epiteliali in diretto contatto con l'ambiente esterno (epidermide e intestino). Questi epitelii non rappresentano solo una barriera fisica, ma sono anche capaci di produrre peptidi antimicrobici e quindi hanno un ruolo attivo nella risposta immunitaria. I patogeni che riescono comunque a superare queste barriere epiteliali devono poi fronteggiare nell'emolinfa le reazioni di difesa cellulari (STRAND, 2008) ed umorali (IMLER e BULET, 2005). Le prime includono la fagocitosi e l'incapsulamento, le seconde

prevedono l'attivazione di cascate proteolitiche che, nei tessuti immuno-competenti (corpo grasso ed emociti), portano all'attivazione di pathway intracellulari del segnale che attivano la produzione di peptidi antimicrobici. Uno di questi pathway, denominato Imd, viene attivato in risposta ad una infezione di batteri Gram-negativi e di alcuni Gram-positivi e porta alla produzione di differenti peptidi antimicrobici, tra cui la diptericina. Il gruppo di ricerca guidato dal prof. J.A.T. Dow ha recentemente dimostrato che i Tubuli Malpighiani di *D. melanogaster* rappresentano un tessuto immuno-competente in grado di rilevare un attacco batterico e di mediare in modo indipendente un'efficace risposta immunitaria (MCGETTIGAN *et al.*, 2005). I tubuli di *Drosophila* esprimono costitutivamente bassi livelli di numerosi peptidi antimicrobici, senza nessun arricchimento rispetto ad altri tessuti. Questo è in linea con il principio che i tessuti epiteliali possono rispondere ad un attacco da parte di patogeni con un aumento della produzione di questi peptidi (TZOU *et al.*, 2000), la cui principale sede di produzione è tuttavia il corpo grasso. In presenza di un attacco batterico, la risposta immunitaria mediata dai tubuli è però estremamente efficace e potente. Mediante RT-PCR è stato dimostrato che i principali geni associati al pathway Imd sono espressi nei tubuli e che tale organo è in grado di legare e internalizzare a livello della membrana basale delle cellule principali un lipopolisaccaride (LPS) espresso sulla parete di *Escherichia coli* (MCGETTIGAN *et al.*, 2005). Inoltre, sebbene le soluzioni in cui sono stati incubati i Tubuli Malpighiani isolati in assenza di LPS siano in grado di determinare un certo grado di mortalità in colture batteriche, le soluzioni in cui sono stati incubati i tubuli in presenza del liposaccaride causano un significativo aumento di tale mortalità (MCGETTIGAN *et al.*, 2005). Questa risposta riflette una espressione costitutiva di peptidi antimicrobici, che aumenta però in modo significativo quando il tessuto è esposto a lipopolisaccaridi di origine batterica. Utilizzando una linea transgenica di *Drosophila* che esprime peptidi antimicrobici in associazione con la proteina fluorescente GFP (Green Fluorescent Protein), è stato osservato che effettivamente la produzione di diptericina, uno dei peptidi antimicrobici la cui produzione è sotto il controllo del pathway Imd, aumenta quando i Tubuli Malpighiani isolati vengono incubati in presenza di LPS. Questi dati sono stati confermati da analisi mediante PCR quantitativa dell'espressione del gene che codifica per la diptericina in tubuli isolati e incubati in assenza e presenza di LPS (MCGETTIGAN *et al.*, 2005). È stato anche valutato *in vivo* l'effetto sui

Tubuli Malpighiani di iniezioni di LPS nell'emocele: l'espressione di diptericina in queste condizioni sperimentali è maggiore rispetto a quella osservata nei Tubuli Malpighiani isolati e incubati in presenza del liposaccaride (MCGETTIGAN *et al.*, 2005). Ciò indica che i Tubuli Malpighiani sono in grado di percepire e rispondere ad un attacco batterico in modo autonomo, ma che la comunicazione tra differenti tessuti dell'insetto può potenziare la risposta di questo organo.

In insetto il monossido di azoto (NO) rappresenta un'importante molecola segnale coinvolta nella risposta immunitaria, e in particolare nell'induzione della produzione di peptidi antimicrobici nel corpo grasso e negli emociti (FOLEY e O'FARRELL, 2003; NAPPI *et al.*, 2000). MCGETTIGAN e collaboratori (2005) hanno dimostrato che tale molecola è coinvolta anche nella risposta immunitaria mediata dai Tubuli Malpighiani: tubuli isolati da *Drosophila* e incubati con LPS presentano un'aumentata attività dell'enzima ossido nitrico sintasi (NOS) e un aumento dell'attività dell'enzima nei tubuli si verifica anche *in vivo*, in seguito ad iniezioni di LPS nell'emocele. Inoltre, l'overespressione del gene che codifica per NOS nei Tubuli Malpighiani determina, in presenza di LPS, un drastico aumento dell'espressione del peptide antimicrobico diptericina ed è sufficiente, evidenza ancora più importante, a conferire un effetto protettivo all'intero animale nei confronti di una infezione batterica.

I Tubuli Malpighiani sono stati descritti per la prima volta circa 400 anni fa e, a partire dalla metà del secolo scorso, sono stati oggetto di intensi studi che hanno permesso di chiarire l'importante ruolo svolto da questo organo nei processi di osmoregolazione ed escrezione. Grazie all'avvento dell'era post-genomica possiamo oggi ampliare le conoscenze sulle funzioni dei Tubuli Malpighiani, e aprire così nuovi orizzonti di ricerca per comprendere fino in fondo la fisiologia di questo organo.

RIASSUNTO

Negli insetti i Tubuli Malpighiani e il retto rappresentano le strutture deputate all'osmoregolazione e all'escrezione. Recentemente, grazie a studi di genomica funzionale eseguiti in *Drosophila melanogaster*, è emerso che i tubuli svolgono altre funzioni oltre a quelle tradizionalmente attribuite a questo organo. Mediante microarray, è stato possibile stabilire che tra i geni maggiormente espressi figurano quelli che codificano per trasportatori di soluti organici e per enzimi appartenenti alle famiglie dei citocromo P450 e delle glutatione-transferasi. Queste evidenze, confermate anche da dati funzionali, indicano che i Tubuli Malpighiani sono in grado di eliminare un'ampia gamma di soluti organici, tra cui xenobiotici come gli insetticidi, e di svolgere un'importante ruolo nei processi di

detossificazione. Recentemente è stato dimostrato che i Tubuli Malpighiani svolgono un ruolo importante anche nella risposta immunitaria. Essi rappresentano un tessuto immuno-competente in grado di rilevare un attacco batterico e di mediare, in modo indipendente dal corpo grasso, un'efficace risposta immunitaria.

BIBLIOGRAFIA

- BEYENBACH K.W., 2003a – *Regulation of tight junction permeability with switch-like speed*. - Current Opinion in Nephrology and Hypertension, 12: 543-550.
- BEYENBACH K.W., 2003b – *Transport mechanisms of diuresis in Malpighian tubules of insects*. - Journal of Experimental Biology, 206: 3845-3856.
- BEYENBACH K.W., BAUMGART S., LAU K., PIERMARINI P.M., ZHANG, S., 2009 – *Signaling to the apical membrane and to the paracellular pathway: changes in the cytosolic proteome of Aedes Malpighian tubules*. - The Journal of experimental Biology, 212: 329-340.
- BEYENBACH K.W., PIERMARINI P.M., 2011 – *Transcellular and paracellular pathways of transepithelial fluid secretion in Malpighian (renal) tubules of the yellow fever mosquito Aedes aegypti*. Acta Physiologica, 202: 387-407.
- BEYENBACH K.W., SKAER H., DOW J.A.T., 2010 – *The developmental, molecular, and transport biology of Malpighian tubules*. - Annual Review of Entomology, 55: 351-374.
- BOGWITZ M.R., CHUNG H., MAGOC L., RIGBY S., WONG W., O'KEEFE M., MCKENZIE J.A., BATTERHAM P., DABORN P.J., 2005 – *Cyp12a4 confers lufenuron resistance in a natural population of Drosophila melanogaster*. - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 102: 12807-12812.
- CHAHINE S., O'DONNELL M.J., 2011 – *Interactions between detoxification mechanisms and excretion in Malpighian tubules of Drosophila melanogaster*. The Journal of Experimental Biology, 214: 462-468.
- DABORN P.J., YEN J.L., BOGWITZ M.R., LE GOFF G., FEIL E., JEFFERS S., TIJET N., PERRY T., HECKEL D., BATTERHAM P., FEYEREISEN R., WILSON T.G., FFRENCH-CONSTANT R.H., 2002 – *A single P450 allele associated with insecticide resistance in Drosophila*. - Science, 297: 2253-2256.
- DOW J.A.T., DAVIES S.A., 2006 – *The Malpighian tubule: rapid insights from post-genomic biology*. - Journal of Insect Physiology 52: 365-378.
- FEYEREISEN R., 1995 – *Molecular biology of insecticide resistance*. Toxicology Letters 82-83: 83-90.
- FEYEREISEN R., 1999 – *Insect P450 enzymes*. - Annual Review of Entomology, 44: 507-533.
- FOLEY E., O'FARRELL P.H., 2003 – *Nitric oxide contributes to induction of innate immune responses to gram-negative bacteria in Drosophila*. - Genes and Development, 17: 115-125.
- IMLER J.L., BULET, P., 2005 – *Antimicrobial peptides in Drosophila, structures, activities and gene regulation*. In: Mechanisms of Epithelial Defense (eds. D. Kabelitz & J.M. Schroder), vol. 86, pp. 1-21. Karger, Basel.
- LABBÉ R., CAVENEY S., DONLY C., 2011 – *Expression of multidrug resistance proteins is localized principally to the Malpighian tubules in larvae of the cabbage looper moth, Trichoplusia ni*. - The Journal of Experimental Biology, 214: 937-944.
- LESPINE A., DUPUY J., ORLOWSKI S., NAGY T., GLAVINAS H., KRAJCSI P., ALVINERIE M., 2006 – *Interaction of ivermectin with multidrug resistance proteins (MRP1, 2 and 3)*. - Chemico-Biological Interactions 159: 169-179.
- LINTON S.M., O'DONNELL M.J., 2000 – *Novel aspects of the transport of organic anions by the Malpighian tubules of Drosophila melanogaster*. - Journal of Experimental Biology, 203: 3575-3584.
- MCGETTIGAN J., MCLENNAN R.K.J., BRODERICK K.E., KEAN L., ALLAN A.K., CABRERO P., REGULSKI M.R., POLLOCK V.P., GOULD G.W., DAVIES S.A., DOW J.A.T., 2005 – *Insect renal tubules constitute a cell-autonomous immune system that protects the organism against bacterial infection*. - Insect Biochemistry and Molecular Biology, 35: 741-754.
- NAPPI A.J., VASS E., FREY F., CARTON Y., 2000 – *Nitric oxide involvement in Drosophila immunity*. - Nitric Oxide, 4: 423-430.
- O'DONNELL M.L., 2009 – *Too much of a good thing: how insects cope with excess ions or toxins in the diet*. - The Journal of Experimental Biology, 212: 363-372.
- STAND M.R., 2008 – *The insect cellular immune response*. - Insect Science, 15: 1-14.
- TORRIE L.S., RADFORD J.C., SOUTHAL T.D., KEAN L., DINSMORE A.J., DAVIES S.A., DOW J.A.T., 2004 – *Resolution of the insect ouabain paradox*. - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101: 13689-13693.
- WANG J., KEAN L., YANG J., ALLAN A.K., DAVIES S.A., HERZYK P., DOW J.A.T., 2004 – *Function-informed transcriptome analysis of Drosophila renal tubule*. - Genome Biology, 5: R69.1-R69.21.
- YANG J., MCCART C., WOODS D.J., TERHZAZ S., GREENWOOD K.G., FFRENCH-CONSTANT R.H., DOW J.A.T., 2007 – *A Drosophila systems approach to xenobiotic metabolism*. - Physiological Genomics, 30: 223-231.
- YU M.J., BEYENBACH K.W., 2004 – *Effects of leucokinin-VIII on Aedes Malpighian tubule segments lacking stellate cells*. - The Journal of Experimental Biology, 207: 519-526.

STRUTTURE CELLULARI E MOLECOLARI DEI TUBULI MALPIGHIANI COINVOLTE NELLA IONO- E OSMOREGOLAZIONE

MARIA GIOVANNA LEONARDI (*)

(*) DiPSA, Università degli Studi di Milano, via Celoria 2, 20133 Milano; mgiovanna.leonardi@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti» - Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 novembre 2011

Malpighian Tubule's cellular and molecular structures involved in ionic- and osmoregulation

The paper describes urine formation in Malpighian Tubules and the principal hormonal mechanisms involved in the control of Malpighian Tubule's function. Insect haemolymphatic pressure is equal to that present in the tubular lumen, therefore urine formation in insects relies entirely on salts active secretion. Ions secretion is driven by a V-type H^+ -ATPase present in the apical membrane of tubular cells. This pump generates an electrochemical potential gradient sufficient to drive Na^+ and K^+ fluxes from cell to lumen through H^+ /alkali cations exchanger. The overall Malpighian Tubules activity determines salt (KCl and NaCl) active excretion, to which water secretion is coupled. Urine formation is a complex mechanism which involves several transport proteins, many of which have been recently identified.

KEY WORDS: urine formation, V-type H^+ -ATPase, H^+ /alkali cation exchanger, hormonal regulation, excretion.

INTRODUZIONE

L'apparato escretore degli insetti, come quello degli altri animali, svolge un ruolo fondamentale nel mantenimento dell'omeostasi dell'organismo. Per questo motivo i Tubuli Malpighiani che, coadiuvati dall'intestino posteriore, esercitano le funzioni escretorie negli insetti sono stati ampiamente studiati da lungo tempo (PANNA-BECKER, 1995).

I Tubuli Malpighiani sono coinvolti in molte variegata attività ma svolgono principalmente le funzioni classiche degli organi escretori: l'eliminazione dei prodotti del metabolismo azotato, il cui prodotto d'escrezione principale è rappresentato negli insetti dall'acido urico, il mantenimento dell'omeostasi acido-base, e il controllo del volume dell'acqua e delle concentrazioni ioniche nei liquidi intracorporei.

I meccanismi coinvolti nella produzione di urina sono attualmente chiariti; diversi genomi di insetti sono in via di clonazione (ZDOBNOV e BORK, 2007), e molte delle componenti molecolari, responsabili delle funzioni escretorie sono state identificate. In *Aedes aegypti*, in particolare, in cui il pasto di sangue innesca una rapida diuresi, la produzione di urina e la sua regolazione sono state ampiamente descritte (BEYENBACH *et al.*, 2010).

I Tubuli Malpighiani di *A. aegypti* presentano due tipi cellulari: le cellule principali, prevalenti, deputate alla secrezione di K^+ e Na^+ , e le cellule stellate, più piccole, coinvolte nella secrezione di Cl^- . Nel sistema circolatorio aperto che caratterizza

gli insetti, la pressione emolinfatica è circa uguale a quella presente nel lume dei Tubuli Malpighiani, e non consente la formazione dell'urina per filtrazione. Nei Tubuli Malpighiani la formazione dell'urina avviene quindi per secrezione. La produzione di urina inizia nel tratto distale dei tubuli, dove avviene la secrezione di un fluido isoosmotico, formato prevalentemente da sali (KCl e NaCl) e acqua.

LA PRODUZIONE DI URINA

Già negli anni cinquanta RAMSAY (1953) aveva suggerito che nelle cellule dei Tubuli Malpighiani dovesse essere presente una pompa in grado di secernere attivamente K^+ nel lume. In realtà, la capacità di secernere attivamente K^+ e Na^+ è dovuta alla presenza sulla membrana apicale delle cellule tubulari, di una H^+ ATPasi di tipo vacuolare (V- H^+ ATPasi), associata a proteine di trasporto che agiscono come scambiatori, trasferendo H^+ in una direzione e un catione (K^+ e Na^+) nella direzione opposta. La V- H^+ ATPasi trasferisce attivamente H^+ dal citoplasma cellulare al lume del tubulo, a spese di energia metabolica. I protoni vengono così accumulati nel lume e poiché l'estruzione di H^+ determina il trasferimento di una carica netta positiva, la pompa genera anche un potenziale elettrico a cavallo della membrana apicale della cellula, con polo positivo nel lume. L'elevato gradiente elettrochimico così formato, è sfruttato da scambiatori che accoppiano il ritorno

in cellula del protone secondo gradiente, all'estruzione di K^+ e Na^+ dalla cellula nel lume contro gradiente (WIECZOREK *et al.*, 2009).

Alcuni di questi scambiatori sono stati ora identificati. In *A. gambiae* è stato clonato il cDNA che codifica NHA1, un membro della famiglia degli antiporti Na^+/H^+ (RHEAULT *et al.*, 2007). Esperimenti di immunolocalizzazione, hanno dimostrato la presenza in *Drosophila melanogaster* di due trasportatori di questa famiglia, NHA1 e NHA2, localizzati sulla membrana apicale delle cellule principali. L'importanza funzionale di questi trasportatori è confermata dal fatto che la sovraespressione di NHA1 determina un aumento della produzione di urina mentre quella di NHA2 incrementa la concentrazione tubulare di K^+ e Na^+ (DAY *et al.*, 2008).

Il potenziale elettrico di più di 20 mV, con polo positivo nel lume, generato a cavallo dell'epitelio tubulare dall'attività della $V-H^+$ ATPasi, determina un flusso di corrente elettrica di cortocircuito, dovuta al passaggio di ioni Cl^- sia attraverso la via paracellulare tra le cellule epiteliali, che la via transcellulare attraverso la cellula epiteliale. Il flusso di Cl^- è quindi elettricamente accoppiato alla secrezione dei cationi, e causa complessivamente l'escrezione elettro-neutra di NaCl e KCl.

Il flusso transcellulare di Cl^- è dovuto alla presenza nella membrana apicale delle cellule stellate di canali specifici per il Cl^- (O'CONNOR e BEYENBACH, 2001) e alla presenza nella membrana basolaterale di uno scambiatore Cl^-/HCO_3^- . E' stato osservato che anticorpi diretti contro lo scambiatore Cl^-/HCO_3^- di *A. aegypti* marcavano in modo specifico le cellule stellate ma non le cellule principali di questo insetto (BEYENBACH *et al.*, 2010). Parte del Cl^- potrebbe anche provenire, attraverso le giunzioni intercellulari, dalle cellule principali, sulla cui membrana basolaterale è presente un cotrasportatore $Na^+/K^+/2Cl^-$. Sulla membrana basolaterale delle cellule tubulari di diversi insetti, tra cui *Rhodnius prolixus* e *D. melanogaster*, è stata inoltre dimostrata la presenza di una Na^+/K^+ ATPasi. La Na^+/K^+ ATPasi e il cotrasportatore $Na^+/K^+/2Cl^-$ sono, quindi, responsabili dell'approvvigionamento basale di questi ioni.

L'escrezione attiva nel lume di NaCl e/o KCl, genera un gradiente osmotico locale che, richiamando acqua, induce la produzione di urina. Se nella maggioranza dei casi è l'escrezione di ioni potassio a guidare la formazione dell'urina, negli insetti ematofagi prevale l'escrezione di Na^+ .

L'acqua raggiunge il lume tubulare attraverso la via transcellulare e/o paracellulare: entrambe le vie sono coinvolte nel passaggio transepiteliale di acqua, ma allo stato attuale non è possibile

definire se e quanto una via risulti prevalente. Geni codificanti per differenti acquaporine, le proteine canale specifiche per il passaggio dell'acqua attraverso la membrana plasmatica, con diversa permeabilità sia all'acqua che ad altri soluti, come urea, NH_3 , NO e CO_2 , sono stati recentemente identificati in *Drosophila* (BEYENBACH *et al.*, 2010).

L'urina primaria prodotta dai Tubuli Malpighiani raggiunge l'intestino posteriore, che gioca un ruolo importante nell'escrezione finale. Infatti l'urina primaria contiene, oltre a acqua e sali, molti importanti soluti presenti nell'emolinfa, che non possono essere persi dall'organismo. L'intestino posteriore interviene quindi riassorbendo ioni e acqua, e riassorbendo e secernendo selettivamente sostanze specifiche.

LA REGOLAZIONE ORMONALE

L'attività dell'apparato escretore è modulata rapidamente e finemente per via ormonale, al fine di mantenere costanti le caratteristiche chimico-fisiche dell'emolinfa. Infatti l'apporto di sali e acqua varia notevolmente al variare della dieta, sia in specie diverse che in momenti diversi dello sviluppo o in differenti condizioni fisiologiche in uno stesso individuo.

L'omeostasi salina e l'omeostasi idrica sono strettamente e direttamente controllate da ormoni, prevalentemente rappresentati da neuropeptidi.

Sebbene un aumento della quantità di acqua eliminata dall'insetto possa essere ottenuta aumentando la produzione di urina primaria o diminuendo il riassorbimento intestinale, e una diminuzione della perdita d'acqua sia ottenibile diminuendo la produzione o aumentando il riassorbimento, negli insetti gli ormoni diuretici promuovono generalmente la formazione di urina nei Tubuli Malpighiani, e gli ormoni antidiuretici il riassorbimento di acqua nell'intestino posteriore.

La maggior parte degli ormoni diuretici appartengono a due famiglie: quella degli ormoni CRF-simili, così definiti perché strutturalmente simili ai fattori di rilascio delle gonadotropine dei vertebrati, e quella delle chinine.

I meccanismi coinvolti nella regolazione della produzione di urina sono stati descritti in dettaglio in *A. aegypti*: il pasto di sangue, assunto dalle femmine per la maturazione delle uova, comporta un periodico e massiccio apporto di NaCl e acqua, che innesca un'elevata diuresi. La leuco-chinina-VIII aumenta il flusso passivo di Cl^- attraverso la via paracellulare: la sua azione è mediata dalla produzione di inositolo trifosfato, che,

aumentando la concentrazione intracellulare di Ca^{2+} , determina un massiccio aumento della permeabilità al cloro. L'incremento di conduttanza è tale che la differenza di potenziale elettrico trans-epiteliale cala a valori prossimi allo zero (BEYENBACH *et al.*, 2010).

Anche l'eccesso di Na^+ ingerito viene rapidamente escreto dai Tubuli Malpighiani, grazie al rilascio del peptide natriuretico, che agisce aumentando l'ingresso di sodio in cellula: l'attività dell'ormone, mediata da AMPc, determina l'apertura dei canali per il sodio e l'attivazione dei trasportatori presenti nella membrana basolaterale.

Negli insetti, in cui la formazione dell'urina è dovuta esclusivamente a processi di secrezione, l'aumento della diuresi è ottenuto incrementando la secrezione attiva di NaCl e KCl , determinata, come abbiamo visto, dall'attività combinata della pompa protonica di tipo vacuolare e dello scambiatore H^+ /catione. Un aumento della secrezione può quindi essere ottenuto incrementando la disponibilità cellulare dei diversi ioni, come precedentemente descritto, ma recentemente è stata dimostrata in *A. aegypti* la presenza di un peptide diuretico, l'aedeschinina, in grado di incrementare direttamente l'attività della V-H^+ ATPasi. La V-H^+ ATPasi è una proteina multimerica formata da due domini funzionali: un dominio catalitico, e un dominio canale che ancora la proteina al citoscheletro e alla membrana cellulare. La presenza negli epitelii assorbenti degli insetti di una V-H^+ ATPasi associata a un antiporto H^+/K^+ , è stata inizialmente dimostrata nella membrana apicale delle cellule a coppa dell'intestino medio delle larve dei lepidotteri (WIECZOREK *et al.*, 1989), dove è stato successivamente osservato che, quando le larve non si alimentano, i due domini funzionali si disassemblano bloccando l'attività della V-H^+ ATPasi (GRAF *et al.*, 1996). L'aedeschinina stimola l'attività della V-H^+ ATPasi nei Tubuli Malpighiani, promuovendo la riassociazione dei due domini funzionali.

A differenza degli ormoni diuretici, gli ormoni antidiuretici possono agire sia sui Tubuli Malpighiani che sull'intestino posteriore. In *Tenebrio molitor* sono stati identificati due fattori antidiuretici (ADFa e ADFb) la cui azione, mediata da GMPc, inibisce la velocità di formazione dell'urina. In questo insetto quindi, i Tubuli Malpighiani sono sotto il controllo di peptidi diuretici che utilizzano la via dell'AMPc e di peptidi antidiuretici che utilizzano la via del GMPc. La maggior parte degli ormoni antidiuretici agisce però sull'intestino posteriore, aumentando il riassorbimento di acqua.

CONCLUSIONI

I Tubuli Malpighiani degli insetti formano urina per escrezione attiva di sali. Sebbene il meccanismo generale sia presente e condiviso nei Tubuli Malpighiani di tutti gli insetti, condizioni particolari possono richiedere soluzioni aggiuntive. In *Rhodnius prolixus*, un insetto ematofago che assume un pasto di sangue pari a 10 volte il suo peso corporeo, il problema del mantenimento dell'omeostasi idro-salina è particolarmente marcato. In questo insetto, i Tubuli Malpighiani possono essere suddivisi in due tratti differenti: un tratto distale in cui avviene la formazione dell'urina secondo lo schema classico, e un tratto prossimale dove avvengono processi di riassorbimento. In *R. prolixus*, il tratto distale è sotto il controllo di un fattore diuretico, la 5-idrossitriptamina, che aumenta considerevolmente la permeabilità all'acqua, favorendo probabilmente l'inserzione di acquaporine (O'DONNELL *et al.*, 1982). Il flusso di acqua e ioni che si instaura in seguito alla stimolazione della diuresi, è tale che ogni cellula secerne un volume pari al suo volume cellulare ogni 10 secondi (MADDRELL, 1991) e l'intero contenuto cellulare di Cl^- è scambiato in 2-3 secondi (IANOWSKI *et al.*, 2002).

Il tratto prossimale, al contrario, presenta una bassa permeabilità all'acqua che si riduce ulteriormente durante la diuresi (O'DONNELL, 2009). In questo tratto, inoltre, non sono presenti la V-H^+ ATPasi e lo scambiatore H^+ /catione. Sulla membrana apicale di queste cellule è invece presente una H^+/K^+ -ATPasi di tipo P, che estrude attivamente protoni e riassorbe ioni potassio, e uno scambiatore $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, che media il riassorbimento del cloro. Il K^+ e il Cl^- rientrati nelle cellule tubulari raggiungono l'emolinfa grazie alla presenza nella membrana basolaterale di queste cellule di canali specifici per il K^+ e il Cl^- (O'DONNELL, 2009). Nel complesso, quindi, i Tubuli Malpighiani di *R. prolixus* sono in grado di eliminare in pochissimo tempo una grande quantità di acqua e Na^+ , senza depauperare l'organismo di K^+ e Cl^- .

I Tubuli Malpighiani rappresentano, quindi, un efficiente sistema escretorio, in grado di mantenere l'omeostasi idro-salina negli insetti nonostante l'estrema ricchezza di specie e l'ampia gamma degli habitat occupati pongano l'organismo di fronte a condizioni molto diverse e alcune volte estreme.

RIASSUNTO

Il lavoro descrive il meccanismo di produzione dell'urina nei Tubuli Malpighiani degli insetti e i principali meccanismi di regolazione ormonale che agiscono a livello tubulare. Negli insetti, caratterizzati da un sistema circolatorio aperto, la pressione emolinfatica non consente la formazione dell'urina per filtrazione. I Tubuli Malpighiani

producono quindi urina per secrezione, grazie alla presenza sulla membrana apicale delle cellule tubulari di una H⁺ ATPasi di tipo vacuolare, in grado di generare un gradiente elettrochimico sufficiente a sostenere l'estrusione, mediata da scambiatori H⁺/catione, di K⁺ e Na⁺. L'attività dei Tubuli Malpighiani produce complessivamente l'escrezione di sali (KCl e NaCl) e la conseguente secrezione di acqua. Il meccanismo di produzione dell'urina è piuttosto complesso e prevede il coinvolgimento, nelle funzioni escretorie, di diverse proteine di trasporto, molte delle quali sono state attualmente identificate.

BIBLIOGRAFIA

- BEYENBACH K.W., BAUMGART S., LAU K., PIERMARINI P.M., ZHANG S., 2009 – *Signaling to the apical membrane and to the paracellular pathway: changes in the cytosolic proteome of Aedes Malpighian tubules*. - J. Exp. Biol., 212: 329-340.
- BEYENBACH K.W., SKAER H., DOW J.A.T., 2010 – *The developmental, Molecular, and Transport Biology of Malpighian Tubules*. - Annu. Rev. Entomol., 55: 351-374.
- DAY J.P., WAN S., ALLAN A.K., KEAN L., DAVIES S.A., GRAY J.V., DOW J.A.T., 2008 – *Identification of two partners from the bacterial Kef exchanger family for the apical plasma membrane V-ATPase of Metazoa*. - J. Cell Sci., 121: 2612-2619.
- GRAF F., HARVEY W.R., WIECZOREK H., 1996 – *Purification and properties of a cytosolic V1-ATPase*. - J. Biol. Chem., 271: 20908-20913.
- IANOWSKI J.P., CHRISTENSEN R.J., O'DONNELL M.J., 2002 – *Intracellular ion activities in Malpighian tubule cells of Rhodnius prolixus: evaluation of Na⁺:K⁺:2Cl⁻ cotransport across the basolateral membrane*. - J. Exp. Biol., 205: 1645-1655.
- MADDRELL S.H.P., 1991 – *The fastest fluid-secreting cell known: the upper Malpighian tubule cell of Rhodnius*. - BioEssays, 13: 357-362.
- O'CONNOR K.R., BEYENBACH K.W., 2001 – *Chloride channels in apical membrane patches of stellate cells of Malpighian tubules of Aedes aegypti*. - J. Exp. Biol., 204: 367-378.
- O'DONNELL M.J., 2009 – *Too much of a good thing: how insects cope with excess ions or toxins in the diet*. - J. Exp. Biol., 212: 363-372.
- O'DONNELL M.J., ALDIS G.K., MADDRELL S.H.P., 1982 – *Measurements of osmotic permeability in the Malpighian tubules of an insect, Rhodnius prolixus Stal*. - Proc. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci., 216: 267-277.
- PANNABECKER T., 1995 – *Physiology of the Malpighian tubule*. - Annu. Rev. Entomol., 40: 493-510.
- RAMSAY, J.A., 1953 – *Active transport of potassium by the Malpighian tubules of insects*. - J. Exp. Biol., 30: 358-369.
- RHEAULT M.R., OKECH B.A., KEEN S.B., MILLER M.M., MELESHKEVITCH E.A., LINSEY P.J., BOUDKO D.Y., HARVEY W.R., 2007 – *Molecular cloning, phylogeny and localization of AgNHA1: the first Na⁺/H⁺ antiporter (NHA) from a metazoan, Anopheles gambiae*. - J. Exp. Biol., 210: 3848-3861.
- WIECZOREK H., BEYENBACH K.W., HUSS M., VITAVSKA O., 2009 – *Vacuolar-type proton pumps in insect epithelia*. - J. Exp. Biol., 212: 1611-1619.
- WIECZOREK H.S., WEERTH, M., SCHINDLEBECK, KLEIN U., 1989 – *A vacuolar-type proton pump in a vesicle fraction enriched with potassium transporting plasma membranes from tobacco hornworm midgut*. - J. Biol. Chem., 264: 11143-11148.
- ZDOBNOV E.M., BORK P., 2007 – *Quantification of insect genome divergence*. - Trends Genet., 23: 16-20.

LE FUNZIONI COMPLEMENTARI E ALTERNATIVE DEI TUBULI MALPIGHIANI DEGLI INSETTI

BARBARA CONTI (*) - FABIOLA GIUSTI (**) - DAVID MERCATI (**) - MARCO GOTTARDO (**) -
ROMANO DALLAI (**)

(*) *Dipartimento di Coltivazione e Difesa delle Specie Legnose, Università degli Studi di Pisa*, bconti@agr.unipi.it

(**) *Dipartimento di Biologia Evolutiva, Università degli Studi di Siena*

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Struttura e funzioni dei Tubuli Malpighiani degli insetti» - Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 18 novembre 2011

Complementary and alternative functions of insects Malpighian Tubules

The Malpighian Tubules are gut regions where excretion takes place. However, there are other functions that Malpighian Tubules can perform simultaneously with the excretion (i.e. complementary functions), and other functions that they can perform suspending the excretion, and restoring it later (i.e. alternative functions).

The complementary functions are related to production of mucofibrils, minerals, brocosomes, defensive products and viscous substances for the protection of eggs and juvenile instars.

In some species, the phenomenon of bioluminescence takes place in Malpighian Tubules, and – even in this case – it can be considered as a complementary function.

Furthermore, the alternative functions of Malpighian Tubules only relate to the production of substances for the construction of the cocoon have been found.

KEY WORDS: Insects Malpighian Tubules, complementary functions of Malpighian Tubules, structural morphology.

I Tubuli Malpighiani sono regioni dell'intestino nei quali viene effettuata l'escrezione primaria (WIGGLESWORTH, 1974).

In realtà, essi oltre a partecipare all'escrezione vera e propria, contribuiscono anche alla digestione, alla detossificazione e alla difesa immunitaria, che vanno intese quindi come funzioni complementari. Si possono illustrare, tuttavia, altre funzioni complementari che i Tubuli Malpighiani assolvono contemporaneamente all'escrezione e funzioni che, in alcune occasioni, essi acquisiscono e che sono da ritenersi funzioni alternative all'escrezione. In questi casi tale ultima funzione viene sospesa e ristabilita in seguito.

Le funzioni complementari riguardano la produzione di sostanze viscoso adesivanti, di sostanze per la protezione delle uova e delle forme giovanili, di mucofibrille, di sali minerali, di brocosomi e di sostanze difensive. Ha sede inoltre, nei Tubuli Malpighiani di alcune specie, il fenomeno della bioluminescenza che anche in questo caso è una funzione complementare.

Le funzioni alternative riguardano esclusivamente la produzione di sostanze per la costruzione del bozzolo.

Nel dettaglio, è da considerarsi complementare la produzione della secrezione vischiosa nelle larve dei crisopidi, ma anche di molti crisomelidi, come ad esempio in *Agelastica alni* (Fig. 1A), che fuoriesce dall'ano e viene riversata sullo pseudo-

podo terminale dell'addome. Tale secrezione consente una maggiore adesione alla vegetazione, facilitando lo spostamento della larva (BRASS & DAS, 1914; SPIGLER, 1962).

Lo stesso prodotto dei Tubuli Malpighiani con funzione adesivante, serve anche, nelle larve dei crisopidi, come sostanza difensiva e/o repellente nei confronti delle formiche ed è costituita probabilmente dai precursori delle sostanze con la quale questi insetti produrranno il bozzolo (LA MUNYON & ADAMS, 1987).

In alcuni crisomelidi, inoltre, i Tubuli Malpighiani producono la sostanza collante con la quale essi ricoprono le uova dando origine a delle ootche. Ne sono alcuni esempi quelle prodotte da *Cassida nebulosa* (Fig. 1B) e *C. rubiginosa*, ma il fenomeno è diffuso in molti altri cassidini. Nella maggior parte dei crisomelidi le uova vengono semplicemente fatte aderire ai supporti vegetali con una produzione colleterica ma, nei casi sopra citati, con un lungo e complicato lavoro, queste vengono immerse in più strati di secreto proctodeale proveniente dai Tubuli Malpighiani, alla fine ricoperti da un rivestimento fecale (Fig. 1C) (KLEINE, 1916; 1917).

Sono prodotti dei Tubuli Malpighiani anche le sostanze coinvolte nella formazione della spuma nella quale le forme giovanili dei cercopoidei delle famiglie Cercopidae, Aphrophoridae (Fig. 2A) e Clastopteridae passano l'intero periodo preimagi-

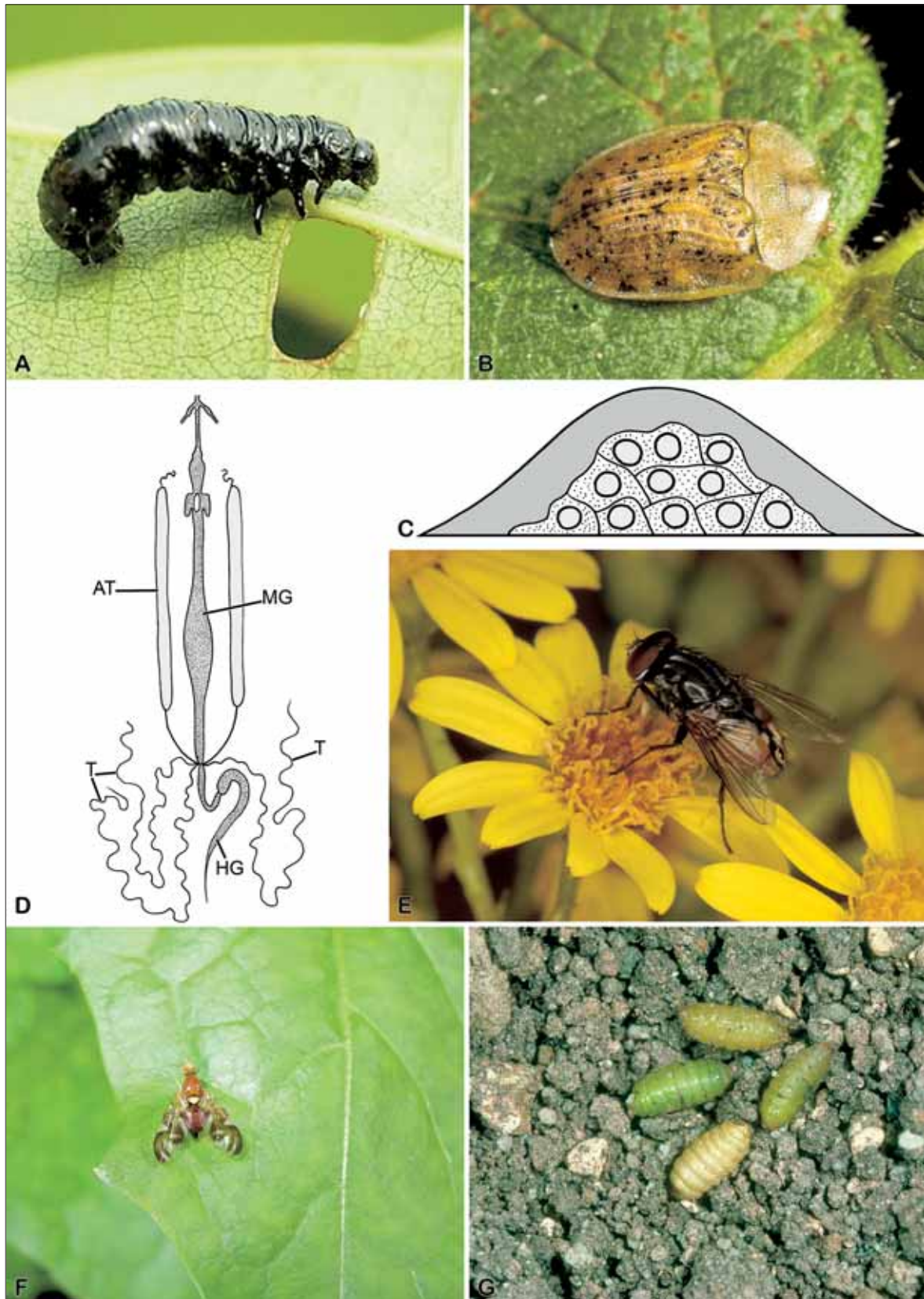


Fig. 1

A - Larva di *Agelastica alni* (L.) (Coleoptera Chrysomelidae) (foto Beentree, Wikipedia); **B** - Adulto di *Cassida nebulosa* L. (Coleoptera Chrysomelidae) (foto Adrian Royle); **C** - Rappresentazione schematica di ooteca di crisomelide cassidino (ridisegnato da von Lengerken, 1939); **D** - Rappresentazione schematica dei Tubuli Malpighiani di *Ptychoptera* dove i 2 anteriori (AT) appaiono più gonfi, rispetto agli altri (T), a causa del contenuto in carbonato di calcio. MG= intestino medio, HG= intestino posteriore (ridisegnato da Pantel, 1914); **E** - *Musca autumnalis* De Geer (Diptera Muscidae) (foto Malcolm Storey www.bioimages.org.uk); **F** - Adulto di *Euleia heraclei* (L.) (Diptera Tephritidae) (foto Luciana Bartolini www.lucianabartolini.net); **G** - Pupari di *Euleia heraclei* (L.) (Diptera Tephritidae) (foto Coutin R./OPIE INRA).

nale. Queste specie, volgarmente dette sputacchine, sono criptobiotiche dato che sia le forme epigee che ipogee vivono all'interno della spuma prodotta (Fig. 2B). I Tubuli Malpighiani delle forme giovanili di tali specie presentano una specializzazione a zone: in alcuni tratti effettuano l'escrezione mentre in altri secernono le sostanze funzionali alla produzione della spuma (Fig. 2D). Fu LICENT (1912) per primo a individuare l'origine della spuma, ma si deve a MARSHALL (1973) lo studio istologico con il quale è stato possibile stabilire che durante il periodo preimaginale, la parte prossimale del tubulo appare rigonfia e produce una grande quantità di un mucopolisaccaride. Tale sostanza, mescolata con la melata proveniente dalla camera filtrante, costituisce la spuma che viene poi letteralmente "montata" sia mediante l'insufflazione di aria dagli stigmi toracici e addominali che da ripetuti movimenti di accollamento e separazione dei lobi paratergali degli ultimi scleriti addominali detti "stygmacalyps" (dal greco *kalyptein* cioè nascondere) che nascondono gli stigmi (Fig. 2C) (EMEL'YANOV, 1987). Essi avrebbero anche un ruolo determinante per la respirazione mantenendo il plastron aerifero sugli spiracoli tracheali ventrali (RAKITOV, 2002). Nella parte distale del Tubulo Malpighiano avviene inoltre la sintesi proteica. Le proteine prodotte verrebbero poi trasferite nel lume dei Tubuli Malpighiani con la duplice funzione di stabilizzante e surfattante della spuma e poi di escreto quelle in eccesso (LICENT, 1912; MARSHALL, 1973). All'interno della spuma, le forme giovanili compierebbero le mute ben protette contro l'eccessiva evapotraspirazione (EVANS, 1940). Tale teoria, ampiamente accettata, è stata messa in discussione da un lavoro nel quale è stata valutata l'evaporazione di acqua dalla spuma e dalle evidenze sperimentali l'Autore conclude che la protezione contro il disseccamento fornita da tale prodotto è modesta (TURNER, 1994). Inoltre, senza dubbio la maggior parte dei cercopoidei vivono in habitat mesofili e le modalità nutrizionali consentono loro un accesso illimitato all'acqua che non giustifica la necessità idrica sostenuta da EVANS (1940) ma anche da altri autori (RAKITOV, 2002). Infine, la teoria che attribuisce alla spuma funzione contro il disseccamento non serve a spiegare né perché nei cercopoidei con forme giovanili ipogee queste producano la spuma, anche se più densa (ROVERSI & BACCETTI, 1994), né perché quelle degli Epipygidae producano la spuma solo in occasione della muta (MARSHALL 1964 a e b).

Altra peculiare produzione dei Tubuli Malpighiani è rappresentata dalle sostanze con le quali vengono costruiti i tubetti rigidi degli epipigidi.

Gli Epipygidae (Fig. 2E) sono degli omotteri cercopoidei delle zone Australiana e Neotropica detti "tube spittlebugs" perché le forme giovanili producono sia i tubetti rigidi all'interno dei quali vivono, sia la spuma tipica delle sputacchine ma solo, come già detto, in occasione delle mute. I tubetti (Fig. 2F) vengono fissati al supporto vegetale, con l'apertura rivolta verso l'alto ed al loro interno la forma giovanile si posiziona con il capo verso il basso e con l'apparato boccale infisso nel tessuto vegetale per succhiare la linfa. MARSHALL (1964 a e b) ha documentato nelle forme giovanili di *Machaerota guttata* (Epipygidae Machaerotini) i cambiamenti citologici che si svolgono nell'epitelio dei Tubuli Malpighiani sia durante la produzione della spuma che del materiale con il quale vengono costruiti i tubi. Nei quattro Tubuli Malpighiani delle forme giovanili degli Epipygidae sono evidenti un segmento lobulato distale, uno più grosso prossimale ed un sottile dotto di sbocco. Nella parte prossimale si distinguono due ulteriori regioni: una anteriore con cellule ricche di fibrille e una posteriore con cellule ricche di granuli (Fig. 2G). Quest'ultima zona è responsabile della produzione della spuma. Essa, infatti, subisce una progressiva e crescente vacuolizzazione in occasione delle mute, quando la forma giovanile produce appunto la spuma all'ingresso del tubetto e l'ecdisi ha luogo dentro la massa spumosa. Contemporaneamente alla produzione di schiuma si ha anche la vacuolizzazione delle cellule nella zona ricca di fibrille a livello delle quali si riscontrano delle protrusioni citoplasmatiche all'interno del lume del Tubulo Malpighiano con conseguente estrusione di materiale coalescente costituito da mucofibrille. È stato messo in evidenza come l'armatura dei tubi, vere e proprie conchiglie di foglia specie-specifica, sia costituita da mucofibrille, cioè composti gelatinosi che una volta secchi diventano duri e su tale intelaiatura vengono poi depositati i sali minerali prodotti selettivamente a livello del mesenteron. Con il prodotto che fuoriesce dall'ano, mediante movimenti semicircolari dell'addome verrà costruito il tubetto (MARSHALL 1964 a e b).

Una produzione analoga alla spuma dei Cercopoidei si ritrova nelle forme giovanili dei Cicadoidei. Queste, a vita ipogea, sono e criptobiotiche e si nutrono della linfa delle radici (WHITE & STREHL, 1978). Esse usano le zampe anteriori fossorie per scavare il terreno e per costruire sia cellette con pareti cementate all'interno delle quali esse si nutrono, sia camini di uscita (Fig. 3A). Per quanto vi siano differenze nelle modalità di vita, sono state messe in luce analogie, sia morfologiche che comportamentali, tra le forme giovanili dei

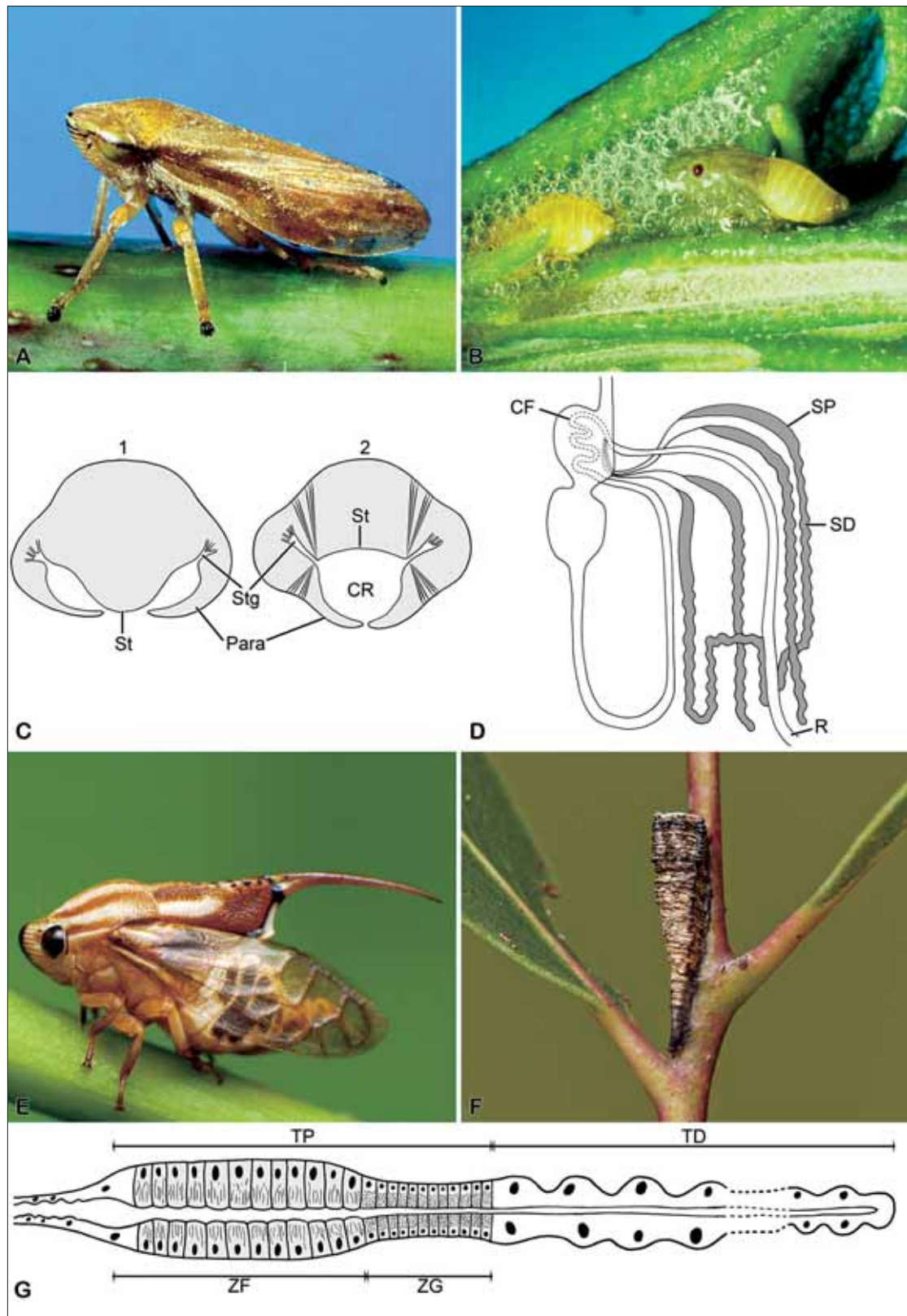


Fig. 2

A - Adulto di *Philaenus spumarius* (L.) (Hemiptera Aphrophoridae) (foto Andrea Lucchi & Valerio Mazzoni); B - Forme giovanili di *Philaenus spumarius* (L.) (Hemiptera Aphrophoridae); C - Rappresentazione schematica di sezioni addominali trasverse di neanide di *Philaenus spumarius* (L.) (Hemiptera Aphrophoridae) effettuate 1) all'altezza del primo urite, 2) a livello del quarto urite. St= sterno, Stg= stigmi, Para= lobi paratergali delimitanti la cavità respiratoria (CR) modificabile dall'azione dei muscoli (ridisegnato da Weber, 1933); D - Rappresentazione schematica dei Tubuli Malpighiani degli omotteri cercopoidei. CF=camera filtrante, SP=segmento prossimale, SD=segmento distale, R=retto (ridisegnato da Rakitov, 2002); E - Adulto di *Epipygidae* (Hemiptera) (foto Rundstedt Rovillos); F - Tubetti calcarei di *Chaetophyes* (Hemiptera Epipygidae) (foto Anthony Daley); G - Rappresentazione schematica del Tubulo Malpighiano di una forma giovanile di *Epipygidae* (Hemiptera). TD=tratto distale, TP=tratto prossimale, D=dotto di sbocco, ZF=zona con cellule ricche di fibrille, ZG=zona con cellule ricche di granuli (ridisegnato da MARSHALL, 1964b).

cercopoidei e quelle dei cicadoidei. Le forme giovanili di entrambe le due superfamiglie presentano una microscultura cerosa idrofobica sulla superficie ventrale dell'addome nonché il già citato plastron aerifero protetto dagli stygmacalyps. Questo nelle cicale consente la respirazione anche in suoli umidi o addirittura allagati suggerendo che l'originale funzione degli stygmacalyps fosse la protezione degli spiracoli tracheali da una copiosa escrezione liquida. Vi è inoltre una similitudine spiccata nelle differenziazioni settoriali che presentano i Tubuli Malpighiani di entrambi i gruppi sia durante gli stadi preimaginali che nell'adulto (Fig. 3B) (RAKITOV, 2002). Secondo le ricerche di BOULARD (1965), confermate poi da RAKITOV (2002), la componente proteica prodotta nella parte distale del Tubulo Malpighiano dei cicadoidei servirebbe ad agglutinare le particelle di terreno consentendo all'animale di cementare le pareti della galleria di nutrizione e di costruire i camini esterni di sfarfallamento. Tale liquido servirebbe anche a rimuovere il fango dalle zampe e dalla cuticola del corpo e a proteggerla dagli attacchi fungini avendo proprietà fungicide e fungistatiche. Il liquido, inoltre, avrebbe la capacità di tamponare, come in altre specie, il pH del suolo (SCHRADER, 1994).

Dato che le cicaline sono organismi ammoniotelici (MARSHALL, 1973), è stato supposto che l'escrezione di ammoniaca, vantaggiosa energeticamente, vada considerata un adattamento dei fitomizi (BRODBECK *et al.*, 1993). KATO (1958) suggerisce, a tale proposito, che le sostanze proteiche di scarto, eliminate quando in eccesso, e il mucopolisaccaride, entrambi prodotti dai Tubuli Malpighiani e contenuti negli escreti, servano anche a neutralizzare l'ammoniaca, catabolita tossico, che altrimenti si accumulerebbe intorno alle forme giovanili dei cercopidi. Egli estende inoltre tale ipotesi anche ai cicadidi.

I Tubuli Malpighiani concorrono anche alla formazione dello scudetto dei Diaspididae. In questa famiglia di emitteri coccoidei l'abbondante secrezione delle ghiandole tegumentarie, di natura cerosa e proteica in forma di lunghi filamenti bianchi, viene agglomerata con un secreto cementante di natura mucoproteica prodotto dai Tubuli Malpighiani ed escretato dall'ano che va poi a costituire il doppio scudetto di queste specie (FOLDI, 1982).

Un'ulteriore produzione dei Tubuli Malpighiani è costituita dai sali minerali che possono essere selettivamente prodotti a livello dell'epitelio e accumulati all'interno del tubulo stesso. Tali sostanze negli insetti possono, previa traslocazione, essere utilizzati per varie funzioni. La mineralizzazione della cuticola del pupario, un metodo per con-

ferirgli rigidità con finalità protettiva, è una di queste. Presentano tale possibilità molte specie di ditteri come *Musca autumnalis* (Fig. 1E). Questa è una specie che mineralizza, al momento dell'impupamento, la cuticola del pupario con sali di calcio, di magnesio e di fosforo. Tale fenomeno è noto per molti altri cicloraafi, anche se non tutti lo effettuano in modo completo. Ad esempio *M. domestica*, effettua una sclerotizzazione più che una mineralizzazione della cuticola del pupario. In *M. autumnalis* per verificare come i sali prodotti selettivamente a livello dei Tubuli Malpighiani vengano trasferiti alla cuticola del pupario è stata analizzata chimicamente l'emolinfa della larva che si sta trasformando in pupa e il pupario in corso di formazione. È stato accertato che alla diminuzione dei sali contenuti nell'emolinfa della larva che si sta trasformando in pupa corrisponde un aumento proporzionale degli stessi nella cuticola pupale. Del contenuto di sali dell'emolinfa l'80% rimane nel pupario abbandonato alla muta, il 5% viene eliminato con il meconio ed il 15% lo si ritrova negli escreti degli adulti. La migrazione dei sali dall'emolinfa ai siti di utilizzo è stata verificata allevando le larve su un medium contenente ^{45}Ca , cioè un isotopo radioattivo. Questo fenomeno, noto come già detto per molti cicloraafi, è in realtà stato accertato anche in alcuni ortorraafi come ad esempio negli Stratiomyidae del genere *Sargus* nei quali viene effettuata non solo la mineralizzazione della cuticola pupale ma anche di quella larvale (KRUEGER *et al.*, 1988).. È stato inoltre accertato che contengono carbonato di calcio anche i Tubuli Malpighiani delle larve dei Syrphidae *Eristalis tenax*, *Myiatropa florea*, *Mallota eristaloides*, *Meron equestris*, *Syrphid pipiens*, *Eumerus strigatus*, degli Ptychopteridae del genere *Ptychoptera* (Fig. 1D) (PANTEL, 1914), del Tephritidae *Anastrepha striata* ed altre (KEILIN, 1921).

Anche nel tefritide *Euleia heraclei* (Fig. 1F e 1G) i Tubuli Malpighiani contengono carbonato di calcio ma invece di essere, come nella maggior parte dei ditteri sopra citati, sotto forma di minuscoli granuli in sospensione è presente in forma di duri calcosferiti. Il termine calcosferite sta ad indicare un corpuscolo contenente carbonato di calcio in una matrice organica (HARTIG, 1873). I calcosferiti in genere si ritrovano nel corpo grasso delle larve dei ditteri, ma *E. heraclei* costituisce in tal senso un'eccezione poiché questa specie non ne presenta nel grasso ma al contrario ne ha i Tubuli Malpighiani pieni. I calcosferiti al momento dell'ultima muta vengono disciolti nel fluido periviscerale, poi il carbonato di calcio, passando attraverso la cuticola appena formata della pupa, passa nel liquido ecdisiiale. Finalmente, quando que-

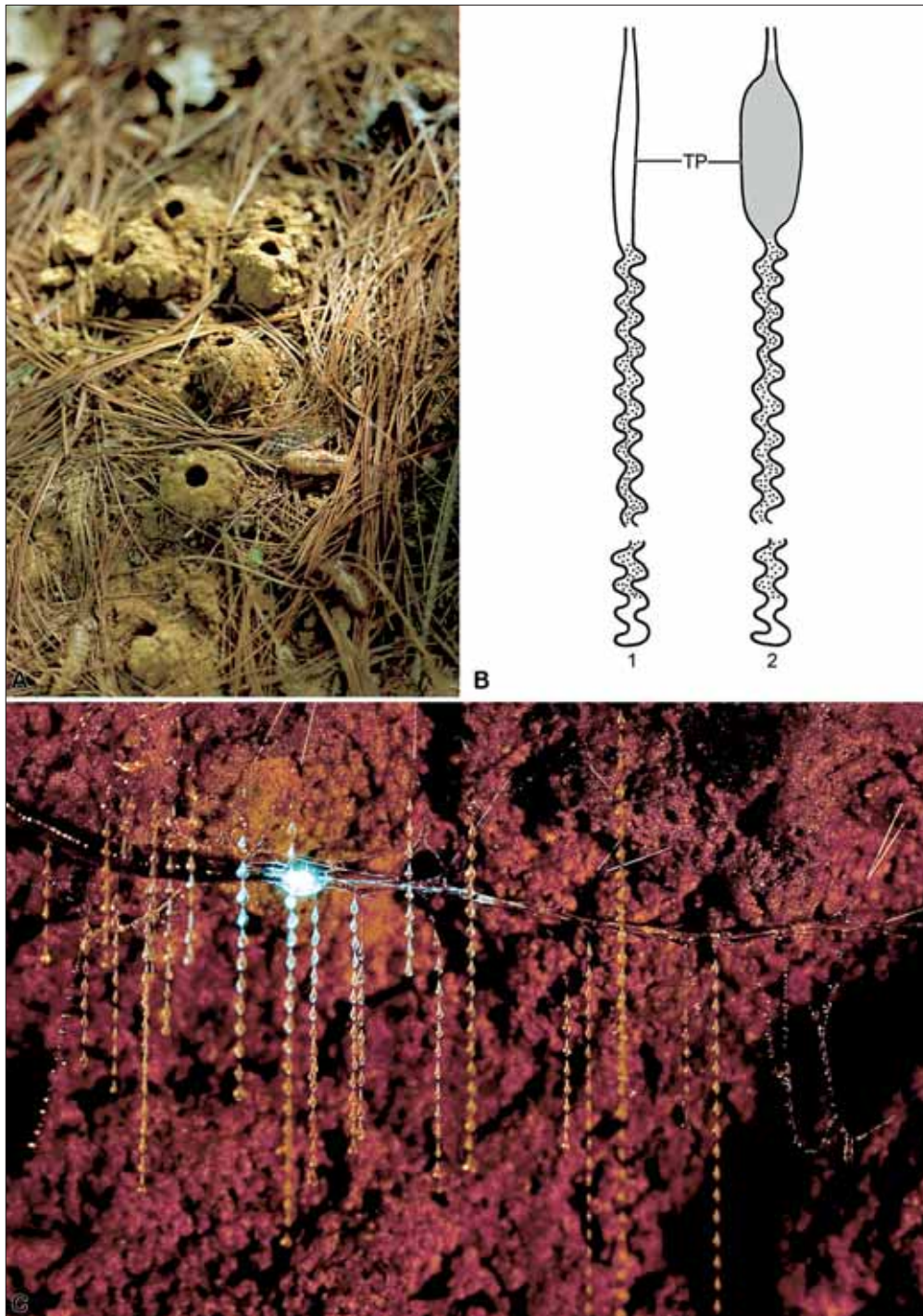


Fig. 3

A - Camini di sfarfallamento di Cicadidae (foto Roy Troutman, SBP Studios); **B** - Schema della differenziazione a zone dei Tubuli Malpighiani comune ai cercopoidei e ai cicadoidei. 1) adulti, 2) forme giovanili. TP=tratto prossimale (ridisegnato da Rakitov, 2002); **C** - Larva di *Arachnocampa luminosa* (Skuse) (Diptera Mycetophilidae) (Foto Prof. Chrys Wills).

st'ultimo viene riassorbito il carbonato di calcio si deposita in uno strato duro e brillante sulla superficie interna del pupario. Questo fenomeno è stato anche definito “eliminazione ecdisiale” (KEILIN, 1921).

Nei Lasiocampidi del genere *Eriogaster* (Fig. 4A) e *Melacosoma* i bozzoli sono a forma di uovo da

cui il generico inglese “eggar” (Fig. 4B). Questi bozzoli hanno 2 peculiarità. La prima è che presentano colorazioni dal giallo pallido fino al marrone e la seconda è che sono molto rigidi. La colorazione è dovuta alla clorofilla ingerita con la vegetazione. Infatti in laboratorio le larve se tenute digiune prima dell'incrisalidamento danno bozzo-

li chiari, non pigmentati. Quanto alla durezza del bozzolo è conferita dal carbonato di calcio prodotto nei Tubuli Malpighiani, estruso dall'ano e spalmato sul bozzolo appena formato (TUTT, 1898).

I sali minerali prodotti selettivamente a livello dei Tubuli Malpighiani possono inoltre servire, nei coleotteri cerambicidi, per foderare le pareti della cella pupale e per costruire l'opercolo di chiusura della stessa. FABRE, nel 1891, osserva l'opercolo costruito dalle larve di *Cerambyx* e utilizzato per chiudere l'ingresso delle gallerie realizzate nei tronchi delle querce che descrive così: "La porta di chiusura delle gallerie può essere doppia o tripla. All'esterno è un tappo di trucioli misti a legno masticato mentre all'interno è un opercolo minerale, in un unico pezzo bianco cretaceo, ellittico, concavo, duro come il calcare, liscio nella faccia verso la galleria, nodoso verso l'esterno e che imita alla perfezione il cappello di una ghianda. Esso è costruito con carbonato di calcio mescolato con cemento organico che conferisce consistenza al calcare". In seguito altri autori, basandosi su tali osservazioni, dissezionando larve di *Cerambyx*, hanno potuto osservare che 4 dei 6 Tubuli Malpighiani hanno sviluppo maggiore degli altri e che appaiono "smisuratamente gonfi, rigidi e biancastri". L'analisi chimica del loro contenuto ha rivelato la presenza di carbonato di calcio. Gli altri 2 Tubuli Malpighiani appaiono invece normali e svolgono la funzione escrettrice (MAYET, 1896).

Le osservazioni hanno poi permesso di stabilire che al momento della costruzione dell'opercolo l'intestino è vuoto e che, data la posizione "stomacale" degli sbocchi dei Tubuli Malpighiani, il liquido biancastro con i granuli calcarei in sospensione viene vomitato dalla bocca. Secondo Mayet la presenza del calcare nel terreno sotto la pianta attaccata è fondamentale per i cerambicidi dato che in carenza di tale composto essi non riescono ad accumulare sufficiente carbonato con cui foderare e chiudere le gallerie di ibernazione e le infiltrazioni di acqua comportano muffe e conseguente mortalità delle larve. Per questo motivo i cerambicidi sarebbero più diffusi nei boschi che sorgono su terreni calcarei che in quelli dove il calcare è meno abbondante (MAYET, 1896).

Negli insetti stecco del genere *Carausius* (Fig. 4C), ma più in generale nei fasmidi, il carbonato di calcio viene accumulato nei Tubuli Malpighiani, trasferito nell'emolinfa e utilizzato per l'indurimento del corion delle uova (Fig. 4D). I fasmidi sono, come noto, insetti polinefrici e in *Carausius* spp. sono stati individuati 24 Tubuli Malpighiani superiori, 134 inferiori e 32 centrali (definiti anche appendici del mesenteron). L'analisi

istochimica dei superiori ha messo in luce la presenza di acido urico, non vengono fornite indicazioni sul contenuto delle appendici mesenteriali, ma quelli inferiori, per quanto siano simili ai superiori nella forma, contengono carbonato di calcio, tracce di magnesio e solo piccole quantità di acido urico. Il corion delle uova dei fasmidi contiene grande quantità di ossalato di calcio ritenuto proveniente dai Tubuli Malpighiani. Dato che i Tubuli Malpighiani inferiori sono presenti nelle femmine, poco sviluppati nei maschi e assenti nelle ninfe e dato anche che nelle femmine il loro contenuto in carbonato di calcio diminuisce durante l'oogenesi è stato possibile concludere che il carbonato di calcio accumulato nei Tubuli Malpighiani di queste ultime serve per l'indurimento del corion delle uova. È stato inoltre evidenziato che questi insetti assumono Na, K, Ca e Mg dalle foglie di cui si nutrono ma che utilizzano solo in parte eliminando l'eccedente: l'eliminazione dell'eccedente nei maschi e nelle forme giovanili avviene con le feci. Analogamente, nelle femmine Na, K, e Mg vengono eliminati con le feci ma non il Ca che viene depositato nelle uova prodotte (RAMSAY, 1955; BEDFORD, 1978).

Altre interessanti formazioni, osservate sul corpo di molti emitteri sono i brocosomi (dal greco βρόχος = maglia di una rete e σώμα = corpo). Questi sono corpuscoli dalla forma poliedrica a faccette pentagonali o esagonali internamente compartimentati contenenti lipidi e proteine (ARZONE, 1986). Individuati per la prima volta sul corpo di zanzare e di cicadellidi (TULLOCH *et al.*, 1952) sono stati considerati a lungo una prerogativa di questo ultimo gruppo. In realtà lavori più recenti ne hanno documentato la presenza anche in molte famiglie di eterotteri e fra gli omotteri negli psillidi (WYNIGER *et al.*, 2008). Essi vengono prodotti dai Tubuli Malpighiani, espulsi dall'ano e, in quelle specie che hanno l'abitudine al grooming, distribuiti sul corpo con le zampe dagli individui stessi. La loro funzione è tuttavia ancora incerta. Secondo molti autori essi fungono da sostanze protettive tenendo lontane le particelle di terreno, i microbi, le spore fungine, l'acqua e gli escreti liquidi contenenti ammoniaca (RAKITOV, 1995; 2002a), prevenirebbero il disseccamento della cuticola (ARZONE, 1986), servirebbero da carrier per i feromoni (DAY, 1983) e come particelle riflettenti i raggi UVA nei casi di eccessiva luminosità solare (NAVONE, 1987).

Altra funzione dei Tubuli Malpighiani, complementare a quella escretizia, è la bioluminescenza di alcuni micetofili. Infatti, in alcune specie diffuse nella regione Australiana, le cellule responsabili del fenomeno sono collocate nei Tubuli Malpighiani di questi insetti. Tra queste la più famosa è

Arachnocampa luminosa. Questo micetofilide è specie cavernicola che vive in colonie in molte grotte Australiane e Nuova Zelandsi, le quali costituiscono uno spettacolo così stupefacente da essere una vera e propria attrazione turistica.

La specie trascorre la maggior parte della vita come larva (Fig. 3C) che è predatrice. Essa fila, con le ghiandole sericipare labiali, sul soffitto della grotta una specie di rete (da cui il nome *arachno* per analogia con il comportamento dei ragni) nella quale si dispone orizzontalmente aspettando le prede.

In questa specie i Tubuli Malpighiani presentano 4 regioni distinte con funzioni diverse ed è la zona prossimale quella implicata nella produzione di luce. Il bagliore è il risultato della reazione chimica che coinvolge luciferina (un prodotto di scarto), luciferasi, ATP e ossigeno. È stato accertato che la bioluminescenza serve alla larva per attirare prede (BROADLER & STRINGER, 2001).

La larva fila, oltre alla rete, fino a 70 fili di seta di circa 40 cm di lunghezza che da questa si dipartono pendenti verso il basso. I fili, detti “insidie” (Fig. 3C), servono per la cattura delle prede dato che ognuno è invischiato con una trentina di goccioline di muco appiccicoso. In altre specie affini, le goccioline possono essere velenose potenziando la capacità della trappola.

Le prede sono moscerini, mosche, piccoli lepidotteri, piccole lumache o millepiedi ma soprattutto effimere, tricotteri e zanzare, insetti cioè con ciclo legato all’acqua che scorre abbondante sul fondo della grotta. Quando la preda rimane invischiata nel filo di seta, la larva del micetofilide si avvicina velocemente e la mangia viva. Se le prede sono scarse si possono avere anche fenomeni di cannibalismo.

In questa specie oltre alle larve, che fra l’altro sono più brillanti se affamate rispetto a quella che hanno appena mangiato, anche gli adulti di entrambi i sessi sono luminosi ma in questo caso la bioluminescenza intermittente serve presumibilmente per attrarre il sesso opposto. Anche la pupa si illumina ad intermittenza, ma pochi giorni prima di emergere dalla spoglia pupale la femmina, in particolare, aumenta la luminosità che diventa fissa. Il forte bagliore dalla pupa femminile è stato interpretato come un segnale per il maschio che gli indica l’avvicinarsi del momento dell’accoppiamento. Sono infatti frequenti i tentativi di copula dei maschi con le luminose pupe femminili. Gli insetti adulti sono pessimi volatori e rimanendo nella stessa area, danno luogo alla colonia di “lucciole” (GREEN, 1979).

Le funzioni alternative dei Tubuli Malpighiani, come già detto, riguardano la produzione delle

sostanze per la costruzione del bozzolo. La maggior parte degli insetti che producono il bozzolo, lo costruiscono con la seta prodotta dalle ghiandole sericipare. In alcuni gruppi, tuttavia, il bozzolo viene costruito con fili dall’apparente consistenza setosa, estrusi dall’ano e prodotti con sostanze provenienti dai Tubuli Malpighiani. Uno dei primi autori che ha messo in evidenza il fatto che in alcuni Coleotteri i Tubuli Malpighiani producevano le sostanze che, impropriamente dette “seta” servivano per la costruzione del bozzolo è stato Silvestri nel 1904 nel suo lavoro sul Carabide *Lebia scapularis* (Fig. 4E). In questa specie, cosa desueta, è la larva di 1a età che costruisce il bozzolo che servirà per la protezione di sé stessa e in seguito degli altri stadi larvali e pupali. Questa specie, ipermetabola, è un attivo predatore di uova, larve e pupe di *Galerucella luteola* (Coleoptera Chrysomelidae). La larva di prima età è campodeiforme ma, a causa dell’attiva nutrizione, cresce a dismisura diventando fusiforme per l’abnorme accumulo di grasso. La larva “per tale enorme ingrassamento”, come dice Silvestri, non può più muoversi agevolmente e potrebbe costituire una facile preda per altri insetti se rimanesse senza protezione. Per questo essa risolve il problema delle sovradimensioni costruendosi un bozzolo con materiale proveniente dai Tubuli Malpighiani, temporaneamente stoccato nella zona rettale che funge da serbatoio e poi filato attraverso l’apertura anale. Tale bozzolo (Figg. 4F e 4G) è ovale e di colorazione dal giallo citrino al bruno. È costruito con fili di grossezza variabile (5-40 μm) intrecciati e saldati fra loro in modo irregolare a formare un rivestimento rado che lascia intravedere prima la larva e poi la pupa sottostante. Internamente, tuttavia, l’intreccio è più fitto tanto che l’interno del bozzolo sembra sia rivestito da una membranella liscia. La larva lascia per qualche tempo un’apertura nel bozzolo dalla quale può entrare e uscire e continuare a nutrirsi di forme giovanili di *G. luteola* che a volte vi racchiude. Quando la larva di prima età raggiunge la maturità chiude il bozzolo e vi compie la muta trasformandosi in larva di seconda età e del secondo tipo; poi a seguire effettuerà le altre mute fino alla stadio adulto. In questa specie i Tubuli Malpighiani sono 4 riuniti 2 a 2 e di calibro costante per tutta la loro lunghezza fino allo sbocco nell’intestino dove per un breve tratto sono slargati. Nella larva che fila, la parte prossimale dei Tubuli Malpighiani, che è ingrossata, ha pareti costituite da cellule ghiandolari con il citoplasma granuloso e vacuolizzato intorno al nucleo. Nel lume di questa porzione dei Tubuli Malpighiani si osserva materiale non escrezionale



Fig. 4

A - Adulto di *Eriogaster lanestris* (L.) (Lepidoptera Lasiocampidae) (foto www.biopix.dk); **B** - Bozzolo di *Eriogaster lanestris* (L.) (Lepidoptera Lasiocampidae) (foto Krzysztof Jonko); **C** - Femmina di *Carausius morosus* (Sinéty) (Heteronemiidae Phasmatodea) (foto Peter Bryant); **D** - Uova di *Carausius morosus* (Sinéty) (Heteronemiidae Phasmatodea) (foto Jaromír Zajíček); **E** - Adulto di *Lebia scapularis* (Fourc.) (Coleoptera Carabidae) (foto Bruno Lavoué); **F** - Rappresentazione schematica del bozzolo di *Lebia scapularis* (Fourc.) (Coleoptera Carabidae) (da SILVESTRI, 1904); **G** - Bozzolo di *Lebia scapularis* (Fourc.) (Coleoptera Carabidae) (foto Bruno Lavoué).

come nel retto ed è attribuita a questo tratto la produzione della “seta”. Il pigidio in queste specie funziona da filiera. Esso non è fornito di appendici speciali ma essendo uno stretto tubo il materiale spinto dalla muscolatura del retto fuori dall’ano assume l’aspetto filiforme (SILVESTRI, 1904).

In *Sitona macularius* (Coleoptera Curculionidae) sono i Tubuli Malpighiani della larva matura (cioè di quarta età) che producono la sostanza per la costruzione del bozzolo. A maturità, infatti, l’e-

tologia larvale si modifica passando da un’attissima nutrizione ad una fase di inattività completa in ripari vari (sottoterra, anfrattuosità del terreno, confluenza fra due steli, base delle piante...). In questa fase l’intestino è completamente vuoto e la cavità corporea è occupata dall’enorme massa dei Tubuli Malpighiani che elaborano il secreto. Quando la larva è ancora attiva la differenziazione istologica tra i 2 tratti dei Tubuli Malpighiani è particolarmente evidente poiché quello prossima-

le rimane inalterato mentre al contrario le cellule dell'epitelio del tratto distale presentano un aumento del volume del nucleo, del citoplasma, del numero e della dimensione dei granuli di secreto. In seguito, quando la larva diventa quiescente, il segmento distale presenta un gradiente di secrezione: nella parte estrema il processo è agli inizi (i granuli di secrezione sono cioè più piccoli) mentre nei tratti via via più prossimali i granuli sono più grandi fino a divenire globuli. Nella zona adiacente al tratto prossimale si ha già l'estrusione di un secreto in forma di grossi globi coalescenti. Nella larva che sta filando il bozzolo i tratti distali dei Tubuli Malpighiani sono pieni di secreto che invade anche il tratto prossimale, dilatato da quest'ultimo e che viene poi riversato nell'intestino dove, arricchito di altre sostanze secrete dall'epitelio dell'ileo e del colon, si raccoglie in una sorta di ampolla rettale che funziona temporaneamente da serbatoio.

A questo punto la larva esce dalla quiescenza e nel luogo dove si trova, senza riprendere l'attività trofica, inizia la fabbricazione del bozzolo. Questo viene prodotto secondo la tipica maniera degli Hyperinii, prelevando cioè dall'ano di volta in volta, per mezzo dell'apparato boccale, porzioni di secreto che, dopo una parziale solidificazione contro un sostegno, vengono modellate in fili mediante movimenti di trazione e di torsione del capo, del torace e dei primi uriti. Il bozzolo è in genere di forma subsferica, bianca trasparente, di tessitura grossolana cioè con larghi spazi vuoti che lasciano intravedere la pupa verde chiara all'inizio ma più scura con il passare del tempo. I bozzoli possono essere ritrovati sotto un leggero strato di terra o di sabbia, ancorati alle foglie o agli steli delle piante ospiti che nel caso specifico sono due leguminose: *Hedysarum coronarium* e *Onobrychis sativa* (MAZZI & BACCETTI, 1956).

Altri iperini studiati per la formazione del bozzolo con prodotti provenienti dai Tubuli Malpighiani sono *Hypera meles* come pure *Hypera rumicis* (LEBEDEW, 1914; KENCHINGTON, 1983) (Fig. 5A e 5B), che lo producono con un procedimento analogo a quello appena descritto per *S. macularius*. Il fenomeno è tuttavia generalizzabile per tutta la sottofamiglia degli Hyperinii. Anche negli Ptinidae le larve mature filano un bozzolo, dove avrà luogo l'impupamento, con materiale proveniente dai Tubuli Malpighiani (MARCUS, 1930).

Negli imenotteri che si impupano all'interno di un bozzolo, questo viene costruito con i secreti delle ghiandole labiali e meno frequentemente con quelli delle ghiandole colleteriche ma, in alcuni casi, come nell'Eulophidae *Euplectrus bicolor* (Fig. 5C e 5D), il bozzolo viene costruito con pro-

dotti provenienti dai Tubuli Malpighiani. Fu Thomsen, nel 1927, a stabilire per primo che in *E. bicolor* i numerosi Tubuli Malpighiani di cui la specie è dotata (Fig. 5E) producevano nella larva matura il materiale per la costruzione del bozzolo (THOMSEN, 1927). Oggi è tuttavia noto che molti Calcidoidi usano la stessa modalità.

Il fenomeno della produzione del bozzolo, da parte dei Tubuli Malpighiani, nelle larve mature dei neurotteri è noto da tempo e molto studiato.

È noto infatti che nei coniopterigidi (Fig. 6A, 6B, 6C e 6D) le forme giovanili mature prima dell'impupamento costruiscono, con materiale estruso dall'ano e prodotto dai Tubuli Malpighiani, un rado bozzolo costituito da una doppia rete, quella esterna più rada e con funzione di ancoraggio mentre la seconda più interna e compatta che funge da vera e propria protezione (ZIZZARI *et al.*, 2008).

Negli stadi larvali dei neurotteri planipenni (Fig. 6E e 6F) mesenteron e proctodeo presentano un'interruzione per la quale le feci vengono accumulate nel mesenteron e il proctodeo non assolve alla loro eliminazione ma effettua solo l'escrezione raccogliendo i prodotti dei Tubuli Malpighiani e lo stoccaggio temporaneo di tali sostanze. Nello stadio di propupa, che sta filando il bozzolo, l'epitelio del proctodeo, che precedentemente appariva molto sottile, appare molto più spesso, con cellule dotate di lunghi microvilli sporgenti nel lume intestinale e apparentemente in fase secernente. Sono inoltre visibili nel lume dell'intestino 2 tipi di sostanze: una associata all'epitelio in fase secernente, che costituirà il rigido strato interno del bozzolo, e l'altra prodotta dai Tubuli Malpighiani, che costituirà la parte esterna fibrosa del bozzolo stesso (LA MUNYON, 1988; LOZINSKY, 1921).

I tisanotteri, è noto nel corso del loro sviluppo, presentano 2 stadi neanidali (o larvali secondo la letteratura internazionale) attivi e mobili e 2 o 3 stadi afaghi e quiescenti di propupa e pupa. Questi ultimi sono in genere anoici.

Tuttavia in alcune specie, la larva di seconda età produce un bozzolo setoso all'interno del quale l'insetto effettua la ninfosi. Questo fenomeno è stato per la prima volta riportato da Kurdjumov nel 1913 in *Aeolothrips fasciatus* e poi in seguito da altri autori per le altre specie della famiglia Aeolothripidae ma anche per alcuni Tripidae (*Anaphothrips* e *Odontothrips*), Melanthripidae (*Ankothrips*) e Heterothripidae (*Aulacothrips*) (KURDJUMOV, 1913).

Analogamente ai neurotteri e coleotteri precedentemente citati il bozzolo nei tisanotteri viene costruito con una produzione anale ma la provenienza dai Tubuli Malpighiani era stata fino a poco tempo fa solo ipotizzata. Infatti, scopo di un

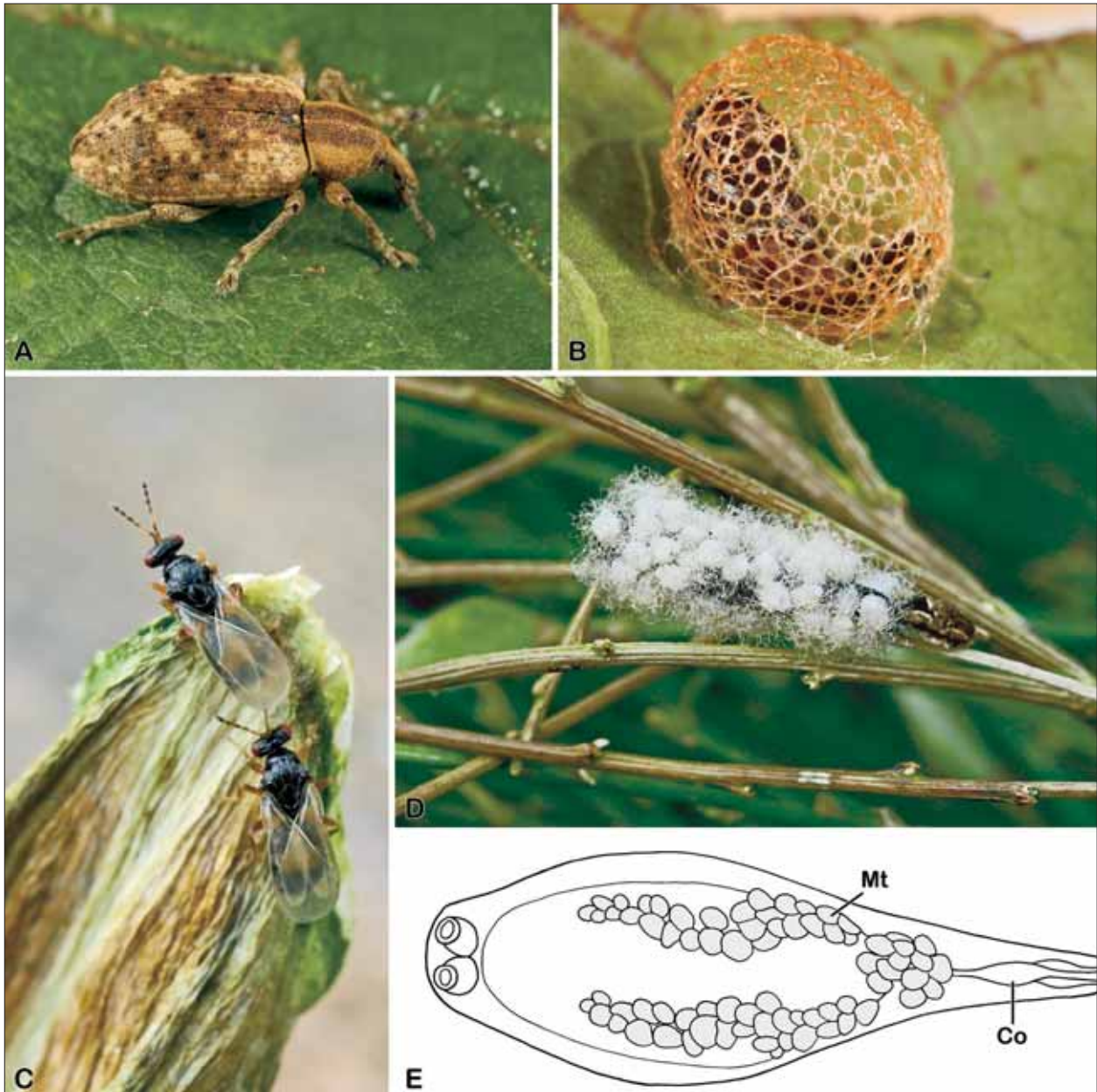


Fig. 5

A - Adulto di *Hypera rumicis* (L.) (Coleoptera Curculionidae) (foto Malconm Storey); **B** - Bozzolo di *Hypera rumicis* (L.) (Coleoptera Curculionidae) (foto Malconm Storey); **C** - Adulto di *Euplectrus bicolor* (Swederus) (Hymenoptera Eulophidae) (foto Claude Galand, www.entomart.be); **D** - Bozzoli di *Euplectrus bicolor* (Swederus) (Hymenoptera Eulophidae) su larva parassitizzata (foto Claude Galand, www.entomart.be); **E** - Anatomia interna di *Euplectrus bicolor* (Swederus) (Hymenoptera Eulophidae) in vista dorsale. Co=colon, Mt=Tubulo Malpighiano (ridisegnato da Thomsen, 1927).

nostro recente lavoro (CONTI *et al.*, 2010) è stato quello di documentare le modificazioni ultrastrutturali dell'epitelio, nel corso della ninfosi, dei Tubuli Malpighiani di un tisanottero Aeolothripidae che produce il bozzolo e precisamente di *Aeolothrips intermedius* (Fig. 7A). La specie è un'abituale frequentatrice di fiori di numerose piante coltivate e spontanee, sia arboree che erbacee, con netta preferenza per le Leguminose. Gli adulti presentano una caratteristica livrea con ali a bande bianche e nere, tipica della maggior parte delle specie di questo genere.

Le neanidi sono predatrici generiche, pur presentando spiccata preferenza per le forme giovanili di altri tisanotteri, in particolare di *Thrips tabaci*. Gli adulti sono in genere pollinifagi ma la femmina al momento della maturazione delle uova preda. Essa depone uova isolate, inserendole nei tessuti vegetali (nervature fogliari o teneri rametti) di diverse piante erbacee. Subito dopo la schiusa dall'uovo la neanide incomincia la ricerca delle prede di cui nutrirsi, pungendole e succhiandole (CONTI, 2009). Raggiunta la maturità cerca un luogo adatto (alla biforcazione della nervatura fogliare o nelle



Fig. 6

Conwentzia psociformis (Curtis) (Neuroptera Coniopterygidae): **A** - Larva; **B** - Bozzolo; **C** - Pupa; **D** - Adulto; **E** e **F** - Emergenza dal bozzolo di pupa dectica di *Chrysoperla carnea* (Neuroptera Chrysopidae) (foto Prof. Urs Wyss).

anfrattuosità del terreno) per tessere un bozzolo che verrà prodotto agitando freneticamente l'addome da destra a sinistra e viceversa per tendere il filo fuoriuscente dall'ano (Fig. 7B). Inizialmente produce una rete dalle maglie larghe per l'ancoraggio e la protezione del bozzolo vero e proprio che

viene prodotto dopo e all'interno del quale effettuerà le 3 mute seguenti fino al raggiungimento dello stadio adulto. Quando l'insetto non si muove più, il bozzolo finito appare costituito da un doppio strato esterno più rado e un velo compatto interno (Fig. 7C). Finché all'interno del bozzolo la

larva non ha ancora effettuato la muta, e la conseguente trasformazione in pupa, se viene disturbata e il bozzolo danneggiato essa si riattiva e lo ripara. Una volta però effettuata la muta essa perde questa possibilità.

I bozzoli ottenuti in laboratorio sono stati osservati al microscopio elettronico a scansione (SEM) ed analizzati chimicamente.

L'esame al SEM mostra un ammasso di filamenti di diverso diametro in genere dalla superficie liscia; solo alcuni di questi presentano numerose piccole spine (Fig. 7D). L'analisi chimica allo spettrometro di massa ha messo in evidenza la cospicua presenza di β -acetil-glucosammina, cioè quel tipo di chitina con cui risultano principalmente costituiti i bozzoli di neurotteri ed alcuni coleotteri, diversa dalla α -acetil-glucosammina che costituisce la cuticola degli artropodi e dalla γ -acetil-glucosammina tipica dei bozzoli di altri coleotteri, proveniente dalla membrana peritrofica.

I Tubuli Malpighiani delle larve mature prima, durante e dopo la produzione del bozzolo come pure quelli degli adulti neosfarfallati e più vecchi sono stati dissezionati e preparati per l'esame al microscopio elettronico a trasmissione (TEM).

Sia nelle forme giovanili che nell'adulto i Tubuli Malpighiani appaiono come due strutture tubolari che si inseriscono nella regione pilorica e, a circa 100 μ m di distanza da questa, si dividono in 2 branche ugualmente lunghe dirette una anteriormente e l'altra posteriormente. Tra i Tubuli Malpighiani dei vari stadi non vi sono quindi differenze di forma bensì di dimensione. Nella figura 8A sono rappresentati quelli dell'adulto che misurano 500 μ m di lunghezza e 11 μ m di diametro. Nella figura 8B è riportata invece l'immagine di quelli di una larva che si prepara a produrre il bozzolo. Da notare come qui essi triplichino il loro volume.

L'esame al TEM delle sezioni trasversali dei Tubuli Malpighiani degli adulti (sia neosfarfallati che più vecchi) (Fig. 8C) evidenzia la tipica struttura dell'epitelio di tipo escretore. Sono presenti 3 cellule epiteliali principali che circondano il lume del tubulo, dal diametro pari a 7 μ m. Il nucleo delle cellule è ellittico e grande. La regione apicale delle cellule presenta una fila ordinata di lunghi microvilli. Nel lume si nota la presenza di piccoli e densi granuli, qualche vescicola e alcuni corpi lamellari. La regione basale delle cellule presenta molte invaginazioni della membrana plasmatica alle quali sono associati molti mitocondri. Nel citoplasma sono presenti molti ribosomi liberi, poche cisterne del reticolo endoplasmatico ed apparati di Golgi, vescicole, lisosomi e urosferiti.

Sempre nell'adulto la zona di raccordo delle 2 branche del Tubulo Malpighiano che si inserisce e

scarica nella zona pilorica a seconda del tratto considerato presenta diversa ultrastruttura. Nel tratto distale (lungo circa 50 μ m) l'aspetto generale dell'epitelio è simile a quello appena descritto, interessato al recupero degli ioni dall'emolinfa, mentre nel tratto prossimale l'epitelio cambia bruscamente aspetto. Qui sono presenti cellule appiattite, meno spesse e dotate di microvilli i quali non sono disposti ordinatamente e apparentemente non vi è recupero di ioni. Nella parte prossimale, le cellule dell'epitelio appaiono dotate di una sottile epicuticola apicale e sono di raccordo con quelle ectodermiche del proctodeo.

Nella larva che sta producendo il bozzolo nelle cellule dell'epitelio non si notano più urosferiti ed i numerosi Golgi (a questo ingrandimento un'area di 1 μ m² ne contiene circa 20) sono impegnati in una intensa attività secernente che si desume dai loro prodotti e che è verosimilmente indotta su base ormonale (Fig. 9A). Il lume del Tubulo Malpighiano è pieno di un prodotto che contiene materiale elettrodenso. Alla base dei microvilli sono visibili grosse vescicole piene di materiale denso. Esse si formano a livello dei Golgi e poi migrano verso il lume del Tubulo Malpighiano dove scaricano il loro contenuto.

I Golgi sono strutture formate da una "zona cis" dotata di cisterne rigonfie a volte connesse con altre a formare un ammasso irregolare di vescicole membranose anastomizzate fra loro, dalla "zona mid" con cisterne piatte che contengono una secrezione densa a cui segue la "zona trans" con vescicole di diversa grandezza. I Golgi sono di solito orientati con la "zona trans" rivolta verso la parte apicale della cellula. Tuttavia, non è raro osservare, nel caso in esame, Golgi con l'asse principale orientato ortogonalmente rispetto alla zona apicale della cellula o addirittura in alcuni casi con la zona trans rivolta inusualmente verso il basso della cellula. L'aspetto generale dei Golgi sembra il risultato della fusione di Golgi vicini, di aspetto tradizionale (Fig. 9B).

Sempre nella larva che sta producendo il bozzolo, nel tratto di collegamento del Tubulo Malpighiano al proctodeo, la struttura generale delle cellule è simile a quella osservata nell'epitelio dei Tubuli Malpighiani degli adulti. Nel citoplasma sono scomparsi i Golgi, i microvilli sono disposti in modo parallelo e circondano il lume del Tubulo Malpighiano nel quale è presente una massa notevole di una densa secrezione. La peculiarità di questo tratto è la presenza nella cellula di una notevole quantità di granuli di glicogeno (che occupa la maggior parte del citoplasma) come tipicamente avviene nelle cellule addette al riassorbimento delle sostanze da recuperare.



Fig. 7

Aeolothrips intermedius Bagnall: **A** - Femmina; **B** - Larva matura che ha appena iniziato la produzione del bozzolo; **C** - Bozzolo completamente formato; **D** - Bozzolo esaminato al SEM, dettaglio per mostrare le spinescenze cuticolari.

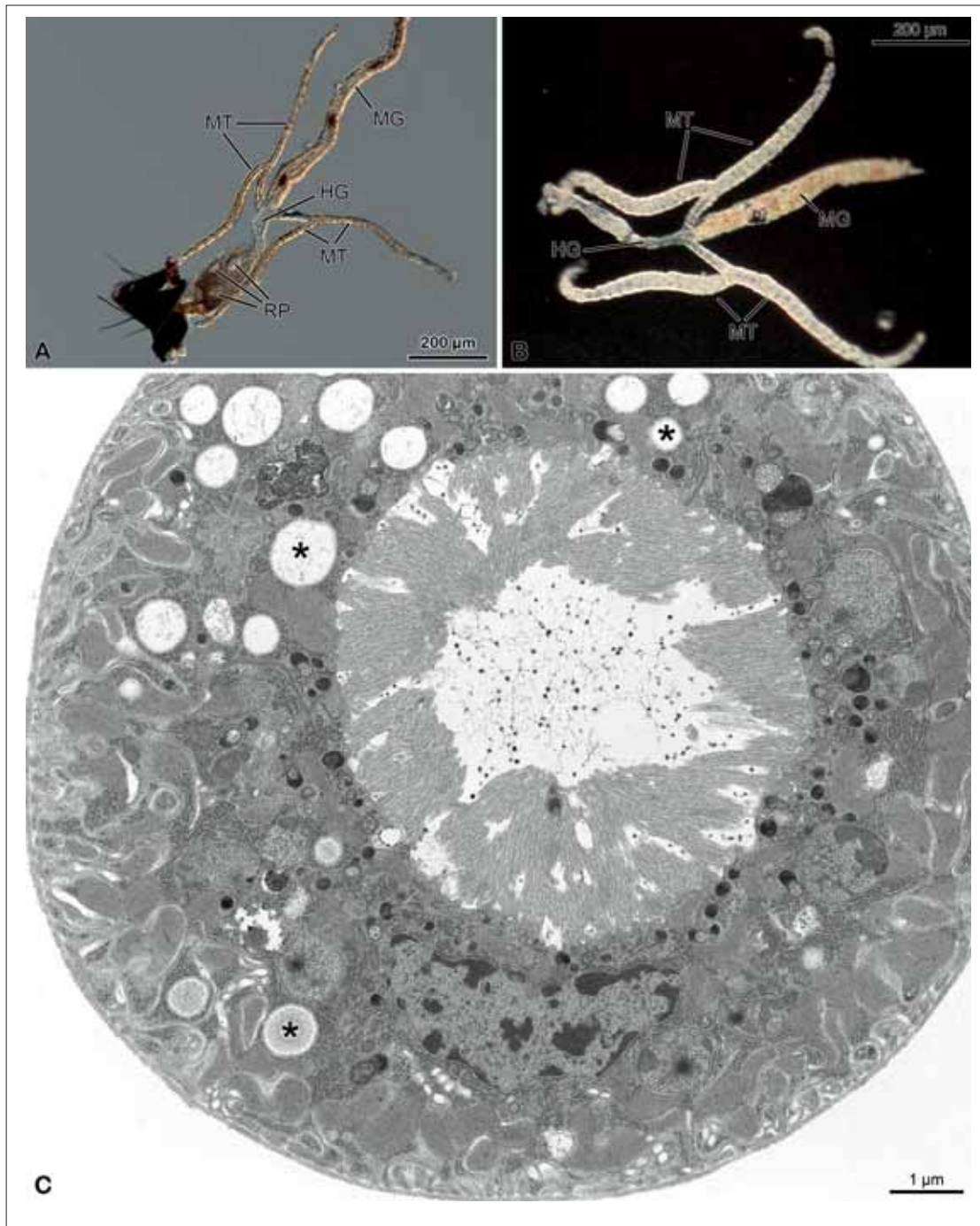


Fig. 8

Aeolotrips intermedius Bagnall: **A** - Intestino medio (MG) di individuo adulto con i 2 Tubuli Malpighiani (MT) che si dividono in due branche, una anteriore, parallela al mesenteron e una orientata posteriormente. Appare evidente la zona di sbocco dei 2 Tubuli Malpighiani a livello della regione pilorica e le papille rettali (RP). HG= intestino posteriore; **B** - Intestino medio (MG) di neanide matura. I 2 Tubuli Malpighiani (MT) sono simili per forma a quelli dell'individuo adulto ma da questi differiscono per il volume che appare triplicato. HG= intestino posteriore; **C** - Sezione trasversale del Tubulo Malpighiano di un individuo adulto nella quale i numerosi urosferiti (*) indicano l'intensa attività escrettrice delle cellule epiteliali.

L'epitelio del proctodeo, nel quale sfocia il Tubulo Malpighiano, presenta, nella larva che produce il bozzolo, la stessa struttura dell'adulto ma il suo lume è pieno della secrezione prodotta dal Tubulo Malpighiano. I muscoli che circondano il sottilissimo epitelio sono spesso contratti nella fase di rilascio della secrezione.

Quindi dalle evidenze sperimentali sopra riportate è stato possibile concludere che:

- nei tisanotteri i Tubuli Malpighiani sono coinvolti nella produzione del bozzolo. Ciò si evince dalla modificazione del loro epitelio nel corso del processo di estrusione. I Tubuli Malpighiani quindi svolgono, nel caso specifico, una funzione

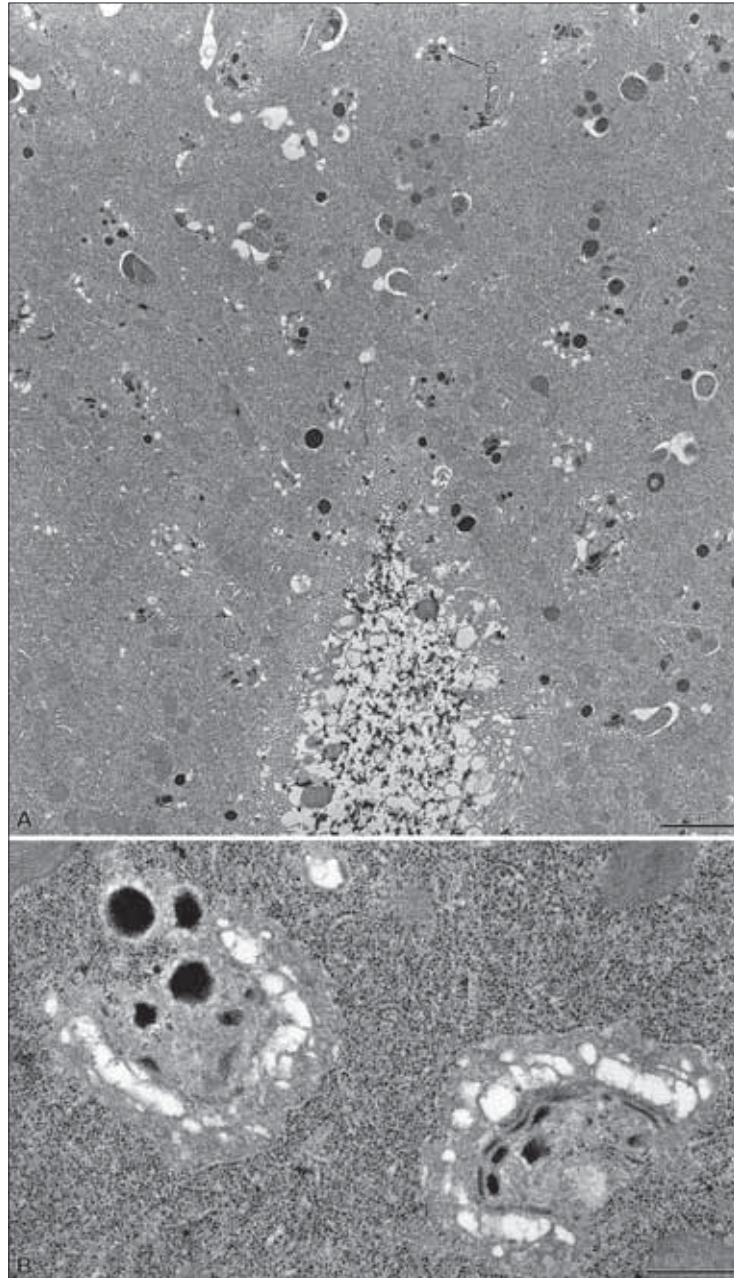


Fig. 9

A - Sezione trasversale di un Tubulo Malpighiano di una larva di secondo stadio che sta producendo il bozzolo. Il basso ingrandimento permette di osservare il citoplasma delle cellule epiteliali estremamente ricco in apparati di Golgi (G) con vescicole elettrondense e reticolo endoplasmatico rugoso. L= lume del Tubulo Malpighiano; B - Dettaglio di due apparati di Golgi di grandi dimensioni.

alternativa all'escrezione che tuttavia viene ristabilita nello stadio adulto seguente;

- dalle analisi gas-cromatografiche effettuate è stato accertato che il bozzolo è costituito da -acetilglucosammina, cioè da una sostanza chitino-simile con cui risultano fatti anche i bozzoli dei neuroteri e dei coleotteri precedentemente citati (CONTI *et al.*, 2010).

Concludendo, la presente rassegna sulle le funzioni espletate dai Tubuli Malpighiani, è il frutto di una ricerca bibliografica, sicuramente non è completamente esaustiva dato che, come visto, la casi-

stica è molto ampia. Moltissime funzioni, inoltre, espletate dai Tubuli Malpighiani diverse dall'escrezione sono a tutt'oggi ancora da indagare e chiarire.

RINGRAZIAMENTI

Porgiamo i nostri più sentiti ringraziamenti agli autori delle foto, citati nelle didascalie, che cortesemente ci hanno concesso la possibilità di riprodurle.

Acknowledgments: Many thanks are due to Authors of the photos for their kind authorization to reproduction.

BIBLIOGRAFIA CONSULTATA

- ARZONE A., 1986 – *Brocosomi: origine, forma, funzione*. - Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia R., 34: 59-71
- BEDFORD O., 1978 – *Biology and Ecology of the Phasmatodea*. - Annual Review of Entomology, 23: 125-149
- BOULARD M., 1965 – *Notes sur la biologie larvaire des cigales (Homoptera Cicadidae)*. - Annales de la Société Entomologique de France, 1: 503-522.
- BRASS P., DAS L., 1914 – *Abdominalsegment der Käferlarven als Bewegungsorgan*. Zoologische Jahrbücher. - Abteilung für Systematik, Ökologie und Geographie der Tiere, 37: 65-122.
- BROADLEY R.A., STRINGER A.N., 2001 – *Prey attraction by larvae of the New Zealand glowworm, Arachnocampa luminosa (Diptera: Mycetophilidae)*. - Invertebrate Biology 120(2): 170-177.
- BRODBECK B.V., MIZELL R.F. III, ANDERSEN P.C., 1993 – *Physiological and behavioral adaptations of three species of leafhoppers in response to the dilute nutrient content of xylem fluid*. - Journal of Insect Physiology, 39 (1): 73-81.
- CONTI B., 2009 – *Notes on the presence of Aeolothrips intermedius in northwestern Tuscany and on its development under laboratory conditions*. - Bulletin of Insectology, 62 (1): 107-112.
- CONTI B., BERTI F., MERCATI D., GIUSTI F., DALLAI R., 2010 – *The ultrastructure of Malpighian tubules and the chemical composition of the cocoon of Aeolothrips intermedius Bagnall (Thysanoptera)*. - Journal of Morphology, 271 (2): 244-254.
- DAY M.F., 1993 – *Brochosomes of Australian Cicadelloidea*. In: Drosopoulos S., Petrakis P.V., Claridge M.F., de Vrijer P.W.F. (Eds.) - Proceedings of Eighth Auchenorrhyncha Congress, Delphi, Greece: 1011.
- EMEL'YANOV A.F., 1987 – *The phylogeny of Cicadina (Homoptera: Cicadina) based on morphological data*. In: Tobias V.I. (ed.) Morphological Grounds of Insects Phylogeny. Proceedings of URRS Entomological Society, 69 Nuaka Leningad.
- EVANS J.W., 1940 – *Tube-building cercopids (Homoptera: Machaerotidae)*. - Transaction of Royal Society of South Australia, 64 (1): 70-75.
- FABRE J.H., 1891 – *Le capricorne*. In: Souvenirs entomologiques IV Série. Études sur l'instinct et les mœurs des insectes. Paris, Librairie Ch. Delagrave. Soc. Anonyme d'Imprimerie de Villefranche de Rouergue, 330 pp.
- FOLDI I., 1982 – *Étude structurale et expérimentale de la formation du bouclier chez les Cochenilles Diaspines (Hom. Coccoidea Diaspididae)*. - Annales de la Société Entomologique de France, 18 (3): 317-330.
- GREEN L.B.S., 1979 – *The fine structure of the light organ of the New Zealand glow-worm Arachnocampa luminosa (Diptera: Mycetophilidae)*. - Tissue and Cell, 11: 457-465.
- HARTING P., (1873) – *Recherches de morphologie synthétique sur la production artificielle de quelques formations calcaires organiques*. Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie van Wetenschappen. Afdeling Natuurkunde, Amsterdam, 14: 84 pp.
- KEILIN D., 1921 – *On the calcium carbonate and the calcospherites in the Malpighian tubes and the fat body of Dipterous larvae and the ecdysial elimination of these products of excretion*. - Quarterly Journal of Microscopical Science, 65: 611-625.
- KENCHINGTON W., 1983 – *The larval silk of Hyphae spp. (Coleoptera: Curculionidae)*. A new example of the cross-protein conformation in an insect silk. Journal of Insect Physiology, 29 (4): 355-361.
- KLEINE R., 1916 – *Cassida nebulosa L. und ihr Fraßbild. Eine biologische Betrachtung*. - Stettiner entomologische Zeitung, 77: 187-216, taf. II-VII.
- KLEINE R., 1917 – *Cassidenstudien III. Über Cassida rubiginosa Müll.* - Entomologische Blätter, 13: 63-73.
- KRUEGER R.A., CROCE A.B., HOPKINS T.L., KRAMER K.J., 1988 – *Calcium transport from Malpighian tubules to puparial cuticle of Musca autumnalis*. - Journal of Comparative Physiology B, 158: 413-419..
- LA MUNYON C.W., ADAMS P.A., 1987 – *Use and effect of an anal defensive secretion in larval Chrysopidae (Neuroptera)*. - Annals of the Entomological Society of America, 80 (6): 804-808.
- LEBEDEW K., 1914 – *Ueber die als Sericterien functionierenden Malpighischen Gefäße der Phytomus larven*. - Zoologischer Anzeiger, 44: 49-56.
- LENGERKEN (VON) H., 1939 – *Die Brutfürsorge und Brutpflegeinstinkte der Käfer*. Akademische verlagsgesellschaft. Geest and Portig, Leipzig, 386 pp.
- LICENT P.E., 1912 – *Récherches d'anatomie et de physiologie comparées sur le tube digestif des Homoptères supérieurs*. - La cellule, 28: 7-161
- MARCUS B.A., 1930 – *Untersuchungen über die Malpighischen Gefäße bei Käfern. V. Ptiniden*. - Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere, 19: 629-643.
- MARSHALL A.T., 1964a – *Spittle-production and tube-building by cercopid nymphs (Homoptera)*. 1. The cytology of the Malpighian tubules of spittlebug nymphs. - Quarterly Journal of Microscopical Science, 105: 257-262.
- MARSHALL A.T., 1964b – *Spittle-production and tube-building by cercopid nymphs (Homoptera)*. 2. The cytology and function of the granule zone of the Malpighian tubules of tube-building nymphs. - Quarterly Journal of Microscopical Science, 105 (4): 415-422.
- MARSHALL A.T., 1973 – *Protein synthesis and secretion by Malpighian tubules of cercopoid larvae (Homoptera)*. - Journal of Insect Physiology, 19: 2317-2326.
- MAYET V.M., 1896 – *Un nouvelle fonction des tubes de Malpighi*. - Bulletin de la Société Entomologique de France, 1: 122-127.
- MAZZI V., BACCETTI B., 1956 – *Prime osservazioni sui tubi malpighiani e la secrezione di seta in Donus crinitus Boh.* - Bollettino di Zoologia, 23 (2): 137-148.
- NAVONE P., 1987 – *Origine struttura e funzioni di escreti e secreti entomatici di aspetto ceroso distribuiti sul corpo mediante zampe*. - Annali della Facoltà di Scienze Agrarie dell'Università di Torino, 14: 237-294.
- PANTEL J., 1914 – *Signification des glandes annexes intestinales des larves de Ptychopteridae et observations sur les tubes de Malpighi de ces Nématocères (larves et adultes)*. - La Cellule, 29: 393-429.
- RAKITOV R.A., 1995 – *The covering formed by brochosomes on the cuticle of leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae)*. - Entomological Review, 74 (9): 90-103.
- RAKITOV R.A., 2002 – *Structure and function of the malpighian tubules and related behaviours in juveniles Cicadas: evidence and homology with spittlebugs (Hemiptera: Cicadoidea & Cercopoidea)*. - Zoologischer Anzeiger, 241: 117-130.
- RAKITOV R.A., 2002a – *What are brochosomes for? An enigma of leafhoppers (Hemiptera, Cicadellidae)*. - Denisia, 4: 411-432.

- RAMSAY J.A., 1955 – *The excretory system of stick insect, Dixippus morosus (Orthoptera, Phasmidae)*. - The Journal of Experimental Biology, 32: 183-199
- ROVERSI P.F., BACCETTI B., 1994 – *Ecologia ed etologia di Haematoloma dorsatum (Abrens) (Homoptera Cercopidae)*. - Redia, 77 (1): 133-150.
- SCHRADER S., 1994 – *Influence of earthworms on the pH conditions of their environment by cutaneous mucus secretion*. - Zoologischer Anzeiger, 233: 211-219.
- SILVESTRI F., 1904 – *Contribuzione alla conoscenza della metamorfosi e dei costumi della Lebia scapularis Fourc. con descrizione dell'apparato sericiparo della larva*. - Redia, 2: 68-84.
- SPIEGLER P.E., 1962 – *The origin and nature of the adhesive substance in larvae of the genus Chrysopa (Neuroptera: Chrysopidae)*. - Annals of Entomological Society of America, 55: 69-77.
- THOMSEN M., 1927 – *Some observations on the biology and anatomy of a cocoon-making chalcid larva, Euplectrus bicolor*. - Swed. Dansk Naturhistorisk Forening i Kobenhaven. Videnskabelige Meddelelser, 84: 73–89.
- TULLOCH G.S., SHAPIRO J.E., COCHRAN G.W. (1952) – *The occurrence of ultramicroscopic bodies with leafhoppers and mosquitoes*. - Bulletin of Brooklyn Entomological Society, 47: 41-42.
- TURNER J.S., 1994 – *Anomalous water loss rates from spittle nests of spittlebugs Aphrophora saratoga (Homoptera: Cercopidae)*. - Comparative Biochemistry and Physiology, 107A (4): 679-683.
- TUTT J.W., 1898 – *The Lasiocampids*. - Proceedings of the South London Entomological and Natural History Society, Vol. 1899-1900.
- WEBER H., 1933 – *Lehrbuch der Entomologie*. - Jena, 450 pp.
- WHITE J., STREHL C.E., 1978 – *Xylem feeding by periodical cicada nymphs on tree roots*. - Ecological Entomology, 3: 323-327.
- WIGGLESWORTH V.B., 1974 – *The principles of insect physiology*. London, Chapman & Hall: 827pp.
- WYNIGER D., BURCKHARDT D., MÜHLETHALER R., MATHYS D., 2008 – *Documentation of brochosomes within Hemiptera with emphasis on Heteroptera (Insecta)*. - Zoologischer Anzeiger, 247: 239-341.
- ZIZZARI Z.V., LUPETTI P., MANCARELLI C., DALLAI R., 2008 – *Sperm ultrastructure and spermiogenesis of Coniapterygidae (Neuroptera, Insecta)*. - Arthropod Structure & Development, 37: 410-417.