

ATTI
DELLA
ACCADEMIA
NAZIONALE ITALIANA
DI ENTOMOLOGIA

RENDICONTI
Anno LVI
2008



CEREBRO FAVCIBVS VTERO
AB ORBIS ORIGINE
TENENT

ISSN 0065-0757

Direttore Responsabile: *Prof. Baccio Baccetti*

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 23 febbraio 2008	»	9
Verbali delle adunanze del 6-7 giugno 2008	»	13
Verbali delle adunanze del 28-29 novembre 2008	»	18

Tavole rotonde su

GENETICA MOLECOLARE DELLO SVILUPPO DEGLI INSETTI

CARLA MALVA – <i>Genetica molecolare dello sviluppo degli insetti - Presentazione</i>	»	33
CARLA MALVA – <i>From D. melanogaster to insect parasitoids: different processes, conserved molecular mechanisms</i>	»	37
MIODRAG GRBIC' – <i>Evolution of polyembryonic development in parasitic wasps</i>	»	43
GIUSEPPE GARGIULO – <i>Control of vitelline membrane gene expression during D. melanogaster oogenesis</i>	»	53
GIULIANO CALLAINI – <i>Drosophila spermatogenesis: a system model to cell cycle analysis</i>	»	59

Lettura

LUIGI DE MARZO – <i>Biodiversità della spermateca nei Coleotteri</i>	»	69
--	---	----

ANNO ACCADEMICO
2008

CONSIGLIO DI PRESIDENZA

PRESIDENTE
BACCETTI Prof. Dott. Baccio

VICE-PRESIDENTE
SOLINAS Prof. Dott. Mario
(dal 24 novembre 2007)

SEGRETARIO
CRAVEDI Prof. Dott. Piero

TESORIERE
NANNELLI Dott. Roberto

ELENCO DEGLI ACCADEMICI

ACCADEMICI EMERITI

ARZONE Prof. Dott. Alessandra	– Torino	1984
CONCI Prof. Dott. Cesare	– Milano	1969 - 1972
GALVAGNI Dott. Antonio	– Rovereto (TN)	- 2007
MAGNANO Sig. Luigi	– Poggibonsi (SI)	2003 - 2008
MELLINI Prof. Dott. Egidio	– Bologna	1962 - 1972
PEGAZZANO Prof. Dott. Fausta	– Firenze	1986 - 2005
PRINCIPI Prof. Dott. Maria Matilde	– Bologna	1953 - 1960
RIVOSSECCHI Prof. Dott. Leo	– Roma	1987 - 2003
RUFFO Prof. Dott. Sandro	– Verona	1953 - 1960
ZANGHERI Prof. Dott. Sergio	– Padova	1970 - 1977

ACCADEMICI ORDINARI

BACCETTI Prof. Dott. Baccio	– Siena	1962 - 1969
BARBAGALLO Prof. Dott. Sebastiano	– Catania	1982
BIN Prof. Dott. Ferdinando	– Perugia	1998 - 2002
BOLCHI SERINI Prof. Dott. Graziella	– Milano	1986 - 2003
BOLOGNA Prof. Marco	– Roma	2001 - 2008
BONVICINI PAGLIAI Prof. Dott. Anna	– Modena	1983 - 2001
BRIOLINI Prof. Dott. Giovanni	– Bologna	1977 - 1982
BULLINI Prof. Dott. Luciano	– Roma	1986
CASALE Prof. Dott. Achille	– Sassari	1996 - 2002
CELLI Prof. Dott. Giorgio	– Bologna	1978 - 1989
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
FRILLI Prof. Dott. Franco (*)	– Udine	1978 - 1982
GIORDANA Prof. Dott. Barbara	– Milano	1997 - 2003
GIROLAMI Prof. Dott. Vincenzo	– Padova	1993 - 2004
LONGO Prof. Dott. Santi	– Catania	1993 - 2000
MASUTTI Prof. Dott. Luigi	– Padova	1972 - 1977
MAZZINI Prof. Dott. Massimo	– Viterbo	2000
MINELLI Prof. Dott. Alessandro	– Padova	1986 - 1993
MINEO Prof. Dott. Giovanni	– Palermo	1986
MONACO Prof. Dott. Raffaele	– Bari	1985
NANNELLI Dott. Roberto	– Firenze	1998 - 2005
NUZZACI Prof. Dott. Giorgio	– Bari	1988 - 1994
OSELLA Prof. Dott. Giuseppe Bartolomeo	– L'Aquila	1983 - 1997
PENNACCHIO Prof. Dott. Francesco	– Napoli	2001 - 2007
POGGI Dott. Roberto	– Genova	1989 - 1999
RAGUSA DI CHIARA Prof. Dott. Salvatore	– Palermo	1993 - 2000
ROVERSI Prof. Pio Federico	– Firenze	2008
SANTINI Prof. Dott. Luciano	– Pisa	1993 - 2000
SBORDONI Prof. Dott. Valerio	– Roma	1986

(*) Dal 29 novembre 2008 Accademico Emerito.

SOLINAS Prof. Dott. Mario	– Perugia	1978
SÜSS Prof. Dott. Luciano	– Milano	1987 - 1993
TRANFAGLIA Prof. Dott. Antonio	– Potenza	1993 - 1999
TREMBLAY Prof. Dott. Ermenegildo	– Napoli	1974
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
LINDAUER Prof. Martin (*)	– Würzburg (Germania)	1986
STROYAN Dott. Henry L.G.	– Harpenden (U.K.)	1998
TAUTZ Prof. Dott. Jürgen	– Würzburg (Germania)	2006

ACCADEMICI STRAORDINARI

ALMA Prof. Dott. Alberto	– Torino	2007
AUDISIO Prof. Paolo Aldo	– Napoli	2004
BARONIO Prof. Piero	– Bologna	2001
BINAZZI Dott. Andrea	– Firenze	1998
BRANDMAYR Prof. Dott. Pietro	– Rende (CS)	2005
COBOLLI Prof. Marina	– Roma	2001
COLUZZI Prof. Dott. Mario	– Roma	1986
DE MARZO Prof. Dott. Luigi	– Potenza	2007
DACCORDI Dott. Mauro	– Verona	1990
GASPERI Prof. Dott. Giuliano	– Pavia	2005
MAINI Prof. Dott. Stefano	– Bologna	2005
MALVA Dott. Carla	– Napoli	2001
MAROLI Prof. Dott. Michele	– Roma	2003
OLMI Prof. Dott. Massimo	– Viterbo	2002
RAPISARDA Prof. Dott. Carmelo	– Catania	2005
ROTUNDO Prof. Dott. Giuseppe	– Campobasso	1999
TRIGGIANI Prof. Oreste	– Bari	2001
VANNINI Prof. Dott. Marco	– Firenze	2003

(*) † 13 novembre 2008

N.B. - Per gli Accademici Emeriti ed Ordinari le date sono rispettivamente quelle della nomina ad Accademico Straordinario e ad Accademico Ordinario.

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 23 FEBBRAIO 2008

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

Il giorno 23 febbraio 2008 alle ore 10.00, presso la propria sede in via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: A. ARZONE;

Ordinari: B. BACCETTI, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, B. GIORDANA, L. MASUTTI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, L. SANTINI, V. SBORDONI, M. SOLINAS, L. SÜSS, A. TRANFAGLIA;

Straordinari: A. ALMA, P. BARONIO, A. BINAZZI, M. COBOLLI, L. DE MARZO, G. GASPERI S. MAINI, L. MAGNANO, C. MALVA, M. MAROLI, M. OLM, G. ROTUNDO, O. TRIGGIANI, M. VANNINI.

Hanno giustificato la loro assenza gli Accademici *Emeriti:* M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* S. BARBAGALLO, G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, G. CELLI, R. DALLAI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, S. LONGO, M. MAZZINI, R. MONACO, R. POGGI, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI; *Onorari:* G. ALBERTI, H.L.G. STROYAN.

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione verbale sedute precedenti (23-24/11/07)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Fauna d'Italia
- 4) Proclamazione e consegna Diplomi nuovi Accademici Straordinari: Alberto ALMA e Luigi DE MARZO
- 5) XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona 15-18/06/09)
- 6) Premio «Marco Osella» 2008
- 7) Sito Web
- 8) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (23-24/11/07)

Viene esaminato il verbale della seduta pubblica e della seduta plenaria del 23-24/11/07, già inviato a domicilio, e viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente dichiara che non vi sono comunicazioni, ma si sofferma brevemente a commentare le giustifiche di alcuni assenti illustri come gli ex vicepresidenti FRILLI e TREMBLAY, per inviare loro i più cordiali saluti ed auguri suoi personali e dell'Assemblea.

3) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente, l'Accademico Marco BOLOGNA, Segretario-Tesoriere uscente del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, prende la parola e riferisce sulla situazione.

Anzitutto presenta la situazione editoriale: il vol. 42 (Amphibia), stampato in dicembre 2007, sarà presentato a Roma entro la primavera 2008. Il volume 43 (Plecoptera, a cura di R. Fochetti, C. Ravizza e G.M. Tierno de Figueroa) è già presso l'editore, pronto per la stampa, e si attende solo la conferma del finanziamento ministeriale per avviare la composizione. Il vol. 44 (Mammalia 2 - Erinaceomorpha, Soricomorpha, Duplicidentata e Rodentia, a cura di G. Amori, L. Contoli e A. Nappi), già consegnato formalmente al Comitato, è in redazione e verrà consegnato all'editore entro marzo. Altri volumi sono in preparazione avanzata. Si attende lo stanziamento del Ministero per l'Ambiente per i volumi 43 e 44, da stampare entro il 2008.

4) PROCLAMAZIONE E CONSEGNA DIPLOMI NUOVI ACCADEMICI STRAORDINARI:
ALBERTO ALMA E LUIGI DE MARZO

Il Presidente consegna i Diplomi di Accademico Straordinario ai neoletti Alberto ALMA e Luigi DE MARCO.

L'Assemblea si congratula coi neoletti, accogliendoli con un caloroso applauso.

5) XXII CONGRESSO

Il Vice Presidente Mario SOLINAS riferisce che i lavori organizzativi stanno proseguendo con la buona disponibilità sia del Preside della Facoltà di Agraria sia del Rettore dell'Università di Ancona. Il prof. ISIDORO ha informato che il primo annuncio è in preparazione. Si ritiene possa essere disponibile per la riunione di giugno dell'Accademia. Il Convegno avrà la durata di 4 giorni. Nei primi 3 giorni si terranno sessioni parallele. Il quarto giorno sarà dedicato alla gita sociale. La Cena di Gala è prevista per la sera del primo giorno. Per quanto riguarda il Comitato Scientifico si propone di confermare quello del Congresso precedente, mentre viene rivolto un caloroso invito ai singoli Coordinatori delle vecchie Sessioni perché verifichino in tempi brevi la ulteriore disponibilità dei vecchi membri, onde proporre tempestivamente le eventuali modifiche che essi ritengano opportune e/o necessarie. L'Assemblea Ordinaria di giugno p.v. dovrà ratificare la nuova composizione del Comitato Scientifico in questione.

6) PREMIO «OSELLA» 2008

Il Presidente riferisce che con il reddito dei fondi messi a disposizione dalla Fondazione «Marco Osella» l'Accademia decide di bandire il Premio per il 2008. Il Premio consisterà nell'iscrizione d'ufficio da parte dell'Accademia al XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona 15-18 giugno 2009), più un contributo di 1500 Euro come rimborso forfetario per spese di viaggio e permanenza per l'intera durata del Congresso medesimo.

La scadenza per la consegna della domanda e della documentazione richiesta è stata fissata al 30 settembre 2008. La Commissione esaminatrice, che verrà nominata dal Consiglio di Presidenza nella seduta precedente le Assemblee di novembre p.v., dovrà completare i lavori in tempo utile perché il vincitore del Premio possa essere proclamato nell'Assemblea Plenaria di febbraio 2009 con relativa consegna di quanto sopra indicato.

Il bando del concorso verrà tempestivamente e adeguatamente divulgato.

7) SITO WEB

Il vice Presidente M. SOLINAS evidenzia che il sito è poco aggiornato. La motivazione principale è rappresentata dalla scarsa partecipazione degli Accademici. Sono disponibili solo alcuni curricula e mancano quasi totalmente le dichiarazioni di assenso alla divulgazione dei dati personali. Il segretario Piero CRAVEDI informa che è in atto il trasferimento del sito dal server dell'Università di Perugia a quello dell'Università Cattolica. Verrà nuovamente inviata agli Accademici la richiesta del curriculum, possibilmente con foto tessera e il modulo (da restituire via fax) per l'autorizzazione del trattamento dei dati personali, secondo le norme vigenti in materia.

8) VARIE ED EVENTUALI

L'Accademico M. SOLINAS riferisce sulla sua programmata visita al prof. E.O. WILSON a Cambridge (MA), presso il Museum of Comparative Zoology della Harvard University, per presentare all'autorevole scienziato il nostro poliennale impegno di studio sulla Biodiversità, per discuterne cordialmente con lui e per avere da lui preziosi suggerimenti per il futuro, nonché per invitarlo a venire a Firenze per un seminario in Accademia e per una conferenza destinata a un pubblico più ampio presso l'Aula Magna dell'Università.

Il prof. WILSON ha accettato volentieri l'invito e comunicherà all'Accademia le sue disponibilità di tempo in modo da poter fissare (non prima del prossimo anno) il periodo della sua visita a Firenze e le date dei suoi interventi. Egli conclude il suo intervento con una breve presentazione dei due recenti libri di Wilson: «*Nature Revealed (Selected Writings, 1949-2006)*» e «*The Creation (An appeal to save the life on earth)*», omaggio dell'Autore per il Presidente e per il visitatore.

L'Assemblea prende atto.

L'Accademico Luigi DE MARZO interviene ricordando che sono trascorsi 25 anni dalla scomparsa del prof. Fiori e auspica che nel 2008 venga attuata qualche iniziativa di commemorazione.

Il Presidente ringrazia per la segnalazione e assicura che l'argomento verrà considerato dal Consiglio Direttivo.

L'Assemblea plenaria si conclude alle ore 10,00.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

SEDUTA PUBBLICA

Alle ore 10,15 il Presidente apre la seduta pubblica alla quale partecipano, oltre agli Accademici presenti alla precedente Assemblea plenaria, anche numerosi ricercatori e sperimentatori.

Il Presidente invita l'Accademica Carla MALVA a presentare l'introduzione sulla tematica accademica dell'anno:

«Genetica molecolare dello sviluppo degli insetti»

e la lettura:

*«Dalla Drosophila melanogaster agli insetti parassitoidi:
Processi diversi, meccanismi molecolari conservati».*

Segue un'interessante discussione con interventi, al termine della quale il Presidente ringrazia la Relatrice a nome di tutti i presenti.

La seduta è tolta alle ore 12,20.

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI

Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

Il giorno 23 febbraio 2008 alle ore 12.30, 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: A. ARZONE;

Ordinari: B. BACCETTI, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, B. GIORDANA, L. MASUTTI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, L. SANTINI, V. SBORDONI, M. SOLINAS, L. SÜSS, A. TRANFAGLIA;

Hanno giustificato la loro assenza gli Accademici *Emeriti:* M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* S. BARBAGALLO, G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, G. CELLI, R. DALLAI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, S. LONGO, M. MAZZINI, R. MONACO, R. POGGI, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI.

Viene discusso il seguente O. d. g.:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (24/11/07)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Esame e approvazione Conto consuntivo a.f. 2007
- 4) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE VERBALE DEL 24/11/07

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 24/11/07, già inviato a domicilio, e viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente, a norma di Statuto, comunica la situazione attuale dei posti liberi per nuovi Accademici: Ordinari, 0 (1 possibile, se arriveranno entro il 30 aprile/08 le nomine dei nuovi Accademici Ordinari, e dunque in tempo utile perché l'Accademico MAGNANO possa passare Emerito); Onorari, 0; Straordinari, 1 (possibili 2, se arriverà la nomina di MAGNANO entro il 30 aprile/08).

L'Assemblea prende atto.

3) ESAME E APPROVAZIONE A.F. 2007

Il Presidente invita il Tesoriere Roberto NANNELLI a presentare il Conto consuntivo per l'anno 2007. Il tesoriere legge le voci di entrata e di uscita e le illustra dettagliatamente.

Completata l'illustrazione e con la riserva del parere favorevole del Collegio dei Revisori che si riunirà nei prossimi giorni, non essendovi richieste di ulteriori chiarimenti, il Presidente pone in votazione il conto consuntivo 2007 che viene approvato all'unanimità e che verrà conservato agli atti ad acquisito parere del Collegio dei Revisori.

4) VARIE ED EVENTUALI

L'Accademico F. PENNACCHIO riferisce circa iniziative che sono all'esame per utilizzare al meglio nei corsi di dottorato le competenze presenti a livello nazionale in campo entomologico. Si sta pensando a proposte di percorsi formativi di riferimento, a una programmazione coordinata di attività formativa e all'organizzazione di un incontro annuale dei dottorandi e post-dottorati in Entomologia associandolo ad una seduta pubblica dell'Accademia.

Ciò consentirebbe un maggiore impatto delle attività culturali dell'Accademia e anche la possibilità di utilizzare eventuali risorse dei corsi di dottorato per invitare ospiti stranieri.

La seduta è tolta alle ore 13,15.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 6 - 7 GIUGNO 2008

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

SEDUTA PUBBLICA

Il giorno 6 giugno 2008 alle ore 15:30, presso la propria sede in via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della seduta Pubblica.

Sono presenti ai lavori gli Accademici:

Ordinari: B. BACCETTI, M. BOLOGNA, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, F. FRILLI, B. GIORDANA, L. MAGNANO, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, L. SANTINI, M. SOLINAS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI.

Straordinari: A. ALMA, P. BARONIO, M. COBOLLI, L. DE MARZO, G. GASPERI, S. MAINI, C. MALVA, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO.

Alla seduta pubblica sono presenti numerosi dottorandi, dottori di ricerca e docenti dei Dottorati internazionali che hanno partecipato al «1st Meeting of PhD Students and Post Doctoral Fellows» tenutosi nei giorni 5 e 6 giugno nell'ambito delle iniziative dell'Accademia. Oltre a numerosi ricercatori e studiosi ospiti dell'Accademia.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti:* A. ARZONE, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* S. BARBAGALLO, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. CELLI, R. DALLAI, G. DELRIO, A. GALVAGNI, A. MINELLI, G. OSELLA, R. POGGI, P.F. ROVERSI, V. SBORDONI, L. SÜSS, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI; *Onorari:* G. ALBERTI, J. TAUTZ, J.C. VAN LENTEREN; *Straordinari:* P.A. AUDISIO, A. BINAZZI, P. BRANDMAYR, M. MAROLI, M. OLM.

Il Presidente Baccio BACCETTI apre la seduta pubblica illustrando brevemente la tematica dell'anno:

«Genetica molecolare nello sviluppo degli insetti».

Quindi dà la parola all'Accademica Carla MALVA che presenta il relatore Miodrag GRBIC del Department of Biology, The University of Western Ontario, London N 6 A 5 B 7, Canada e introduce brevemente il tema della conferenza:

«Polyembryony in parasite wasps, evolution of a novel mode of development».

Alla conferenza segue una partecipata discussione.

Il testo della Lettura verrà pubblicato sugli Atti-Rendiconti 2008 dell'Accademia.

La Seduta Pubblica si conclude alle ore 17: 30.

<i>Il Segretario</i>	<i>Il Presidente</i>
Piero CRAVEDI	Baccio BACCETTI

ASSEMBLEA PLENARIA

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI

Il giorno 7 giugno 2008 alle ore 09:30, presso la propria sede in via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria.

Sono presenti ai lavori gli Accademici:

Ordinari: B. BACCETTI, S. BARBAGALLO, F. BIN, M. BOLOGNA, A. CASALE, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, F. FRILLI, L. MAGNANO, L. MASUTTI, R. NANNELLI, R. POGGI, P.F. ROVERSI, M. SOLINAS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI.

Straordinari: A. ALMA, A. BINAZZI, L. DE MARZO, C. MALVA, M. MAROLI, M. OLM, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti:* A. ARZONE, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. CELLI, R. DALLAI, G. DELRIO, A. GALVAGNI, B. GIORDANA, A. MINELLI, G. NUZZACI, G. OSELLA, L. SANTINI, V. SBORDONI, L. SÜSS, E. TREMBLAY, A. VIGNATAGLIANTI; *Onorari:* G. ALBERTI, J. TAUTZ, J.C. VAN LENTEREN; *Straordinari:* P.A. AUDISIO, P. BARONIO, P. BRANDMAYR, M. COBOLLI, G. GASPERI, S. MAINI.

Viene discusso il seguente O. d. g.:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (23/02/2008)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Consegna Diplomi nuovi Accademici Ordinari, Marco BOLOGNA, Luigi MAGNANO e Pio Federico ROVERSI.
- 4) Fauna d'Italia
- 5) XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona, 15-18 giugno 2009)
- 6) Sito Web
- 7) Varie ed eventuali

Il Presidente, prima di dare inizio ai lavori dell'Assemblea, rivolge un saluto agli Accademici ed esprime il suo apprezzamento per le giornate di studio dei giorni precedenti, 5 e 6 giugno, in cui i giovani ricercatori impegnati nei Dottorati di Ricerca hanno esposto le loro attività evidenziando il conseguimento di un elevato livello scientifico e ottima preparazione.

1) APPROVAZIONE VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (23/02/2008)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea plenaria del 23 febbraio 2008, già inviato a domicilio degli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE.

Il Presidente comunica che:

Il Collegio dei Revisori ha espresso in data 3 aprile 2008 il parere favorevole all'approvazione del Conto Consuntivo 2007.

Circa le pubblicazioni dell'Accademia. Il responsabile ufficiale, Accademico Roberto NANNELLI riferisce che il volume LV (2007) degli Atti-Rendiconti dell'Accademia è in fase avanzata di preparazione. Buona parte è già in bozze, ed è costituita dalle letture della giornata culturale di febbraio 2007 e delle principali letture presentate al XXI CNIE di Campobasso. Mancano però ancora i contributi della Tavola Rotonda del novembre 2007. Si confida di poter completare il volume entro settembre.

Per le attività culturali rivolte all'esterno, il prof. Stefano TURILLAZZI, Responsabile ufficiale della Scuola di Alta Formazione «Marcello La Greca», informa che è stato tenuto a Firenze il 12 aprile 2008 un corso di aggiornamento di «Allergologia e Dermatologia Entomologiche». Il corso è stato realizzato in collaborazione con la Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Clinica, con l'Ordine dei Medici Chirurghi e degli Odontoiatri della Provincia di Firenze e con la Cooperativa medici «Leonardo». Tra i relatori del corso figurano gli Accademici R. NANNELLI, P. ROVERSI, S. TURILLAZZI, M. MAROLI ai quali va il ringraziamento dell'Accademia.

Per l'anno prossimo (2009) è in programma il IV Corso di «Allergologia e Dermatologia Entomologiche» che si svolgerà in 3 giornate. La Società Italiana di Allergologia ed Immunologia Clinica è molto interessata al Corso ed evidenzia l'importanza di approfondire gli aspetti pratici della tematica.

Assieme al prof. Francesco PORCELLI e all'Accademico Giorgio NUZZACI è in fase di organizzazione un Corso di «Entomologia Forense» a Bari.

Da parte di un gruppo di medici di Infettivologia è stato manifestato interesse per un corso sugli insetti vettori. Appare presumibile che a breve si possa definire meglio l'iniziativa che potrebbe concretizzarsi in un corso analogo a quello di «Allergologia e Dermatologia Entomologiche».

In merito al «1st Meeting of PhD Students and Post Doctoral Fellows» il Presidente rinnova gli apprezzamenti già espressi all'inizio dell'Assemblea e invita l'Accademico Francesco PENNACCHIO a riferire in merito alle conclusioni del meeting. Il prof. PENNACCHIO informa che nella sera del 5 giugno si è tenuto tra i Responsabili l'incontro previsto per esaminare l'esito dell'iniziativa e definirne le modalità di un'auspicabile prosecuzione. Dalla discussione è emersa l'opportunità di promuovere un «Consorzio» internazionale fra i Dottorati di Ricerca attivati presso le varie Università. Il prof. PENNACCHIO preparerà un apposito documento di costituzione del «Consorzio» che dovrebbe essere sottoscritto dalle Università a cui i Dottorati afferiscono. Il Presidente ringrazia l'Accademico PENNACCHIO unitamente agli Accademici Franco FRILLI e Romano DALLAI e al prof. Andrea BATTISTI ha collaborato alacremente al buon esito dell'iniziativa. Esprime inoltre particolare riconoscenza all'Accademico Pio Federico ROVERSI e a tutti i suoi validi Collaboratori per il prezioso ed efficiente supporto organizzativo.

In merito alle attività culturali delle Sedute Pubbliche dell'anno accademico 2009, il Vicepresidente Mario SOLINAS avuta la parola, riferisce che è stata proposta dall'Accademico Pio Federico ROVERSI una tematica generale su: «*Biotechiniche e nuove frontiere nella difesa degli ecosistemi forestali*», della quale il medesimo presenterà a novembre prossimo (come di consueto) il relativo programma di svolgimento.

3) CONSEGNA DIPLOMI NUOVI ACCADEMICI ORDINARI

Il Presidente consegna i Diplomi di Accademici Ordinari ai neoeletti Marco BOLOGNA, Luigi MAGNANO e Pio Federico ROVERSI.

L'Assemblea si congratula con i neoeletti, accogliendoli con un caloroso applauso.

4) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente, l'Accademico Marco A. BOLOGNA, Segretario-Tesoriere del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, in assenza del Presidente Accademico Augusto VIGNA TAGLIANTI, prende la parola e riferisce sulla situazione.

In primo luogo, ricorda brevemente che negli ultimi giorni del Dicembre 2007 è stato stampato il volume 42, «Amphibia», che è ora in distribuzione presso l'Editore e presso il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM).

Fa inoltre presente che il volume 43 («Plecoptera», a cura di R. Fochetti, C. Ravizza e G.M. Tierno de Figueroa) è già da alcuni mesi presso l'editore, che ne sta predisponendo le bozze, e che il volume 44 («Mammalia» 2 – «Erinaceomorpha», «Soricomorpha», «Duplicidentata» e «Rodentia», a cura di G. Amori, L. Contoli e A. Nappi), ormai completato e revisionato dal Comitato, sarà consegnato all'Editore entro il mese di giugno. Il Comitato, prima di dare l'assenso per la stampa del volume 43 e per la composizione del volume 44, resta però in attesa del formale stanziamento dei finanziamenti per detti volumi da parte del MATTM, onde avere la certezza del sostegno finanziario. A seguito del cambio di Governo, il Ministro ha temporaneamente sospeso la firma di ogni attuazione di pagamento, ma, da contatti avuti con il Dirigente Dott. Sandro La Posta, entro pochi giorni il Direttore Generale, Dott. Cosentino, dovrebbe firmare gli atti necessari. Immediatamente dopo il Presidente VIGNA TAGLIANTI contatterà l'Editore per la stampa di entrambi i volumi, che quindi dovrebbero essere pubblicati entro il 2008.

5) XXII CONGRESSO NAZIONALE DI ENTOMOLOGIA (ANCONA 15-18 GIUGNO 2009).

Il prof. Nunzio ISIDORO, espressamente invitato, riferisce che il Congresso si svolgerà ad Ancona articolandosi su 3 giornate (15-16-17 giugno 2009) con sessioni parallele. La cena sociale è prevista per la sera del primo giorno (15/06/09). La gita sociale si effettuerà il quarto giorno (18/06/09) a Fabriano ove è prevista una visita alle interessanti Grotte di Frasassi.

Segue un'articolata discussione da cui emerge l'importanza di completare rapidamente la composizione del Comitato Scientifico e di definire alcune sessioni del Congresso. L'Accademico Michele MAROLI avanza la richiesta di dividere la vecchia sessione «Entomologia Merceologica, medico/veterinaria e urbana» in due sessioni: «Entomologia merceologica ed urbana» e «Entomologia medica, veterinaria e forense». Segue un'ampia discussione circa l'organizzazione delle sessioni parallele e l'opportunità di farle precedere tutte da altrettante letture plenarie. Vengono esaminate varie proposte e infine si concorda sulla opportunità di limitare il numero delle letture plenarie onde lasciare più spazio alle presentazioni orali e privilegiare i contributi dei ricercatori più giovani.

Per le decisioni relative alla scelta delle sessioni da tenersi in contemporanea, la programmazione delle letture plenarie e i criteri per la scelta delle presentazioni orali, decisioni particolarmente urgenti anche per poter fissare le scadenze di consegna dei titoli delle letture e dei riassunti delle presentazioni, oltre che per la prenotazione delle sale in cui si svolgerà il Congresso, ecc. viene incaricato il prof. ISIDIRO di organizzare in tempi brevi, possibilmente a Roma, una riunione dei Coordinatori delle diverse sessioni. Il Prof. Isidoro assicura che prenderà immediatamente contatti con questi ultimi per concordare detta riunione entro l'ultima settimana di giugno p.v.

6) SITO WEB

Il segretario Piero CRAVEDI riferisce che non è possibile trasferire il sito dal server dell'Università di Perugia al server dell'Università Cattolica in base a disposizioni interne a tale Ateneo. Egli pertanto provvederà in tempi brevi a trasferire il dominio www.accademiaentomologia.it presso un servizio pubblico Hosting di Piacenza a pagamento.

L'Assemblea prende atto ed approva.

7) VARIE ED EVENTUALI

L'Accademico Stefano TURILLAZZI segnala che il prossimo Congresso Europeo sullo studio degli insetti sociali previsto per il 2012 potrebbe essere affidato per l'organizzazione all'Italia. In questo caso il prof. TURILLAZZI chiede, alla nostra Accademia oltre al patrocinio anche il supporto alla gestione amministrativa in modo simile a quanto avviene per i Congressi Nazionali Italiani di Entomologia.

L'Assemblea prende atto ed esprime parere favorevole.

L'Accademico Sebastiano BARBAGALLO chiede il patrocinio per il XXXVII Congresso Nazionale «Biodiversità della Sicilia» (Catania 7-10 ottobre 2008) e per il prossimo Congresso Internazionale degli Afidologi (Catania - giugno 2009), nonché l'assenso a utilizzare l'espressione «il Congresso si terrà sotto gli auspici dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia».

L'Assemblea prende atto ed esprime parere favorevole.

L'Accademico Luigi MASUTTI informa che dal 16 al 19 ottobre 2008 si terrà a Taormina il III Congresso Nazionale di Selvicoltura. I coordinatori della sessione «Selvicoltura, Protezione delle foreste» sono i professori Andrea BATTISITI e Luigi MASUTTI.

L'Assemblea prende atto e si compiace.

L'Assemblea plenaria si conclude alle ore 11:10.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Piero CRAVEDI.

Alle ore 11:15 il Presidente apre la seduta alla presenza degli Accademici:

Ordinari: B. BACCETTI, S. BARBAGALLO, F. BIN, M. BOLOGNA, A. CASALE, M.V. COVASSI, P. CRAVEDI, F. FRILLI, L. MAGNANO, L. MASUTTI, R. NANNELLI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, M. SOLINAS, A. TRANFAGLIA, S. TURILLAZZI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti:* A. ARZONE, C. CONCI, E. MELLINI, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, S. RUFFO, S. ZANGHERIO; *Ordinari:* G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. CELLI, R. DALLAI, G. DELRIO, A. GALVAGNI, B. GIORDANA, G. NUZZACI, G. OSELLA, L. SÜSS, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI e gli *Onorari:* G. ALBERTI, J. TAUTZ, J.C.VAN LENTEREN.

Viene discusso il seguente O. d. g.:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (23/02/2008)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (23/02/2008)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 23 febbraio 2008, già inviato a domicilio, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente a norma di regolamento comunica che entro il 30 aprile 2008 a fronte di 1 posto disponibile per Accademico Ordinario e 2 posti per Accademico Straordinario è pervenuta la seguente proposta di nuovo Accademico per essere votata nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2008: proposta per Accademico Straordinario per il prof. Pietro Luciano, Ordinario di Entomologia Forestale e attuale preside della Facoltà di Agraria dell'Università di Sassari, presentata dagli accademici Ordinari Gavino DELRIO, Giorgio NUZZACI e Santi LONGO.

L'Assemblea prende atto.

3) VARIE ED EVENTUALI.

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Ordinaria è tolta alle ore 11:45.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 28 - 29 NOVEMBRE 2008

Presiede il Presidente prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario prof. Mario SOLINAS

SEDUTA PUBBLICA

Il giorno 28 novembre 2008 alle ore 15:30, presso la Tribuna di Galileo in Via Romana 17 a Firenze, ha inizio la seduta Pubblica.

Sono presenti ai lavori gli Accademici:

Ordinari: F. BIN, G. BRIOLINI, P. CRAVEDI, R. DALLAI, G. DELRIO, B. GIORDANA, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, M. SOLINAS, L. SÜSS, S. TURILLAZZI.

Straordinari: A. ALMA, M. COBOLLI, L. DE MARZO, G. GASPERI, C. MALVA, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO, O. TRIGGIANI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti:* A. ARZONE, A. MAGNANO, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* B. BACCETTI, S. BARBAGALLO, G. BOLCHI SERINI, M. BOLOGNA, A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, G. CELLI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, L. MASUTTI, S. LONGO, G. OSELLA, R. POGGI, V. SBORDONI, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI; *Onorari:*

H.L.G. STROYAN, J.C.VAN LENTEREN; *Straordinari:* P. BARONIO, A. BINAZZI, S. MAINI, M. MAROLI.

Tema della Tavola Rotonda:

«Genetica molecolare dello sviluppo degli insetti»

Il Vice-Presidente Mario SOLINAS, in sostituzione del Presidente Baccio BACCETTI, impossibilitato a partecipare, apre la seduta pubblica e in vita l'Accademica Carla MALVA a introdurre e coordinare i lavori.

– Accademica Carla MALVA – *Introduzione*

Si susseguono gli interventi:

- Prof. Giuseppe GARGIULO «Regolazione dell'espressione genica nell'oogenesi di *D. melanogaster*: i geni che codificano per le proteine della membrana vitellina»
- Prof. Giuliano CALLAINI «La spermatogenesi di *Drosophila*: un sistema modello per lo studio del ciclo cellulare»

Segue un'ampia e interessante discussione, al termine della quale la seduta si conclude alle ore 18:30.

I testi delle relazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2008 dell'Accademia.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

ASSEMBLEA PLENARIA

Presiede il Presidente Prof. Baccio BACCETTI
Segretario verbalizzante: il Segretario Prof. Piero CRAVEDI

Sabato 29 novembre 2008 alle ore 09:30, presso l'aula del Dipartimento di Biologia Animale e Genetica «Leo Pardi» in via Romana 17 a Firenze ha inizio la seduta plenaria

Sono presenti ai lavori gli Accademici:

Emeriti: F. PEGAZZANO.

Ordinari: B. BACCETTI, F. BIN, G. BOLCHI SERINI, G. BRIOLINI, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, L. MASUTTI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, M. SOLINAS, L. SÜSS, S. TURILLAZZI.

Straordinari: A. ALMA, P. BARONIO, A. BINAZZI, L. DE MARZO, G. GASPERI, S. MAINI, C. MALVA, M. MAROLI, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO, O. TRIGGIANI, M. VANNINI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti*: A. ARZONE, L. MAGNANO, M.M. PRINCIPI; *Ordinari*: S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, G. CELLI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, G. OSELLA, R. POGGI, V. SBORDONI, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI; *Onorari*: H.L.G. STROYAN, J.C.VAN LENTEREN; *Straordinari*: M. COBOLLI.

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (7 giugno 2008)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona, 15-17 giugno 2009)
- 4) Fauna d'Italia
- 5) Programma attività anno accademico 2009
- 6) Sito Web
- 7) Iniziative riguardanti i Dottorati di Ricerca
- 8) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE DEL VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (7 GIUGNO 2008)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea Plenaria del 7 giugno 2008, già inviato a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che:

- a) L'Accademico Onorario Martin LINDAUER è recentemente deceduto.
La triste notizia è stata comunicata dall'Accademico Onorario Jürgen TAUTZ. La scomparsa del prof. LINDAUER è una grave perdita per l'entomologia mondiale e per la nostra Accademia.
- b) Nei mesi scorsi è mancato anche il prof. Francesco LE MOLI entomologo noto per i suoi studi sugli insetti sociali.
Si auspica una sua commemorazione in occasione del prossimo Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona 2009).
- c) L'Accademico Sebastiano BARBAGALLO ha inviato informazioni sul «The 8th Symposium on Aphids» che si terrà a Catania dall'8 al 12 giugno 2009.
L'Accademia ha già concesso il patrocinio dell'Assemblea Plenaria del 7 giugno scorso. Le notizie riguardanti l'evento saranno inserite sul sito dell'Accademia.

L'Assemblea prende atto.

3) XXII CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA (ANCONA, 15-17 GIUGNO 2009)

Su invito del Presidente, il prof. Nunzio ISIDORO, espressamente invitato, prende la parola e riferisce che la prima circolare è già stata inviata.

Il Prof. ISIDORO informa che per quanto riguarda l'organizzazione del XXII Congresso Nazionale di Entomologia non ci sono novità rilevanti rispetto a quanto già riferito nell'ultima riunione dell'Accademia e che tutte le informazioni sono disponibili sul sito del Congresso. Per quanto invece attiene il Programma scientifico Il prof. ISIDORO informa che il Comitato scientifico del Congresso ha deciso le tematiche ed i relativi relatori delle tre letture plenarie riportate qui di seguito:

- 1) Problematiche sulla sindrome dello spopolamento e della mortalità degli alveari - prof. May R. BERENBAUM - Università dell'Illinois.
- 2) Recenti acquisizioni sull'analisi della anatomia funzionale del cervello degli insetti - prof. Nicholas J. STRAUSFELD - Università dell'Arizona.
- 3) Cambiamenti climatici ed insetti di nuova introduzione - prof. Alain ROQUES - INRA Zoologie Forestière - Olivet

I tre relatori stranieri invitati ufficialmente dal Presidente del Comitato organizzatore hanno già risposto di essere onorati di partecipare al XXII CNIE come relatori delle tre letture plenarie.

Il Prof. ISIDORO informa inoltre che il numero di iscritti finora è di circa 50 e che sta provvedendo ad inviare la seconda circolare del XXII CNIE con la quale solleciterà i colleghi ad iscriversi ricordando loro la scadenza del 31 gennaio 2009.

4) FAUNA D'ITALIA

Poiché sono assenti gli Accademici (Augusto VIGNA TAGLIANTI e Marco BOLOGNA) rappresentanti dell'Accademia in seno al Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia il Presidente rinvia la trattazione di questo argomento alla prossima Assemblea Plenaria

5) PROGRAMMA ATTIVITÀ ANNO ACCADEMICO 2009

Il Presidente, in base a quanto comunicato nell'Assemblea Plenaria del 7 giugno 2008 invita l'Accademico Pio Federico ROVERSI, a cui è stato affidato il compito di Coordinatore, a presentare la tematica che verrà trattata nel prossimo anno accademico e il relativo programma di svolgimento.

L'Accademico Pio Federico ROVERSI illustra che l'attività culturale 2009 sarà incentrata su «*Biotechniche e nuove frontiere nella difesa degli ecosistemi forestali*».

Nell'Assemblea Plenaria del 28 febbraio 2009 l'Accademico Pio Federico ROVERSI presenterà nei dettagli la tematica e terrà la lettura introduttiva.

In occasione del XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Ancona, 15-17 giugno 2009) la tematica verrà ripresa nella sessione di Entomologia Forestale.

La Tavola Rotonda che si terrà nella Seduta Pubblica del 27 novembre 2009 si articolerà su una lettura di carattere generale e altri sei interventi su tematiche specifiche.

Segue una breve discussione in cui l'Accademico Luigi MASUTTI evidenzia l'importanza di inserire tra i relatori entomologi giovani, ma già molto autorevoli, e chiede che l'elenco dei relatori e dei coautori venga definito con attenzione a coinvolgere gli specialisti dei vari settori.

L'Accademico Pio Federico ROVERSI apprezza i suggerimenti e si impegna a concordare e presentare a breve il programma definitivo al Consiglio di Presidenza

6) SITO WEB

Su invito del Presidente il Segretario Piero CRAVEDI informa che il dominio www.accademiaentomologia.it. È stato trasferito presso un servizio pubblico di Hosting ed è attivo. L'aspetto più

urgente appare essere il suo aggiornamento. Per questa attività si avvarrà della collaborazione del dott. Emanuele MAZZONI, ricercatore presso l'Istituto di Entomologia e patologia vegetale della facoltà di Agraria (U.C.S.C.) di Piacenza. Il dott. MAZZONI, espressamente invitato a partecipare all'Assemblea Plenaria per la trattazione di questo argomento, espone alcune particolarità tecniche del sito e le procedure per il suo aggiornamento.

Vengono concordate alcune modifiche che verranno apportate al più presto. Dalla discussione emerge che attualmente sul sito siano presenti i curricula di un numero limitato di Accademici.

Per aggiornare la situazione viene deciso di chiedere agli Accademici di verificare ed eventualmente aggiornare il loro curriculum se già presente sul sito oppure di inviarlo alla Segreteria entro breve tempo. Sarebbe auspicabile inserire anche una versione in lingua inglese e un breve elenco delle pubblicazioni che si ritengono più rappresentative dell'attività scientifica.

Agli accademici presenti viene chiesto di compilare il modulo di autorizzazione alla visualizzazione dei dati personali.

Gli accademici assenti potranno trovare copia del modulo sul sito e inviarlo tramite fax alla segreteria dell'Accademia.

7) INIZIATIVE RIGUARDANTI I DOTTORATI DI RICERCA

Su invito del Presidente l'Accademico Francesco PENNACCHIO riferisce che l'iter per la costituzione del Network internazionale per la promozione della formazione dei dottorandi di ricerca nel campo di «Insect Science» prosegue attraverso la sottoscrizione di un accordo da parte delle strutture interessate, fra cui sono presenti università, istituzioni di ricerca, l'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia e la Società Entomologica Italiana.

Si prevede di avere tale accordo pronto per la firma finale entro i primi mesi del 2009.

8) VARIE ED EVENTUALI

- Chiesta e ottenuta la parola l'Accademica Carla MALVA chiede informazioni circa il calendario delle Attività dell'Accademia nel 2009.

Risponde il Vice-Presidente Mario SOLINAS ricordando che le adunanze dell'Accademia si tengono regolarmente ogni anno nel sabato dell'ultima settimana di febbraio, nel venerdì e nel sabato della prima settimana di giugno e nel venerdì e nel sabato dell'ultima settimana di novembre.

Poiché nel 2009 si terrà il Congresso Nazionale Italiano di Entomologia ad Ancona le adunanze di giugno si terranno nell'ambito di tale importante evento secondo il programma in fase di completamento. Le altre adunanze si terranno invece, come di consueto, il 28 febbraio 2009 e il 27 e 28 novembre 2009.

- Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Michele MAROLI porta i saluti dell'Accademico Massimo MAZZINI ed informa i presenti che di recente ha partecipato, insieme ad altri ricercatori italiani, ad un workshop dal titolo «*Tick borne diseases: what is the risk and what we can do*», svoltosi il 20 ottobre 2008 a Varsavia. L'evento è stato promosso dall'Accademico M. MAZZINI, che attualmente, come tutti sanno, riveste il ruolo di «addetto scientifico» presso l'Ambasciata d'Italia a Varsavia.

Il workshop che è stato organizzato dalla Ambasciata Italiana in collaborazione con il «*National Institute of Public Health – PZH in Warsaw*», la *Faculty of Biology of the Warsaw University* e l'Istituto Italiano di Cultura in Varsavia, ha avuto un grande successo, costituendo non solo un «*updating*» sulle malattie trasmesse da zecche, ma anche un punto di incontro per future collaborazioni fra i due paesi.

L'Assemblea prende atto e si compiace.

L'Assemblea Plenaria si conclude alle ore 11:00.

SEDUTA PUBBLICA

Alle ore 11:00 il Presidente dichiara aperta la seduta. Oltre agli Accademici presenti all'Assemblea Plenaria partecipano altri Studiosi e Ricercatori ospiti dell'Accademia.

Il Presidente invita l'Accademico Luigi DE MARZO a presentare la lettura:

«Biodiversità della spermatica nei coleotteri»

Segue un'ampia discussione con numerosi interventi, al termine della quale il Presidente ringrazia il Relatore e coloro che sono intervenuti.

Il testo della lettura verrà pubblicato negli Atti-Rendiconti dell'Accademia.

La seduta si conclude alle ore 11:50.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Vice-Presidente Prof. Mario SOLINAS
Segretario verbalizzante: il Segretario Prof. Piero CRAVEDI

Alle ore 12:00 Il Vice-Presidente Mario SOLINAS, in sostituzione del Presidente Baccio BACCETTI, impossibilitato a partecipare, apre la seduta alla presenza degli Accademici:

Emeriti: F. PEGAZZANO.

Ordinari: F. BIN, G. BOLCHI SERINI, G. BRIOLINI, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, S. LONGO, L. MASUTTI, A. MINELLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, P.F. ROVERSI, L. SANTINI, M. SOLINAS, L. SÜSS, S. TURILLAZZI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici *Emeriti:* A. ARZONE, L. MAGNANO, M.M. PRINCIPI; *Ordinari:* B. BACCETTI, S. BARBAGALLO, M. BOLOGNA, A.M. BONVICINI PAGLIAI, A. CASALE, G. CELLI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, G. OSELLA, R. POGGI, V. SBORDONI, E. TREMBLAY, A. VIGNA TAGLIANTI; *Onorari:* H.L.G. STROYAN, J.C. VAN LENTEREN;

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (7 giugno 2008)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Esame e approvazione del bilancio preventivo anno finanziario 2009
- 4) Votazioni per elezione nuovo Accademico Straordinario
- 5) Votazioni per conferma Accademici Straordinari
- 6) Costituzione Commissione Premio «Marco Osella» 2008
- 7) Modifiche di Statuto
- 8) Varie ed eventuali

- 1) APPROVAZIONE DEL VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (7 GIUGNO 2008)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea ordinaria del 7 giugno 2008, già inviato a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Vice-Presidente Mario SOLINAS, in assenza del Presidente, comunica che l'Accademico Franco FRILLI, che ha ricoperto la carica di Vice Presidente fino al 24 novembre 2007, ha inviato in data 3 novembre 2008 una lettera di cui viene data lettura con cui informa che per l'attuale condizione della sua salute ha difficoltà negli spostamenti e chiede il passaggio alla categoria degli Accademici Emeriti, come previsto all'art. 8 dello Statuto dell'Accademia. Questa sua decisione viene motivata anche dalla convinzione di consentire un ricambio nell'Accademia offrendo opportunità a colleghi più giovani.

Il Vice-Presidente invita l'Assemblea a considerare con attenzione il contenuto della lettera dell'Accademico Franco FRILLI.

L'Assemblea prende atto delle decisioni dell'Accademico Franco FRILLI con i migliori auguri per la sua salute.

3) ESAME E APPROVAZIONE DEL BILANCIO PREVENTIVO ANNO FINANZIARIO 2009

Il Tesoriere presenta ed illustra il bilancio preventivo per l'anno 2009, assieme alla relazione favorevole del Collegio dei Revisori dei Conti. La documentazione è conservata agli atti. Dopo breve discussione l'Assemblea approva all'unanimità.

4) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVO ACCADEMICO STRAORDINARIO

Il Vice-Presidente verifica, come disposto dall'art. 13 dello Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari. Risultano presenti n. 18 Accademici Ordinari e n. 1 Accademico Emerito per cui il Vice Presidente dichiara non valida l'Assemblea e rinvia alla prossima adunanza le votazioni

5) VOTAZIONI PER CONFERMA ACCADEMICI STRAORDINARI

Per la mancanza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari la votazione per la conferma degli Accademici Straordinari viene rinviata alla prossima adunanza.

6) COSTITUZIONE COMMISSIONE PREMIO «MARCO OSELLA» 2008

Il Vice-Presidente informa che sono pervenute alcune candidature al Premio «Marco Osella 2008» ed è necessario deliberare in merito alla formazione della Commissione. Dopo breve discussione viene approvata la Commissione costituita dagli Accademici Ordinari Stefano TURILLAZZI, Pio ROVERSI e Francesco PENNACCHIO come Commissari effettivi e Giovanni BRIOLINI e Luciano SÜSS come supplenti. I lavori della Commissione dovranno procedere rapidamente in quanto il risultato dovrà essere comunicato all'Assemblea Plenaria del febbraio 2009 per consentire al vincitore di partecipare al XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia che si terrà ad Ancona dal 15 al 17 giugno 2009.

7) MODIFICHE DI STATUTO

Il Vice-Presidente illustra la proposta di modifica dello Statuto e del Regolamento dell'Accademia già inviati a domicilio. Segue un'articolata discussione a cui apportano importanti contributi gli Accademici Gavino DELRIO, Alessandro MINELLI e Giorgio NUZZACI. Tra le considerazioni emerse viene condivisa la preoccupazione per le conseguenze delle nuove nomine sul-

l'aumento del numero degli Accademici che si verrebbe a determinare in un periodo ristretto anche a seguito dell'abbassamento del limite di età per il passaggio degli Ordinari nella categoria degli Emeriti. Dalla discussione emerge l'importanza di prevedere disposizioni transitorie che consentano il passaggio graduale dalla situazione attuale a quella prevista dalle modifiche di Statuto in esame. Una copia dello Statuto e del Regolamento dell'Accademia con le modifiche proposte opportunamente evidenziate viene firmata nelle ultime pagine da tutti gli Accademici presenti e siglata, in tutte le 6 pagine, dal Vice-Presidente Mario SOLINAS e dal Segretario Piero CRAVEDI. Tale documento viene allegato al presente verbale (vedi allegato), ed essendo stato sottoscritto da più di un terzo dei membri aventi diritto risulta valido per essere sottoposto all'approvazione dell'Assemblea Ordinaria del febbraio 2009 a questo scopo convocata.

Il Vice-Presidente ricorda che per l'approvazione delle modifiche proposte è richiesto un numero di voti favorevoli non minore dei due terzi degli Accademici presenti. L'istituto della delega è ammesso. Ogni Accademico presente può avere una sola delega (art. 23).

6) VARIE ED EVENTUALI

Nessuna

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

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Baccio BACCETTI

Allegato

(Modifiche in rosso, testo aggiunto evidenziato, testo da eliminare in rosso evidenziato)

STATUTO
DELL'ACCADEMIA NAZIONALE ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
CON SEDE A FIRENZE

(Approvato con firma del Ministro per i Beni Culturali e Ambientali in data 8 aprile 1998)

ART. 1 - L'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, con sede in Firenze, fondata il 16 aprile 1950, eretta in Ente morale con D.P.R. 19 maggio 1954, n. 691, si prefigge lo scopo di promuovere lo sviluppo degli studi nell'Entomologia.

ART. 2 - Il patrimonio dell'Accademia è costituito dalla somma attuale di € (L. 75.000.000) e da ogni altro bene pervenuto successivamente da Enti e da privati.

ART. 3 - L'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia ha sede in Firenze presso l'ex Istituto Sperimentale per la Zoologia Agraria del C.R.A.

ART. 4 - L'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia comprende quattro categorie di Accademici: Ordinari, Emeriti, Straordinari e Onorari.

ART. 5 - Gli Accademici Ordinari, Emeriti e Straordinari debbono essere di nazionalità italiana. Gli Accademici Ordinari e Straordinari sono eletti fra coloro che si siano particolarmente distinti nello studio degli Insetti o di altre classi di Artropodi terrestri.

ART. 6 - Gli Accademici Onorari sono eletti fra studiosi che non facciano già parte dell'Accademia e che abbiano raggiunto chiara fama nel campo delle discipline entomologiche.

ART. 7 - Gli Accademici Ordinari possono raggiungere il numero massimo di 40 (quaranta), gli Straordinari di 20 (venti), gli Onorari di 10 (dieci).

ART. 8 - Gli Accademici Ordinari, al raggiungimento dell'75° anno di età, entrano nella categoria degli Emeriti.

Questa opportunità è data, a richiesta degli interessati, anche agli altri Accademici Ordinari ai quali per motivi di forza maggiore è impedita la normale partecipazione alla vita ordinaria dell'Accademia.

Gli Accademici Emeriti conservano tutte le prerogative degli Ordinari, ma non sono tenuti a partecipare attivamente alla vita dell'Accademia; pertanto, ai fini del risultato delle votazioni, essi verranno computati solo se presenti.

ART. 9 - Gli Accademici Ordinari ed Emeriti hanno voto deliberativo, quelli Straordinari hanno voto consultivo. Gli Accademici Onorari non prendono parte alle votazioni.

ART. 10 - Gli Accademici Ordinari, Emeriti e Onorari sono nominati a vita; gli Straordinari sono nominati per un quinquennio e possono essere confermati alla scadenza di questo. La conferma per il nuovo quinquennio avviene per votazione a scrutinio segreto da parte dell'Assemblea ordinaria contemporaneamente per tutti gli Accademici straordinari interessati, di norma nella seduta precedente la scadenza del quinquennio maturato.

Gli Accademici Straordinari riconfermandi alla scadenza del terzo quinquennio, vengono considerati prioritariamente eleggibili quali Accademici Ordinari. Se il numero degli eletti fosse superiore ai posti disponibili, le proposte di nomina ad Accademico Ordinario verranno inviate al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali man mano che detti posti si renderanno disponibili, seguendo l'ordine del maggior numero di voti ottenuti e, in caso di parità, la maggiore età anagrafica.

ART. 11 - Organi dell'Accademia sono: l'Assemblea ordinaria, l'Assemblea plenaria, il Consiglio di Presidenza, il Presidente, il Vice-Presidente, il Segretario, il Tesoriere, eletti dall'Assemblea ordinaria fra i suoi componenti. Il Presidente, il Vicepresidente, il Segretario e il Tesoriere formano il Consiglio di Presidenza, durano in carica tre anni e possono essere confermati.

Al Presidente che abbia ricoperto la carica per tre mandati consecutivi, spetta il titolo di Presidente Emerito, con diritto alla partecipazione con voto al Consiglio di Presidenza.

Gli Accademici Ordinari, Emeriti e Straordinari costituiscono l'Assemblea plenaria dell'Accademia; gli Accademici Ordinari ed Emeriti costituiscono l'Assemblea ordinaria. Questa è valida quando vi partecipa la maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari. Gli Accademici Onorari possono partecipare alle assemblee senza incidere sul numero legale delle medesime. Il Presidente è responsabile legale degli atti dell'Accademia; convoca e presiede le riunioni delle Assemblee e del Consiglio di Presidenza.

Il Vice-Presidente fa parte del Consiglio di Presidenza e, in caso di impedimento o assenza del Presidente, lo sostituisce in tutte le sue funzioni.

Il Segretario dell'Accademia redige il processo verbale delle adunanze delle Assemblee e del Consiglio di Presidenza e collabora con il Presidente, il Vice-Presidente e il Tesoriere.

Il Tesoriere cura l'amministrazione economico-finanziaria dell'Accademia e predispone tutti gli atti relativi da sottoporre alla firma del Presidente.

Il Consiglio di Presidenza collabora col Presidente, istruisce e predispone le riunioni dell'Accademia e adotta provvedimenti urgenti di ordinaria amministrazione da sottoporre successivamente all'approvazione dell'Assemblea ordinaria.

ART. 12 - L'elezione di nuovi Accademici Ordinari, Straordinari e Onorari ha luogo per votazione in un'Assemblea ordinaria.

Le proposte di candidatura per la nomina degli Accademici di queste tre categorie sono fatte per iscritto da almeno tre Accademici Ordinari o Emeriti; dovranno essere motivate e accompagnate da una breve relazione sui meriti scientifici e accademici del candidato; detti meriti saranno inoltre illustrati all'Assemblea, prima della votazione, da uno degli Accademici proponenti.

Ciascuna proposta di nomina dovrà pervenire al Presidente dell'Accademia entro il mese di aprile.

ART. 13 - Le votazioni per l'elezione dei nuovi Accademici vengono fatte una volta l'anno e, di norma, nell'ultima seduta.

L'adunanza è valida solo se vi partecipa la maggioranza assoluta degli ordinari.

I nomi dei candidati all'elezione sono resi noti dal Presidente nel corso della seduta dell'Assemblea ordinaria che precede quella in cui sono indette le elezioni.

Le votazioni si fanno a scrutinio segreto. Sono eletti coloro che abbiano riportato la maggioranza assoluta dei voti dei presenti. Se il numero di posti disponibili è minore di quello degli eletti, saranno nominati Accademici coloro che hanno riportato il maggior numero di voti, ferma restando la priorità prevista all'art. 10 c.2.

ART. 14 - Gli Accademici Ordinari sono nominati con decreto del Presidente della Repubblica su proposta del Ministro per i Beni Culturali e Ambientali; gli Accademici Emeriti, Straordinari e Onorari sono nominati con decreto del Presidente dell'Accademia.

ART. 15 - L'adunanza per l'elezione del Presidente, del Vice-Presidente, del Segretario e del Tesoriere è valida se vi partecipa la maggioranza assoluta degli Accademici ordinari.

L'elezione avviene a scrutinio segreto e a maggioranza assoluta dei voti dei presenti.

ART. 16 - L'Assemblea ordinaria che procederà alle votazioni di cui al precedente art. 15 è convocata dal Presidente o, in sua vece, dal Vice-Presidente, almeno un mese prima della scadenza del triennio.

ART. 17 - L'anno accademico e l'anno finanziario decorrono dall'1 (uno) gennaio.

Per ogni triennio l'Assemblea ordinaria nomina tra i suoi membri, ma al di fuori del Consiglio di Presidenza, due Revisori dei Conti effettivi e uno supplente.

Il Ministro dei Beni Culturali e Ambientali nomina a sua volta un terzo Revisore dei Conti effettivo.

ART. 18 - Le somme provenienti dall'alienazione dei beni, da lasciti, da donazioni o che per qualsivoglia titolo siano da destinare all'incremento del patrimonio e che non siano investite in immobili devono, salvo il disposto del secondo comma del presente articolo, essere impiegate in titoli nominativi di Stato o garantiti dallo Stato, o presso Casse di Risparmio o Istituti di Credito. Ogni altro diverso impiego delle somme di cui sopra deve essere preventivamente autorizzato secondo le norme vigenti per gli acquisti da parte di Enti Morali.

ART. 19 – Le somme necessarie alle esigenze dell'Accademia devono essere depositate a interesse presso Casse di Risparmio ordinarie o Istituti di Credito.

Dell'osservanza delle disposizioni di cui all'articolo precedente e al primo comma del presente articolo è personalmente responsabile il Presidente dell'Accademia.

ART. 20 – L'Assemblea plenaria viene convocata almeno due volte all'anno: entro il mese di aprile per l'approvazione del conto consuntivo dell'anno precedente ed entro il mese di novembre per l'approvazione del bilancio preventivo. Il bilancio preventivo ed il conto consuntivo sono predisposti dall'Accademico Tesoriere.

Nella prima di tali sedute, il Presidente, o altro Accademico da lui a ciò designato, rende conto dell'attività svolta dall'Accademia nell'anno precedente.

ART. 21 – Il Presidente può convocare in via straordinaria adunanze dell'Assemblea plenaria e di quella ordinaria presso la sede dell'Accademia, presso altre istituzioni scientifiche o in altra sede ritenuta idonea e opportuna.

Allo stesso modo l'Assemblea ordinaria può essere convocata quando ne faccia richiesta almeno un quinto degli Accademici ordinari ed emeriti.

Alle adunanze dell'Assemblea plenaria possono essere invitati a partecipare studiosi e personalità. Tali assemblee possono essere pubbliche.

ART. 22 – Spetta al Presidente dell'Accademia di vigilare e disciplinare la pubblicazione degli scritti dell'Accademia.

ART. 23 – Il presente Statuto non può essere modificato se non quando, a seguito di proposta sottoscritta da almeno un terzo dei membri aventi diritto, l'Assemblea degli Accademici Ordinari ed Emeriti, a questo scopo convocata, approvi le modifiche proposte con un numero di voti favorevoli non minore dei due terzi del numero degli Accademici presenti.

Per l'approvazione delle modifiche di Statuto è ammesso l'istituto della delega. Ogni Accademico presente può avere una sola delega.

L'adunanza dell'Assemblea non è valida se non vi prendono parte almeno i due terzi degli Accademici Ordinari, comprese eventuali deleghe.

ART. 24 – Entro il mese di maggio di ogni anno il Presidente trasmette al Ministero dei Beni Culturali e Ambientali una relazione sull'attività svolta dall'Accademia nell'anno precedente.

ART. 25 – Per quanto non previsto dal presente Statuto si fa riferimento alle norme di legge vigenti e ai principi generali dell'ordinamento giuridico italiano.

ART. 26 – Le modalità di applicazione del presente Statuto sono stabilite da un Regolamento interno di funzionamento.

DISPOSIZIONI TRANSITORIE

Le nomine degli Accademici Ordinari, Emeriti, Straordinari e Onorari avvenute anteriormente all'entrata in vigore del presente Statuto si intendono confermate a tutti gli effetti.

Per gli attuali Accademici Straordinari la conferma secondo le modalità di cui all'Art. 10 avverrà allo scadere del quinquennio in corso alla data di entrata in vigore del presente Statuto.

Null'altro essendovi da deliberare e nessuno avendo chiesto la parola, il Presidente dichiara sciolta l'Assemblea, essendo le ore 13 (tredici).

Questo atto, scritto a macchina da persona di mia fiducia ed in parte di mia mano su circa undici pagine di tre fogli è stato da me Notaro letto, in Assemblea, al comparsa, che lo ha approvato.

Firmati: BACCIO BACCETTI FILIPPO DE MARTINO NORANTE NOTARO

REGOLAMENTO
DELL'ACCADEMIA NAZIONALE ITALIANA DI ENTOMOLOGIA
CON SEDE A FIRENZE

(Proposte di modifica al testo Approvato in Adunanza ordinaria il 31 maggio 1997)

REGOLAMENTO DELL'ACCADEMIA NAZIONALE ITALIANA DI ENTOMOLOGIA

ART. 1 – I verbali delle adunanze sono raccolti in apposito registro con pagine numerate.

ART. 2 – Nei casi di impedimento a partecipare alle adunanze o di vacanza del Presidente ne fanno le veci il Vice-Presidente o, in caso di assenza anche di quest'ultimo, l'Accademico ordinario o emerito più anziano di nomina o, a parità di anzianità di nomina a ordinario, il più anziano di età presente.

ART. 3 – Nei casi di impedimento a partecipare alle adunanze o di vacanza del Segretario ne fanno le veci il Tesoriere o, in assenza anche di questo e qualora non intervenga un'apposita deliberazione da parte dei presenti all'adunanza, l'Accademico Ordinario più giovane di età.

ART. 4 – Spetta ai soli Accademici Ordinari ed Emeriti proporre modificazioni al Regolamento dell'Accademia. A tale fine il Presidente, ricevuta la proposta di modifica, la comunica ai membri Ordinari ed Emeriti e la pone all'ordine del giorno dell'adunanza successiva.

Le proposte di modificazione del Regolamento che abbiano riportato un numero di voti favorevoli non inferiore ai due terzi degli Accademici Ordinari ed Emeriti presenti all'adunanza dovranno essere considerate approvate e verranno quindi trasmesse al Ministero competente per i provvedimenti relativi.

ART. 5 – La maggioranza assoluta di un'Assemblea con numero dispari di partecipanti si ottiene aumentando di uno detto numero e dividendo poi per due.

ART. 6 – L'elezione del Presidente, del Vice-Presidente, del Segretario e del Tesoriere, visti gli articoli 15 e 16 dello Statuto, avviene a mezzo di schede distinte sulle quali è scritta in precedenza la carica Accademica posta in votazione. Su tali schede verrà apposto il cognome del prescelto. Qualora fra gli eleggibili vi siano Accademici con lo stesso cognome, sulla scheda verrà indicato anche il nome del prescelto.

Gli scrutatori sono nominati dal Presidente dell'Assemblea.

L'avvenuta nomina del Presidente sarà comunicata al Ministero competente perché ne prenda atto.

ART. 7 – Il Presidente rende nota la disponibilità di posti nelle varie categorie, nel corso della prima seduta annuale dell'Assemblea ordinaria.

Le proposte di candidatura per la nomina degli Accademici, ai sensi dell'art.

12 dello Statuto, sono valide solamente quando vi siano posti liberi nella categoria cui le candidature medesime si riferiscono alla data del 30 aprile.

Per le proposte relative agli Accademici Ordinari, vanno considerati prioritariamente gli Accademici Straordinari nominati da almeno un quinquennio.

ART. 8 – L'elezione degli Accademici Ordinari, Onorari e Straordinari avviene a mezzo di schede, sulle quali sono scritti in precedenza il cognome e il nome del candidato proposto per una determinata categoria, e sulle quali verrà indicata l'espressione del voto.

Se il numero dei posti disponibili è inferiore a quello dei candidati, la votazione si effettuerà con unica scheda sulla quale saranno indicati il numero dei posti disponibili e i nomi e cognomi di tutti i candidati. Ogni votante potrà esprimere preferenze in numero pari o inferiore a quello dei posti disponibili,

pena l'invalidazione della scheda. In ogni caso, per essere eletto, ciascun candidato dovrà ottenere la maggioranza assoluta dei voti dei presenti.

Saranno nominati Accademici (nei limiti della disponibilità di posti) coloro che abbiano riportato il maggior numero di voti.

Nel caso previsto dall'art. 10 c. 2 dello Statuto, alle votazioni per Accademico Ordinario verranno prioritariamente ammessi gli Accademici Straordinari riconfermandi alla scadenza del terzo quinquennio.

In caso di parità di voti:

- per gli Accademici Ordinari viene data priorità all'eventuale appartenenza all'Accademia in qualità di Accademico Straordinario e alla durata di appartenenza; in caso di ulteriore parità, viene data priorità al più anziano di età;
- per gli Accademici Straordinari viene data priorità al candidato più anziano di età.

In caso di necessari e ripetuti rinvii delle votazioni, esse vengono svolte separatamente per i candidati presentati entro il mese di aprile di ogni anno (v. ART. 12, §3 dello Statuto), ad iniziare da quello più remoto.

Il Presidente, nell'ultima adunanza accademica dell'anno, informerà l'Assemblea ordinaria degli eventuali passaggi di Accademici Ordinari alla categoria degli Accademici Emeriti.

Il passaggio di questi ultimi per limiti di età verrà proclamato direttamente in Assemblea ordinaria. I passaggi a richiesta, ai sensi dell'art. 8 §2 dello Statuto, se unanimemente accolti dal Consiglio di Presidenza, verranno anch'essi comunicati direttamente in Assemblea ordinaria; in caso contrario verranno sottoposti al parere dell'Assemblea ordinaria che si esprimerà con votazione a scrutinio segreto.

La proclamazione degli Accademici Ordinari eletti avverrà nella seduta plenaria successiva alla comunicazione dell'avvenuta approvazione della nomina da parte del Capo dello Stato.

La proclamazione degli Accademici Onorari e Straordinari avverrà nella seduta plenaria successiva alla loro elezione.

ART. 9 - Ai nuovi Accademici Ordinari, Onorari e Straordinari spetta, oltre al diploma di nomina, una copia dello Statuto e del Regolamento dell'Accademia.

ART. 10 - Il Presidente, nella prima seduta plenaria dell'anno accademico, rende noti i nomi degli Accademici Straordinari che matureranno nell'anno il quinquennio di appartenenza alla categoria (evidenziando quelli al terzo quinquennio di scadenza), per i quali l'Assemblea ordinaria dovrà provvedere alle votazioni per l'eventuale conferma. Questa avverrà tenendo particolarmente conto dell'impegno scientifico, dell'interesse e della partecipazione attiva dei confermandi alla vita dell'Accademia.

ART. 11 - Il Presidente dell'Accademia cura la convocazione delle adunanze, appone il visto a tutte le note delle spese firmate dal Tesoriere che debbono essere trasmesse all'Istituto di Credito prescelto per accettare i depositi dell'Accademia, presiede le adunanze, sottoscrive gli atti delle medesime redatti dal Segretario, le lettere di nomina e di affari, tiene conto, con il Tesoriere, dei beni e degli effetti dell'Accademia.

ART. 12 - In caso di prolungata assenza o impedimento del Presidente e del Vice-Presidente sono autorizzati alla firma l'Accademico Ordinario più anziano di nomina nella sua categoria o altro Accademico Ordinario o Emerito formalmente designato dagli Accademici riuniti in Assemblea ordinaria.

In caso di prolungata assenza o impedimento del Tesoriere sono autorizzati alla firma il Segretario o altro Accademico Ordinario o Emerito formalmente designati dall'Assemblea ordinaria.

ART. 13 - Il Presidente e il Tesoriere amministrano il patrimonio e le rendite

dell'Accademia, sottoponendo all'approvazione dell'Assemblea ordinaria ogni atto che non riguardi l'ordinaria amministrazione dell'Accademia.

ART. 14 – Il servizio di cassa dell'Accademia è affidato a una Cassa di Risparmio o ad altro Istituto di Credito di diritto pubblico, il quale deve assumere anche la custodia dei titoli e la riscossione degli eventuali contributi.

Tutte le entrate sono iscritte in conto corrente a interesse e le riscossioni si effettuano sempre dall'Istituto per mezzo di reversali d'incasso firmate dal Tesoriere e controfirmate dal Presidente.

Anche i pagamenti sono ordinati ed eseguiti dall'Istituto che disimpegna il servizio di cassa esclusivamente per mezzo di mandati firmati dal Tesoriere e controfirmati dal Presidente.

Dei mandati di pagamento emessi è tenuta nota in un registro di emissione.

Per le minute spese provvede il Tesoriere su apposita anticipazione fissata dal Presidente.

ART. 15 – Il Consiglio di Presidenza, presieduto dal Presidente e composto dal Vice-Presidente, dal Segretario e dal Tesoriere è convocato dal Presidente ogni qualvolta egli lo ritenga utile per il buon andamento dell'Accademia e, di norma, per la predisposizione delle Assemblee.

ART. 16 – Agli Accademici Emeriti e a quelli che ne facciano richiesta verranno rimborsate a piè di lista le spese sostenute e documentate per la partecipazione alle assemblee dell'Accademia.

Marie Lhiney

[Handwritten signatures and names:]

Gualtiero
Piero Cravetti
Fausta Pagarano
Roberto Neri
B. Goidane
Giovanni
Giuseppe
Greenio & Brindini
Alline
Per Elio Rovere
Maurizio Mignatti
Stefano Tulliani
no. 6

Tavole rotonde su
GENETICA MOLECOLARE DELLO SVILUPPO DEGLI INSETTI

Coordinatore: CARLA MALVA, Accademica

GENETICA MOLECOLARE DELLO SVILUPPO DEGLI INSETTI

CARLA MALVA (*)

(*) Istituto di Genetica e Biofisica, via Pietro Castellino 111, Napoli; e-mail: malva@igb.cnr.it
Tematica oggetto delle Sedute pubbliche dell'Accademia tenute nell'Anno accademico 2008.

«Dobbiam fare le meraviglie come i Naturalisti tentato non abbiano intorno quello soggetto (lo sviluppo) alcune sperienze nella famiglia degli insetti; giacché abbiám luogo di presumere che non sarebbero senza esito.

C. Bonnet «Contemplazione della Natura»

Nel corso delle riunioni del 2008 abbiamo discusso alcuni aspetti della genetica molecolare dello sviluppo degli insetti. In questo campo di studio, l'applicazione delle tecniche di manipolazione genetica, sviluppate in un insetto modello, il moscerino della frutta *Drosophila melanogaster*, associate alla grande mole di conoscenze disponibili sulla embriologia comparata e sulla filogenesi degli insetti, stanno permettendo di fare rapidi progressi in campi fino ad ora inesplorati ad un livello molecolare. Le presentazioni sono state impregnate sull'osservazione che i meccanismi di risposta delle cellule a stimoli endogeni o esogeni sono conservati nel corso dell'evoluzione e sono usati reiteratamente negli organismi di una stessa specie in processi diversi. Un numero relativamente piccolo di queste vie di segnalazione controlla una straordinaria diversità di risposte e decisioni chiave che, nelle delicate cascate di eventi che regolano lo sviluppo di un organismo, portano alla acquisizione di destini cellulari diversi. I componenti principali di queste cascate di trasduzione di segnali: recettori, molecole adattatrici, attivatori trascrizionali, complessi enzimatici attivatori-inibitori, sono evolutivamente e funzionalmente conservati dagli insetti all'uomo.

Come primo esempio ho usato il mio stesso lavoro sperimentale in cui, dallo studio dello sviluppo e dell'oogenesi della *D. melanogaster*, sono approdata alla analisi delle basi molecolari delle interazioni fisiologiche fra alcuni braconidi parassitoidi ed i loro ospiti. Nel corso di questi ultimi studi, soprattutto in quelli relativi a *Toxoneuron nigriceps* e al polydnavirus ad esso associato (TnBV), svolti in collaborazione con i gruppi

diretti da E. Tremblay e F. Pennacchio, abbiamo scoperto che il parassitoide, per alterare molti processi biologici vitali del suo ospite, quali ad esempio lo sviluppo e la risposta immunitaria, usa molecole molto simili a quelle descritte in *Drosophila* ed anche nei mammiferi. Fra esse, le proteine cactus-IκB, inibitori dei fattori di trascrizione della famiglia NFκB, sono simili a quelle che in *Drosophila* controllano una serie di processi biologici fondamentali, tra cui lo stabilirsi dell'asse dorso-ventrale dell'embrione e la risposta antimicrobica, ma sono troncate e mancano di alcuni siti attivi nella regolazione della risposta da essi controllata. Esse competono con le molecole endogene dell'insetto ospite, in quanto simili, ma, non avendo più la loro attività biologica, alterano vie di trasduzione del segnale importanti per la sopravvivenza dell'ospite. Da questi studi emerge che non soltanto sono conservate le vie di segnalazione che regolano le risposte cellulari mediate dai fattori di trascrizione NFκB, dagli insetti ai mammiferi, ma anche le strategie utilizzate dai patogeni e parassiti per interferire con l'attivazione di questi fattori nei loro ospiti. Infatti proteine simili agli inibitori cactus-IκB del TnBV sono state trovate nel genoma di altri polydnavirus, ma anche in altri virus dei vertebrati che mostrano efficienti strategie di soppressione della risposta immunitaria.

Un altro interessantissimo esempio di conservazione evolutiva di molecole implicate nei processi di sviluppo è stato presentato e discusso da Miodrag Grbic del Department of Biology, University of Western Ontario, Canada. Grbic studia le strategie e modalità di embriogenesi in alcuni parassitoidi nei quali si osserva una delle più interessanti e peculiari soluzioni adattative sviluppate da parassiti animali: la poliembrionia. La maggior parte degli studi sono stati compiuti sull'insetto parassitoide poliembrionico *Copidosoma floridanum* che parassitizza il notturno *Trichoplusia ni*, e forma, da un singolo uovo, fino a 2000 embrioni che daranno origine ad individui differenziati in caste.

Lo sviluppo embrionale del *C. floridanum* differisce drammaticamente da quello degli altri insetti. Il *Copidosoma* depone uova piccole e senza vitello, circondate da un sottile corion. La prima divisione dell'uovo è totale e dà luogo alla formazione di due blastomeri, la seconda crea un blastomero piccolo e altri tre uguali tra di loro e di grandezza maggiore. La cellula piccola è diversa dalle altre cellule e non condivide con esse lo stesso destino cellulare. Questo si è potuto dimostrare studiando l'espressione del gene *vasa* identificato prima in *D. melanogaster* e poi in altri insetti. La proteina codificata da questo gene è una RNA elicasi e in *Drosophila* è implicata nella specificazione della linea germinale. Il gene *vasa* è stato isolato in *Copidosoma* e si è osservato che è trascritto nelle cellule nutrici dell'ovario. La proteina materna Vasa in *Copidosoma* si localizza in modo asimmetrico nell'uovo e durante l'embriogenesi risulta invariabilmente localizzata solo nel blastomero piccolo e successivamente nel gruppo delle cellule figlie che da esso derivano, suggerendo che queste cellule rappresentano una specifica linea cellulare, la linea germinale, da cui si formeranno le gonadi.

È quindi veramente stupefacente che la presenza o assenza di una proteina possa decidere il destino riproduttivo e, come conseguenza, un diverso destino di casta.

È molto importante che nel corso dello sviluppo controlli stringenti modulino trascrizione, traduzione e processi post-traduzionali, localizzazione asimmetrica e segregazione delle molecole, per garantire la presenza di specifici messaggeri e proteine, sia con funzione di regolazione che strutturale, nel posto giusto ed al momento giusto. Un esempio di regolazione spaziale e temporale molto preciso è rappresentato dal controllo della espressione dei geni che codificano per le proteine della Membrana Vitellina (VM), che, insieme al corion, costituisce il guscio dell'uovo di *Drosophila melanogaster*. Questo tema è stato presentato e discusso da G. Gargiulo, del Dipartimento di Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna.

La formazione del guscio dell'uovo richiede la sintesi coordinata di differenti componenti proteiche nelle cellule follicolari della camera ovarica. Le proteine sono successivamente secrete nello spazio extracellulare situato tra le cellule follicolari e la superficie dell'uovo, dove possono andare incontro a tagli proteolitici e a trasporto selettivo. Infine esse si aggregano in complessi sopramolecolari insolubili attraverso la formazione di legami covalenti che coinvolgono specifici domini proteici. I geni che codificano per le varie componenti della membrana vitellina sono espressi coordinatamente verso la fine dell'oogenesi

tra lo stadio 8 e lo stadio 10, con una specifica sequenza temporale correlata alle funzioni svolte dalle singole proteine.

Mentre quasi tutti i geni VM sono espressi in tutto l'epitelio follicolare, il gene chiamato *VM32E*, che è l'ultimo in ordine temporale ad essere trascritto, ha una peculiare localizzazione del messaggero che si trova solo nelle cellule follicolari colonnari laterali e mai in quelle anteriori e posteriori.

Solo dopo che il messaggero è stato tradotto e la proteina secreta, questa si muove ai poli dell'uovo ed assume una distribuzione uniforme. Quindi, per motivi ancora sconosciuti, è necessario che la proteina *VM32E* sia presente ai due poli solo alla fine del processo di sintesi delle altre proteine VM e appena prima dell'assemblaggio irreversibile del guscio. Questo peculiare profilo di espressione spaziale e temporale si ottiene attraverso l'attività di varie proteine di controllo della trascrizione, che agiscono su specifiche sequenze bersaglio, presenti nel promotore del gene *VM32E*.

Quindi la proteina *VM32E* sembra svolgere un ruolo molto peculiare non solo nella formazione e costruzione del guscio dell'uovo, ma anche nei processi di localizzazione ed intrappolamento di segnali materni che, secreti durante l'oogenesi, saranno attivati con la fertilizzazione e saranno determinanti per la formazione degli assi di simmetria dell'embrione ed il suo corretto sviluppo.

In *Drosophila* non solo l'oogenesi ma anche la spermatogenesi rappresenta un ottimo modello sperimentale che permette di sezionare processi biologici fondamentali, primo tra tutti la regolazione del ciclo cellulare. Giuliano Callaini, del Dipartimento di Biologia Evolutiva dell'Università di Siena, si interessa da tempo dei processi di duplicazione dei centrioli e dei centrosomi nella divisione meiotica durante la spermatogenesi, particolarmente adatta allo studio dei processi di formazione del fuso e della citodieresi. La meiosi nei maschi di *D. melanogaster* manca, infatti, di «checkpoints». Questo consente alle cellule di proseguire nel ciclo cellulare anche se compaiono difetti di organizzazione del fuso, dei centrosomi o dell'allineamento dei cromosomi. Quindi si può studiare il ruolo di specifici geni regolatori attraverso l'effetto che specifiche mutazioni a loro carico producono sulla duplicazione e segregazione dei centrosomi. La funzione delle differenti componenti dei centrosomi si studia in condizioni in cui si producono fusi con centrosomi multipli o fusi monopolari. Con esperimenti di immunolocalizzazione si possono inoltre localizzare questi differenti componenti nei vari distretti del fuso e nelle varie fasi delle divisioni cellulari, avendo così informazioni utili per la loro funzione.

In conclusione, lo studio della gametogenesi in *Drosophila* permette di dissezionare processi biologici fondamentali quali la regolazione della espressione genica tessuto-specifica e la regolazione del ciclo cellulare, qui brevemente riassunti e approfonditamente discussi nelle riunioni accademiche 2008, ma anche il mantenimento e rinnovo delle cellule staminali, la comunicazione intercellulare tra linea germinale e linea somatica, l'acquisizione di destini cellulari diversi, la generazione ed il mantenimento della polarità negli epiteli, i meccanismi di migrazione cellulare e di conversione di cellule epiteliali in cellule migratorie invasive, l'apoptosi, il traffico nucleo-citoplasmatico, il trasporto e la localizzazione asimmetrica di RNA e proteine.

Per finire, riallacciandomi alla frase premonitrice del Bonnet del 1773 riportata all'inizio, se studiando la *D. melanogaster* si sono scoperti meccanismi di regolazione dello sviluppo così efficienti e precisi, immaginiamo quali meraviglie potranno scaturire dallo studio, ad un livello molecolare e con le sofisticate metodologie oggi disponibili, della incredibile diversità di stili di vita, modalità riproduttive, processi di sviluppo e forme degli insetti. Questo futuro è già cominciato e ogni giorno si chiariscono nuovi meccanismi e vengono prodotti tanti nuovi dati: quanto discusso nel 2008 in Accademia fornisce un interessante contributo in questo ambito di conoscenza.

FROM *D. MELANOGASTER* TO INSECT PARASITOIDS: DIFFERENT PROCESSES, CONSERVED MOLECULAR MECHANISMS

CARLA MALVA (*)

(*) Istituto di Genetica e Biofisica, via Pietro Castellino 111, Napoli; malva@igb.cnr.it
Lettura tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 23 febbraio 2008.

From D. melanogaster to insect parasitoids: different processes, conserved molecular mechanisms

Several parasitic wasps, when ovipositing in host insects, inject factors that disrupt their physiology, development and immune reaction. Among these factors, the polydnviruses (PDVs), obligate symbionts of the parasitoids, play a pivotal role in successful parasitism. We have shown that the genome of the polydnvirus associated with *Toxoneuron nigriceps* (TnBV) codes for truncated forms of Cactus/I κ B-like proteins. In *Drosophila*, Cactus regulates the nuclear import of various NF- κ B/Rel proteins, which are transcription factors controlling embryonic dorso-ventral patterning and antimicrobial response. Insect immune response shares many components with the mammalian innate immunity, including the intracellular signaling pathways that activate NF- κ B. The viral cactus-like proteins may act as dominant inhibitors leading to the cytoplasmic retention of NF- κ B/Rel proteins, thus providing a molecular mechanism accounting for the impairment of insect immune response induced by parasitoids.

We discuss the role of Cactus/I κ B molecules as an example of the reiterated use of intracellular signaling pathways conserved during evolution.

KEY WORDS: *Drosophila melanogaster*, developmental genetics, insect parasitoids, polydnviruses, immune response.

THE *CACTUS* GENE IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

a) establishment of Dorsal-Ventral axis

Antero-Posterior (A/P) and Dorsal-Ventral (D/V) axis formation of the *Drosophila* embryo is established during oogenesis and requires reciprocal cell signaling between germline (oocyte and nurse cells) and somatic follicle cells in the egg chamber (SPRADLING, 1993; FULLER and SPRADLING, 2007). The first visible asymmetry during the egg chamber development is the positioning of the oocyte posteriorly in the germline cyst (Fig. 1) and this early event plays a key role in the establishment of both major body axes. The posterior localization of the oocyte relative to the nurse cells in the egg chamber allows a reciprocal cross-talk between the oocyte and the few follicle cells that contact it. The key signaling pathway is composed of the ligand Gurken (Grk), the transforming growth factor α (TGF α) homologue, present in the oocyte, and its receptor, the epidermal growth factor receptor homologue (Egfr-top), expressed by all somatic follicle cells (CLIFFORD and SCHUPBACH, 1992; ROTH *et al.*, 1995; GONZALEZ-REYES *et al.*, 1995). A large number of factors regulate or amplify the signal generated by this ligand/receptor interaction, leading the follicle cells adjacent to the oocyte to adopt a posterior

fate. Signaling from the follicle cells back to the oocyte induces the reorganization of the cortical cytoskeleton and the polarization of the microtubule network whose plus ends become directed toward the posterior pole. As a consequence, *grk* mRNA, associated with the oocyte nucleus, moves towards the future dorsal-anterior corner of the oocyte, where the newly translated Grk protein acts as dorsalizing signal (Fig. 2a). At the same time, the microtubule network is also involved in the intracellular transport of a large number of RNA and protein molecules establishing the A-P axis (Fig. 2b, c).

The induction of D-V polarity in the follicular epithelium triggers differential gene activity in the dorsal and ventral sides which, in turns, shapes the egg shell, chorion and vitelline membrane, constructed by the follicle cells around the oocyte (see GARGIULO in this volume). This polarity is visibly marked by the chorion appendages, located in a dorsolateral position of the egg.

The differential expression of genes in the ventral part of the follicular epithelium also produces extraembryonic signals secreted only in the ventral regions of the perivitelline space. These signals, once activated, promote the inductive process that establishes the D-V polarity of the embryo (MOUSSIAN and ROTH, 2005).

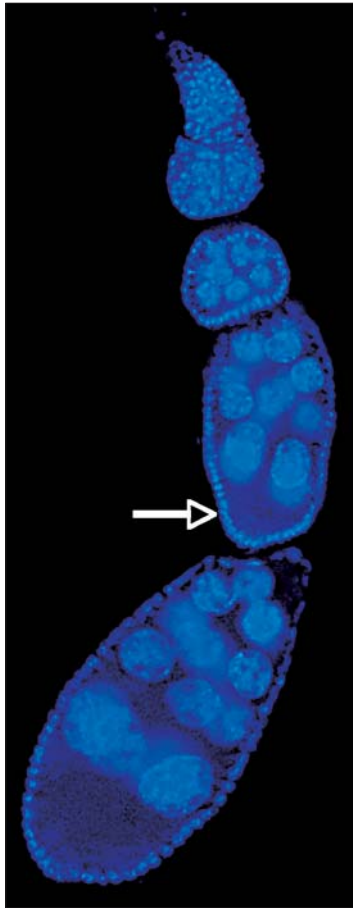


Figure 1
Wild type *D. melanogaster* ovariole stained with DAPI to mark nuclei. Egg chambers from wild type females were stained with DAPI and analyzed by conventional epifluorescence. Arrow indicates the posterior position of the oocyte in the egg chamber.

The first step of this process consists in the ventral activation of a protease cascade culminating in the production of an active ligand for a membrane receptor called *Toll*. Ventral *Toll* activation is transduced into the embryo by adaptor proteins and kinases leading to phosphorylation and degradation of the protein Cactus (Cact), which is the inhibitor of the NF- κ B transcription factor called Dorsal (Dl). (Scheme I). Cactus belongs to the family of I κ B proteins, characterized by the presence of multiple ankyrin domains able to bind one or more NF- κ B/rel family members (ROTH *et al.*, 1991, MOUSSIAN and ROTH, 2005). Upon Cactus phosphorylation and degradation, Dorsal is released, becoming able to enter the nucleus and activate zygotic genes required for ventral cell fate specification.

b) Immune response

The NF κ B signaling system has been conserved to operate on divergent genes in many different species (GHOSH *et al.*, 1998; SILVERMAN and MANIATIS, 2001). In *Drosophila*, beside embryonic D-V patterning, the I κ B protein Cactus, interacting with a set of NF- κ B related transcription factors belonging to the Rel family, regulates

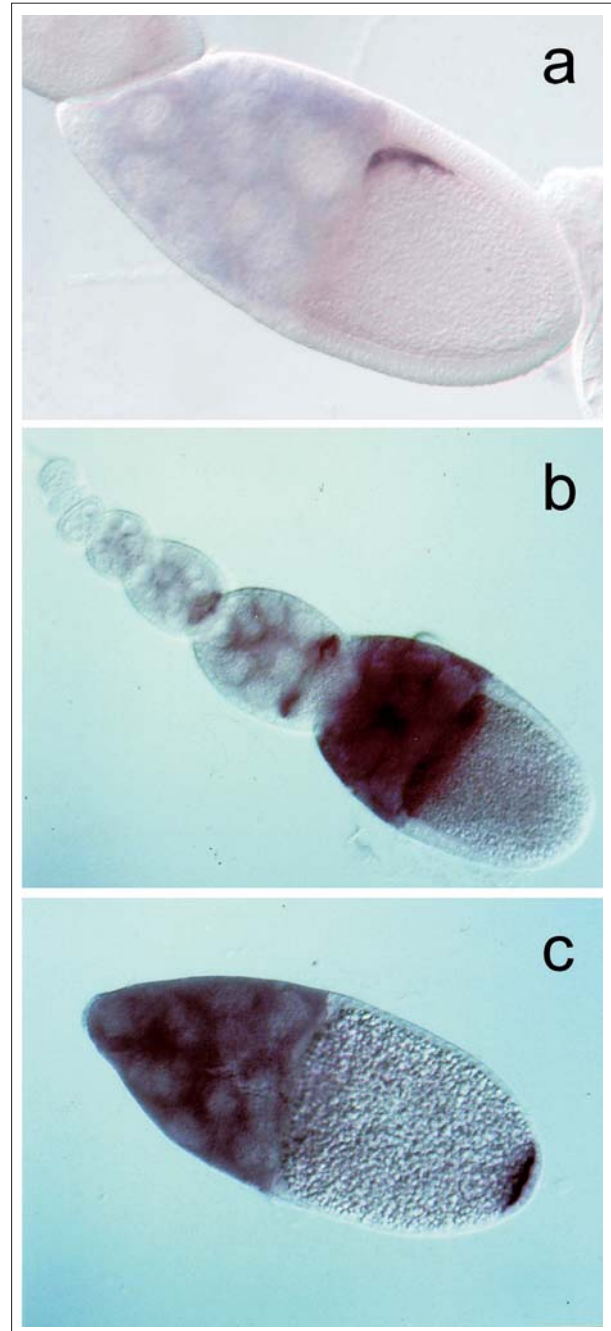
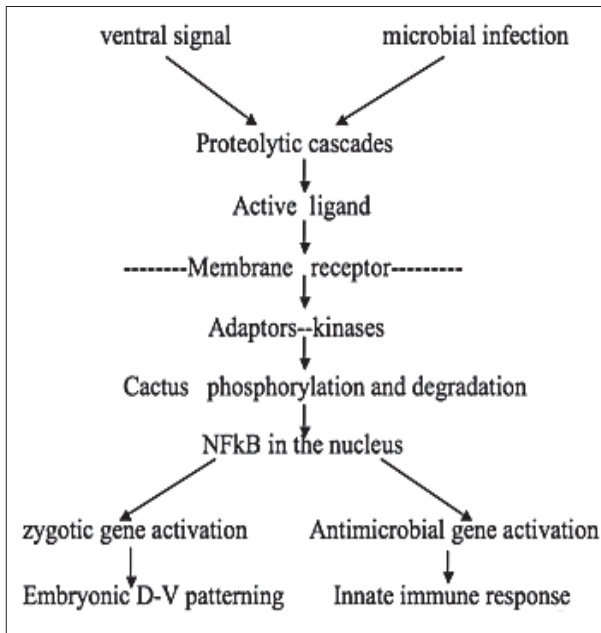


Figure 2
In situ hybridization experiments on wild type *D. melanogaster* egg chambers showing the mRNA localization of *grk* (a), linked to the oocyte nucleus at the dorsal anterior corner, *bicoid* (b), localized anteriorly, and *oskar* (c) in the posterior part of the growing oocyte.

multiple cellular responses, including the anti-microbial defences operated by the innate immune system (HOFFMANN and REICHHART, 2002;). The *Drosophila* genome encodes three Rel proteins, sharing a Rel-homology domain, which consists of a conserved region of 300-amino-acid (aa) that is responsible for dimerization and DNA binding.

These proteins are Dorsal, described above in D-V patterning of the embryo, Dorsal-related



Scheme 1

A simplified scheme of the NFκB pathways regulating the Dorso-Ventral embryonic patterning and the adult antimicrobial response.

Immunity Factor (DIF) and Relish (WU and ANDERSON, 1998). Of these three Rel proteins, DIF is the main transactivator of a large number of genes encoding Drosomycin and other antifungal and anti-bacterial peptides directed against Gram-positive pathogens. The Relish protein is upregulated upon bacterial infection and is mainly involved in the defensive reactions against Gram-negative bacteria leading to the transcription of genes coding for the antibacterial peptides Diptericin, Cecropin, Drosocin and Attacin. Relish is not inhibited by Cactus, but carries by itself ankyrin repeat domains located in the C terminal region (HOFFMANN, 2003).

This short summary obviously represents a huge oversimplification of the complex process of immune response in insects, which involves cross talks between the different pathways, concomitant activation of multiple pathways and multiple responses (FERRANDON *et al.*, 2007).

THE CACTUS-LIKE ANK GENES OF PARASITOIDS

In parallel with our study of *Drosophila* development, several years ago we begun a constructive collaboration with the groups directed by E. Tremblay and F. Pennacchio on the insect parasitoid *Toxoneuron nigriceps* (Viereck) (Hymenoptera, Braconidae) and its associated polydnavirus (TnBV).

Several parasitic wasps, when ovipositing in host insects, inject factors that disrupt their physiology,

development and immune reaction. Among these factors, the polydnaviruses (PDVs), obligate symbionts of the parasitoids, play a pivotal role in successful parasitism. Polydnaviruses are integrated as proviruses in the genome of the parasitoids and vertically transmitted through the germline. The viral particles contain circular DNA segments of different particles sizes, which excise and replicate in the epithelium of the ovarian calyx and are injected in the host's body at oviposition. The viruses enter various target tissues, where they express a set of genes redirecting host physiology, thus allowing parasitoid development (for a review see PENNACCHIO and STRAND, 2006).

To contribute to the study of the molecular bases of host-parasitoid interactions in insects, the strategy we pursued was based on the sequencing of the TnBV genome and on the characterisation of the viral genes expressed in the host. We found that, among other genes (FALABELLA *et al.*, 2003, MALVA *et al.*, 2004, PROVOST *et al.*, 2004), the TnBV genome contained three genes, located in two DNA circles of 10.5 and 4.7 kb (Fig. 3), coding for proteins showing an average 30%

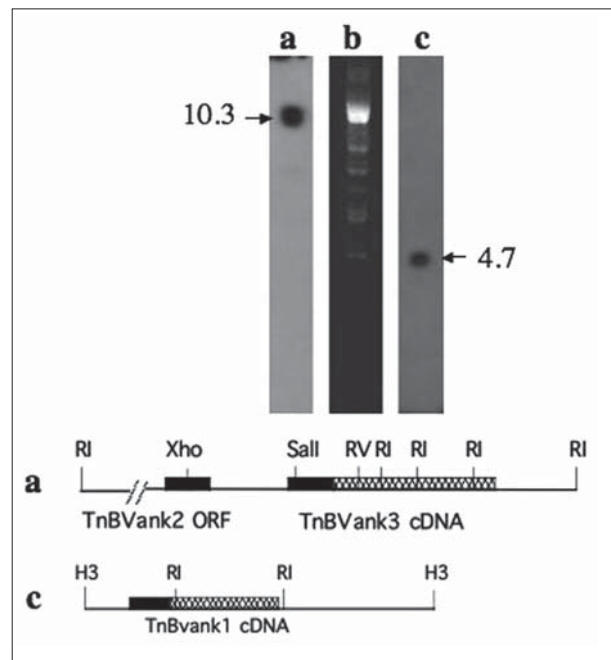


Figure 3

Mapping of *ank* genes on the TnBV genome. Southern blot experiments on undigested TnBV DNA using as probes TnBVank3 (a) and TnBVank1 (c) cDNAs. In (b) the ethidium bromide stained gel of undigested TnBV DNA is shown to indicate the correspondence between the hybridization signals and the DNA circles of the TnBV genome.

Below the gels are indicated the linear maps of two circles of the TnBV genome, circle 10.3 of 10,292 bp and circle 4.7 of 4,734 bp, where, by sequence analysis, the TnBVank genes have been identified. Circle 10.3 contained both TnBVank2 and TnBVank3 genes while circle 4.7 contained TnBVank2. The Southern blot experiments identified a band of 10.3 kb with the TnBVank3 probe (a) and of 4.7 kb with the TnBVank1 cDNA, which experimentally confirmed the sequence data.

identity with Cactus and other I κ B proteins from several species. We called these genes TnBVank1, 2 and 3 (FALABELLA *et al.*, 2007). As described above, in *Drosophila*, Cactus regulates multiple cellular responses activated by the nuclear import of various NF- κ B/Rel proteins, which control embryonic D-V patterning and antimicrobial response. This central role of Cactus/I κ B proteins in the regulation of key signaling pathways prompted us to characterise the structure of the viral genes and their expression pattern in parasitized hosts. In Fig. 4 the structure of the predicted TnBVank proteins is schematically reported and compared to that of *Drosophila* Cactus and mammalian I κ B α and I κ B β . All viral proteins are small, ranging between 146 and 194 aa, and consist of 3 ankyrin repeats. Notably, unlike other I κ B homologue proteins, the viral proteins do not contain the conserved N-terminal motif and the relative serine residues recognized by the I κ B kinase (IKK), which triggers Cactus/I κ B phosphorylation and degradation. Furthermore, none of the viral proteins contains the C-terminal PEST domain, present in the other Cactus/I κ B proteins, correlated with rapid protein turnover.

The transcription profile of the three TnBV genes showed that two genes, TnBVank1 and TnBVank3, are expressed very early after parasitization in the haemocytes of *H. virescens* larvae and, at much lower level, in the thorax, which contains abundant fat body, known to be targeted by TnBV. Thus, the transcription profiles are consistent with a possible role of TnBVank genes in the suppression of the host immune response shortly after parasitization.

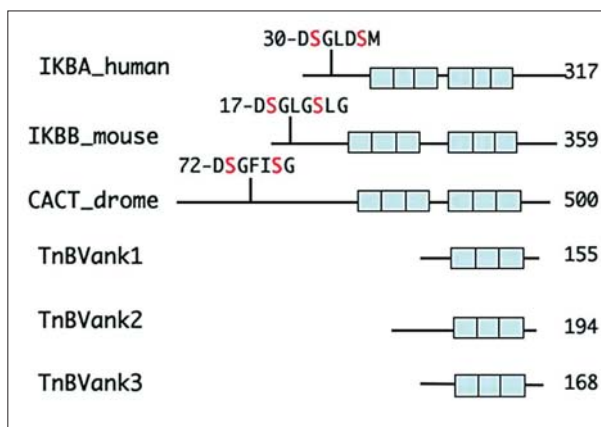


Figure 4

Structure of the putative TnBV ank proteins. Schematic representation of the proteins encoded by TnBVank genes, compared with *Drosophila* Cactus, human I κ B α and mouse I κ B β . The small boxes correspond to the ankyrin repeats and the short amino acid sequences reported are the IKK target region. Numbers on the right indicate the length of each protein.

The predicted sequence of the viral truncated Cactus-like proteins suggests that they might bind to NF- κ B/Rel transactivators, competing with endogenous host I κ B proteins. Since they cannot be phosphorylated, they would behave as dominant inhibitors, retaining the transactivators in the cytoplasm and disrupting a number of cellular pathways in parasitized hosts.

We tested this model with different approaches and we observed that NF- κ B/Rel cellular pathways are disrupted in parasitized *H. virescens* larvae, thus providing a molecular mechanism accounting for the parasitoid-induced impairment of host immune defences (FALABELLA *et al.*, 2007).

Given the conservation of the Cactus/I κ B structure and function, we decided to test if the viral cactus-like genes act out of the parasitized host context. We used the powerful *Drosophila* transformation system that allows conditional and tissue specific expression of any gene of interest (BRAND and PERRIMON, 1993). We produced *Drosophila* transgenic lines carrying the TnBVank1 gene and intend to investigate if the expression of this viral gene in different tissues may affect *Drosophila* development and/or immune response.

In conclusion we described a mechanism for the impairment of NF- κ B/Rel functions, mediated by the TnBV-encoded I κ B-like proteins, which plays a central role in the cyto-pathological effects induced in the host during parasitization. This conclusion is strongly supported by the fact that similar genes have been described in other bracoviruses and also in ichnoviruses (KROEMER and WEBB, 2005). In addition, some viruses of vertebrates (REVILLA *et al.*, 1998) appear to use similar strategies to manipulate the NF- κ B pathways and disrupt the immune response of infected organisms.

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to thank all the components of my group who have collaborated to this work in the course of the years, especially Silvia Gigliotti, who is continuing the projects on insect parasitoids after my retirement. Special thanks to E. Tremblay, who introduced me to the world of parasitoids with an immense entomological culture, passion, open mind and humanity. He strongly supported the collaboration with F. Pennacchio, bringing together two separated worlds, and allowed us, with the exchange of different expertises, to achieve significant progress in our common efforts to understand the molecular mechanisms of parasitization in insects.

RIASSUNTO

DALLA DROSOPHILA MELANOGASTER AGLI INSETTI PARASSITOIDI: PROCESSI DIVERSI, MECCANISMI MOLECOLARI CONSERVATI.

Molti insetti parassitoidi, all'atto di depositare l'uovo nel loro insetto ospite, iniettano in esso fattori che ne alterano la fisiologia, lo sviluppo e la risposta immunitaria. Tra questi fattori i polydnavirus (PDV) sono simbionti obbligati dei parassitoidi e sono indispensabili per il successo della parassitizzazione. Noi abbiamo dimostrato che il genoma del polydnavirus associato al *Toxoneuron nigriceps* (TnBV) codifica per forme troncate di proteine appartenenti alla famiglia Cactus/IκB. In *Drosophila*, Cactus regola l'importo nucleare di varie proteine appartenenti alla famiglia NFκB/Rel, che sono fattori di trascrizione che controllano una serie di processi biologici fondamentali, tra cui lo stabilirsi dell'asse dorso-ventrale dell'embrione e la risposta antimicrobica. La risposta immunitaria degli insetti ha molte tappe in comune con la immunità innata dei mammiferi, compresa la via intracellulare di trasduzione del segnale che attiva NFκB. Le proteine virali ank, simili a proteine cactus-IκB troncate, potrebbero funzionare come inibitori dominanti che, mantenendo intrappolate nel citoplasma proteine della famiglia NF-κB/Rel dell'ospite, ne alterano la risposta immunitaria. Il ruolo delle proteine Cactus/IκB sarà discusso come un esempio dell'uso reiterato di vie di trasduzione di segnali molto efficienti e conservate nel corso dell'evoluzione.

REFERENCES

- BRAND A., PERRIMON N., 1993 – *Targeted gene expression as a means of altering cell fates and generating dominant phenotypes*. - Development, 118: 401-415.
- CLIFFORD R., SCHUPBACH T., 1992 – *The torpedo (DER) receptor tyrosine kinase is required at multiple times during Drosophila embryogenesis*. Development, 115: 853-872
- FALABELLA P., VARRICCHIO P., GIGLIOTTI S., TRANFAGLIA A., PENNACCHIO F., MALVA C., 2003 – *Toxoneuron nigriceps polydnavirus encodes a putative aspartyl protease highly expressed in parasitized host larvae*. - Insect Molecular Biology, 12: 9-17
- FALABELLA P., VARRICCHIO P., PROVOST B., ESPAGNE E., FERRARESE R., GRIMALDI A., DE EGUILEOR M., FIMIANI G., URSINI M.V., MALVA C., DREZEN J.M., PENNACCHIO F., 2007 – *Characterization of the IkappaB-like gene family in polydnviruses associated with wasps belonging to different Braconid subfamilies*. - J. Gen. Virol., 88: 92-104.
- FERRANDON D., IMLER J., HETRU C., HOFFMANN J., 2007 – *The Drosophila systemic immune response: sensing and signaling during bacterial and fungal infections*. - Nature, 7: 862-874.
- FULLER M.T., SPRADLING A.C., 2007 – *Male and female Drosophila germline stem cells: two versions of immortality*. Science 316 (5823).
- GONZALES-REYES A., ELLIOT H., ST JOHNSTON D., 1995 – *Polarization of both major body axes in Drosophila by gurken-torpedo signalling*. - Nature, 375: 654-658.
- GHOSH S., MAY M. J., KOPP E. B., 1998 – *NF-κB and Rel proteins: evolutionarily conserved mediators of immune responses*. - Annu. Rev. Immunol., 16: 225-260.
- HOFFMANN J.A., REICHHART J.M., 2002 – *Drosophila innate immunity: an evolutionary perspective*. - Nat. Immunol., 3: 121-126.
- HOFFMANN J.A., 2003 – *The immune response of Drosophila*. - Nature, 42: 33-38.
- KROEMER J.A., WEBB B.A., 2005 – *IκB-related vankyrin genes in the Campoletis sonorensis ichnovirus: temporal and tissue-specific patterns of expression in parasitized Heliothis virescens lepidopteran hosts*. - J. Virol., 79: 7617-7628.
- MALVA C., VARRICCHIO P., FALABELLA P., LA SCALEIA R., GRAZIANI F., PENNACCHIO F., 2004 – *Physiological and molecular interaction in the host-parasitoid system Heliothis virescens-Toxoneuron nigriceps: current status and future perspectives*. - Insect Bioch. Mol. Biol., 34: 177-183.
- MOUSSIAN B., ROTH S., 2005 – *Dorsoventral Axis Formation in the Drosophila Embryo: Shaping and Transducing a Morphogen Gradient*. - Current Biology, 15: 887-899.
- PENNACCHIO F., STRAND M. R., 2006 – *Evolution of developmental strategies in parasitic hymenoptera*. - Annu. Rev. Entomol., 51: 233-258.
- PROVOST B., VARRICCHIO P., ARANA E., ESPAGNE E., FALABELLA P., HUGUET E., LA SCALEIA R., CATTOLICO L., POIRIÉ M., MALVA C., OLSZEWSKI J.A., PENNACCHIO F., DREZEN J.M., 2004 – *Bracoviruses contain a large multigenic family coding for Protein Tyrosine Phosphatases*. - J. of Virology, 78: 13090-13103.
- REVILLA, Y., CALLEJO, M., RODRIGUEZ, J. M., CULEBRAS, E., NOGAL, M. L., SALAS, M. L., VINUELA, E. FRESNO, M., 1998 – *Inhibition of Nuclear factor κB activation by a Virus-encoded IκB-like protein*. -The Journal of Biological Chemistry, 273: 5405-5411.
- ROTH S., HIROMI Y., GODT D., NUSSLEIN-VOLHARD C., 1991 – *Cactus a maternal gene required for proper formation of the dorsoventral morphogen gradient in Drosophila embryos*. - Development, 112: 371-388
- SILVERMAN N., MANIATIS T., 2001 – *NF-κB signaling pathways in mammalian and insect innate immunity*. - Genes Dev., 15: 2321-2342.
- SPRADLING A.C., 1993 – *Developmental genetics of oogenesis*. In: *Drosophila Development*. - (Eds. M. Bate and A. Martinez-Arias). Cold Spring Harbor Press, CSH, N.Y., pp. 1-70.
- WU L.P., ANDERSON K.V., 1998 – *Regulated nuclear import of Rel proteins in the Drosophila immune response*. - Nature, 392: 93-97.

EVOLUTION OF POLYEMBRYONIC DEVELOPMENT IN PARASITIC WASPS

MIODRAG GRBIC' (*)

(*) *Department of Biology, University of Western Ontario, London N6A 5B7, Canada*
Lettura tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 6 giugno 2008.

Evolution of polyembryonic development in parasitic wasps

Major developmental innovations have been associated with adaptive radiations that have allowed particular groups of organisms to occupy empty ecospace. However, an understanding of the evolutionary forces and molecular mechanisms behind developmental novelties still remains tenuous. A little studied adaptive radiation in insects from the developmental perspective is the evolution of parasitism. The parasitic lifestyle has allowed parasitic insects to occupy a novel ecological niche where they have evolved a plethora of life history strategies and modes of embryogenesis, developing on or within the body of the host. One of the most striking adaptations to development within the body of the host includes polyembryonic development, where certain wasps form clonally up to 2000 embryos from a single egg. Taking advantage of well-established insect phylogeny, techniques developed in a model insect, the fruit fly, and a wealth of knowledge in comparative insect embryology, we are starting to tease apart the evolutionary events that have led to this novel mode of development in insects.

KEY WORDS: embryogenesis, evolution of parasitism, molecular mechanisms.

INTRODUCTION

Polyembryonic development represents the formation of multiple embryos from a single zygote. The accidental form of polyembryonic development, where an individual egg occasionally forms multiple embryos, has been described in almost all animal groups studied to date (OLSEN 1962; STANSFIE, 1968; KAUFMAN, 1982; LAALE, 1984; ASHWORT *et al.*, 1998). This accidental form of polyembryony suggests that eggs of otherwise monoembryonic species have the regulative capacity to generate multiple embryos. On the other hand, obligatory polyembryonic development, where a single zygote of certain species invariably produces multiple embryos, is a relatively rare event in metazoans, but quite frequent in plants (SHAANKER and GANESHAIAH, 1996; CARMAN, 1997). In metazoans, obligatory forms of polyembryonic development are present in both vertebrates and invertebrates. Species exhibiting polyembryonic development are scattered in multiple phyla including Cnidaria, Platyhelminthes, Arthropoda, Bryozoa, Echinodermata and Chordata (reviewed in CRAIG *et al.*, 1997). It should be noted that in certain groups, the source of clones is not the embryo but the larva, as in all described cases of polyembryony in the phyla Cnidaria and Echinodermata, and in Cestodea and Trematoda (Platyhelminthes) and Crustacea (Arthropoda) (NOBLE *et al.*, 1989; SHOSTAK, 1993; GLENNER and HOEG, 1995; JAECKLE, 1994).

The focus of this review is obligatory polyembryony in insects that arises by embryonic cloning. The term *polyembryony* denotes both the developmental process, and the form of reproduction. Developmental processes include complex cellular and molecular events whereby multiple embryos form clonally from a single zygote. In addition, polyembryony refers to a unique form of reproduction in which a single egg results in multiple progeny, maximizing the reproductive capacity of the species and increasing its fitness. Along with its ecological and reproductive ramifications, study of the phenomenon of polyembryony in insects has the potential for addressing one of crucial questions in the evolution of development: How do developmental novelties arise? Polyembryony in insects represents a developmental novelty whereby both precursor structure and evolutionary processes are basically unknown (type A novelty *sensu* WILKINS, 2001). In general, true developmental novelties are rare and often their evolution is not easily tractable. However, the combination of a relatively well-established insect phylogeny, embryological studies of insect polyembryony that span more than a century (MARCHAL, 1898), and techniques and concepts established in a closely-related model Arthropod, *Drosophila melanogaster*, demonstrate a promising system that could provide clues as to how complex developmental novelties are formed.

MULTIPLE EVENTS OF INDEPENDENT EVOLUTION OF POLYEMBRYONIC DEVELOPMENT IN WASPS

Hymenoptera (wasps) represents a holometabolous insect order that consists of two suborders. Suborder Symphita includes basal plant-eating groups, and Apocrita, an advanced group of parasitic species (Figure 1). Hymenoptera possesses polytrophic meroistic ovaries (BUNING, 1994) and basal groups produce yolky eggs which undergo long germband embryogenesis (SPEICHER, 1936; FLEIG and SANDER, 1986, reviewed in SANDER 1976). Apocrita (parasitic wasps plus ants and bees) represents a monophyletic assemblage which includes ectoparasitic species (laying the egg on the surface of the host), endoparasitic species (ovipositing within the body of the host), and free-living pollinators including eusocial species (WHITFIELD, 1998). Basal species in all parasitic groups whose life histories are known appear to be ectoparasitic. They lay large yolky eggs, and undergoing long germband development, such as described in the honeybee (FLEIG, 1990; BINNER and SANDER, 1997) and the endoparasitic basal braconid *Bracon hebetor* (GRBIC and STRAND, 1998). This suggests that the basal state of embryonic development in parasitic wasps includes canonical long germband development associated with meroistic polytrophic oogen-

esis, where critical determinants are transcribed in nurse cells and transported to the oocyte in a manner described in *Drosophila*. However, many parasitic lineages contain parasitic species that have evolved a derived form of development within the body of the host (endoparasites). This switch in life history strategy subjects them to a different selection regime compared to other terrestrial insects. The evolution of endoparasitism appears to be crucial for further evolutionary innovations, such as polyembryony. Polyembryony evolved independently four times in wasps: in Braconidae, Encyrtidae, Dryinidae and Platygasteridae (IVANOVA-KAZAS, 1972). The association of endoparasitic lifestyle with evolution of polyembryony is strengthened by the fact that the only other case of polyembryony in insects is displayed by endoparasitic Strepsiptera (NOSKIEWICZ and POLUSZYNSKI, 1935).

POLYEMBRYONIC EMBRYOGENESIS: EMBRYOLOGICAL INNOVATIONS

Independent evolution of polyembryony evokes several important questions. First, what is qualitatively novel in polyembryonic development relative to canonical insect embryogenesis? Second, which

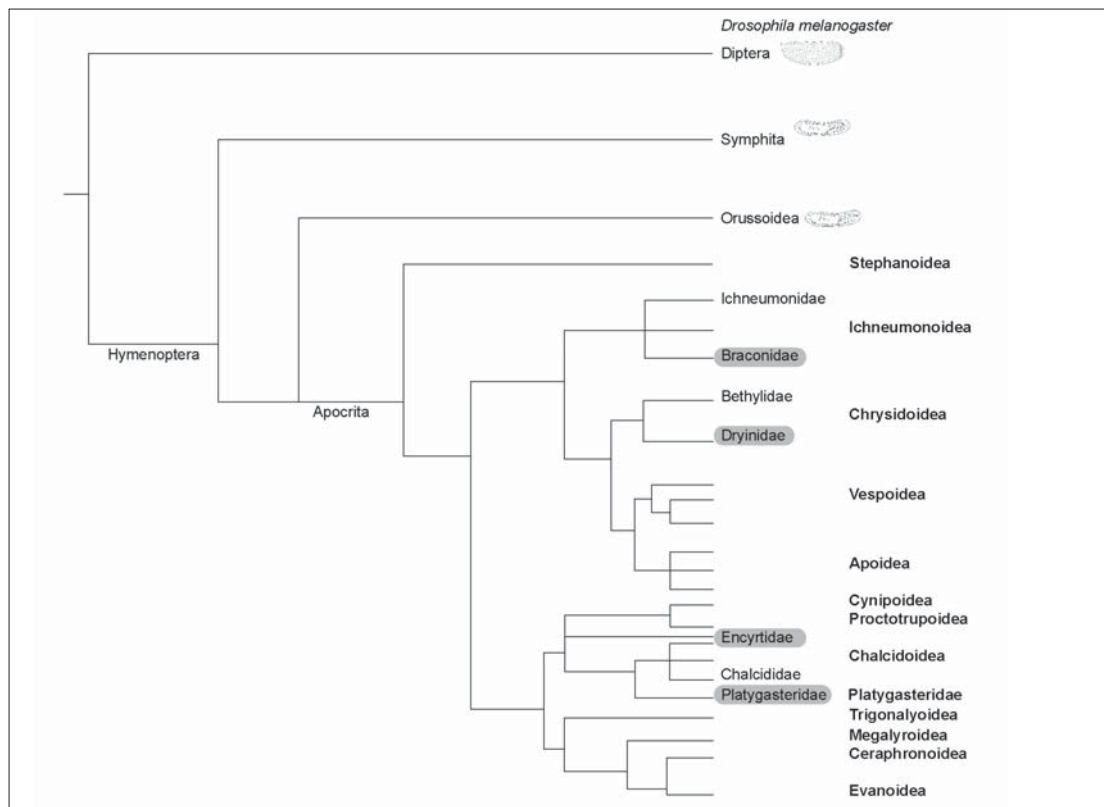


Figure 1
Phylogeny of Hymenoptera (modified from Whitfield 1998). Families that display polyembryonic development are highlighted by gray shading. Drawing of the egg illustrates long germband development of more primitive basal Hymenoptera.

elements of the regulatory mechanisms were modified to result in a novel, obligatory form of embryo cloning? Finally, understanding such independently evolved, but similar novelties could inform us about evolutionary constraints and plasticity. For example, are there multiple pathways in the evolution of certain features, or are similar evolutionary innovations based on a common program?

Thus far, our model insect for polyembryonic development has been the polyembryonic encyrtid *Copidosoma floridanum* (SILVESTRI, 1906; GRBIC *et al.*, 1996; GRBIC *et al.*, 1998, ZHUROV *et al.*, 2004). This wasp parasitizes noctuid moths and produces up to 2000 embryos from a single egg. However, a poor understanding of encyrtid phylogeny and a lack of knowledge of closest monoembryonic ancestors led us to initiate studies on another independently-evolved polyembryonic wasp, the braconid *Macrocentrus grandii*. A better understanding of the phylogeny of braconids could help us to determine the closest monoembryonic relatives, and to generate a hypothesis about transitory forms that may have led to polyembryonic development. In addition, studies of multiple forms of polyembryony could uncover common features and possible variations in polyembryonic development.

POLYEMBRYONY IN *COPIDOSOMA*: A CHALLENGE FOR THE *DROSOPHILA* PARADIGM OF DEVELOPMENT

Copidosoma floridanum is a parasitic wasp that parasitizes the eggs of the host, the moth *Trichoplusia ni* (Fig. 2). After parasitization, the host emerges and undergoes five host instars. During the process of host development *Copidosoma* undergoes embryonic development within the host body surrounded by the nutritive insect blood (haemolymph). As a result of embryonic proliferation, up to two thousand larvae are formed synchronously during the fifth host instar. These larvae pupate and emerge as adult wasps.

The embryonic development of this endoparasitic insect differs dramatically from the development of other insects. First, *Copidosoma* oviposits tiny yolkless eggs (50mm in size, a size similar to mouse eggs) that are surrounded by a thin chorion. The first cleavage of the egg is total, and leads to the formation of two posterior blastomeres (which will give rise to the embryo proper) and an anteriorly localized polyploid cell (Fig. 2 gray) that results from the fusion of polar nuclei (GRBIC *et al.*, 1998). This cell will form the polyploid syncytial extraembryonic membrane (gray). The second embryo cleavage creates one small blastomere and three equal-size blastomeres. The

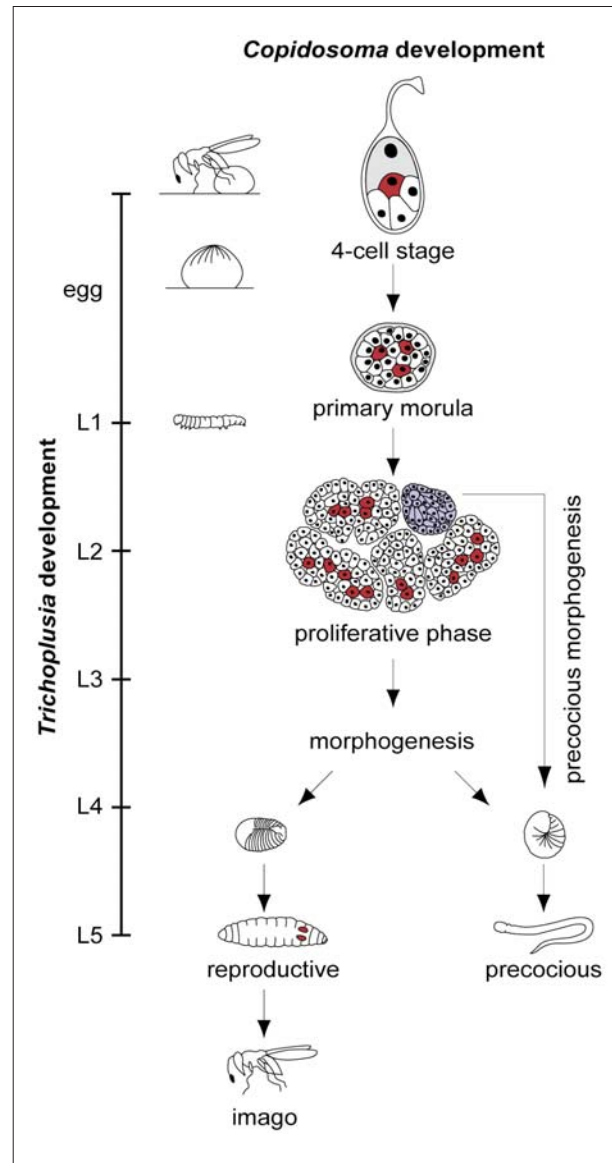


Figure 2
Embryonic development of *Copidosoma floridanum* and its host *Trichoplusia ni*. A) Embryonic development of *Copidosoma*. Polar body and polar body-derived extraembryonic membrane – grey; germ line (PGC cells) – red; proliferating morulae without PGC (progenitors of the precocious embryos) blue; L1-L5 larval instars of *T. ni*.

small cell (Fig 2 red) is different from the other cells as it retains an injected fluorescent tracer, and is thus dye-uncoupled from other cells (GRBIC *et al.*, 1996). Embryonic blastomeres then undergo cleavages and become enveloped by the syncytial extraembryonic membrane, and embryos emerge from the chorion into the host haemolymph and form primary morula. The primary morula implants in the host tissue and initiates the proliferative phase of development that increases cellular mass many fold (GRBIC *et al.*, 1998). In monoembryonic animals, developmental progression from that point in embryogenesis would include a transition from morula-stage

embryo to gastrulation and segmentation leading to a completely segmented animal. In contrast, «insertion» of the proliferative phase in the canonical monoembryonic developmental program represents the developmental novelty responsible for clonal production of thousand embryos in *Copidosoma*. The proliferative phase is initiated by the split of the primary morula and creation of the polymorula, which consists of many proliferative morulae. Each proliferative morula at this stage consists of hundreds of round, apparently non-differentiated cells (Fig. 2), surrounded by the extraembryonic membrane (GRBIC *et al.*, 1998). These packages of cells become subdivided by the ingressing extraembryonic membrane into progressively smaller clusters of cells. When the number of cells per cluster reaches about 20-30 at the fourth host instar larva, these cells undergo a change in cell shape from round to fibroblastic. The establishment of cell contacts results in cell compaction and simultaneous *de novo* formation of 2000 embryonic primordia (GRBIC *et al.*, 1998). Following compaction, each embryo undergoes gastrulation and segmentation to form larva. Thus, polyembryonic embryogenesis in *Copidosoma* shows similarities to mammalian embryonic development, including early separation of embryonic and extraembryonic lineages, morula morphology, implantation, compaction and most importantly the net increase of the embryonic mass that is unique to mammals (DAVIDSON, 1990; GURDON, 1992). These evolutionary changes apparently represent convergent evolution driven by the similar developmental environment: placental development in mammals and nutritive host environment in *Copidosoma*. Obligatory polyembryony evolved in mammals (armadillo) (FERNANDEZ, 1909) and insects (parasitic wasps), but while in mammals polyembryony is conceptually compatible with the regulative development of the mouse embryo, polyembryony in insects is in sharp contrast with maternal pre-patterning of the *Drosophila* embryo.

MATERNAL PRE-PATTERNING IN *COPIDOSOMA*: SPECIFICATION OF THE GERM-LINE

The germ line is one of first developmental fates specified in many organisms (SAFFMAN and LASKO, 1999). The RNA helicase *vasa* is the ubiquitous germ line marker in metazoans involved in the specification of the primordial germ cell (PGC) lineage. PGCs represent the first cells that give rise exclusively to germ cells by clonal mitotic divisions (NIEUWKOP and SUTASURYA, 1979). PGCs are progenitors of germ line stem cells (GSCs) that

undergo self-renewal, differentiate into gametes, and ultimately produce all of the cell types in future offspring.

Isolation of the *Copidosoma vasa* mRNA (*Cfvas*) homologue and examination of its pattern of expression showed that *Cfvas* is transcribed in nurse cells in *Copidosoma* ovaries (ZHUROV *et al.*, 2004). Vasa protein localizes in the structure called oosome (ZHUROV *et al.*, 2004), which was proposed to be homologous to the *Drosophila* germ line pole plasma (nourage). Thus, in *Copidosoma* at least one asymmetrically localized maternal determinant is deposited in the forming egg. After oviposition Vasa protein is invariably localized into the dye-uncoupled small cell, showing that this early cellular asymmetry is also paralleled by a molecular asymmetry. In the primary morula this asymmetry is perpetuated in several cells that express Vasa protein (Fig 2, red). Following the initiation of the proliferative phase Vasa-positive cells are scattered in individual proliferating morulae (Figure 2). During the process of division, the daughter cells all inherit Vasa protein, suggesting that they represent cell lineage. Following the entrance into the morphogenetic phase each reproductive embryonic primordium receives two Vasa-positive cells. These cells remain localized at the posterior and give rise to the embryonic gonads (Fig. 2). Thus, maternal cellular asymmetry marked by the expression of Vasa protein perpetuates throughout the proliferative phase and becomes continuous with the germ line, suggesting that *Copidosoma* specifies the PGC maternally.

DEVELOPMENT OF THE PRECOCIOUS EMBRYOS: DIFFERENTIAL DISTRIBUTION OF PGC SPECIFIES THE REPRODUCTIVE POTENTIAL

While it was known that the reproductive larvae give rise to adults and have a reproductive function, the reproductive potential of the precocious larvae in *Copidosoma* was uncertain. They do not molt and become consumed by their reproductive sibling. This poses the question of whether they have a reproductive potential that is simply not realized due to their premature death or they entirely lack potential for the reproduction. In social hymenoptera, workers are sterile in contrast to fertile queens. However, this sterility is often conditional. Both queens and workers have germ line progenitor cells, but in queens the reproductive apparatus become hypertrophic while in workers ovarioles degenerate (SCHMIDT CAPELLA and HARTFELDER, 2002). However, in some cases workers can restore their reproductive potential and

become reproductives (Nijhout, 1999). During the proliferative phase in *Copidosoma* it was noticed that some proliferative morulae do not contain Vasa-positive cells (Fig. 2 blue). These morulae undergo differentiation and give rise into the precocious embryos that do not inherit PGCs. Thus, the mechanism based on segregation of PGC lineage in reproductives, and the failure of the precocious embryos to inherit PGCs represents novel cell-sorting mechanism that specifies the caste fate. This mechanism specifies in all-or-none fashion a different reproductive capacity in genetically identical embryos.

FUNCTION OF PGCs IN *COPIDOSOMA*: CASTE FATE AND PROLIFERATION

In contrast to *Drosophila*, where PGCs undergo migration through the embryo to reach their position in future gonads (UNDERWOOD *et al.*, 1980), *Copidosoma* PGCs undergo a complex journey which includes cell parceling during the proliferative stage, differential segregation to two castes and final localization at the embryonic gonads (ZHUROV *et al.*, 2004). Clearly PGCs must be involved in the formation of the germ-line, but their complex ontogeny poses the question of whether they have other functions in polyembryonic development? Besides Vasa, these cells likely contain many other determinants that may have a role in embryo germ cell specification, proliferation or caste fate. One possibility is that these cells have a cell-autonomous function in specifying the germ-line as in *Drosophila*. This scenario predicts that the removal of PGC progenitor cell will result in formation of the reproductive larvae without gonads. Alternatively, this cell could have non-cell autonomous function(s) so that the germ line specification is coupled with other developmental processes. Laser ablation of Vasa-positive cell at the four cell stage (red Fig 1) has revealed that it has multiple functions (ZHUROV *et al.*, 2004, DONNELL *et al.*, 2004) As a consequence of ablation *Copidosoma* reproductive embryos did not proliferate as detected by lack of formation of the reproductive embryos (ZHUROV *et al.*, 2004). However, the precocious larvae development was not affected, resulting in normal numbers. Laser ablation of the Vasa-positive cell reduced 95% of polyembryonic proliferation. In contrast, ablation of any of the large blastomeres at the same stage (Fig. 2 white cells) restores the development and proliferation of reproductive embryos (ZHUROV *et al.*, 2004). This suggests that the PGC progenitor has a dual function: it regulates proliferation and the reproductive caste fate.

TRANSITORY STEPS PRECEDING POLYEMBRYONIC DEVELOPMENT

In order to address the question of evolution of the polyembryonic development it is necessary to turn to the system that preceded the evolution of polyembryonic development and to look at the development in the closest monoembryonic ancestor. The putative ancestor has to be an endoparasitic wasp. Second, it should undergo total egg cleavage. Finally, it should emerge from the chorion into the host hemocoel, and should utilize the polar body-derived cell to form the extraembryonic membrane surrounding the embryo.

The braconid endoparasite *Aphidius ervi* exhibits the predicted features of the hypothesized ancestor of polyembryonic wasps. This wasp lays tiny transparent eggs that undergo total cleavage. Its embryo emerges from the egg shell into the host hemocoel and remains enveloped by the polar body-derived extraembryonic membrane. Following the emergence from the chorion, morphogenesis is initiated by the formation of an embryonic primordium that consists of a solid ball of cells, similar to the *Copidosoma* embryonic primordium. The embryo of *Aphidius* initially forms just the anterior structures of the embryo. The rest of the trunk is formed by sequential proliferation, exhibiting characteristic short germband development. Since basal braconids display long germband development, *Aphidius* development represents secondarily derived short germband embryogenesis.

The embryogenesis of polyembryonic parasitic braconid *Macrocentrus grandii* wasps could help us to understand how polyembryony evolved in a defined phylogenetic context of braconids. Eggs of this species is also transparent, surrounded by tiny chorion and in contrast to those of their basal, ectoparasitic relatives, contain almost no yolk. Initial cleavage events in these tiny eggs differ from the canonical type of insect syncytial cleavage. Both wasps undergo total (holoblastic) cleavage in which nuclear division is immediately followed by cytoplasmic division, forming individual cells (blastomeres). This novel type of early cleavage appears to be common also in polyembryonic platygasterids (IVANOVA-KAZAS, 1972), and its general presence in all polyembryonic species suggests that it represents a prerequisite for the evolution of polyembryonic development.

Following early cleavages, *Macrocentrus* embryos emerge from the tiny chorion into the host haemocoel and enter the proliferative phase of development. In this phase, the number of cells increases and cells become subdivided by the extraembryon-

ic membrane into several independent spatial domains. The proliferative stage in *Macrocentrus* results in a smaller rate of proliferation than in *Copidosoma* to form ultimately up to 20 embryos. Finally, initiation of the morphogenetic phase results in the formation of the embryonic primordium. In both species embryonic primordia are formed from the very beginning as cellularized structures. However, in *Copidosoma* the embryonic primordium is solid, without the blastocoel (GRBIC *et al.*, 1996), while the *Macrocentrus* primordium consists of single layer of cells that surrounds the hollow space of the blastocoel. These species also differ in the type of germband. *Copidosoma* embryogenesis was hard to classify. It more resembled long germband development by its proportional growth and expression of molecular markers (GRBIC *et al.*, 1996). On the other hand, *Macrocentrus* embryogenesis is clearly of a short germband type. The initial primordium consists of anterior structures and the remaining trunk is generated by posterior growth.

The comparison of development in two independently evolved polyembryonic species and their putative monoembryonic ancestor suggests that evolution of polyembryony is compatible with meroistic ovarial apparatus present in basal monoembryonic wasps. On the other hand, innovations that are conserved in both polyembryonic species include a novel type of cleavage, and the proliferative phase responsible for creation of multiple embryos. It appears that in both polyembryonic wasps the proliferative phase has been simply «inserted» into the monoembryonic developmental program without any consequences for the later phases of development. Even though the proliferative phase seems to be similar in specific embryological events but different in the amount of proliferation, the late morphogenetic phase displays two completely different trajectories. In *Copidosoma* three-dimensional tissue specification proceeds from the morphogenesis of a solid ball of cells, resembling the long germband type of embryogenesis (GRBIC *et al.*, 1996). In contrast, the *Macrocentrus* primordium forms a single cell layer, and extension of the embryo trunk represents a form of short germband development, as described in primitive insects. Even though short germband development is considered to be a primitive remnant of insect ancestors, its secondarily-derived development in *Macrocentrus* indicates that the evolutionary trajectory can be inverted: short germband development can evolve from a long germband ancestor.

Collectively, descriptions of embryogenesis in these wasps illustrate the surprising level of plasticity

and modularity of developmental programs. First, meroistic polytrophic ovaries that synthesize determinants for syncytial cleavage and long germband development in *Drosophila* are compatible with specification of determinants for polyembryonic development. Second, innovations in the cleavage type and proliferative phase which should theoretically scramble *Drosophila* localized maternal determinants and diffusion-based action of the transcription factors are perfectly compatible with *de novo* formation of thousands of embryonic axes many days after oviposition. On the other hand, these multiple independent evolutionary events of polyembryony suggest that evolution of such a complex developmental program could have a relatively simple genetic basis that includes changes in very few genes.

SCENARIOS FOR EVOLUTION OF POLYEMBRYONY

An analysis of multiple independent events of polyembryony in wasps within the phylogenetic framework suggests that it consists of a complex and stepwise processes. The ancestral type of development in all polyembryonic lineages included an ectoparasitic life history strategy and a large yolky egg, exhibiting long germband embryogenesis. With the evolution of endoparasitism, wasp embryos gained the advantage of exploiting the nutritive environment of the host not only for larval feeding, but also for embryo development. This shift resulted in several changes in egg architecture. First, the chorion which consists of elaborate structures in ectoparasites and other terrestrial insects protecting them from dessication, decreased in its complexity once the embryo evolved emergence from the chorion into the host nutritive haemolymph. In addition, because host nutrients were utilized for embryo development it was not necessary to stockpile a large amount of yolk in the eggs. Consequently, endoparasitic egg size decreased. In smaller eggs evolution favoured a new type of cleavage: total cleavage, immediately forming individual cells.

It is unique that in many endoparasitic wasps polar nuclei do not degenerate as in other terrestrial insects (TREMBLAY and CALVERT, 1972). Instead, they participate in the formation of extraembryonic membranes that completely surround the embryo. It appears that this structure evolved many new functions in contrast to the extraembryonic membranes in terrestrial insects. In many endoparasitic wasps, at the completion of morphogenesis the extraembryonic membrane fragments into individual polyploid cells called teratocytes. In

some endoparasitic wasps teratocytes circulate in the host hemolymph and synthesize proteins which are secreted, altering host physiology in support of endoparasitic development (RANA *et al.*, 2002). However, in the polyembryonic embryogenesis of *Copidosoma*, the extraembryonic membrane is involved in the proliferative phase of development, separating proliferative cells into spatial domains. It never fragments to form the teratocytes and continues to surround both embryos and larvae. Even though endoparasitic embryos can take advantage of the host nutritive environment, they must first evolve a defense against the host immune system. Findings by CORLEY and STRAND (2003) that the extraembryonic membrane in *Copidosoma* protects the larvae from the host immune system may provide a clue as to the primary reason for the evolution of this structure. In addition, it has been proposed that the polar cell-derived extraembryonic membrane plays a role in the uptake of nutrients from the host haemolymph (KOSCIELSKI and KOSCIELSKA, 1985). Analyzing the expression pattern of genes in the proliferative phase of development, it was determined that all cells of the extraembryonic membrane in *Copidosoma* express alkaline phosphatase mRNA (TERZIN and GRBIC, unpublished). This enzyme is involved in nutrient absorption and transport mechanisms in insects and vertebrates (EGUCHI, 1995), suggesting that the extraembryonic membrane actively absorbs nutrients from the host haemolymph. Thus, the primary role of the extraembryonic membrane initially was probably to protect the emerged embryo of monoembryonic endoparasites against the host immune system, and to absorb nutrients. Later on, the existing structure was likely co-opted to the proliferative phase of embryogenesis in polyembryonic insects to organize proliferative growth.

Evolution of small egg size, total cleavage, and novel, multifunctional extraembryonic membranes were the prerequisites for the evolution of the novel proliferative stage. This stage represents the true developmental innovation (Type A) because it was derived from novel structures (the extraembryonic membrane) and a cleavage type that does not have a known precursor in ancestral, ectoparasitic, insects. It is hard to conceptualize the evolution of a novel stage that disrupts one of the crucial paradigms of *Drosophila* development, maternal specification of the embryonic axis, while at the same time creating *de novo* 2000 independent embryonic axes! If the syncytial environment of the *Drosophila* pre-blastoderm embryo has created complications in understanding how pattern formation proceeds in the cellular milieu

of short and intermediate germband insects (WILKINS, 2001), then polyembryonic development represents a real challenge for the *Drosophila* paradigm. One of first prerequisites for such an event appears to be the uncoupling of posterior patterning and germ cell specification. The second step should include the initiation of the proliferation mechanisms to generate at least 40,000 cells necessary for initiation of 2000 embryonic primordia (GRBIC *et al.*, 1998). There are several relatively simple possible means how to initiate proliferation. In the monoembryonic ancestor cleavages must generate enough cells for the formation of the single embryonic primordium. At this point proliferation has to stop and become coupled with axial patterning. Thus, a simple change in the regulatory region of the mitogenic signal could extend the period of proliferation necessary for polyembryonic development. Another avenue generating the same effect would be to produce a mutation in the putative suppressor of proliferation that terminates early proliferation and regulates entry into the blastoderm stage of the monoembryonic ancestor. Both of these changes are relatively simple and could involve existing genes without requiring new gene recruitment (WILKINS, 2001). In a likewise manner, removal of the mitogenic signal by a similar mechanism at the completion of proliferation could regulate the exit from the proliferative stage.

It is hard to conceptualize how is the proliferative stage integrated with *de novo* establishment of embryonic axes. All 2000 embryo axes appear to form independently with random axial orientation relative to each other (GRBIC *et al.*, 1996). This favours an independent specification of the axial polarity within each embryo rather than a global mechanism specifying simultaneous polarity in 2000 embryos.

CONCLUDING REMARKS

Evolution of developmental novelties is a complex phenomenon that requires understanding of both the ecological processes and developmental mechanisms responsible for its creation. Analysis of the evolution of polyembryonic development within the phylogenetic context, and studies of multiple independent events of polyembryony have been important stepping stones toward beginning to understand the processes and mechanisms shaping the evolution of this novel form of development. As stated by WILKINS (2001), there is no general analytical method that can be applied to all developmental novelties. However, clues derived from a

broader phylogenetic context suggesting the polarity of change and an examination of possible ancestral states are essential in constructing testable hypotheses.

RIASSUNTO

EVOLUZIONE DELLO SVILUPPO POLIEMBRIONICO DELLE VESPE PARASSITE

La comparsa di nuovi ed innovativi meccanismi di sviluppo embrionale è stata associata a radiazioni adattative che hanno permesso a gruppi particolari di organismi di occupare ecosistemi vuoti. Tuttavia, le forze evolutive ed i meccanismi molecolari responsabili dell'origine di queste nuove modalità di sviluppo sono poco studiati o ancora del tutto sconosciuti. L'evoluzione del parassitismo negli insetti, ad esempio, è un meccanismo adattativo molto interessante ma poco approfondito nel campo della embriogenesi. Gli insetti parassitoidi, sviluppandosi su o dentro il corpo dell'ospite, hanno evoluto una pletora di strategie di vita e modalità di sviluppo embrionale. Uno dei più affascinanti adattamenti allo sviluppo che avviene all'interno del corpo dell'ospite è rappresentato dalla poliembria presente in alcune vespe in cui, da un singolo uovo, si formano clonalmente fino a 2000 embrioni. Traendo vantaggio dalle tecniche sviluppate in un insetto modello, la *Drosophila melanogaster*, e da una grande quantità di conoscenze sulla embriologia comparata degli insetti, stiamo cercando di affrontare gli eventi evolutivi che hanno portato a questa nuova modalità di sviluppo negli insetti.

LITERATURE

- ASHWORTH C.J., ROSS A.W., BARRETT P., 1998 – *The use of DNA fingerprinting to assess monozygotic twinning in Meishan and Landrace x Large White pigs*. *Reprod. Fertil. Dev.*, 10 (6): 487-490.
- BINNER P., SANDER K., 1997 – *Pair-rule patterning in the honeybee Apis mellifera: expression of even-skipped combines traits known from beetles and fruit fly*. *Dev. Genes. Evol.*, 206: 447-454.
- BUNING J., 1994 – *The Insect Ovary*. Kluwer Academic Publishers. 416pp.
- CARMAN J.G., 1997 – *Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bispority, tetraspority, and polyembryony*. *Biol. J. Linn. Soc. Lond.*, 61 (1): 51-94.
- CORLEY L.S., STRAND M.R., 2003 – *Evasion of encapsulation by the polyembryonic parasitoid Copidosoma floridanum is mediated by a polar body-derived extraembryonic membrane*. *J. Invertebr. Pathol.*, 83 (1): 86-89.
- CRAIG S.F., SLOBODKIN L.B., WRAY G.A., BIERMANN C.H., 1997 – *The 'paradox' of polyembryony: A review of the cases and a hypothesis for its evolution*. *Evol. Ecology*, 11 (2): 127-143.
- DAVIDSON E.H., 1990 – *How embryos work: a comparative view of diverse mode of cell fate specification*. *Development*, 108: 365-389.
- DONNELL D.M., CORLEY L.S., CHEN G., STRAND M.R., 2004 – *Caste determination in a polyembryonic wasp involves inheritance of germ cells*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 10095-10100.
- EGUCHI M., 1995 – *Alkaline-phosphatase isozymes in insects and comparison with mammalian enzyme*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 111 (2): 151-162.
- FERNANDEZ M., 1909 – *Beitrage zur Embryologie der Gurteltiere. I. Zur Kaimblätter-inversion und spezifischen Polyembryonie der Mulita (Tatusia hybrida Desm.)*. *Morph. Jahrb.*, 39: 302-333.
- FLEIG R., 1990 – *Engrailed expression and body segmentation in the honeybee Apis mellifera*. *Roux's Arch. Dev. Biol.*, 198: 467-473.
- FLEIG G.R., SANDER K., 1986 – *Embryogenesis of the honeybee Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae): an SEM study*. *Int. J. Ins. Morph. Embryol.*, 15: 449-462.
- GLENNER H., HOEG J.T., 1995 – *A new motile, multicellular stage involved in host invasion by parasitic barnacles (Rhizocephala)*. *Nature*, 377 (6545): 147-150.
- GRBIC' M., NAGY L., STRAND M., 1998 – *Development of polyembryonic insects: a major departure from typical insect embryogenesis*. *Dev. Genes Evol.*, 208: 69-81.
- GRBIC' M., STRAND M.R., 1998 – *Shifts in the life history of parasitic wasps correlate with pronounced alterations in early development*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 1097-1101.
- GRBIC' M., NAGY L.M., CARROLL S.B., STRAND M.R., 1996 – *Polyembryonic development: insect pattern formation in a cellularized environment*. *Development*, 12: 795-804.
- GURDON J.B., 1992 – *The generation of diversity in pattern in animal development*. *Cell*, 68: 185-199.
- IVANOVA-KAZAS O.M., 1972 – *Polyembryony in insects*. In: Counce SJ, Waddington CH. Ed; *Developmental Systems: Insects*. Academic Press. p 243-271.
- JAEKLE W.B., 1994 – *Multiple-modes of asexual reproduction by tropical and subtropical sea star larvae - an unusual adaptation for genet dispersal and survival*. *Biol. Bul.*, 186 (1): 62-71.
- KAUFMAN M.H., 1982 – *2 examples of monoamniotic monozygotic twinning in diploid parthenogenetic mouse embryos*. *J. Exp. Zool.*, 224 (2): 277-282.
- KOSCIELSKA M.K., KOSCIELSKI B., 1985 – *Ultrastructural Studies on the polyembryony in Ageniaspis fuscicollis (Chalcidoidea, Hymenoptera)*. *Zool. Poloniae*, 32: 203-215.
- LAALE H.W., 1984 – *Polyembryony in teleostean fishes - double monstrosities and triplets*. *J. Fish Bio.*, 24 (6): 711-719.
- MARCHAL P., 1898 – *Dissociation de l'oeuf en un cycle évolutif chez l'Encyrtus fuscicollis (Hymenoptera)*. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 126: 662-664.
- Nieuwkoop P.D., Suturya L.A., 1979 – *Primordial germ cells in the chordates*. Cambridge Univ. Press.
- NIJHOUT H.F., 1999 – *Control mechanisms of polyphenic development in insects*. *Bioscience*, 49: 181-192.
- NOBLE E.R., NOBLE G.A., SCHAD G.A., MACINNES A.J., 1989 – *Parasitology. The biology of animal parasites*. 6th edition 574 pp. Lea&Febiger, Philadelphia, London.
- NOSKIEWICZ J., POLUSZYNSKI G., 1935 – *Embryologische Untersuchungen und Strepsipteren II Teil; Polyembryonie*. *Zool. Poloniae*, 1: 53-94.
- OLSEN M.W., 1962 – *Polyembryony in unfertilized turkey eggs*. *J. Heredity*, 53 (3): 125-126.
- RANA R.L., DAHLMAN D.L., Webb B.A., 2002 – *Expression and characterization of a novel teratocyte protein of the braconid, Microplitis croceipes (Cresson)*. *Ins. Biochem. Mol. Biol.*, 32 (11): 1507-1516.
- SAFFMAN E.E., LASKO P., 1999 – *Germline development in vertebrates and invertebrates*. *Cell. Mol. Life Sci.*, 55 (8-9): 1141-1163.
- SANDER K., 1976 – *Specification of the basic body pattern in insect embryogenesis*. *Adv. Ins. Phys.*, 12: 125-238.

- SCHMIDT CAPELLA I.C., HARTFELDER K., 2002 – *Juvenile-hormone-dependent interaction of actin and spectrin is crucial for polymorphic differentiation of the larval honey bee ovary*. Cell Tissue Res., 307: 265-272.
- SHAANKER R.U., GANESHAIAH K.N., 1996 – *Polyembryony in plants: A weapon in the war over offspring numbers?* Trends Ecol. Evol., 11 (1): 26-27.
- SHOSTAK S., 1993 – *Cnidaria*. In: Reproductive Biology of Invertebrates (Adiyodi, K.G. and Adiyodi R.G. eds). John Wiley and Sons Chichester.
- SILVESTRI F., 1906 – *Contribuzioni alla conoscenza biologica degli imenotteri parassiti. Biologia del Litomastix truncatellus (Dalm.) (2 nota preliminare)*. Ann. Regia. Sc. Agric. Portici, 6: 3-59.
- SPEICHER B.R., 1936 – *Oogenesis, fertilization and early cleavages in Habrobracon*. J. Morph., 59: 401-421.
- STANSFIE.W.D., 1968 – *A serological estimate of monozygotic twinning in sheep*. J. Heredity, 59 (3): 211-212.
- TREMBLAY E., CALVERT D., 1972 – *New cases of polar nuclei utilization in insects*. Ann. Soc. Ent. Fr., 8 (2): 495-498.
- UNDERWOOD E.M., CAULTON J.H., ALLIS C.D., MAHOVALD A.P., 1980 – *Developmental fate of pole cells in Drosophila melanogaster*. Dev. Biol., 77: 303-314.
- WHITFIELD J.B., 1998 – *Phylogeny and evolution of host-parasitoid interactions in hymenoptera*. Ann. Rev. Entomol., 43: 129-151.
- WHITFIELD J.B., 2002 – *Estimating the age of the polydnavirus/braconid wasp symbiosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99 (11): 7508-7513.
- WILKINS A., 2001 – *The evolution of developmental pathways*. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts, pp. 603.
- ZHUROV V., TERZIN T., GRBIC' M., 2004 – *Early blastomere determines embryo proliferation and caste fate in a polyembryonic wasp*. Nature, 432: 746-769.

CONTROL OF VITELLINE MEMBRANE GENE EXPRESSION DURING *D. MELANOGASTER* OOGENESIS

GIUSEPPE GARGIULO (*)

(*) Dipartimento Biologia Evoluzionistica Sperimentale, Università di Bologna, Via Selmi, 3 Bologna. Email: giuseppe.gargiulo@unibo.it
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Genetica molecolare dello sviluppo degli insetti».
Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 28 novembre 2008.

Control of vitelline membrane gene expression during D. melanogaster oogenesis

The formation of extracellular structures is a complex process that requires time-coordinate synthesis, cleavage and transport of various proteins, and finally, cross-linking mediated by particular functional domains. Exactly how the precise features of such biological structures are constructed remains a fascinating problem. We approach this question by studying the eggshell assembly in *Drosophila melanogaster*.

Although much is known about the induction and refinement of the signaling pathways involved in the formation of the anterior eggshell structures, little is known about the regulation and the function of the genes encoding eggshell structural proteins.

This review will summarize the knowledge on vitelline membrane gene expression, focusing on our results on the expression pattern and the regulatory elements controlling transcription of a member of this gene family, the *VM32E* gene. Compared with the other vitelline membrane genes, this gene shows a peculiar expression pattern that suggests interesting perspectives of *VM32E* protein function in eggshell assembly.

KEY WORDS: *Drosophila melanogaster*, eggshell, vitelline membrane genes, gene expression.

OVERVIEW OF *DROSOPHILA* EGGSHELL

The *Drosophila* eggshell is an extracellular structure functional to the different roles it absolves, from egg fertilization to the hatching of the larva at the end of embryogenesis. This multilayered extracellular matrix, that forms between the oocyte and the overlying follicle cells, is made up of the following layers (Fig.1A): a vitelline membrane, which is the innermost layer, the wax layer, the crystalline innermost chorionic layer, the tripartite endochorion (inner part, pillars, outer part), and the exochorion which is the outer layer of the eggshell (MARGARITIS *et al.*, 1980; reviewed by CAVALIERE *et al.*, 2008). The formation of these extracellular structures is a complex process that requires time-coordinated synthesis, cleavage and transport of various proteins and, finally, cross-linking at specific functional domains (ANDRENACCI *et al.*, 2001; MANOGARAN & WARING, 2004). The eggshell proteins are synthesized and secreted by the follicle cells surrounding the oocyte during stages 8-14 of egg chamber development (reviewed by CAVALIERE *et al.*, 2008). From stages 8 to 10, the synthesis of vitelline membrane components is predominant. Subsequently, during stages 11-14, the chorion proteins are synthesized and secreted. The chorion becomes insoluble dur-

ing stage 14 as a result of a peroxidase-type enzyme activity that cross-links two or three tyrosine residues of the chorion proteins (PETRI *et al.*, 1976). The vitelline membrane proteins remain soluble till stage 14 and become insoluble only in laid eggs (reviewed by WARING, 2000). Like most insect eggs, several regional specializations are apparent on the surface of *Drosophila* eggshell. Its anterior end is characterized by specialized eggshell structures such as the micropyle that allows sperm entry, the operculum that forms the exit hatch for the developed embryo, and two dorsal respiratory appendages (Fig. 1B) (reviewed by CAVALIERE *et al.*, 2008). This eggshell specialization depends on sequential and in some cases combined activities of the known major signaling pathways during the middle and late stages of oogenesis. The epidermal growth factor receptor (Egfr) signaling induces dorsal follicle cells fates (reviewed by RAY & SCHÜPBACH, 1996; PERRIMON & PERKINS, 1997; reviewed by DOBENS & RAFTERY, 2000), leading to the definition of two separate populations of dorsal follicle cells (WASSERMAN & FREEMAN, 1998; PERI *et al.*, 1999) that will guide the production of the two dorsal appendages. The patterning of the eggshell along the AP axis also requires transforming growth factor-beta (Tgf- β) family member, Decapentaplegic

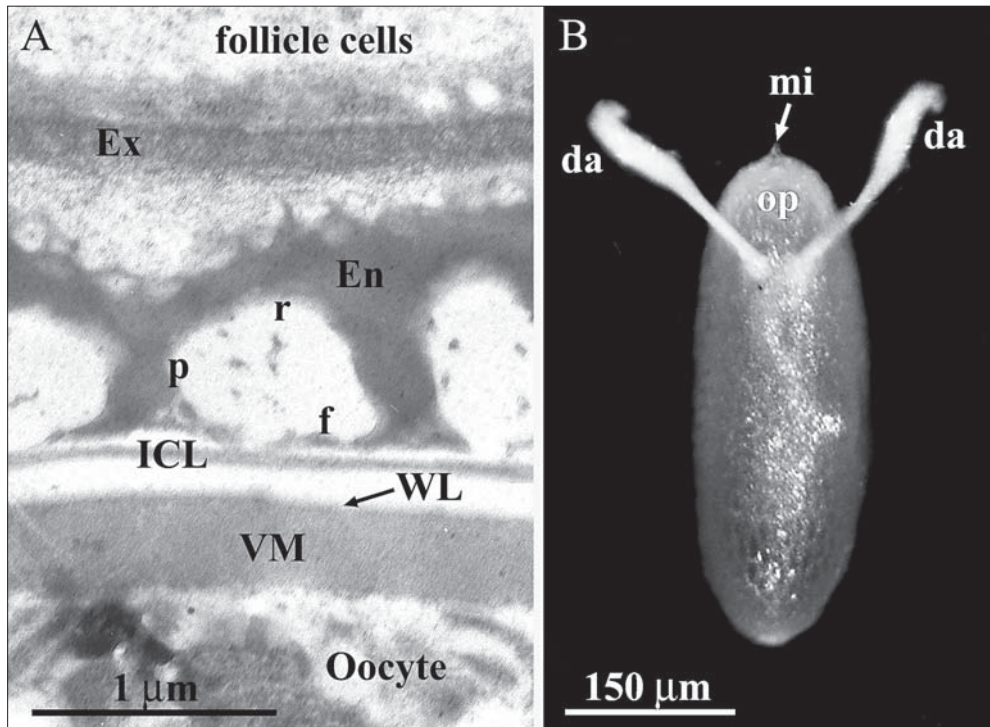


Fig. 1

Eggshell morphology. (A) Stage 14 egg chamber showing the building up of the different eggshell layers. The inner layers include the vitelline membrane (VM), the wax layer (WL), and the inner chorion layer (ICL). The outer layers include the endochorion (En), where a thin fenestrated floor (f) is separated from an outer roof (r) by vertical pillar (p) creating cavities as indicated, and the exochorion (Ex). (B) Dorsal view of *Drosophila melanogaster* egg illustrating the specialized regions of the anterior shell. The prominent structures indicated are the micropyle (mi), the operculum area (op), and the dorsal appendages (da).

(Dpp) (PADGETT *et al.*, 1987; TWOMBLY *et al.*, 1996; DENG & BOWNES, 1997; PERI & ROTH, 2000). The size and placement of the operculum and dorsal appendages are quite sensitive to altered levels of Dpp signal (TWOMBLY *et al.*, 1996).

The Ecdysone signaling pathway also appears involved on eggshell production by controlling chorion gene transcription and amplification (CHERBAS *et al.*, 2003; ORO *et al.*, 1992; HACKNEY *et al.*, 2007). Ecdysone activity is mediated by a heterodimer of two nuclear receptors, Ecdysone receptor (EcR) and Ultraspiracle (Usp) (YAO *et al.*, 1992; THOMAS *et al.*, 1993; YAO *et al.*, 1993). EcR encodes three protein isoforms: EcR-A, EcR-B1 and EcR-B2, which have common DNA- and ligand-binding domains but differ in their N-terminal region. The EcR/Usp heterodimer controls gene transcription by binding to specific sequences named Ecdysone Response Elements (EcREs) (RIDDIOUGH & PELHAM, 1987; CHERBAS *et al.*, 1990).

EXPRESSION OF VITELLINE MEMBRANE GENES

Four *Drosophila* vitelline membrane protein genes have been characterized so far: VM26A.1,

VM34C, VM26A.2 and VM32E (HIGGINS *et al.*, 1984; MINDRINOS *et al.*, 1985; BURKE *et al.*, 1987; POPODI *et al.*, 1988; GIGLIOTTI *et al.*, 1989).

Although the vitelline membrane protein genes VM26A.1, VM34C, VM26A.2 are expressed in all follicle cells surrounding the oocyte, from stage 8 to stage 10 of oogenesis, the VM32E gene is active only at stage 10 of egg chamber development (BURKE *et al.*, 1987; POPODI *et al.*, 1988; GIGLIOTTI *et al.*, 1989), and it is differently expressed in the distinct domains of the follicular epithelium (GARGIULO *et al.*, 1991). Within the main body follicle cells, the expression of VM32E is temporally regulated. The expression starts at stage 10A and it appears to spread from the ventral to the dorsal follicle cell domain (Fig. 2A). By stage 10B the gene is transcribed in all main-body follicle cells, but is absent in the anterior follicle cells (centripetal cells) and posterior follicle cells (Fig. 2B, arrow and arrowhead respectively). Differently, at stage 10B of egg chamber development, the other vitelline membrane genes are expressed in all follicle cells surrounding the oocyte. In Fig. 2C is shown the expression pattern of the VM26A.2 gene, which encodes one of the most abundant vitelline membrane structural proteins (POPODI *et al.*, 1988; PASCUCCI *et al.*, 1996).

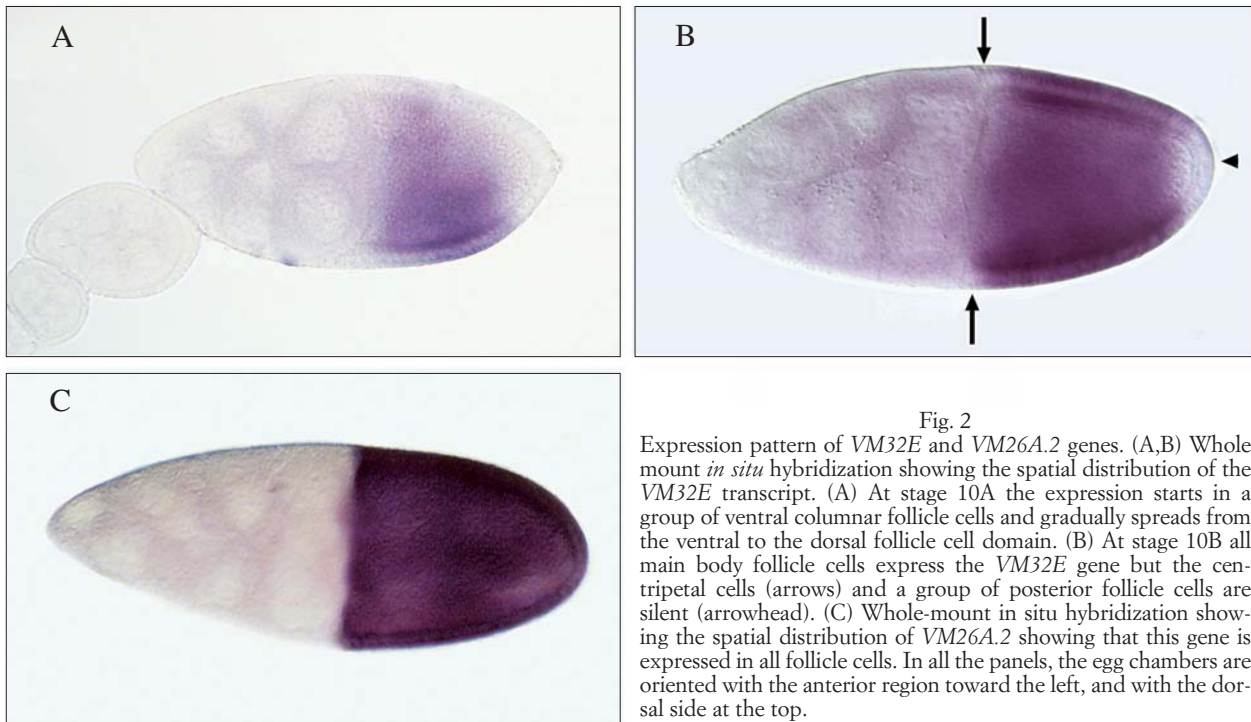


Fig. 2

Expression pattern of *VM32E* and *VM26A.2* genes. (A,B) Whole mount *in situ* hybridization showing the spatial distribution of the *VM32E* transcript. (A) At stage 10A the expression starts in a group of ventral columnar follicle cells and gradually spreads from the ventral to the dorsal follicle cell domain. (B) At stage 10B all main body follicle cells express the *VM32E* gene but the centripetal cells (arrows) and a group of posterior follicle cells are silent (arrowhead). (C) Whole-mount *in situ* hybridization showing the spatial distribution of *VM26A.2* showing that this gene is expressed in all follicle cells. In all the panels, the egg chambers are oriented with the anterior region toward the left, and with the dorsal side at the top.

VM32E PROTEIN SYNTHESIS AND DISTRIBUTION

In order to analyze the *in situ* distribution of the VM32E protein during egg chamber development we have raised a polyclonal antibody against the C-terminal VM32E peptide EELRGLGQGI QGQQY (anti-CVM32E), specific to this protein (ANDRENACCI *et al.*, 2000). Our analysis of the localization and assembly of the VM32E protein demonstrated several unique features of this protein that add more detail on the complex process of eggshell morphogenesis. The VM32E protein synthesis reflects the *VM32E* gene transcription pattern (Fig. 3A). At stage 10B this protein is synthesized in the columnar follicle cells, except the most anterior and posterior ones (Fig. 3C arrows and arrowhead respectively), and secreted in the extracellular space between the follicle cells and the oocyte surface. Furthermore we have found that once secreted this protein moves to the poles and by stage 11 it appears uniformly distributed in the vitelline membrane. The VM32E protein distribution was also studied at the ultrastructural level by immunogold electron microscopy on egg chamber thin sections (ANDRENACCI *et al.*, 2001). At the late stage 10B the immunogold particles strongly labeled the vitelline membrane. At stage 12 (Fig. 3B) immunogold particles were detected in the vitelline membrane and in the forming endochorion pillars. Finally, at stage 14 gold particles labeled both the vitelline membrane and the

endochorion. The VM32E protein is therefore an integral component of both the vitelline and endochorion layers.

SPATIAL AND TEMPORAL REGULATION OF *VM32E* GENE EXPRESSION

The complex temporal and spatial expression pattern of *VM32E* is under the control of the Dpp and Egfr signaling pathways. The *VM32E* gene is not expressed in the centripetal migrating follicle cells, where the Decapentaplegic (Dpp) pathway is active in patterning the anterior eggshell structures. By analyzing the expression of *VM32E* gene in genetic backgrounds altering the Dpp pathway we have demonstrated that in the centripetal cells the *VM32E* gene is negatively regulated by the Dpp signaling (BERNARDI *et al.*, 2006). The temporal and spatial *VM32E* gene expression pattern, in which the gene is initially active only in the ventral follicle cells, is under the control of the Egfr signaling which display a gradient of its activity along the dorsoventral axis. We have shown that in follicle cell clones expressing a constitutively active form of the Egfr the *VM32E* gene is down-regulated, while the loss of the Egfr activity up-regulates *VM32E* expression (BERNARDI *et al.*, 2007). More recently we have demonstrated that ecdysone signaling plays a crucial role in activating the expression of the *VM32E* gene in the main body follicle

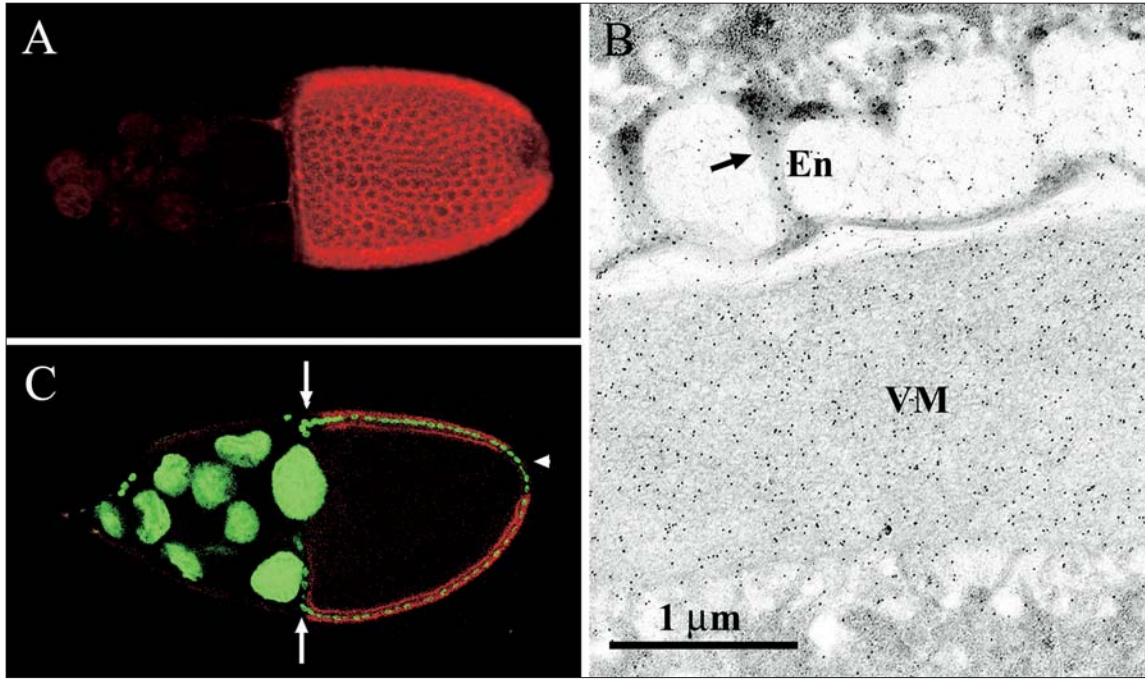


Fig. 3

VM32E distribution in egg chambers and in the forming eggshell layers. (A) Whole-mount egg chambers stained with anti-CVM32E antibody showing that the VM32E protein is not synthesized in the anterior and posterior follicle cells. (C) Confocal image showing the cross section view of a stage 10B egg chamber expressing the fused *His2avDGFp* protein (Clarkson and Saint, 1999) that marks all the nuclei (green). VM32E protein (red) is not detected in the centripetal follicle cells (arrows) and in a small group of posterior follicle cells (arrowhead). In the (A) and (C) panels, the egg chambers are oriented with the anterior region toward the left, and with the dorsal side at the top. (B) Immunoelectron microscopy detection of VM32E protein using anti-CVM32E antibody showing the multilayered distribution of VM32E protein. As shown by the localization of immunogold particles at stage 12 the protein is localized in the vitelline membrane (VM) and in the pillars (arrow) of the forming endochorion layer (En).

cells. This control is mediated by *Ecr-B1* isoform and *Usp* receptors (BERNARDI *et al.*, 2009).

Interestingly the *Dpp*, *Egfr* and *Ecdysone* signaling pathways do not appear to play a general role in controlling the expression of the other members of the vitelline membrane gene family. These findings highlight the distinguishing characteristics of *VM32E* gene among the other vitelline membrane genes.

In an effort to elucidate the *cis*-acting regulatory signals that dictate the developmental expression of the *VM32E* gene, we have performed an extensive analysis of its promoter. Results from germ line transformation experiments using different fragments of the *VM32E* promoter fused to the *lacZ* reporter gene have shown that the spatial and temporal expression pattern of *VM32E* is achieved by the combined activity of positive and negative controlling elements (Fig. 4A). Within the minimal *VM32E* promoter (-348/-39) we defined the *cis*-acting regulatory regions dictating *VM32E* gene expression in the different follicle domains (CAVALIERE *et al.*, 1997; ANDRENACCI *et al.*, 2000). The 3' most segment of the minimal promoter (proximal element; -112/-39) interacts with two other *cis*-regulatory regions (-253/-113 and -348/-254) and is absolutely required for their output. In

transgenic flies, the -112/-39 region by itself drives the expression of the *lacZ* reporter gene only in the centripetal cells that normally do not transcribe the *VM32E* gene (Fig. 4B). When this upstream element is joined with the -253/-113 region, the *lacZ* reporter gene is expressed in the ventral follicle cells (Fig. 4B). The -253/-113 fragment besides containing the positive element(s) that specify *VM32E* gene expression in the ventral domain contains the *cis*-acting element(s) repressing the gene activity in the centripetal follicle cells through the *Dpp* signaling pathway (BERNARDI *et al.*, 2006). In addition, the -253/-39 region contains the response element(s) to the *Egfr* pathway that modulates the level of *VM32E* gene expression (BERNARDI *et al.*, 2007). Within the -348/-39 minimal promoter, the -348/-254 region appears essential to drive the dorsal expression of the gene and to enhance the ventral expression. When the -348/-254 region is joined with the -112/-39 segment, the expression is higher than the one shown by the -348/-39 promoter and involves also centripetal follicle cells, due by the absence of the -253/-113 region (ANDRENACCI *et al.*, 2000). When analyzed by itself the -348/-254 region drives expression only in the border cells, suggesting that, in these cells, native *VM32E* gene is switched off by negative

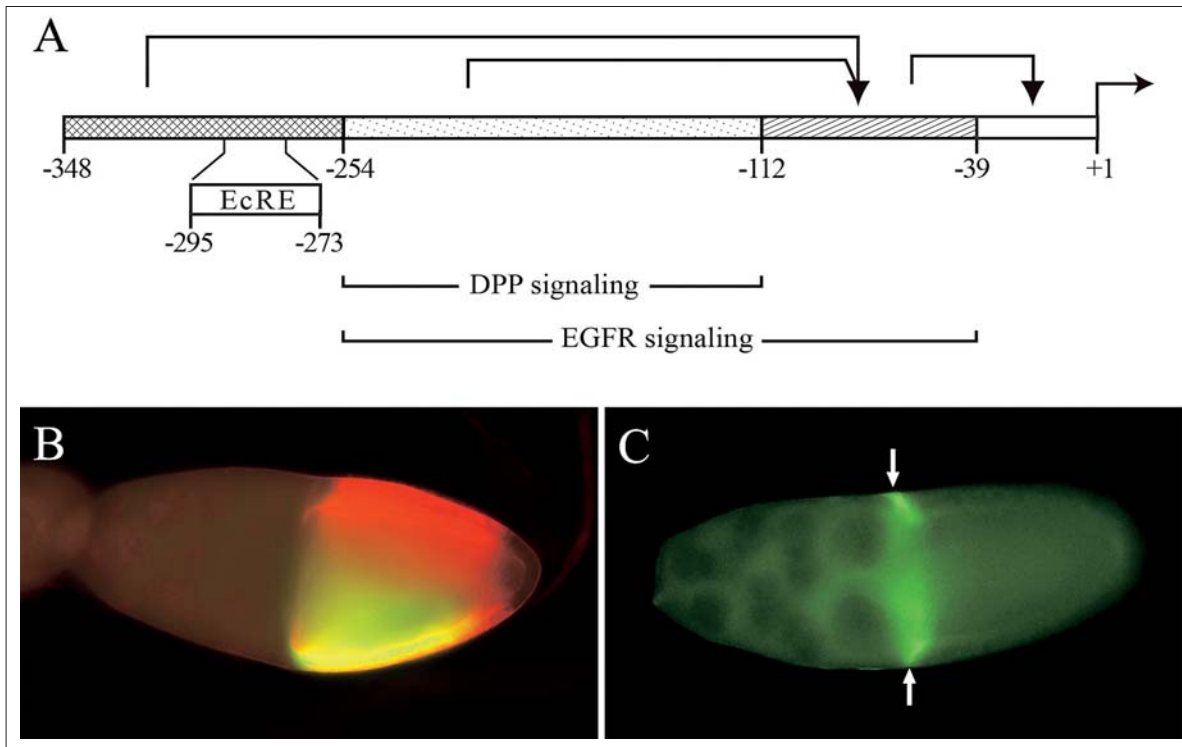


Figure 4

Schematic representation of the interactions among the *cis*-regulatory elements (patterned boxes) of the VM32E promoter. The -348/-254 and the -253/-113 elements interact with the -112/-39 fragment to control the VM32E expression (continuous arrows) in the different follicle cell populations. The -348/-254 region contains an EcRE site (-295/-273) marked by a box. *cis*-acting regions responsive to Dpp and Egfr signaling are delimited by brackets.

(B) Stage 10B egg chamber showing the VM32E protein expression pattern of the native gene (red) and the ventral *lacZ* expression pattern (green) driven by the -253/-39 VM32E promoter region. (C) Stage 10B egg chamber showing the *lacZ* expression (green) in the centripetal follicle cells (indicated by arrows) driven by the -112/-39 VM32E promoter region. In (B) and (C) panels, the egg chambers are oriented with the anterior region toward the left. In the panel (B) the dorsal side is at the top.

control element(s) which could be located within the -112/-39. Within the -348/-254 region we found a putative EcRE sequence to which the Ecr/Usp transcription complex could bind and activate gene expression (BERNARDI *et al.*, 2009).

The precise temporal and spatial control of the VM32E eggshell structural gene, mediated by Dpp, Egfr and Ecdysone signalings, suggests a crucial role of VM32E protein in the complex process of eggshell assembly. Many aspects of eggshell biogenesis are still to be elucidated. Besides its structural contribution to eggshell formation, it has been suggested that the vitelline membrane may perform an important function for the localization of maternal signals involved in embryonic patterning (reviewed by CAVALIERE *et al.*, 2008). The vitelline membrane proteins appear not functionally redundant suggesting that each structural component may have a specific role in the eggshell assembly (ANDRENACCI *et al.*, 2001). The peculiar temporal and spatial regulation of VM32E gene activity may suggest that the VM32E protein could be involved in the process that determines the proper localization of maternal cues within the vitelline membrane.

RIASSUNTO

ESPRESSIONE GENICA DI CONTROLLO DELLA MEMBRANA VITELLINA DURANTE L'OOGENESI DI D. MELANOGASTER

La formazione di strutture extracellulari è un processo complesso e in parte ancora ignoto che ha inizio all'interno della cellula con la sintesi coordinata delle sue differenti componenti proteiche. Le proteine sono successivamente secrete nello spazio extracellulare dove possono andare incontro a tagli proteolitici e a trasporto selettivo. Infine esse sono assemblate in complessi sopramolecolari stabili attraverso la formazione di legami covalenti che coinvolgono specifici domini proteici. I meccanismi che stanno alla base della formazione di tali strutture rappresentano un quesito biologico affascinante e il guscio dell'uovo di *Drosophila melanogaster* rappresenta un ottimo sistema per indagare questi fenomeni. Numerosi studi hanno permesso di identificare il ruolo di varie vie di segnalazione nella formazione delle strutture anteriori del guscio. Meno noti sono invece i meccanismi alla base del controllo trascrizionale dei geni che codificano per le componenti della membrana vitellina, così come le funzioni svolte dalle singole proteine nell'assemblaggio del guscio.

Questa review riassume le conoscenze attuali riguardanti l'espressione dei principali geni della membrana vitellina e in particolare sono descritti i risultati da noi ottenuti sui meccanismi che regolano l'espressione del gene VM32E, uno dei membri di questa famiglia genica.

L'analisi di tale gene è interessante in quanto esso presenta un profilo di espressione peculiare che suggerisce interessanti prospettive svolte dalla proteina nella formazione del guscio dell'uovo.

REFERENCES

- ANDRENACCI D., CAVALIERE V., CERNOLOGAR F.M., GARGIULO G., 2000 – *Spatial activation and repression of the Drosophila vitelline membrane gene VM32E are switched by a complex cis-regulatory system*. Dev. Dyn., 218: 499-506.
- ANDRENACCI D., CERNOLOGAR F.M., TADDEI C., ROTOLI D., CAVALIERE V., GRAZIANI F., GARGIULO G., 2001 – *Specific domains drive VM32E protein distribution and integration in Drosophila eggshell layers*. J. Cell Sci., 114: 2819-2829.
- BERNARDI F., CAVALIERE V., ANDRENACCI D., GARGIULO G., 2006 – *Dpp signaling down-regulates the expression of VM32E eggshell gene during Drosophila oogenesis*. Dev. Dyn., 235: 768-775.
- BERNARDI F., DUCHI S., CAVALIERE V., DONATI A., ANDRENACCI D., GARGIULO G., 2007 – *Egfr signaling modulates VM32E gene expression during Drosophila oogenesis*. Dev. Genes Evol., 217: 529-540.
- BERNARDI F., ROMANI P., TZERTZINIS G., GARGIULO G., CAVALIERE V., 2009 – *EcR-B1 and Usp nuclear hormone receptors regulate expression of the VM32E eggshell gene during Drosophila oogenesis*. doi:10.1016/j.ydbio.2009.01.013.
- BURKE T., WARING G.L., POPODI E., MINOO P., 1987 – *Characterization and sequence of follicle cell genes selectively expressed during vitelline membrane formation in Drosophila*. Dev. Biol., 124: 441-450.
- CAVALIERE V., SPANO S., ANDRENACCI D., CORTESI L., GARGIULO G., 1997 – *Regulatory elements in the promoter of the vitelline membrane gene VM32E of Drosophila melanogaster direct gene expression in distinct domains of the follicular epithelium*. Mol. Gen. Genet., 254: 231-237.
- CAVALIERE V., BERNARDI F., ROMANI P., DUCHI S., GARGIULO G., 2008 – *Building up the Drosophila eggshell: first of all the eggshell genes must be transcribed*. Dev. Dyn., 237: 2061-2072.
- CHERBAS L., HU X., ZHIMULEV I., BELYAEVA E., CHERBAS P., 2003 – *EcR isoforms in Drosophila: testing tissue-specific requirements by targeted blockade and rescue*. Development, 130: 271-284.
- CHERBAS P., CHERBAS L., LEE K., ANDRES A., 1990 – *Ecdysone response elements of a Drosophila gene*. Prog. Clin. Biol. Res., 342: 112-115.
- DENG W.M., BOWNES M., 1997 – *Two signalling pathways specify localised expression of the Broad-Complex in Drosophila eggshell patterning and morphogenesis*. Development, 124: 4639-4647.
- DOBENS L.L., RAFTERY L.A., 2000 – *Integration of epithelial patterning and morphogenesis in Drosophila ovarian follicle cells*. Dev. Dyn., 218: 80-93.
- GARGIULO G., GIGLIOTTI S., MALVA C., GRAZIANI F., 1991 – *Cellular specificity of expression and regulation of Drosophila vitelline membrane protein 32E gene in the follicular epithelium: identification of cis-acting elements*. Mech. Dev., 35: 193-203.
- GIGLIOTTI S., GRAZIANI F., DE PONTI L., RAFTI F., MANZI A., LAVORGNA G., GARGIULO G., MALVA C., 1989 – *Sex, tissue-, and stage-specific expression of a vitelline membrane protein gene from region 32 of the second chromosome of Drosophila melanogaster*. Dev. Genet., 10: 33-41.
- HACKNEY J.F., PUCCI C., NAES E., DOBENS L., 2007 – *Ras signaling modulates activity of the ecdysone receptor EcR during cell migration in the Drosophila ovary*. Dev. Dyn., 236: 1213-1226.
- HIGGINS M.J., WALKER V.K., HOLDEN J.A., WHITE B.N., 1984 – *Isolation of two Drosophila melanogaster genes abundantly expressed in the ovary during vitelline membrane synthesis*. Dev. Biol., 105: 155-165.
- MARGARITIS L.H., KAFATOS F.C., PETRI W.H., 1980 – *The eggshell of Drosophila melanogaster*. J. Cell. Sci., 43: 1-35.
- MINDRINOS M.N., SCHERER L.J., GARCINI F.J., KWAN H., JACOBS K.A., PETRI W.H., 1985 – *Isolation and chromosomal location of putative vitelline membrane genes in Drosophila melanogaster*. EMBO J., 4: 147-153.
- MANOGARAN A., WARING G.L., 2004 – *The N-terminal prodomain of sV23 is essential for the assembly of a functional vitelline membrane network in Drosophila*. Dev. Biol., 270(1): 261-271.
- ORO A.E., MCKEOWN M., EVANS R.M., 1992 – *The Drosophila retinoid X receptor homolog ultraspiracle functions in both female reproduction and eye morphogenesis*. Development, 115: 449-462.
- PASCUCCI T., PERRINO J., MAHOWALD A.P., WARING G.L., 1996 – *Eggshell assembly in Drosophila: Processing and localization of vitelline membrane and chorion proteins*. Dev. Biol., 177: 590-598.
- PERI F., BOKEL C., ROTH S., 1999 – *Local gurken signaling and dynamic MAPK activation during Drosophila oogenesis*. Mech. Dev., 81: 75-88.
- PERI F., ROTH S., 2000 – *Combined activities of gurken and decapentaplegic specify dorsal chorion structures of the Drosophila egg*. Development, 127: 841-850.
- PETRI W.H., WYMAN A.R., KAFATOS F.C., 1976 – *Specific protein synthesis in cellular differentiation. III. The eggshell proteins of Drosophila melanogaster and their program of synthesis*. Dev. Biol., 49: 185-199.
- PERRIMON N., PERKINS L.A., 1997 – *There must be 50 ways to rule the signal: the case of the Drosophila EGF receptor*. Cell, 89: 13-16.
- POPODI E., MINOO P., BURKE T., WARING G.L., 1988 – *Organization and expression of a second chromosome follicle cell gene cluster in Drosophila*. Dev. Biol., 127: 248-256.
- RAY R.P., SCHÜPBACH T., 1996 – *Intercellular signaling and the polarization of body axes during Drosophila oogenesis*. Genes. Dev., 10: 1711-1723.
- RIDDIHOUGH G., PELHAM H.R., 1987 – *An ecdysone response element in the Drosophila hsp27 promoter*. EMBO J., 6: 3729-3734.
- THOMAS H.E., STUNNENBERG H.G., STEWART A.F., 1993 – *Heterodimerization of the Drosophila ecdysone receptor with retinoid X receptor and ultraspiracle*. Nature, 362: 471-475.
- TWOMBLY V., BLACKMAN R.K., JIN H., GRAFF J.M., PADGETT R.W., GELBART W.M., 1996 – *The TGF-beta signaling pathway is essential for Drosophila oogenesis*. Development, 122: 1555-1565.
- WARING G.L., 2000 – *Morphogenesis of the eggshell in Drosophila*. Int. Rev. Cytol., 198: 67-108.
- WASSERMAN J.D., FREEMAN M., 1998 – *An autoregulatory cascade of EGF receptor signaling patterns the Drosophila egg*. Cell, 95: 355-364.
- YAO T.P., SEGRAVES W.A., ORO A.E., MCKEOWN M., EVANS R.M., 1992 – *Drosophila ultraspiracle modulates ecdysone receptor function via heterodimer formation*. Cell, 71: 63-72.
- YAO T.P., FORMAN B.M., JIANG Z., CHERBAS L., CHEN J.D., MCKEOWN M., CHERBAS P., EVANS R.M., 1993 – *Functional ecdysone receptor is the product of EcR and Ultraspiracle genes*. Nature, 366: 476-479.

DROSOPHILA SPERMATOGENESIS: A SYSTEM MODEL TO CELL CYCLE ANALYSIS

GIULIANO CALLAINI (*)

(*) *Department of Evolutionary Biology, University of Siena, via A.Moro 2, 53100 Siena, Italy*
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda «Genetica molecolare dello sviluppo degli insetti».
Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 28 novembre 2008.

Drosophila spermatogenesis: a system model to cell cycle analysis

Drosophila melanogaster represents a powerful tool to examine cell division mechanisms and to decipher centriole/centrosome duplication processes. Male meiosis is particularly suitable to study the regulation of cell cycle progression and the process of spindle assembly and cytokinesis. Male meiosis lacks, indeed, working cell-cycle checkpoints. Thus, germ cells can progress through the cell cycle despite the occurrence of abnormalities in spindle assembly, chromosome alignment, centrosome structure. Overriding canonical blocks in the presence of spindle-DNA damages leads to unusual conditions in which eventual problems are enlarged, becoming more evident. *Drosophila* genetics also offers the opportunity to study the role of specific regulators in centriole duplication/assembly, such as SAK/PLK4 and SAS-6. Making transgenic flies for these genes gives useful information to understand how centriole assembly and duplication are controlled during the cell cycle. Further studies in *Drosophila* may establish common developmental and cellular pathways underlying the phenotype of several human diseases.

KEY WORD: *Drosophila*, spermatogenesis, cell cycle, centrosomes, centrioles.

ORGANIZATION OF THE *DROSOPHILA* TESTIS

Drosophila testis consists of an elongated coiled tube filled of germ cells at different developmental stages (Fig. 1), that have their origin in a small distinct apical region where somatic and stem cells form a distinct niche. In the male gonad of *Drosophila* two stem cell lines, germline (GSCs) and somatic cyst progenitor (CPCs) cells, lie at the apical tip of the testis, anchored by thin cytoplasmic extensions to a cluster of non-dividing cells, the hub cells (HARDY *et al.*, 1979). Each GSCs has been proposed to be flanked in the niche by a pair of SSCs, to form a complex of three cells that are thought to divide in synchrony. The three daughter cells remaining in contact with the hub cells retain stem cell fate, while the other three cells associate into a cyst. Within these cysts, the cytoplasmic extensions of two squamous cyst cells form a thin, microtubule-rich shell that surrounds the gonioblast, that undergoes four rounds of mitotic divisions with incomplete cytokinesis.

An interesting feature of the male meiosis in *Drosophila* is the reduction of centriole number during transition from meiosis I to meiosis II. Spermatocytes I have two centrosomes containing a centriole pair each. These centrioles behave

throughout each centrosome during the meiotic cell cycle as somatic cell centrioles, and each daughter spermatocyte II inherits two centrosomes containing only one centriole. However, unlikely somatic cells, the centrioles of spermatocytes II do not reproduce. So, the spermatocytes II progress through meiosis with centrosomes containing only one centriole. This represents an interesting exception to the general rule: these cells are able to undergo meiosis and cytokinesis with non-canonical centrosomes.

Sperm formation in *Drosophila* occurs by two distinct steps: spermatogenesis and spermiogenesis. During spermatogenesis a germ line stem cell divides asymmetrically to produce a primary spermatogonium, that after four incomplete mitoses gives rise to a progeny of 16 primary spermatocytes. Spermatocytes are connected by cytoplasmic bridges and reside in a common cyst delimited by two large and flat somatic cyst cells. After a growth period in which the spermatocytes increase several times their volume, they undergo two rounds of meiotic divisions to form cysts of 64 interconnected spermatids (FULLER 1993).

Spermiogenesis is a complex process that involves a series of elaborate transformations of the spermatid components. These dramatic transformations from an immotile cell to a motile one

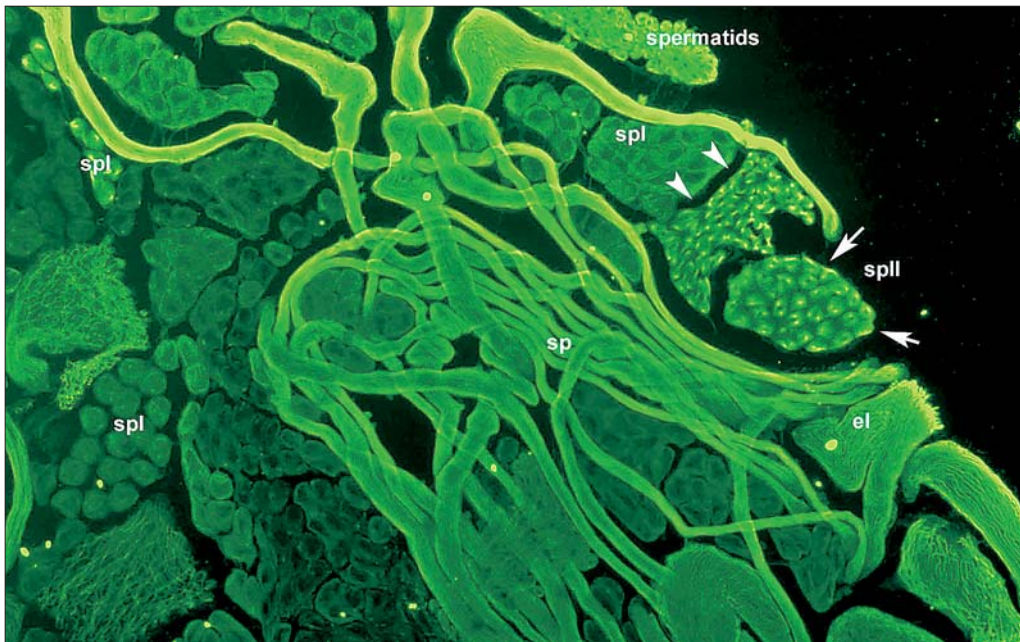


Fig. 1

Preparation of a pupal testis for immunofluorescence microscopy localization of microtubules. spI, primary spermatocytes; spII secondary spermatocytes during prophase (arrows) or telophase (arrowheads); spermatids, el, elongating spermatids, sp, sperm.

include chromatin condensation, cell and axoneme elongation, mitochondrial rearrangement, and sperm individualization (FULLER, 1993). After elongation the syncytial spermatids must be individualized to become mature sperm. Cytoplasmic bridges are broken and the excess cytoplasmic material within the flagella is sequestered, whereas mitochondrial derivatives are remodeled. This process is mediated by 64 distinct conical complexes, or individualization complexes (ICs) (TOKUYASU *et al.*, 1972), mainly composed of actin (FABRIZIO *et al.*, 1998), that translocate along the length of the spermatid bundles from the nuclei to the tail ends.

DROSOPHILA MALE MEIOSIS

One approach to obtain insight into the mechanisms of spindle assembly during cell division is the isolation and characterization of genes involved in specific controls of this process. Meiosis in *Drosophila* males offers the opportunity for a detailed analysis of the process of spindle assembly and cell division through the combined use of genetics and cell biology. The phenotype of some *Drosophila* mutants that uncouple centrosome organization from spindle bipolarity should therefore be helpful in unraveling the contributions of centrosomes to spindle orga-

nization (GLOVER *et al.*, 1995; GONZALEZ *et al.*, 1998; ROTHWELL and SULLIVAN, 2000). Due to the relatively large size of primary and secondary spermatocytes, meiotic spindles and centrioles are very prominent and can be readily detected by staining with several antibodies (Fig. 2). Moreover, several studies demonstrated that meiotic mechanisms have been broadly conserved and that substantial similarities between meiotic regulation in flies and vertebrates exist (MAINES and WASSERMAN, 1998). Products of *Drosophila* genes such as *twine* (ALPHEY *et al.*, 1992), *boule* (EBERHART *et al.*, 1996) and *polo* (LLAMAZARES *et al.*, 1991) have counterparts in the vertebrate germ line. Moreover, the cytology of male meiosis has been thoroughly described in *Drosophila* (CENCI *et al.*, 1994) and many mutants that disrupt specific aspects of this process have been isolated (see CASTRILLON *et al.*, 1993). Mutations in the genes *polo* (SUNKEL and GLOVER, 1988), *aurora* (GLOVER *et al.*, 1995) and *slimb* (WOJCIK *et al.*, 2000) impair centrosome segregation or duplication leading to the formation of spindles with multiple centrosomes. Monopolar spindles organized by either unreplicated centrosomes or multiple centrosomes which have failed to segregate are common to many mitotic mutants in *Drosophila*. Mutational analysis also suggested that a component of the *Drosophila* mitotic centrosome, centrosomin (*cnn*), is required for spindle

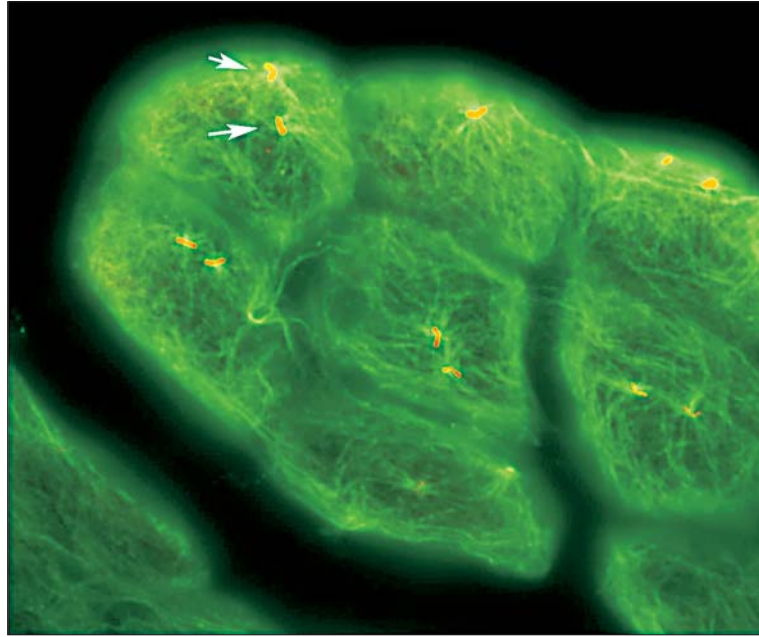


Fig. 2

Detail of a cyst of primary spermatocytes stained for tubulin (green) and γ -tubulin (red). Note that each germ cells contains two pairs of orthogonal rod-like centrosomes (arrows).

organization during male meiosis. Mutations in the *abnormal spindle* locus (*asp*) result in abnormal spindle morphology leading to a metaphase arrest in third-instar larval neuroblasts. *Asp* localizes to the spindle poles from prophase to anaphase of the syncytial divisions and *asp* mitotic spindles are bipolar but have disorganized broad poles at which γ -tubulin has a highly abnormal clump-like distribution (AVIDES and GLOVER, 1999). However, despite these studies have provided insight into the function of some centrosomal components, the role of the centrosome in spindle organization and dynamics still deserves particular attention.

These observations suggest that *asp* may regulate the stability or other dynamic properties of the spindle microtubules at the centrosome (RIPARBELLI *et al.*, 2002). In late anaphase-telophase of male meiosis *Asp* protein localises to the spindle mid-zone, but unlike other centrosomal antigens such as Pavarotti-KLP and Polo kinase that become associated with the very central region of the spindle midzone, the majority of *Asp* protein decorates the very terminal regions of mid-zone microtubules, which at this stage are positioned between the telophase nuclei and the centre of the spindle. These appear to be the minus ends of microtubules that have been released from the centrosomes which at this stage nucleate independent asters of microtubules. This

association of *Asp* with the spindle mid zone appears to be required for the correct structures of the late central spindle and in turn for cytokinesis. Cytokinesis defects are not seen in other tissues of *asp* mutants which generally cause cell division to arrest at metaphase. This could reflect either the apparent lack of a requirement for *asp* function to organize the poles of the meiotic spindle, or perhaps more likely that the spindle integrity checkpoint delays M-phase progression less effectively in male meiosis than it does in mitosis. The central spindle plays an essential role during cytokinesis and there is a cooperative interaction between this structure and the acto-myosin contractile ring: whenever one of the structures is disrupted the other fails to assemble and function. In keeping with this we have found that many cells within *asp* mutant cysts have abnormal central spindles lacking the characteristic interdigitating microtubules. Moreover, molecules that participate in forming parts of the contractile ring, Pavarotti-KLP, the septin Peanut, Polo kinase and Actin, do not localise properly in *asp* mutant spermatocytes. Interestingly, human homologues of *Asp* and centrosomin (*cnn*) are also mutated in primary microcephaly, suggesting that further studies in *Drosophila* may establish common developmental and cellular pathways underlying the human primary microcephaly phenotype.

CENTROSOME AND SPINDLE ASSEMBLY

An essential feature of cell division is the fidelity with which the chromosomes are segregated, because errors in chromosome inheritance can lead to severe congenital malformations or contribute to tumour progression. At the onset of each M phase, the assembly and appropriate organization of the microtubule cytoskeleton in a bipolar array is necessary to distribute to the daughter cells replicated chromosomes (during mitosis or meiosis II) or homologous chromosomes (during meiosis I). The role of the centrosome, in spindle assembly and function was suggested as far back as the late 1800s, when centrosomes were first identified.

The centrosome is the primary microtubule-organizing centre (MTOC) of eukaryotic cell and as such plays a fundamental role in the organization of the cytoplasm. During interphase, the centrosome organizes a microtubule network that is involved in fundamental cellular functions such as intracellular trafficking, cell motility, cell adhesion, and cell polarity. During cell division, two centrosomes are needed to correct organize the bipolar spindle required to accurately segregate chromosomes and play main roles in its orientation with respect to cortical cues, and the late events of cytokinesis. Since each daughter cell receives only one centrosome upon cytokinesis, the centrosome, like DNA, must duplicate once prior to next mitosis. In proliferating cells, the centrosome duplicates just before, or at, the onset of S phase. Thus, at any given time in the cell cycle, cells have either one unduplicated or two duplicated centrosomes. In addition to its function in microtubule organization, the centrosome serves as a scaffold for anchoring several regulatory proteins. Among these are cell-cycle regulators whose association with the centrosome is required for several cell-cycle transitions, including G1 to S-phase, G2 to mitosis and metaphase to anaphase.

The centrosomes exert a strong influence on the spindle architecture and dictate the number of the poles formed (SLUDER and NORDBERG, 2004; NIGG, 2002). Any deviation from normal centrosome numbers can result in the formation of monopolar or multipolar spindles, with direct consequences on the proper chromosome segregation, condition often associated with aneuploidy, a hallmark of cancer cells (NIGG, 2006). Accordingly, abnormalities in the spindle pole organization function occur in many cancers and can be associated with genomic instability because extra and irregular centrosomes can give rise to aberrant cell division (NIGG, 2006).

THE CENTRIOLE: THE MASTER OF CENTROSOME ORGANIZATION

The centrosome typically consists of two components: a core structure consisting of a pair of centrioles, which serve as centrosomal organizer; and a surrounding electron-dense matrix called pericentriolar material (PCM). PCM serves as a framework to anchor microtubules and contains gamma-tubulin ring complexes, which nucleate microtubules, although other proteins also appear to be involved in this process (GERGELY and BASTO, 2008).

The structure of the centrioles is conserved from ancient eukaryotes to mammals. They are barrel-shaped organelles, 100-250 nm in diameter and 100-500 nm in length, with ninefold symmetric array of single, doublet or triplet microtubules. Centriolar characteristics determine most properties, such as stability, dynamicity and polarity of the centrosome (ACILAN and SAUNERS, 2008). Studies using antibodies to polyglutamylation tubulin to ablate centrioles confirmed that centrosome size and organization of PCM depend on centriolar integrity (BORNENS, 2002). It has, also, been demonstrated how the acquisition of the pericentriolar material is mechanistically linked to centriole duplication, thus determining final centrosome size (BOBINNEC *et al.*, 1998). Thus, single centrioles, and even small centrioles, can recruit the PCM, but centriole loss leads in general to PCM dispersal. The ability of centrioles to duplicate is therefore central to the reproductive capacity and function of the centrosome.

In addition, the centrioles have another distinct function as basal bodies to seed the growth of flagella and to template the assembly either of a primary cilium or of a beating cilia during ciliogenesis in specialized cells. Recent studies have demonstrated that cilia have crucial roles in an increasing number of cellular and developmental processes, establishing a link between dysfunctional cilia and several genetic diseases (for review see DELATTRE *et al.*, 2006; SLUDER *et al.*, 1989; DAVIS *et al.*, 2006). For example, inability of centrioles to properly migrate prior to ciliary assembly has recently been linked to Meckel-Gruber syndrome (DAWE *et al.*, 2007a). Additionally, proper orientation of cilia via centriole positioning towards the posterior of embryonic node cells is critical for establishing left-right asymmetry during mammalian development (ELEY *et al.*, 2005). However, how centrioles and basal bodies are assembled and how their numbers are controlled within cells constitute long-standing unresolved questions.

At the onset of the centrosome duplication cycle, the two tightly apposed centrioles, mother and daughter, split slightly from one another. Mother centrioles are so-called because they were assembled in a previous cell cycle to the daughter centriole. At the G1/S transition new centrioles grow orthogonally from each of the two pre-existing centrioles. The new centrioles continue to elongate during late G2 and remain strictly orthogonal (engaged) until early M phase (DAWE *et al.*, 2007b). Upon entry into mitosis the two centrosomes separate from each and participate in mitotic spindle organization. Centriole pairs become disengaged at the transition from metaphase to anaphase, losing their orthogonal configuration. According to a recently proposed model (NONAKA *et al.*, 2005), the engagement of new duplicated centrioles blocks their further duplication, whereas their disengagement at the end of mitosis represents a licensing mechanism for ensuring that centrioles duplicate only once in every cell cycle. Separase, a protease involved in severing sister chromatid cohesion during mitosis and meiosis, has been recently implicated in this process (KURIYAMA and BORISY 1981). However, it remains to be seen whether the overexpression of separase induces ectopic centriole duplication. Interestingly, the overexpression of SAK/PLK-4 and SAS-6 in human tissue cultured cells and *Drosophila* embryos leads to centriole amplification (TSOU and STEARNS, 2006), also in the absence of pre-existing centrioles (HABEDANCK *et al.*, 2005; BETTENCOURT-DIAS *et al.*, 2005; PEEL *et al.*, 2007), suggesting that these proteins could be a potential players in the licensing mechanism for the regulation of centriole duplication. HsSAS-6 has been, indeed, shown to be a positive regulator of procentriole formation during the centrosome duplication cycle of HeLa cells (RODRIGUES-MARTINS *et al.*, 2007a).

CENTRIOLE ASSEMBLY

The general mechanisms that orchestrate centriole assembly remain poorly understood, although substantial progress has recently been made in invertebrates. Studies in *Caenorhabditis elegans* have identified five proteins as being essential for centriole formation (BETTENCOURT-DIAS and GLOVER, 2007, for a review). In particular, the SPD-2 protein acts upstream in centriole assembly pathway by recruiting the ZYG-1 kinase to the site of daughter centriole formation. This process then leads to the recruitment of SAS-5 and SAS-6, two coiled-coil

proteins needed for central tube assembly, a structure onto which singlet microtubules are subsequently assembled in a SAS-4-dependent manner (RODRIGUES-MARTINS *et al.*, 2007b). Homologs of nematode SAS-4 and SAS-6 were also required for centriole biogenesis in *Drosophila* (HABEDANCK *et al.*, 2005; PEEL *et al.*, 2007). It has also been proposed that the Polo kinase family member SAK/PLK-4, that is essential for centriole duplication in both human cells and *Drosophila* (TSOU and STEARNS, 2006) could be related to ZYG-1. Downregulation and overexpression of SAK is associated with cancer in humans, mice and flies. The regulation of SAK is thus crucial in the control of centriole number and tumorigenesis.

The characteristic orthogonal disposition of the centrioles within the centrosome has led to the suggestion that centriole duplication in proliferating cells requires the presence of a pre-existing centriole acting as “template” for the formation of a daughter. However, the findings in some biological systems, that centrioles can be formed *de novo*, without pre-existing template, have blurred this dogma. Studies of multi-ciliated epithelial cells (VLADAR and STEARNS, 2007), early mouse embryos (CALARCO-GILLAM *et al.*, 1983), *Chlamydomonas* (MARSHALL *et al.*, 2001) and parthenogenetic insects (RIPARBELLI and CALLAINI, 2003; RIPARBELLI *et al.*, 2005) clearly show that centrioles can be assembled *de novo*. Strikingly, *de novo* assembly can also occur in vertebrate somatic cells when the centrosomes are destroyed or removed (LA TERRA *et al.*, 2005). Moreover, the premise that each maternal centriole serves as a template for the formation of one and only one daughter centriole during each cell division cycle does not readily explain the rapid induction of aberrant centriole numbers detected under certain experimental conditions.

SAK/PLK4, an upstream regulator of canonical centriole biogenesis, can promote centrosome amplification in *Drosophila* embryos and unfertilised eggs. In embryos this is initiated on the gonomeric spindle in a process that appears to be templated from the sperm basal body. Because centrioles are eliminated from the oocyte during oogenesis, their generation in unfertilised eggs expressing SAK/PLK4 must represent their *de novo* formation. Both SAK/PLK4 promoted templated and *de novo* centrosome amplification require the activity of DSAS-6 and DSAS-4, two conserved molecules required for centriole duplication. This suggests the existence of a universal self-organizing process of centriole assembly.

Recent studies in *C. elegans* have highlighted a

group of molecules necessary for centriole assembly (BETTENCOURT-DIAS and GLOVER, 2007). ZYG-1 kinase recruits a complex of two coiled-coil proteins, SAS-6 and SAS-5, which are necessary to form the *C. elegans* centriolar tube, a scaffold in centriole formation (LEIDEL *et al.*, 2005; DELATTRE *et al.*, 2006; PELLETIER *et al.*, 2006). This complex also recruits SAS-4 which is important for the assembly of the centriolar microtubules that decorate that tube. *Drosophila* SAS-6 is necessary for centriole assembly and cohesion. Overexpression of DSAS-6 in syncytial embryos led to the *de novo* formation of multiple microtubule organizing centers (MTOCs). Strikingly, the center of these MTOCs did not contain centrioles, as described previously for SAK/PLK4 overexpression (RODRIGUES-MARTINS *et al.*, 2007b). Instead, tube-like structures were present, supporting the idea that centriolar assembly starts with the formation of a tube-like scaffold, dependent on DSAS-6. In DSAS-6 loss of function mutants, centrioles failed to close and to elongate the structure along all axes of the 9-fold symmetry suggesting modularity in centriole assembly.

Overexpression of SAK/PLK4 is sufficient to induce amplification of centrioles of normal ultrastructure in *Drosophila* embryos and their *de novo* formation in unfertilised eggs. Both these processes require the activity of DSAS-6 and DSAS-4, two regulators of canonical duplication. Centriole biogenesis is a template-free self-assembly process that is locally triggered and regulated by molecules that ordinarily associate with the existing centriole. This suggests that the role of the mother centriole is not one of a bona-fide «template» but a platform for a set of regulatory molecules, hence catalyzing and regulating daughter centriole assembly.

Centrosome amplification is normally inhibited by degradation of SAK and SAK is targeted for degradation by the SCF/Slimb ubiquitin ligase. This complex physically interacts with SAK, and in its absence, SAK levels accumulate, leading to the striking formation of multiple daughter centrioles surrounding each mother. This interaction is mediated via a conserved Slimb binding motif in SAK. Mutations in this degron impair the interaction with Slimb, stabilise SAK levels and lead to centrosome amplification (CUNHA-FERREIRA *et al.*, 2009). This regulation is likely to be conserved, because knockout or depletion of the orthologue of Slimb, β -Trcp1 in mice, also shows centrosome amplification (GUARDAVACCARO *et al.*, 2003). Since the SCF/ β -Trcp complex plays an important role in cell cycle

progression, these results lead to new understanding on the control of centrosome number and how it may go awry in human disease. *Drosophila* eggs and embryos should, therefore, provide an ideal experimental system for the further analyses of these phenomena and how it may go awry in cancer. The fact that both canonical and *de novo* centriole formation depend on SAK/PLK4, DSAS-6 and DSAS-4 suggests these as good candidates to target to control aberrant centriole formation in human disease.

RIASSUNTO

LA SPERMATOGENESI DI DROSOPHILA: UN SISTEMA MODELLO PER LO STUDIO DEL CICLO CELLULARE

Drosophila melanogaster rappresenta un ottimo sistema per esaminare in dettaglio i meccanismi della divisione cellulare e per capire il processo di duplicazione dei centrioli o dei centrosomi. La meiosi maschile è particolarmente adatta allo studio della regolazione del ciclo cellulare e del processo di formazione del fuso e citodieresi. La meiosi maschile manca, infatti, di checkpoints. Questo consente alle cellule di proseguire nel ciclo cellulare nonostante possano comparire difetti di organizzazione del fuso, dei centrosomi o allineamento incompleto dei cromosomi. Il superamento dei consueti blocchi in presenza di difetti nell'assemblaggio del fuso o di danni al DNA, porta ad una particolare condizione in cui i problemi sono ingigantiti, diventando così evidenti e più facilmente studiabili. La genetica di *Drosophila* offre anche l'opportunità di studiare il ruolo di specifici regolatori coinvolti nei processi di assemblaggio e duplicazione dei centrioli, come SAK/PLK4 e SAS-6. La produzione di mosche transgeniche per questi geni fornisce utili informazioni per capire come l'assemblaggio e la duplicazione dei centrioli sono regolati durante il ciclo cellulare.

REFERENCES

- ACILAN C., SAUNERS W.S., 2008 – *A tale of too many centrosomes*. Cell, 134: 572.
- ALPHEY L., JIMENEZ J., WHITE-COOPER H., DAWSON I., NURSE P., GLOVER D., 1992 – *twine, a cdc25 homolog that functions in the male and female germline of Drosophila*. Cell, 69: 977.
- AVIDES M.C., GLOVER D.M., 1999 – *Abnormal spindle protein, Asp, and the integrity of mitotic centrosomal microtubule organizing center*. Science, 283: 1733.
- BETTENCOURT-DIAS M., GLOVER D.M., 2007 – *Centrosome biogenesis and function: centrosomics brings new understanding*. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 8: 451.
- BETTENCOURT-DIAS M., RODRIGUES-MARTINS A., CARPENTER L., RIPARBELLI M., LEHMANN L., GATT M.K., CARMO N., BALLOUX F., CALLAINI G., GLOVER D.M., 2005 – *SAK/PLK4 is required for centriole duplication and flagella development*. Curr. Biol. 15:2199.
- BOBINNEC Y., KHODJAKOV A., MIR L.M., RIEDER C.L., EDDÉ B., BORNENS M., 1998 – *Centriole disassembly in vivo and its effect on centrosome structure and function in vertebrate cells*. J. Cell Biol. 143: 1575.
- BORNENS M., 2002 – *Centrosome composition and*

- microtubule anchoring mechanisms.* Curr. Opin. Cell Biol. 14: 25.
- CALABARCO-GILLAM P.D., SIEBERT M.C., HUBBLE R., MITCHISON T., KIRSCHNER M., 1983 – *Centrosome development in early mouse embryos as defined by an autoantibody against pericentriolar material.* Cell, 35: 621.
- CASTRILLON, D.H., GONCZY P., ALEXANDER S., RAWSON R., EBERHART C.G., VISWANATHAN S., DINARDO S., WASSERMAN S.A., 1993 – *Toward a molecular genetic analysis of spermatogenesis in Drosophila melanogaster: characterization of male-sterile mutants generated by single P element mutagenesis.* Genetics 135, 489.
- CENCI G., BONACCORSI S., PISANO C., VERNI F., GATTI M., 1994 – *Chromatin and microtubule organization during premeiotic, meiotic and early postmeiotic stages of Drosophila melanogaster spermatogenesis.* J. Cell Sci. 107: 3521.
- DAVIS E.E., BRUECKNER M., KATSANIS N. 2006 – *The emerging complexity of the vertebrate cilium: new functional roles for an ancient organelle* Dev Cell. 11: 9
- DAWE H.R., FARR H., GULL K. 2007a – *Centriole/basal body morphogenesis and migration during ciliogenesis in animal cells.* J. Cell Sci. 120: 7.
- DAWE H.R., SMITH U.M., CULLINANE A.R., GERRELLI D., COX P., BADANO J.L., BLAIR-REID S., SRIRAM N., KATSANIS N., ATTIE-BITACH T., AFFORD S.C., COPP A.J., KELLY D.A., GULL K., 2007b – *The Meckel-Gruber Syndrome proteins MKS1 and meckelin interact and are required for primary cilium formation.* Hum. Mol. Genet. 16: 173.
- DELATTRE M., CANARD C., GONCZY P., 2006 – *Sequential protein recruitment in C. elegans centriole formation.* Curr. Biol. 16: 1844.
- EBERHART C.G., MAINS J.Z., WASSERMAN S.A., 1996 – *Meiotic cell cycle requirement for a fly homologue of human Deleted in Azoospermia.* Nature 381: 783.
- ELEY L., YATES L.M., GOODSHIP J.A., 2005 – *Cilia and disease.* Curr. Opin. Genet. Dev. 15: 308.
- FABRIZIO J.J., HIME G., LEMMON S.K., BAZINET C., 1998 – *Genetic dissection of sperm individualization in Drosophila melanogaster.* Development 125: 1843.
- FULLER M.T., 1993 – *Spermatogenesis.* In: Bates, M., Arias, A.M. (Eds.), *The Development of Drosophila melanogaster*, vol. I, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1993, pp.71-147.
- GERGELY F., BASTO R., 2008 – *Multiple centrosomes: together they stand, divided they fall.* Genes Dev. 22: 2291.
- GLOVER D., LEIBOWITZ M.H., MCLEAN S.A., PARRY H., 1995 – *Mutations in aurora prevent centrosome separation leading to the formation of monopolar spindles.* Cell 81: 95.
- GONZALEZ C., TAVOSANIS G., MOLLINARI C., 1998 – *Centrosomes and microtubule organisation during Drosophila development.* J. Cell Sci. 111: 2697.
- GUARDAVACCARO D., KUDO Y., BOULAIRE J., BARCHI M., BUSINO L., DONZELLI M., MARGOTTIN-GOGUET F., JACKSON P.K., YAMASAKI L., PAGANO M., 2003 – *Control of meiotic and mitotic progression by the F box protein beta-Trcp1 in vivo.* Dev. Cell 4: 799.
- HABEDANCK R., STIERHOF Y.D., WILKINSON C.J., NIGG E.A., 2005 – *The Polo kinase Plk4 functions in centriole duplication.* Nat. Cell Biol. 7: 1140.
- HARDY R.W., TOKUYASU K.T., LINDSLEY D.L., GARAVITO M., 1979 – *The germinal proliferation center in the testis of Drosophila melanogaster.* J. Ultrastruct. Res. 69: 180.
- CUNHA-FERREIRA I., RODRIGUES-MARTINS A., BENTO I., RIPARBELLI M., ZHANG W., LAUE E., CALLAINI G., GLOVER D.M., BETTENCOURT-DIAS M., 2009 – *The SCF/Slimb ubiquitin ligase limits centrosome amplification through degradation of SAK/PLK4.* Curr. Biol. 19: 1.
- KURIYAMA R., BORISY G.G., 1981 – *Centriole cycle in Chinese hamster ovary cells as determined by whole-mount electron microscopy.* J. Cell Biol. 91: 814.
- LA TERRA S., ENGLISH C.N., HERGERT P., MCEWEN B.F., SLUDER G., KHODJAKOV A., 2005 – *The de novo centriole assembly pathway in HeLa cells: cell cycle progression and centriole assembly/maturation.* J. Cell Biol. 168: 713.
- LEIDEL S., DELATTRE M., CERUTTI L., BAUMER K., GÖNCZY P., 2005 – *SAS-6 defines a protein family required for centrosome duplication in C. elegans and in human cells.* Nat. Cell Biol. 7: 115.
- LLAMAZARES S., MOREIRA A., TAVARES A., GIRDHAM C., SPRUCE B.A., GONZALEZ C., KARESS R.E., GLOVER D., SUNKEL C.E., 1991 – *Polo encodes a protein kinase homolog required for mitosis in Drosophila.* Genes Dev. 5: 2153.
- MAINES J., WASSERMAN S., 1998 – *Regulation and execution of meiosis in Drosophila males.* Curr. Top. Dev. Biol. 37: 301.
- MARSHALL W.F., VUCICA Y., ROSENBAUM J.L., 2001 – *Kinetics and regulation of de novo centriole assembly. Implications for the mechanism of centriole duplication.* Curr. Biol. 11: 308.
- NIGG E.A., 2002 – *Centrosome aberrations: cause or consequence of cancer progression?* Nat. Rev. Cancer. 2: 815.
- NIGG E.A., 2006 – *Origins and consequences of centrosome aberrations in human cancers.* Int. J. Cancer. 119: 2717
- NONAKA S., YOSHIBA S., WATANABE D., IKEUCHI S., GOTO T., MARSHALL W.F., HAMADA H., 2005 – *De novo formation of left-right asymmetry by posterior tilt of nodal cilia.* PLoS Biol. 3: 268.
- PEEL N., STEVENS N.R., BASTO R., RAFF J.W., 2007 – *Overexpressing centriole-replication proteins in vivo induces centriole overduplication and de novo formation.* Curr. Biol. 17: 834.
- PELLETIER L., O'TOOLE E., SCHWAGER A., HYMAN A.A., MULLER-REICHERT T., 2006 – *Centriole assembly in Caenorhabditis elegans* Nature 444: 619.
- RIPARBELLI M.G., CALLAINI G., GLOVER D.M., DO CARMO AVIDES M., 2002 – *A requirement for the Abnormal Spindle protein to organise microtubules of the central spindle for cytokinesis in Drosophila.* J. Cell Sci. 115, 913
- RIPARBELLI M.G., CALLAINI G., 2003 – *Drosophila parthenogenesis: a model for de novo centrosome assembly.* Dev. Biol. 260: 298.
- RIPARBELLI M.G., TAGU D., BONHOMME G., CALLAINI G., 2005 – *Aster self-organization at meiosis: a conserved mechanism in insect parthenogenesis?* Dev. Biol. 278, 220
- RODRIGUES-MARTINS A., BETTENCOURT-DIAS M., RIPARBELLI M., FERREIRA C., FERREIRA I., CALLAINI G., GLOVER D.M., 2007a. – *DSAS-6 organizes a tube-like centriole precursor, and its absence suggests modularity in centriole assembly.* Curr. Biol. 17: 1465.
- RODRIGUES-MARTINS A., RIPARBELLI M., CALLAINI G., GLOVER D.M., BETTENCOURT-DIAS M., 2007b – *Revisiting the role of the mother centriole in centriole biogenesis.* Science 316: 1046.
- ROTHWELL W.F., SULLIVAN W., 2000 – *The centrosome in early Drosophila embryogenesis.* Curr. Top. Dev. Biol. 49: 409.

- SLUDER G., MILLER F.J., RIEDER C.L., 1989 – *Reproductive capacity of sea urchin centrosomes without centrioles*. Cell Motil. Cytoskeleton 13: 264.
- SLUDER G., NORDBERG J.J., 2004 – *The good, the bad and the ugly: the practical consequences of centrosome amplification*. Curr. Opin. Cell Biol. 16: 49.
- SUNKEL C.E., GLOVER D.M., 1988 – *Polo, a mitotic mutant of Drosophila displaying abnormal spindle poles*. J. Cell Sci. 89: 25.
- TOKUYASU K.T., PEACOCK W.J., HARDY R.W., 1972 – *Dynamics of spermiogenesis in Drosophila melanogaster*. I. Individualization process. Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 124: 479.
- TSOU M.F., STEARNS T. 2006 – *Mechanism limiting centrosome duplication to once per cell cycle*. Nature 442: 947.
- VLADAR E.K., STEARNS T., 2007 – *Molecular characterization of centriole assembly in ciliated epithelial cells*. J. Cell Biol. 178: 31.
- WOJCIK E.J., GLOVER D., HAYS T.S., 2000 – *The SCF ubiquitin ligase protein slimb regulates centrosome duplication in Drosophila*. Curr. Biol. 10: 1131.

LETTURA

BIODIVERSITÀ DELLA SPERMATECA NEI COLEOTTERI

LUIGI DE MARZO (*)

(*) Dipartimento di Biologia, Difesa e Biotecnologie agro-forestali, Università della Basilicata, viale Ateneo Lucano 10, I-85100 Potenza, e-mail: l.demarzo@alice.it

Lettura tenuta durante la Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 29 novembre 2008.

Biodiversity of the spermatheca in Coleoptera.

Besides the overcoming number of described species, Coleoptera exhibit large biodiversity in further parameters, such as size, which ranges very extensively (100:1) in length (Fig. 1), and some anatomical features of their genitalia. For example, male genitalia of most Ptiliidae and some Carabidae include a single testis (Figs. 2, 4), which in members of the former family is able to produce either giant sperm (Figs. 5-6) or very small items (Figs. 7-8). Furthermore, Coleoptera can be regarded as protagonists of World biodiversity because of several details of their spermatheca, as documented in this paper.

Out of 148 species of Coleoptera examined, 5 patterns of the this organ were detected throughout (Figs. 11-15); they separate from each other by presence/absence of the 3 fundamental parts: *receptacle*, *duct* and *gland*. The most common pattern (52%) includes all these parts; whereas the rare pattern of *Lacon punctatus* includes the gland only and was recognized by comparing different species of Elateridae (Figs. 24-25).

Observed in fresh preparations, receptacle was usually easy to recognise because of its sperm content (Figs. 26-28). Otherwise, a comparative anatomy study was necessary for the parthenogenetic *Ptinella mekura* (Figs. 29-30), as well for those females of some Scolytidae, Curculionidae and Staphylinidae, which are used to store sperm also into the adjacent gland (Figs. 31-34, 35-36). Duct is usually made by scantily sclerotized cuticle (Fig. 37); and its boundary on the receptacle is sometimes marked by an abrupt thickening (Fig. 38); if studied on fresh preparations, it does usually contain very few sperm or nought, except when its opening is plugged by a spermatophore (Fig. 39). Spermathecal gland is characterized from an own reservoir lined by hypertrophic epithelium; usually it bears also an efferent duct and a valvular/pumping device (Figs. 40-41).

Spermatheca is lacking in some Coleoptera, as in the reported examples of a Tenebrionid and a Coccinellid, which respectively store sperm into the copulatory pouch and into the oviducts (Figs. 42-43). Other Coccinellidae of the same tribe Scymnini are provided with usual type of sclerotized receptacle (Figs. 44-45), which is employed for taxonomy of Coccinellidae, Staphylinidae, Chrysomelidae, Curculionidae, etc. (Figs. 46-50). Sometimes, these sclerotized receptacles exhibit 1-2 internal protuberances (Figs. 48-50); otherwise, they are pipe-like and partially arranged as a skein or a helix (Figs. 51-55). The wonderful receptacle of *Diestota guadalupensis* (Staphylinidae-Aleocharinae) exhibits two regular helical tracts, which are included one into the other (Fig. 55).

Sometimes, receptacle possesses a membranous cuticle and is able to inflate meanwhile it fills with sperm (Figs. 56-57). In their shape, receptacles can be either branched (Fig. 58) or divided into 2 or more parts (Figs. 59-61), acquiring even the appearance of a symmetrical organ (Fig. 59). In some Staphylinidae a perforate septum divides their receptacle lumen in two chambers (Fig. 62). Receptacles of unsclerotized type are frequently supported by a single linear sclerite (Fig. 63), otherwise by a unique reticular sclerotization as in the instance of *Licinus silphoides* (Fig. 64).

Muscular equipment of the receptacle can be either arranged as a diffuse sheath (Fig. 65) or confined to basal or apical regions (Figs. 66-68); and, together with the cuticle, it can build an efficient pumping device (Fig. 68). Compressor muscle is a usual structure of the sclerotized receptacles, where fibres connect two surfaces disposed one in front to the other (Fig. 69). Duct has a hardened cuticle in rare instances only (Fig. 71); in some species it is 2 or more times, up to 6 times, as long as the female itself (Fig. 70, 72-73); it can be provided with different types of pumping devices, in which musculature collaborates with heavy cuticle modifications (Figs. 74-77). Gland is sometime provided with a hardened reservoir (Fig. 78); moreover, it has a heavy branched shape (Fig. 79) and looks sometimes enormously large if compared with the receptacle (Fig. 80).

Certain anatomical devices and anatomical conditions of the spermatheca suggest an adaptation. So, duct length of some species clearly agrees with the endophallus length: this is particularly evident when the latter is very long (Fig. 81). When receptacle is able to inflate, males are equipped with a powerful ejaculatory ampulla (Figs. 82-83). Anyhow, the particular male pump of *Monotoma spinicollis* seems to be adapted to overcome the resistance of the fleeced spermathecal duct (Fig. 84). Shape of the receptacle is adapted in several ways to support the compressor muscle and even includes the funnel-like processes of Ptiliidae (Figs. 85-91). Likely, the internal protuberances of the receptacle do promote an ordinate arrangement of sperm. The same function may be ascribed to the invaginate receptacle of some Scydmaenidae (Fig. 93) and to the conical apical production of many Staphylinidae as well (Figs. 94-95).

Although sperm releasing is a fundamental function, no adaptation was recognised for it. On this subject, GRASSÉ (1977) suggests the compressor muscle as the more important device and reports the example of *Acanthoscelides obtectus* (Bruchidae) (Fig. 96). Anyhow, the general validity of this mechanism seems doubtful if we look at in another species of the same family: *Bruchus pisorum*. Here, sperm are somewhat long; they stay densely accumulated in the receptacle (Fig. 97) and aren't easy to expel.

On the contrary, spermatheca of some species seems to be adapted to prevent sperm from escaping. E.g., sperm are sometimes segregated into the gland (Figs. 98-99); otherwise, they are restrained in receptacles comparatively very small (Figs. 100-101). Further example is the record-beetle *Divaes bipustulatus* (Melyridae), where sperm are as many as 10.000 µm long, and receptacle looks to be abruptly disproportionate in size (Fig. 102).

KEY WORDS: terminology, patterns, structures, devices, adaptations.

INTRODUZIONE

Considerando il più semplice parametro di valutazione della biodiversità del Pianeta, i Coleotteri già si collocano fra i protagonisti principali con una ricchezza in specie di circa 12.000 registrate per l'Italia e 400.000 per il mondo intero (SBORDONI *et al.*, 2004). Ma il loro contributo alla biodiversità appare evidente anche nelle dimensioni corporee, che nella lunghezza esprimono con un rapporto di 100:1 fra lo Scarabeo-golia e i minuscoli Ptiliidi (Fig. 1). Inoltre, questi ultimi lasciano intravedere un'ampia biodiversità anatomica, esemplificando anzi uno degli assiomi della Zoologia: che gli animali muniti di esoscheletro possono presentare una complessità elevatissima degli organi interni anche se hanno dimensioni corporee infime (TREMBLAY, 2003).

Infatti, negli Ptiliidi troviamo una particolarità anatomica che forse non si è affermata al di fuori dei Coleotteri; cioè, il possesso di un singolo testicolo (Fig. 2): non di un'interfusione delle masse testicolari come quella comune nei Lepidotteri (Fig. 3), ma un'effettiva oblitterazione, che ha un parallelismo anche, e soltanto, in alcuni Carabidi (DE MARZO, 1991a; 1998) (Fig. 4). In prima analisi, questa particolarità degli Ptiliidi può apparire correlata con la produzione degli «spermatozoi giganti», che talvolta superano ampiamente la lunghezza dello stesso insetto (Figg. 5-6). Ma, altre specie della stessa famiglia smentiscono questa idea, giacché, per contro, i loro testicoli spaiati servono a produrre «spermatozoi nani» (DE MARZO, 1994a), talvolta bacilliformi, altre volte di forma astrusa e difficile da aggettivare altrimenti (Figg. 7-8).

Il presente contributo si propone di illustrare come, nella loro qualità di Ordine massimo del Mondo vivente, i Coleotteri siano ampiamente biodiversi anche a livello dell'apparato genitale femminile, e particolarmente nell'anatomia della spermateca.

SPERMATECA: TERMINI E DEFINIZIONI

La spermateca, come è definita nelle opere fondamentali, è organo di origine ectodermica, che si connette in prossimità del gonoporo, con o senza la presenza di una camera genitale (SNODGRASS, 1935; DAVEY, 1985). Nei Coleotteri, quest'ultima è presente ed è tipicamente tubuliforme (= vagina); sicché lo sbocco della spermateca è in prossimità di un gonoporo virtuale (Fig. 9).

Ma, con il susseguirsi degli studi, la terminologia relativa alla spermateca si è abbondantemente arricchita, esprimendosi con una costellazione di

termini, che non sono sempre puntualmente definiti dai vari studiosi¹; sicché, perfino i termini originari «spermateca» e «*receptaculum seminis*», considerati sinonimi sia per BERLESE (1909: 870) sia per SNODGRASS (l.c.: 580), vengono usati da altri autori con due significati differenti: (I) talvolta «in senso stretto», per indicare segnatamente il serbatoio di conservazione degli spermatozoi, (II) altre volte «in senso comprensivo», per l'insieme delle varie parti dell'organo. Questa complicazione terminologica è evidenziata di recente da HARBACH & KNIGHT (1980), i quali, infine, raccomandano di evitare l'uso del termine «spermateca» per una singola parte dell'organo².

Nel presente contributo, anche in accordo con il lavoro di DALLAI (1976) sull'Ape regina (Fig. 10), questo termine viene ad indicare, secondo la specie: (a) sia una spermateca comprensiva delle tre parti tipiche: *ricettacolo*, *dotto* e *ghiandola*; (b) sia una spermateca mancante una o due di queste parti. Con questo presupposto, sarebbero matematicamente possibili i 7 modelli di spermateca indicati in Tab. 1; ma, nella realtà, i Coleotteri presentano soltanto i 5 modelli indicati nella stessa tabella.

Tab. 1 – Modelli teorici della spermateca, in riferimento alla presenza/assenza di ricettacolo, dotto e ghiandola, e modelli effettivamente riscontrati svolgendo il presente studio.

modelli teorici	modelli riscontrati
ricettacolo + dotto + ghiandola	*
ricettacolo + dotto	*
ricettacolo + ghiandola	*
soltanto il ricettacolo	*
soltanto il dotto	
dotto + ghiandola	
soltanto la ghiandola	*

RICORRENZA DEI VARI MODELLI

Questi 5 modelli sono stati riscontrati attraverso lo studio delle 148 specie elencate in appendice e sono illustrati in forma schematica nelle Figg. 11-15. Queste indicano anche la ricorrenza di ciascuno di essi, sia in valore assoluto, sia in percentuale. Il modello comprensivo delle tre parti tipiche (Figg. 16-17) è il più comune con una ricorrenza del 52%. Alcuni esempi di spermateche atipiche, mancanti del dotto o della ghiandola o di entrambe queste

¹ Ad esempio: seminal capsule, reservoir, receptacle, chambre de stockage, *ductus spermatecae*, *ductus receptaculi*, conduit, ghiandola spermatecale, ghiandola spermofila, *lagena receptaculi*, Spermathekengang, nonché i termini classici *receptaculum seminis* e le traslazioni di «spermateca» nelle varie lingue.

² Continued use of the term spermatheca for only one part of the receptaculum seminis or spermatheca of morphologists is not recommended here (HARBACH & KNIGHT, 1980: 43).

due parti, sono riportati nelle Figg. 18-23. Infine, la Fig. 24 illustra il caso di un'unica specie, l'Elateride *Lacon punctatus*, in cui la spermateca è rappresentata dalla sola ghiandola. Questa particolare condizione è stata riconosciuta attraverso uno studio di anatomia comparata: esaminando l'apparato genitale femminile in varie specie di Elateridi si è trovato che le femmine di *L. punctatus* conservano gli spermatozoi in un organo omologo alla camera genitale di altri Elateridi (Figg. 24-25).

RICONOSCIMENTO DEL RICETTACOLO

Ai fini del presente studio, le osservazioni sono state effettuate soprattutto su preparati a fresco in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), allestiti estraendo l'apparato genitale femminile a femmine uccise con vapori di acetato di etile. Per riconoscere ricettacolo, dotto e ghiandola nei preparati a fresco, sono stati seguiti i criteri precisati di seguito.

Il ricettacolo è per definizione la parte della spermateca che contiene la massa degli spermatozoi nelle femmine inseminate. In esso, secondo la specie, gli spermatozoi possono trovarsi liberi di muoversi più o meno vivacemente (Fig. 26); altrimenti, sono ammassati più o meno strettamente e necessariamente immobili (Figg. 27-28). Se la femmina non è inseminata, come nel caso della specie partenogenetica *Ptinella mekura* (DE MARZO, 1997a), il ricettacolo è ugualmente riconoscibile per omologia, effettuando una comparazione con specie anfigoniche della stessa famiglia (Figg. 29-30).

Un ulteriore criterio di riconoscimento del ricettacolo si rende necessario quando la femmina usa immagazzinare gli spermatozoi contemporaneamente sia nel ricettacolo, sia nel serbatoio della ghiandola. Questa singolarità riproduttiva è nota da decenni per alcuni Scolitidi (NÜSSLIN, 1911; CEREZKE, 1964) (Fig. 31), ma di recente (DE MARZO, 2007) è stata riosservata nei Curculionidae-Cleoninae e in qualche Stafilinide (Figg. 31-34). Anche in questa evenienza, il ricettacolo è facilmente riconoscibile con uno studio di anatomia comparata (Figg. 35-36).

RICONOSCIMENTO DEL DOTTO

Generalmente, il dotto possiede una cuticola sottile e non intensamente sclerificata; pertanto, è più trasparente del ricettacolo (Fig. 37); al confine, esso di solito può presentare un brusco inspessimento cuticolare a «muso di tinca» (Fig. 38); nei preparati a fresco, esso è di solito distinguibile dal ricettacolo perché non contiene spermatozoi, oppure ne contiene solo un numero modesto; ma, eccezionalmente,

esso rimane occupato da numerosi spermatozoi se la sua connessione con la camera genitale è occlusa da uno spermatoforo (Fig. 39).

RICONOSCIMENTO DELLA GHIANDOLA

La «ghiandola spermofila» della terminologia classica di Berlese (l.c.) è un organo anatomicamente distinto, grazie alla presenza di un proprio serbatoio con epitelio solitamente ipertrofico; spesso, è corredata anche di un lungo *dotto efferente* e di un *dispositivo muscolare* (Fig. 40). Questo dispositivo ha l'evidente funzione di regolare il rilascio del secreto e si ripresenta in specie di varie famiglie, come anche in Coleotteri di taglia molto minuta (Fig. 41).

ASSENZA DELLA SPERMATECA

Esempio classico di un Coleottero mancante della spermateca è il Tenebrionide *Pimelia angulata confalonieri* (Fig. 42). Fiori (1954) dichiara esplicitamente che l'apparato genitale femminile di questa specie esotica non possiede un organo riferibile alla spermateca e aggiunge che lo sperma viene conservato nella borsa copulatrice. Nel Coccinellide nostrano *Stethorus gilvifrons*, le femmine, ugualmente prive di spermateca, usano conservare lo sperma negli ovidotti (Fig. 43).

DIVERSITÀ NEL RICETTACOLO

Ma, in altri Coccinellidi della stessa tribù Scymnini la spermateca è presente e comprende un ricettacolo ben sclerificato e di forma capsulare specie-specifica (Figg. 44-45). Questi ricettacoli con cuticola rigida possono essere studiati facilmente dai tassonomi, anche estraendoli ad esemplari conservati a secco, e, pertanto, hanno largo impiego nell'identificazione sia di Coccinellidi, sia di Stafilinidi, Crisomelidi, Curculionidi, ecc. (Figg. 44-50). A volte, la loro variabilità interspecifica si esprime con una o due introflessioni cuticolari, situate in corrispondenza dell'attacco del dotto e/o della ghiandola (Figg. 48-50). I ricettacoli sclerificati possono anche essere lungamente tubuliformi; e, grazie alla dedizione degli speciografi, ne troviamo in letteratura esempi mirabili in Stafilinidi esotici, ma anche in specie del nostro continente (Figg. 51-55). *Diestota guadalupensis*, che è uno Stafilinide originario delle Antille ma oggi diffuso anche in Italia, esprime un esempio rilevante di complessità strutturale (Fig. 54). Infatti, il suo ricettacolo tubuliforme comprende due eliche coassiali, disposte l'una dentro l'altra e

interconnesse da un tratto lungo e irregolarmente contorto (Fig. 55).

Altrove, il ricettacolo non ha una cuticola rigida, ma sottile e piegheggiata; ha un epitelio pavimentoso e non è rivestito dalla tunica muscolare; pertanto, esso è capace di rigonfiarsi ampiamente, fino ad assumere una forma sferica a seguito della pressione dello sperma in ingresso (Figg. 56-57). Ma, la biodiversità del ricettacolo si esprime anche in altro modo: con forme riccamente ramificate (Fig. 58), oppure con una suddivisione in due o più serbatoi connessi indipendentemente alla camera genitale (Figg. 59-60); sicché, alcuni ricettacoli assumono le sembianze di un organo simmetrico (Fig. 59). Il ricettacolo di alcuni Staphylinidae delle sottofamiglie Omaliinae e Oxytelinae risulta costituito da due camere coassiali, riunite da un raccordo membranaceo (Fig. 61). Ma in altri Stafilinidi (nelle sottofamiglie Aleocharinae e Tachyporinae) questa suddivisione in due camere è stabilita da un setto trasversale, opportunamente forato per il transito degli spermatozoi (Fig. 62). Nei Coleotteri si incontrano anche ricettacoli sacciformi con cuticola elastica e rivestiti da una spessa tunica muscolare. In tal caso, è presente talvolta uno sclerite lineare di sostegno (Fig. 63). Altrimenti, come nel caso eminente del Carabide *Licinus silphoides*, la cuticola è irrobustita da un inspessimento reticolare diffuso (Fig. 64).

Secondo la specie, la muscolatura del ricettacolo è distribuita in vario modo: a volte essa riveste il ricettacolo per intero (Fig. 65), altre volte è confinata alla regione prossimale (Fig. 66) oppure alla regione distale (Fig. 67); con il concorso di opportune modificazioni dell'intima, essa può anche costituire un perfezionato dispositivo pompante (Fig. 68). Una frequente condizione della muscolatura è il cosiddetto «muscolo compressore», che consiste in un insieme di fasci subparalleli connessi a due superfici cuticolari affacciate (Fig. 69).

DIVERSITÀ NEL DOTTO

Al di là della sua tipica consistenza coriacea (Fig. 70), il dotto può presentare eccezionalmente una cuticola fortemente sclerificata (Fig. 71); in alcuni Coleotteri esso ha una lunghezza particolarmente rilevante, pari a 2 o più volte quella del corpo della stessa femmina, come negli esempi riportati nella stessa tavola. A livello del dotto si trovano vari tipi di dispositivi pompanti, realizzati con il concorso della cuticola e della tunica muscolare (Figg. 74-77). A volte, ma non sempre, la presenza di simili dispositivi è in rapporto con la capacità del ricettacolo di rigonfiarsi sotto la spinta dello sperma in ingresso.

DIVERSITÀ NELLA GHIANDOLA SPERMOFILO

Il suo serbatoio è fatto generalmente di cuticola sottile, ma può anche essere fortemente sclerificato (Fig. 78). Altrimenti, la biodiversità della ghiandola spermofila si esprime con forme riccamente ramificate (Fig. 79) oppure con ghiandole colleteriche che appaiono di dimensioni abnormi a confronto con il corrispondente ricettacolo (Fig. 80).

ADATTAMENTI ACCERTATI O PRESUNTI

Varie strutture accessorie, come anche alcune particolari condizioni anatomiche della spermateca, sono facilmente interpretabili come adattamento a determinate funzioni ed esigenze riproduttive.

Ad esempio, è ben riconoscibile il coadattamento fra la spermateca e le vie genitali maschili quando la copula prevede la penetrazione dell'endofallo nel dotto della spermateca (DE MARZO, 1994b), soprattutto se l'endofallo è molto lungo come il dotto della spermateca (Fig. 81). In maniera altrettanto evidente, se il ricettacolo di tipo rigonfiabile, le vie genitali maschili risultano adattate per produrre una pressione sullo sperma (DE MARZO, 1997b): in tali circostanze, il maschio è munito di una potente ampolla eiaculatrice (Figg. 82, 83).

In realtà, troviamo una perfezionata ampolla eiaculatrice anche nel Rizofagide *Monotoma brevicollis* (DE MARZO, 2005), che non possiede, per contro, un ricettacolo di tipo rigonfiabile (Fig. 84). In questo caso si può pensare che la pressione determinata dall'ampolla serva a vincere la resistenza del dotto della spermateca, la quale reca un vello di spinule sistemate controcorrente.

Il muscolo compressore è facilmente riconoscibile come organo di rilevante importanza funzionale (DE MARZO, 1991b); giacché lo si incontra a vari livelli della sequenza sistematica dei Coleotteri: raramente negli Adefagi (Fig. 85), più spesso negli Staphylinidae e nella maggior parte delle famiglie di Chrysomeloidea e Curculionoidea. Il ricettacolo ha una forma adattata in vario modo per fornire le due superfici di attacco del muscolo e mostra una tendenza evolutiva ad ampliare queste superfici; infatti, può essere semplicemente ricurvo (Fig. 86), ma anche fortemente slargato nella parte apicale (Fig. 87), oppure assottigliato verso l'apice e/o alla base (Figg. 88-90); e infine, nel caso degli Ptiliidi (DE MARZO, 1991b), esso presenta un apposito processo a forma di imbuto (Fig. 91).

A prima vista, le introflessioni del ricettacolo appaiono svantaggiose per la sua funzionalità, giacché ne riducono il volume interno (Fig. 92); ma, presumibilmente, esse servono ad orientare il flusso degli spermatozoi in ingresso, per ottenere che questi

vadano a sistemarsi in una massa ordinata. Il medesimo adattamento si intravede sia nella particolare forma del ricettacolo di alcuni Scidmenidi (Fig. 93), sia nel processo conico apicale che è frequente negli Stafilinidi della subf. Aleocharinae (Figg. 94-95).

Necessariamente, ai fini della fecondazione, gli spermatozoi devono poter fuoriuscire dal ricettacolo; ma, questa essenziale funzione non appare sostenuta da alcun particolare adattamento anatomico. Secondo Grassé (1977), gli spermatozoi vengono espulsi dalla contrazione del muscolo compressore, secondo il meccanismo di ingresso/uscita illustrato dallo stesso autore in riferimento al Bruchide *Acanthoscelides obtectus* (Fig. 96). Ma questo meccanismo potrebbe non avere una importanza generale. Infatti, studiando personalmente *Bruchus pisorum*, della stessa fam. Bruchidae, ho trovato che gli spermatozoi sono piuttosto lunghi (circa 120 µm) e che occupano il ricettacolo sotto forma di una massa densa e apparentemente inestricabile (Fig. 97). Sicché, l'idea che sia sufficiente l'azione meccanica del muscolo compressore, per procurare la fuoriuscita degli spermatozoi attraverso il piccolo foro dal quale gli stessi sono entrati, appare difficile da proporre.

Paradossalmente, mentre gli adattamenti per l'espulsione degli spermatozoi non sono evidenti, alcune condizioni anatomiche della spermateca suggeriscono che questa è organizzata per ostacolare la fuoriuscita degli spermatozoi. Un primo esempio si riconosce in quelle femmine che usano conservare una parte degli spermatozoi anche nel serbatoio della ghiandola: qui, gli spermatozoi appaiono strettamente segregati (Figg. 98-99). Altro esempio si riconosce in alcuni Stafilinidi della subf. Aleocharinae (DE MARZO, 2008), nei quali gli spermatozoi sono smodatamente lunghi (Figg. 100-101). Questi si trovano necessariamente ripiegati più volte all'interno del ricettacolo e, pertanto, apparentemente intrappolati.

Una netta sproporzione, fra la lunghezza degli spermatozoi e le dimensioni del ricettacolo, l'ho riscontrata anche nel Meliride *Divales bipustulatus*. È questo un «coleottero-record», con spermatozoi lunghi circa 10.000 µm (MAZZINI, 1976; DE MARZO, 1991a). Anche in questa specie gli spermatozoi sono molte volte più lunghi del ricettacolo e sono conservati sotto forma di una massa apparentemente inestricabile.

RIASSUNTO

Dopo qualche considerazione preliminare sulla consistenza della biodiversità dei Coleotteri, viene analizzata la terminologia in uso per descriverne la spermateca. In base alla presenza/assenza delle tre parti fondamentali (ricetta-

colo, dotto e ghiandola) vengono definiti 5 modelli di spermateca e ne viene indicata la ricorrenza su 148 specie esaminate. Si illustrano i parametri usati per riconoscerne le parti della spermateca nei preparati a fresco, si evidenziano i casi eccezionali e, attraverso svariati esempi, se ne illustra la diversità anatomica.

Infine, vengono discussi i possibili adattamenti in riferimento alle seguenti funzioni: (a) coordinamento con le vie genitali maschili ai fini dell'immissione dello sperma; (b) potenziamento del muscolo compressore; (c) sistemazione ordinata degli spermatozoi nel ricettacolo. A questo riguardo, l'autore intravede l'assenza di adattamenti indirizzati all'espulsione degli spermatozoi e discute la spiegazione che si trova in letteratura; infine, egli rileva che, per contro, la spermateca sembra talvolta organizzata per intrappolare definitivamente gli spermatozoi.

BIBLIOGRAFIA

- BACCETTI B., 2005 – *Biodiversità degli Insetti e sostenibilità ambientale*. Atti XX Congr. naz. ital. Entomol., Perugia-Assisi 13-18 Giugno 2005, pp. 3-7.
- BERLESE A., 1909 – *Gli Insetti*, vol. I: *Embriologia e morfologia*. Soc. Ed. Libreria Milano, 1004 pp., 8 tavv.
- CEREZKE H.F., 1964 – *The morphology and function of the reproductive systems of Dendroctonus monticolae Hopk. (Coleoptera: Scolytidae)*. Canadian Ent., 96: 477-500.
- DALLAI R., 1975 – *Fine structure of the spermatheca of Apis mellifera*. J. Insect Physiol., 21: 89-109.
- DAVEY K.G., 1985 – *The female reproductive tract*. In: *Comprehensive Insect physiology, biochemistry and pharmacology*, Kerkut & Gilbert edd., Pergamon Press, 1: 15-36.
- DE MARZO L., 1991a – *Variabilità interspecifica della lunghezza degli spermatozoi in Coleotteri*. Rassegna preliminare. Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991, pp. 245-250.
- DE MARZO L., 1991b – *Muscolatura e strutture annesse nel ricettacolo seminale dei Coleotteri*. Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol., Martina Franca sett. 1991, pp. 251-256.
- DE MARZO L., 1994a – *Osservazioni anatomiche sui genitali interni maschili in alcuni Ptilidi*. - Entomologica, Bari, 27 (1992): 107-115.
- DE MARZO L., 1994b – *Dettagli strutturali dell'armatura genitale maschile in Aleochara tristis Grav. (Coleoptera Staphylinidae)*. Mem. Soc. entomol. ital., Genova, 72 (1993): 233-243.
- DE MARZO L., 1997a – *Appunti di storia naturale su uno Ptilide partenogenetico: Ptinella mekura Kubota (Coleoptera)*. Entomologica, Bari, 30 (1996): 185-195.
- DE MARZO L., 1997b – *Anatomia dei genitali interni e modalità di inseminazione in alcuni Coleotteri Anticidi*. Entomologica, Bari, 30: 147-165 (1996).
- DE MARZO L., 1998 – *Obliterazione del secondo testicolo nelle Harpalinae (Coleoptera Carabidae)*. Poster. Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998, p. 89.
- DE MARZO L., 2005 – *Una peculiarità anatomica del dotto eiaculatore in Monotoma Herbst, 1793 (Insecta Coleoptera Rhizophagidae)*. Naturalista siciliano, serie IV, pp. 57-70.
- DE MARZO L., 2007 – *Ulteriori esempi di anomalia funzionale della ghiandola della spermateca in Coleotteri (Staphylinidae; Curculionidae; Scolytidae)*. Boll. Zool. agr. Bachic., Milano, ser. II, 38: 201-208.
- DE MARZO L., 2008 – *Lunghezza degli spermatozoi rilevata in alcune aleocarine (Coleoptera Staphylinidae)*. - Boll. Zool. agr. Bachic., Milano, ser. II, 40 (1): 1-8.
- FIORI G., 1954 – *Morfologia addominale, anatomia ed istologia degli apparati genitali di «Pimelia angulata*

- Confalonierii» *Grid. (Coleoptera Tenebrionidae) e formazione dello spermatoforo*. Boll. Ist. Entom. Univ. Bologna, 20: 377-342.
- GRASSÉ P.P., 1977 – *L'accouplement et l'insémination*. In: Grassé P.P., *Traité de Zoologie*, Masson & Co. edd., Paris, vol. 8, fasc. 5.A, pp. 331-349.
- HARBACH R.E., KNIGHT K.L., 1980 – *Taxonomists' glossary of mosquito anatomy*. - Plexus Publ. Inc., Marlton, 415 pp.
- NÜSSLIN O., 1911 – *Phylogenie und System der Bonkenkäfer*. Zeitschr. wiss. Insektenbiologie, 8: 333-338.
- SBORDONI V., BOLOGNA M.A., VIGNA TAGLIANTI A., 2004 – *Gli insetti e la biodiversità*. Atti XIX Congr. naz. ital. Entomol., Catania 10-12 Giugno 2002, pp. 137-148.
- SNODGRASS R.E., 1935 – *The principles of Insect morphology*. McGraw-Hill Book Co. Inc., New York, London, 667 pp.
- TREMBLAY E., 2003 – *Entomologia applicata*. Vol. I, Generalità e metodi di controllo. Liguori ed., Napoli, 282 pp.

APPENDICE

ELENCO SPECIE ESAMINATE

Carabidae: *Abax ater* (Villers), *Anchomenus dorsalis* (Pontoppidan), *Chlaenius spoliatus* (Rossi), *Clivina fossor* (Linné), *Leistus spinibarbis* (Fabricius), *Licinus silphoides* (Rossi), *Microlestes corticalis* (Duftschmid), *Ocydromus ascendens* (Daniel), *Paratachys bistratus* (Duftschmid), *Stenolophus proximus* Dejean.

Haliplidae: *Haliphus mucronatus* Stephens.

Gyrinidae: *Gyrinus caspius* Ménétries.

Dytiscidae: *Copelatus haemorrhoidalis* (Fabricius), *Deronectes moestus* (Fairmaire), *Dytiscus marginalis* Linné, *Graptodytes varius* (Aubé), *Hydroglyphus pusillus* (Fabricius), *Hydroporus tessellatus* Drapiez, *Hyphydrus aubei* Ganglbauer, *Noterus clavicornis* (De Geer).

Hydrophilidae: *Cymbiodyta marginella* (Fabricius), *Hydrophilus caraboides* (Linné), *Paracymus scutellaris* (Rosenhauer).

Sphaeridiidae: *Cercyon haemorrhoidalis* (Fabricius).

Histeridae: *Acritus nigricornis* (Hoffman), *Atholus duodecimstriatus* (Schränk), *Carcinops pumilio* (Erichson), *Chalcionellus aemulus* (Illiger), *Hister quadrimaculatus* Linné, *Margarinotus ignobilis* (Marseul), *Onthophilus punctatus* (O. F. Müller), *Saprinus semipunctatus* (Fabricius).

Ptiliidae: *Acrotichis sanctaehelenae* Johnson, *Nephanes titan* (Newman), *Ptinella mekura* Kubota.

Leiodidae: *Agathidium badium* Erichson.

Scydmaenidae: *Cephennium thoracicum* Müller & Kunze, *Eutheia ventricosa* G. Müller, *Mastigus pilifer* Kraatz, *Scydmaenus tarsatus* Müller & Kunze.

Staphylinidae-Aleocharinae: *Aleochara bipustulata* (Linné), *Aleochara lanuginosa* Gravenhorst, *Aleochara curtula* (Goeze), *Aleochara tristis* Gravenhorst, *Atheta aeneicollis* (Sharp), *Cordalia obscura* (Gravenhorst), *Diestota guadalupensis* Pace, *Drusilla italica* (Bernhauer), *Nehemitropia lividipennis* (Mannerheim), *Trichiusa immigrata* Lohsev.

Staphylinidae-Omalinae: *Paraphloeostiba gayndahensis* (Macleay), *Omalium rivulare* (Paykull).

Staphylinidae-Oxytelinae: *Anotylus sculpturatus* (Gravenhorst), *Bledius furcatus* (Olivier), *Platystethus nitens* (Sahlberg).

Staphylinidae-Paederinae: *Astenus melanurus* Kuster, *Cryptobium collare* (Reitter), *Leptobium gracile* (Gravenhorst), *Lithocharis tricolor* (Fabricius), *Scopaeus mitratus* Binaghi.

Staphylinidae-Staphylininae: *Creophilus maxillosus* (Linné), *Gabronthus maritimus* (Motschulsky), *Ocypus olens* (O. F. Müller), *Philonthus debilis* (Gravenhorst), *Philonthus intermedius* (Lacordaire).

Staphylinidae-Tachiporinae: *Cilea silphoides* (Linné), *Tachinus flavolimbatus* Pandellé, *Tachyporus hypnorum* (Fabricius).

Clambidae: *Calyptomerus dubius* (Marsham), *Clambus minutus* (Sturm).

Scarabaeidae: *Sisyphus schaefferi* (Linné).

Cetoniidae: *Hoplia minuta* Panzer.

Byrrhidae: *Byrrhus fasciatus* (Förster).

Heteroceridae: *Heterocerus fossor* Kiesenwetter.

Dryopidae: *Dryops sulcipennis* (A. Costa).

Elateridae: *Adrastus rachifer* (Fourcroy), *Cardiophorus rufipes* (Goeze), *Drasterius bimaculatus* (Rossi), *Lacon punctatus* (Herbst).

Buprestidae: *Capnodis tenebrionis* (Linné).

Cantharidae: *Malthinus balteatus* Suffrian, *Malthodes parthenias* Kiesenwetter.

Thorictidae: *Thorictus grandicollis* Germar.

Dermestidae: *Dermestes lardarius* Linné.

Anobiidae: *Lasioderma serricorne* (Fabricius).

Bostrichidae: *Rhyzopertha dominica* (Fabricius).

Cleridae: *Necrobia rufipes* Degeer, *Trichodes apiarius* (Linné).

Melyridae: *Divales bipustulatus* (Fabricius).

Nitidulidae: *Carpophilus hemipterus* (Linné), *Carpophilus mutilatus* Erichson, *Urophorus humeralis* (Fabricius).

Cybocephalidae: *Cybocephalus rufifrons* Reitter.

Rhizophagidae: *Monotoma brevicollis* Aubé.

Cucujidae: *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens).

Silvanidae: *Abasversus advena* (Waltl), *Oryzaephilus surinamensis* (Linné), *Uleiota planata* (Linné).

Cryptophagidae: *Atomaria analis* Erichson.

Languriidae: *Cryptophilus integer* (Heer).

Endomychidae: *Endomychus coccineus* (Linné).

Merophysiidae: *Merophysia formicaria* Lucas.

Coccinellidae: *Chilocorus bipustulatus* (Linné), *Coccinella septempunctata* Linné, *Hyperaspis duvergeri* Fürsch, *Oenopia lyncea lyncea* (G. A. Olivier), *Psyllobora vigintiduopunctata* (Linné), *Rhizobius litura* (Fabricius), *Scymnus apetzii* Mulsant, *Scymnus mediterraneus* Iablokoff-Khnzorian.

Corylophidae: *Rhyphobius fiorianus* (Matthews), *Sericoderus lateralis* (Gyllenhal).

Mycetophagidae: *Berginus tamarisci* Wollaston, *Litargus connexus* (Geoffroy), *Typhaea stercorea* (Linné).

Meloidae: *Meloe proscarabaeus* Linné.

Anthicidae: *Aulacoderus funebris* (Reitter), *Formicomus pedestris* (Rossi), *Microhoria raveli* (Pic), *Notoxus lonai* Bucciarelli, *Omonadus bifasciatus* (Rossi).

Alleculidae: *Omophlus lepturoides* (Fabricius).

Tenebrionidae: *Alphitophagus bifasciatus* (Say), *Blaps gibba* Lap. de Cast., *Oochrotus unicolor* Canzoneri, *Stenosis brentoides* (Rossi).

Cerambycidae: *Phytoecia coerulea* (Scopoli), *Pachytodes erraticus* (Dalman), *Stenopterus ater* (Linné), *Vesperus luridus* (Rossi).

Chrysomelidae: *Cryptocephalus flavipes* Fabricius, *Dicladispa testacea* (Linné), *Luperus calabricus* Laboissiere, *Macrolenes dentipes* (G. A. Olivier), *Timarcha pimelioides* Herrich-Schaeffer.

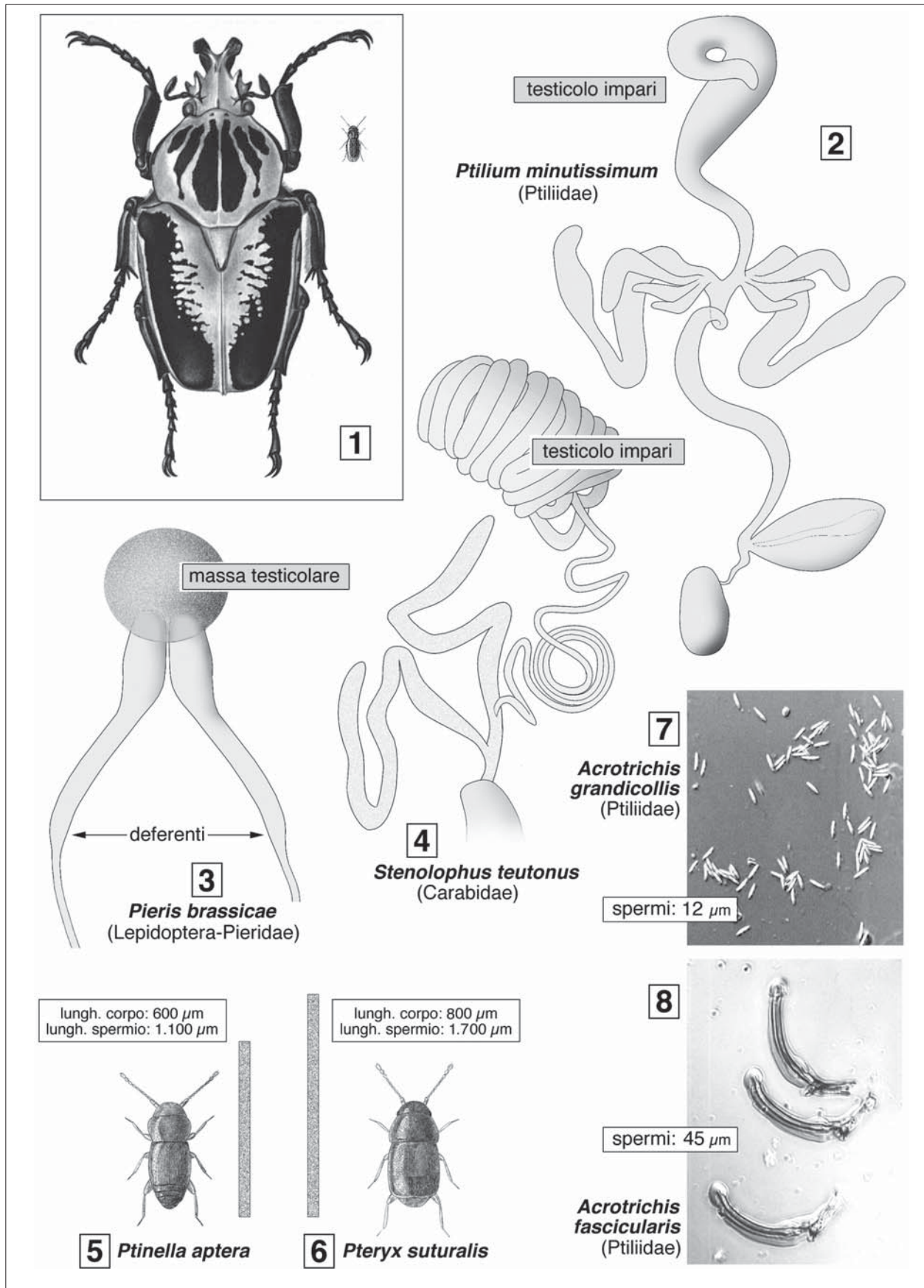
Bruchidae: *Bruchus pisorum* (Linné).

Urodontidae: *Bruchela argentata* (Küster).

Curculionidae: *Curculio nucum* Linné, *Larinus cynarae* (Fabricius), *Microlarinus lareynii* (Jacquelin du Val), *Pachytychius hordei squamosus* (Gyllenhal), *Rhinocyllus conicus* (Frölich), *Torneuma rosaliae* Rottenberg.

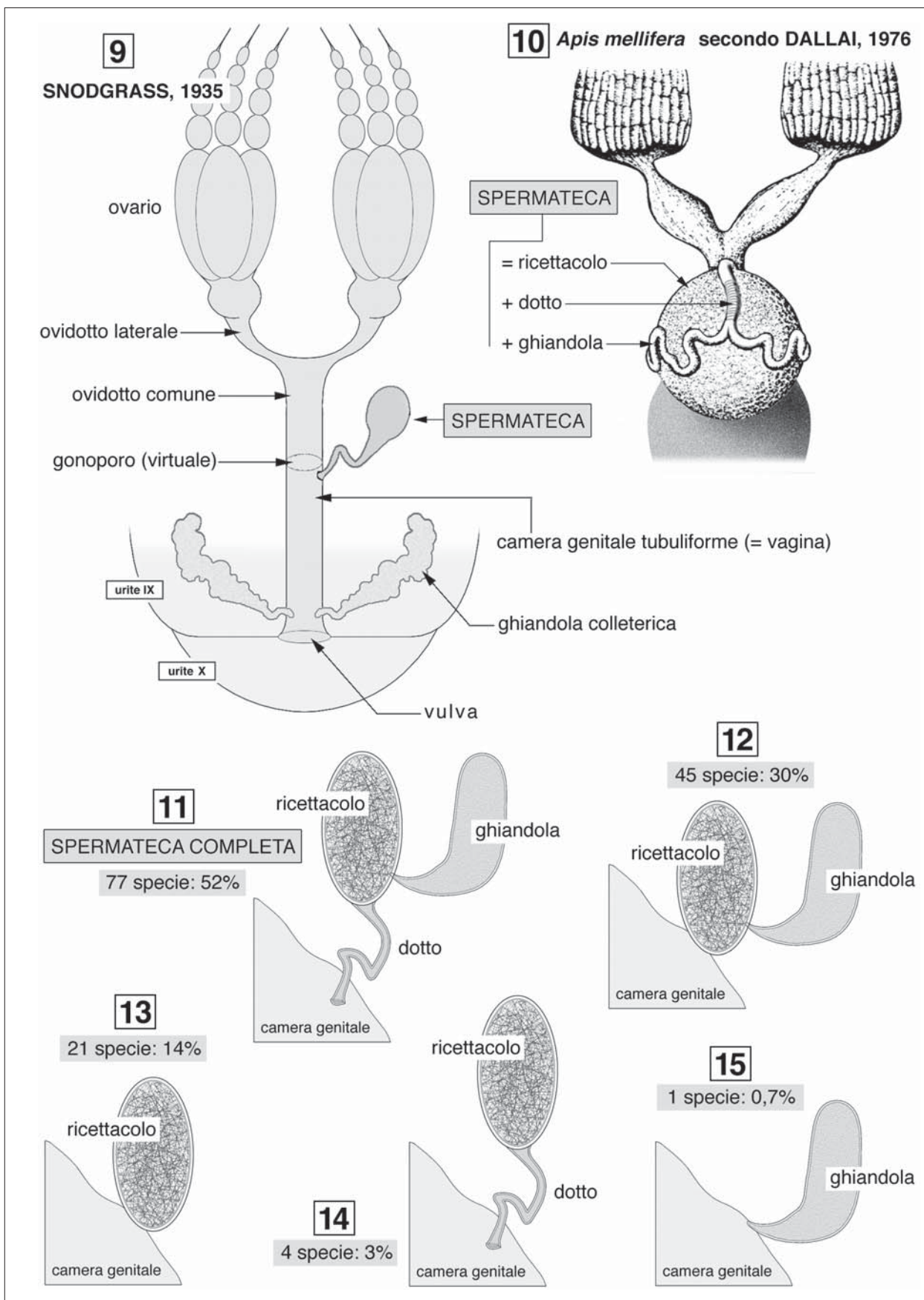
Rhynchophoridae: *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier), *Sitophylus oryzae* Linné.

Scolytidae: *Dactylotrypes longicollis* (Wollaston), *Phloeotribus scarabaeoides* (Bernard), *Tomicus piniperda* (Linné).



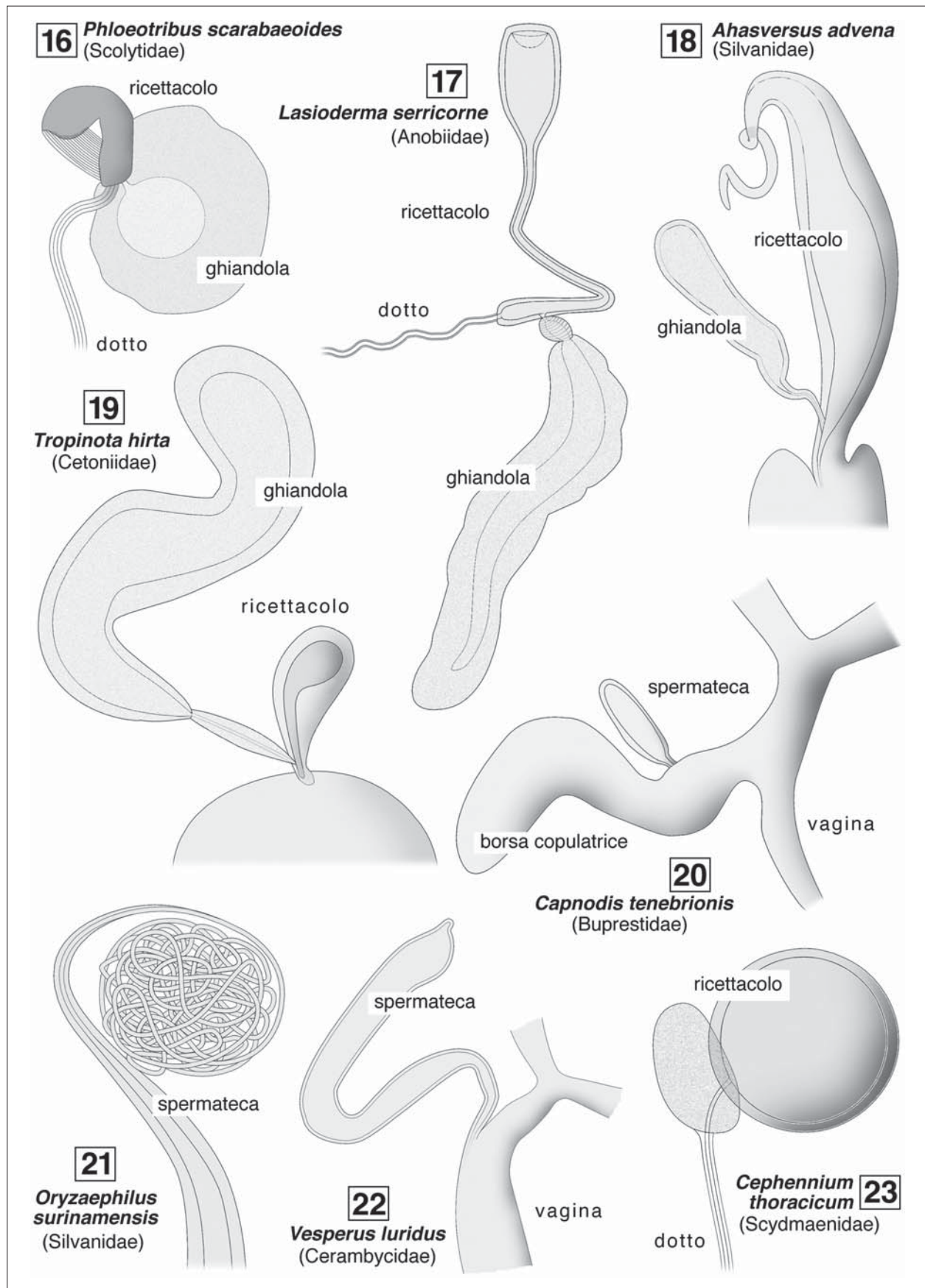
Figg. 1-8

1) Esempi di Coleotteri taglia estrema: lo Scarabeo-Golia a confronto con un minuscolo Ptiliide. 2) Apparato genitale maschile in uno Ptiliide. 3) Testicoli interfusi in un lepidottero. 4) Dettaglio dell'apparato genitale maschile di un Carabide della subf. Harpalinae. 5-6) Spermi giganti in due specie di Ptiliidi: loro lunghezza confrontata con quella dell'insetto. 7-8) Esempi di spermi minuscoli in due specie di Ptiliidi.



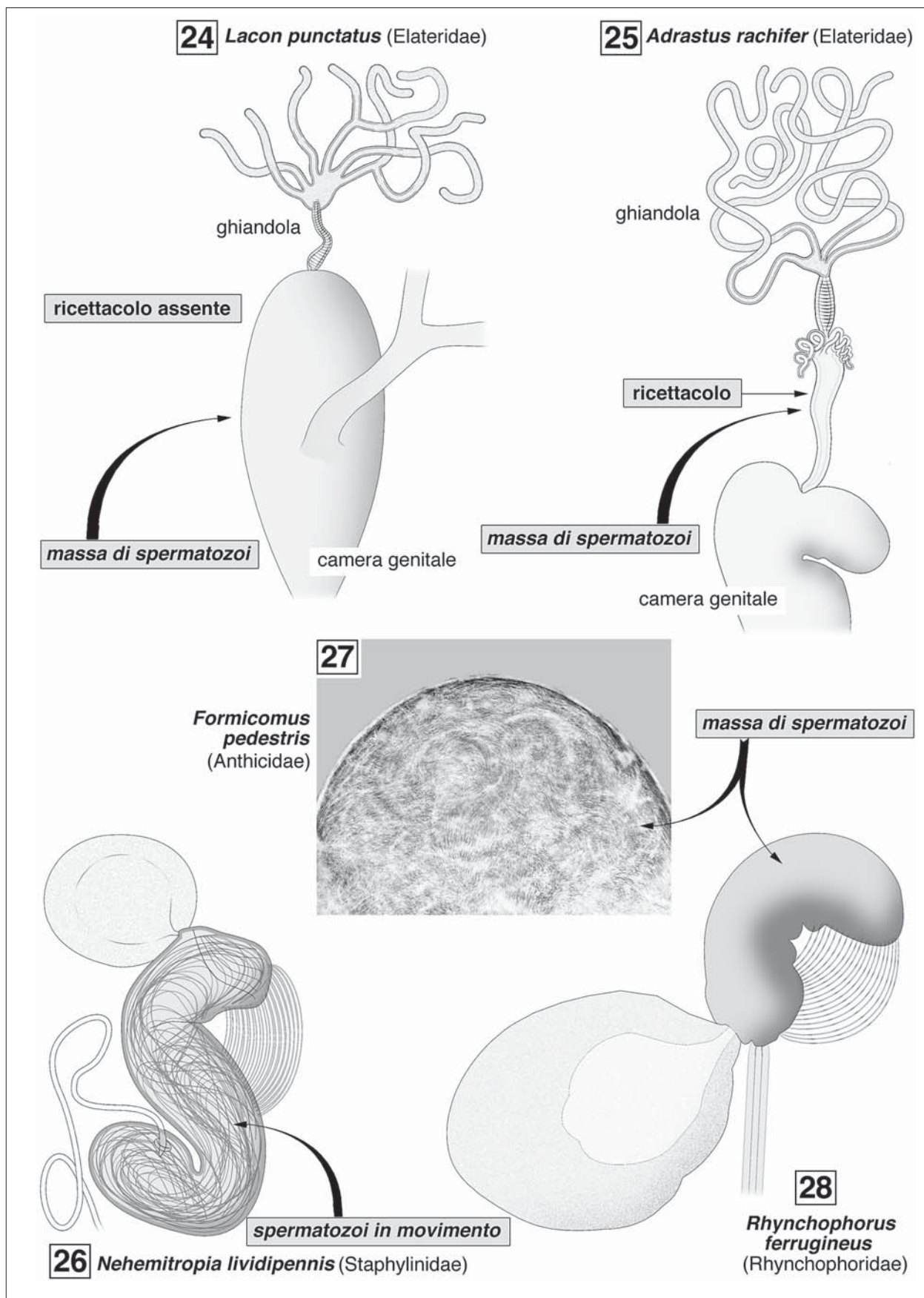
Figg. 9-15

9) Apparato genitale femminile tipico dei Coleotteri, ridisegnato da Snodgrass (1935). 10) Spermateca in *Apis mellifera*, secondo Dallai (1975). 11-15) I 5 modelli di spermateca rilevati in 148 specie di Coleotteri con indicazione dei valori di ricorrenza.



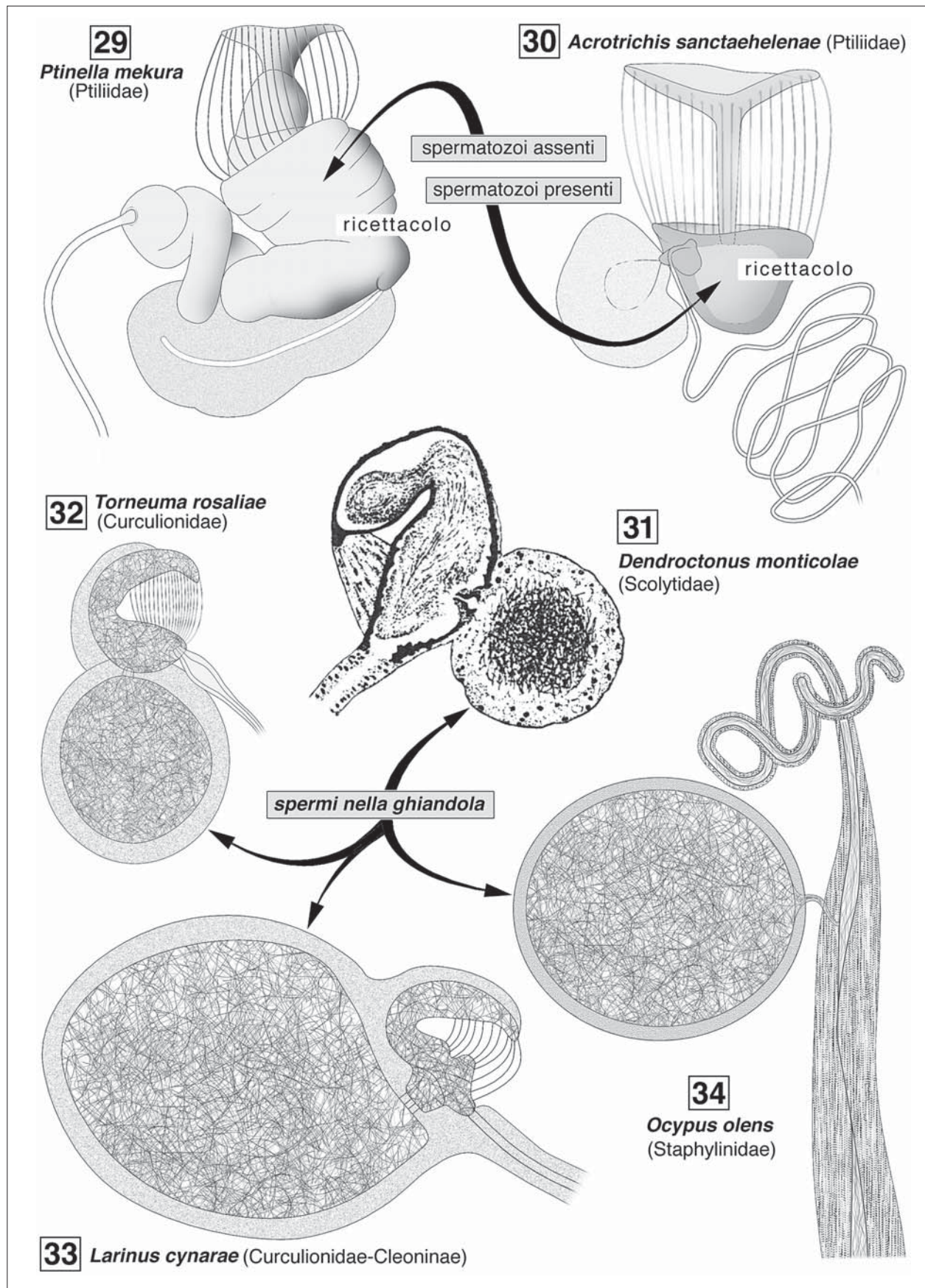
Figg. 16-23

Diversità nella costituzione della spermateca: 16-17) presenza di tutte e tre le parti tipiche; 18-19) assenza del dotto; 20-22) assenza di dotto e ghiandola; 23) assenza della ghiandola.



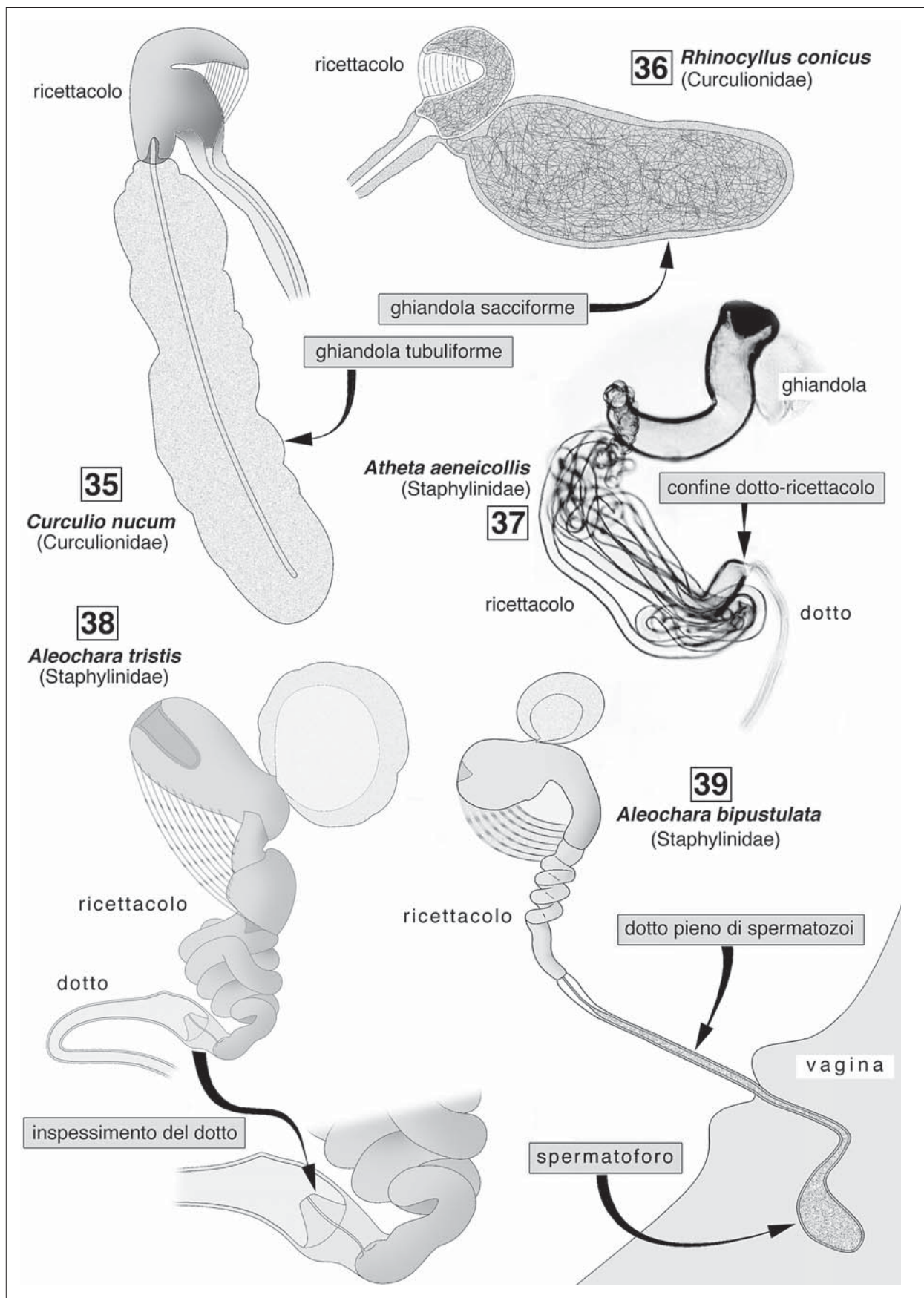
Figg. 24-28

24-25) La peculiare spermateca di *Lacon punctatus*, rappresentata dalla sola ghiandola, a confronto con quella di un altro Elateride. 26) Esempio di ricettacolo occupato da spermi in vivace movimento. 27-28) Esempi di ricettacolo occupato da una massa densa e immobile di spermatozoi.



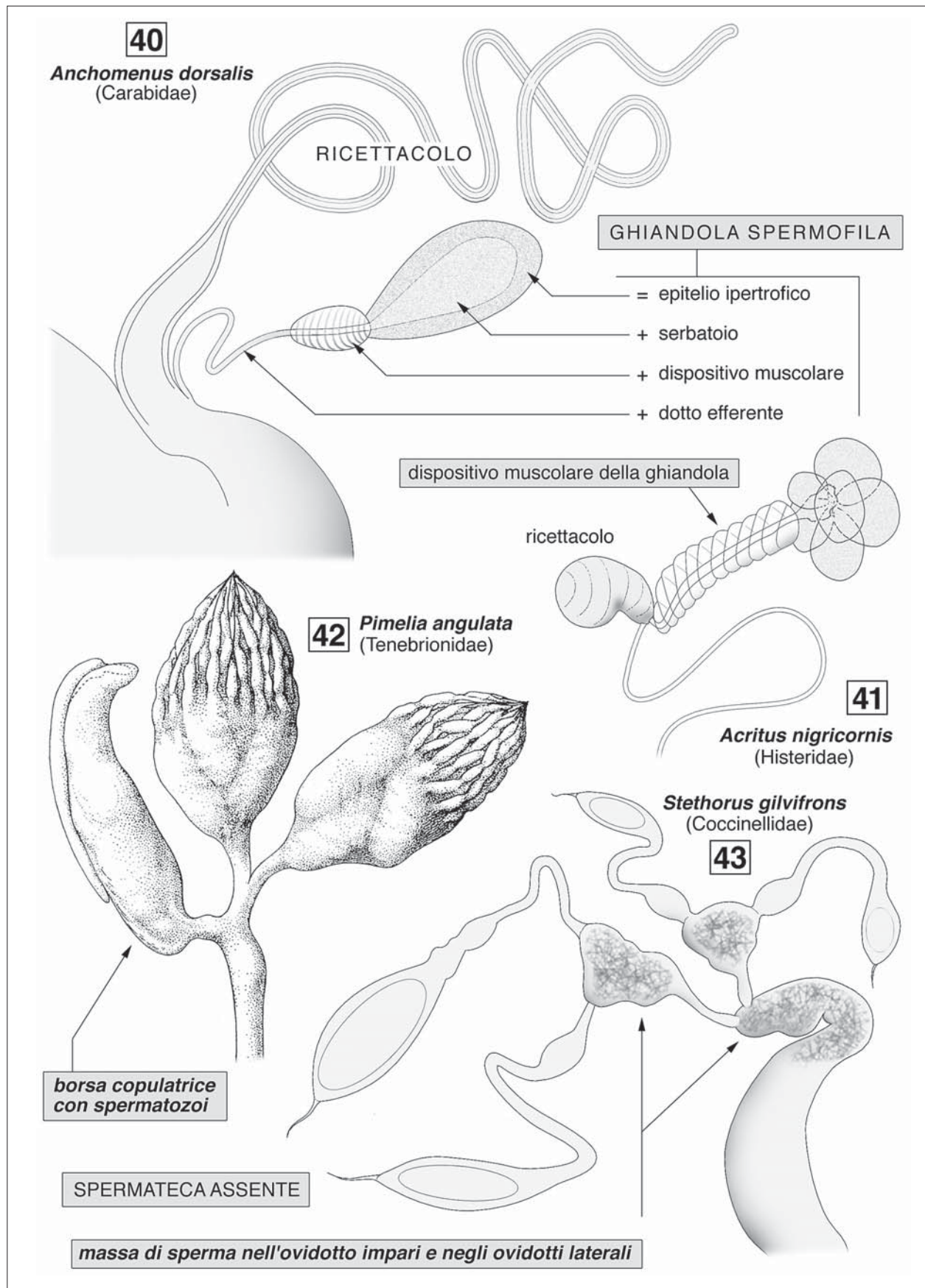
Figg. 29-34

29-30) Spermateche a confronto: in una specie partenogenetica e in una specie anfigonica della stessa famiglia. 31-34) Esempi di spermateche che conservano una densa massa di spermatozoi sia nel ricettacolo sia nella ghiandola. La fig. 31 è tratta da Cerezke (1964).



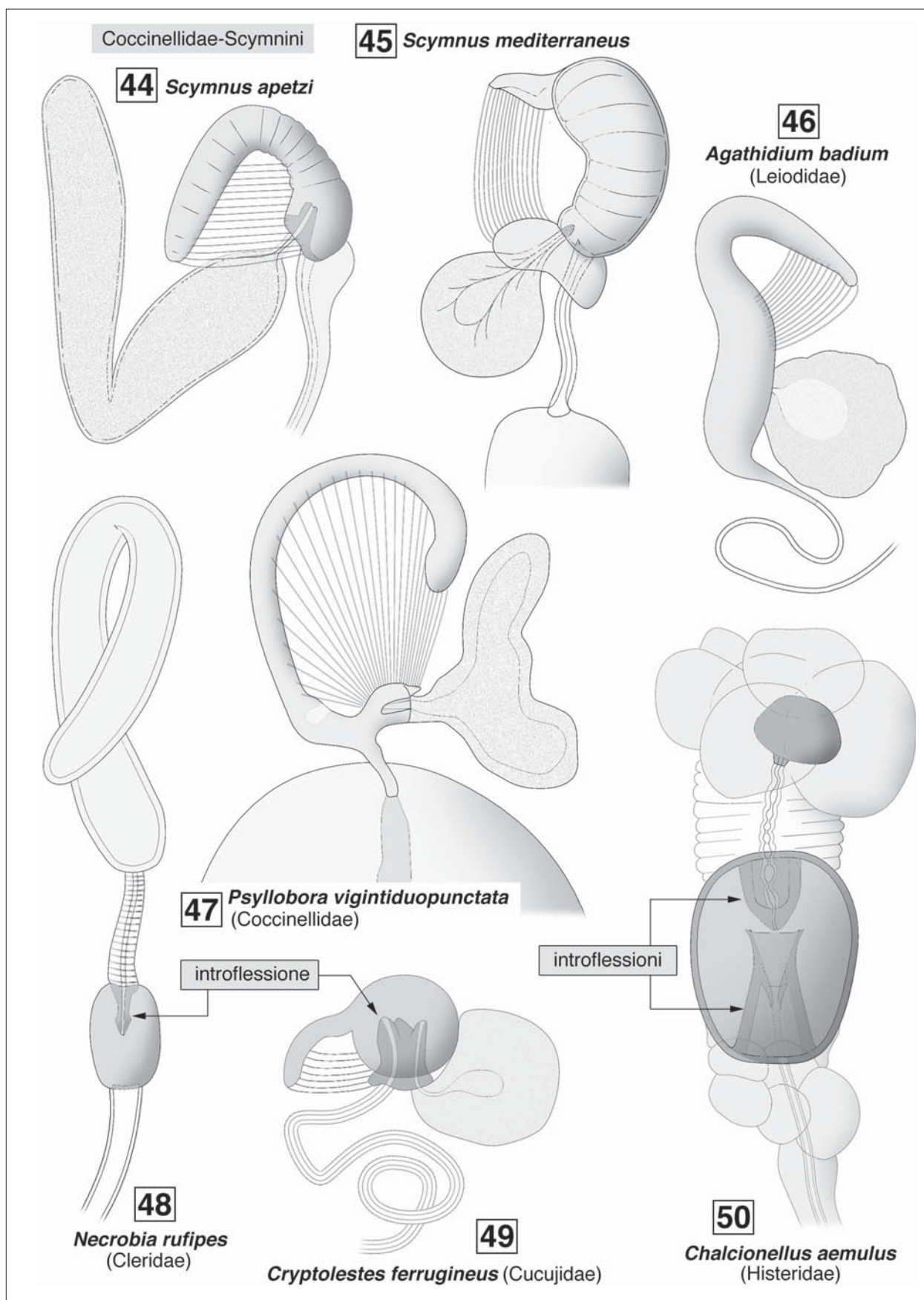
Figg. 35-39

35-36) Spermateca in due specie di Curculionidi, nei quali la ghiandola è impegnata o meno nella conservazione degli spermatozoi.
 37) Indicazione del confine fra dotto e ricettacolo, rilevabile dalla differente trasparenza della cuticola. 38) Spermateca della specie indicata, con dettaglio dell'inspessimento terminale del dotto. 39) Condizione del dotto della spermateca in una femmina recante uno spermatoforo.



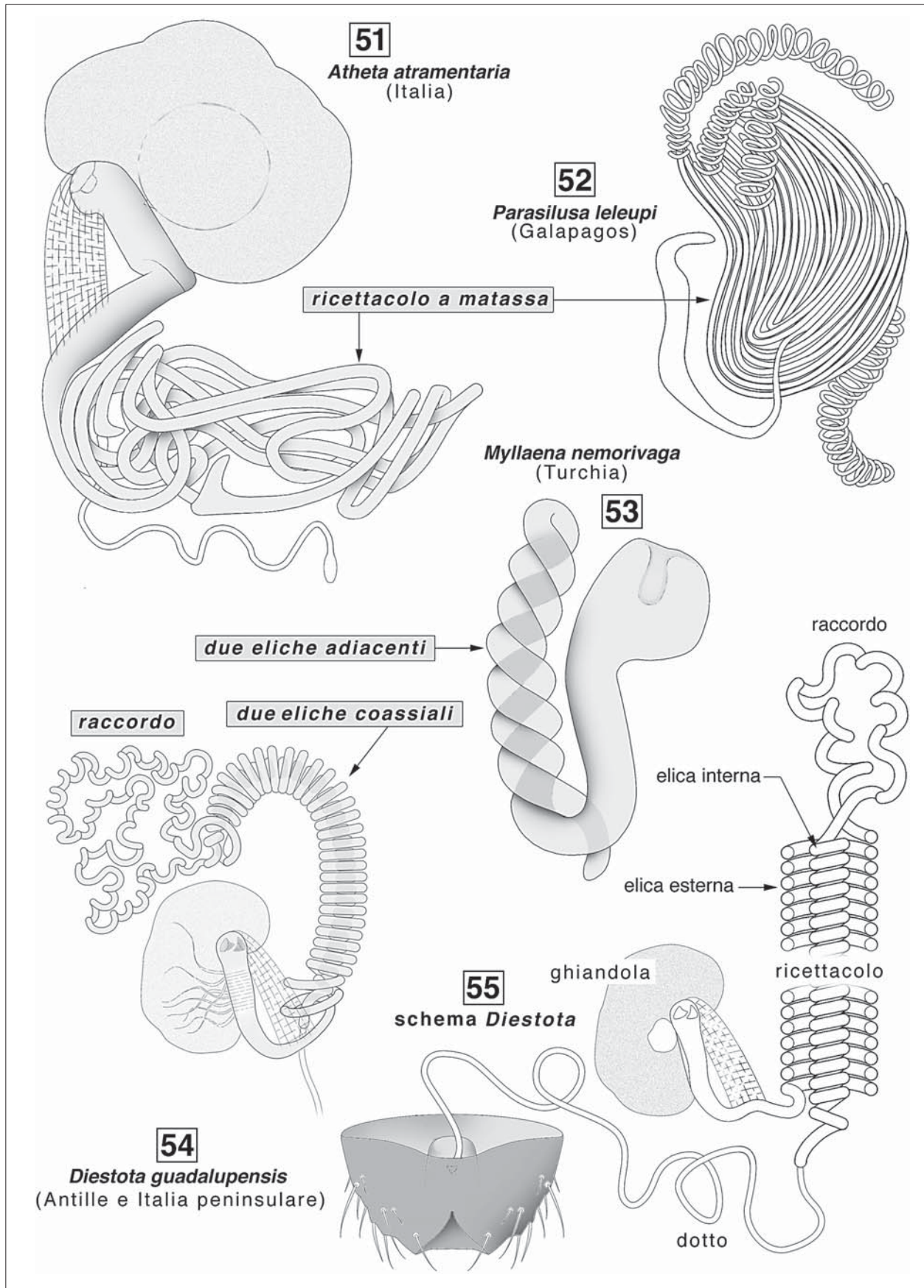
Figg. 40-43

40) Schema di una tipica ghiandola spermofila. 41) Ghiandola spermofila in un Coleottero di taglia minuta. 42) Esempio di un apparato genitale femminile mancante della spermateca, illustrato da Fiori (1954). 43) Apparato genitale femminile mancante della spermateca nel Coccinellide indicato.

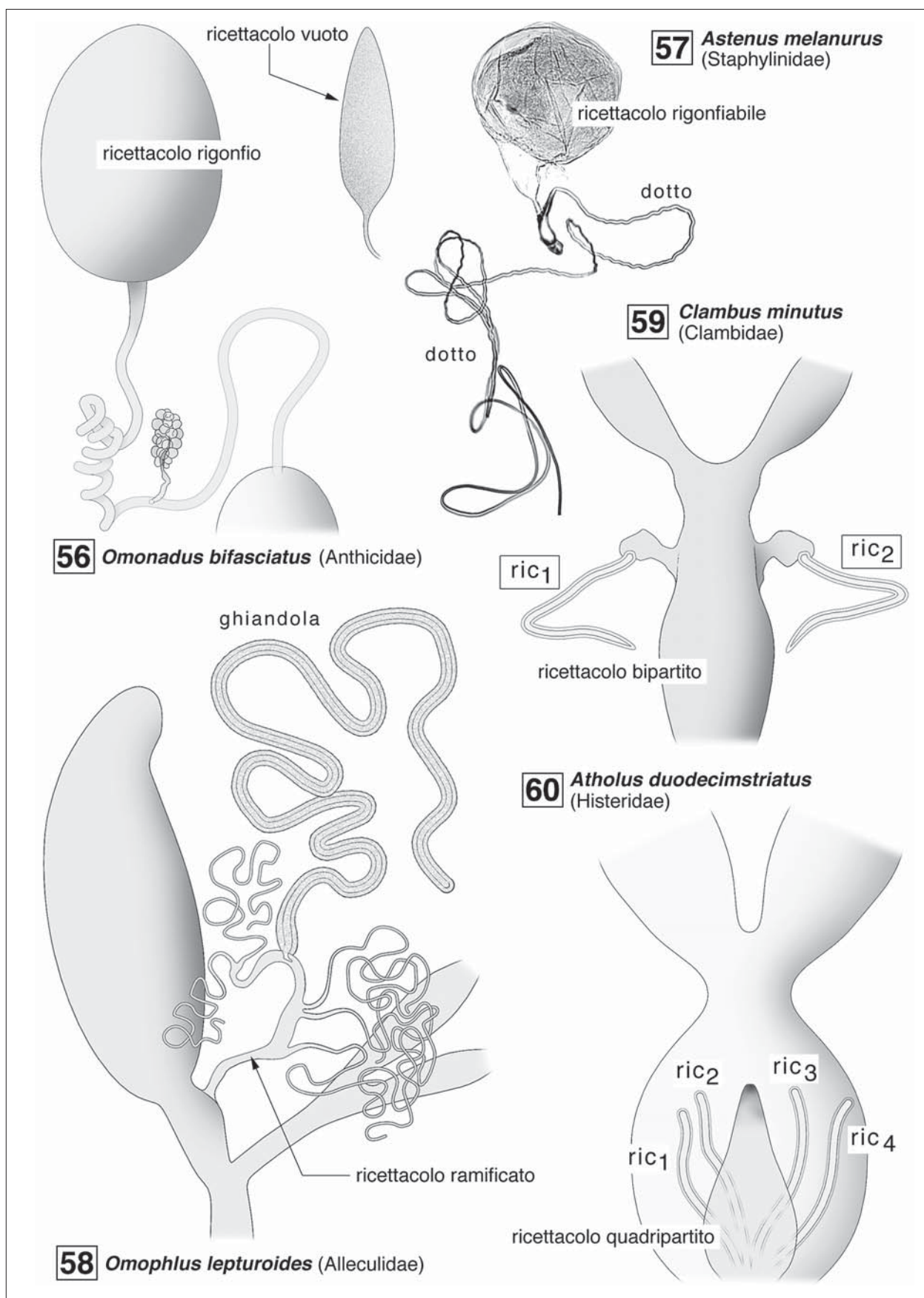


Figg. 44-50

44-45) Spermateca con ricettacolo capsulare in due specie di Coccinellidi-Scymnini. 46-50) Esempi di ricettacoli capsulari in Coleotteri di varie famiglie.

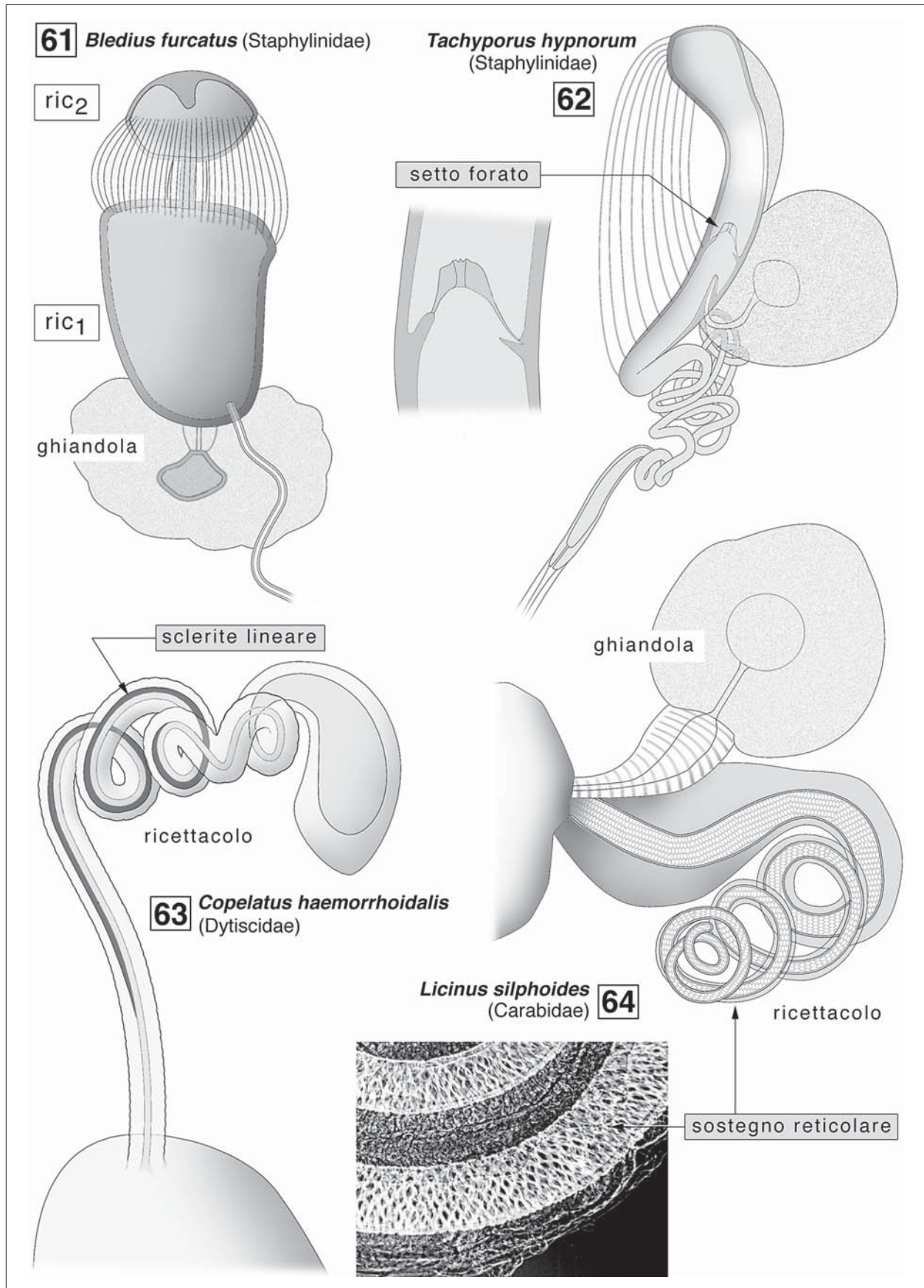


Figg. 51-55
51-54) Spermateche con ricettacolo tubuliforme in Stafilinidi della subf. Aleocharinae di varie regioni del mondo. 55) Schema della particolare spermateca di *Diestota guadalupensis*.



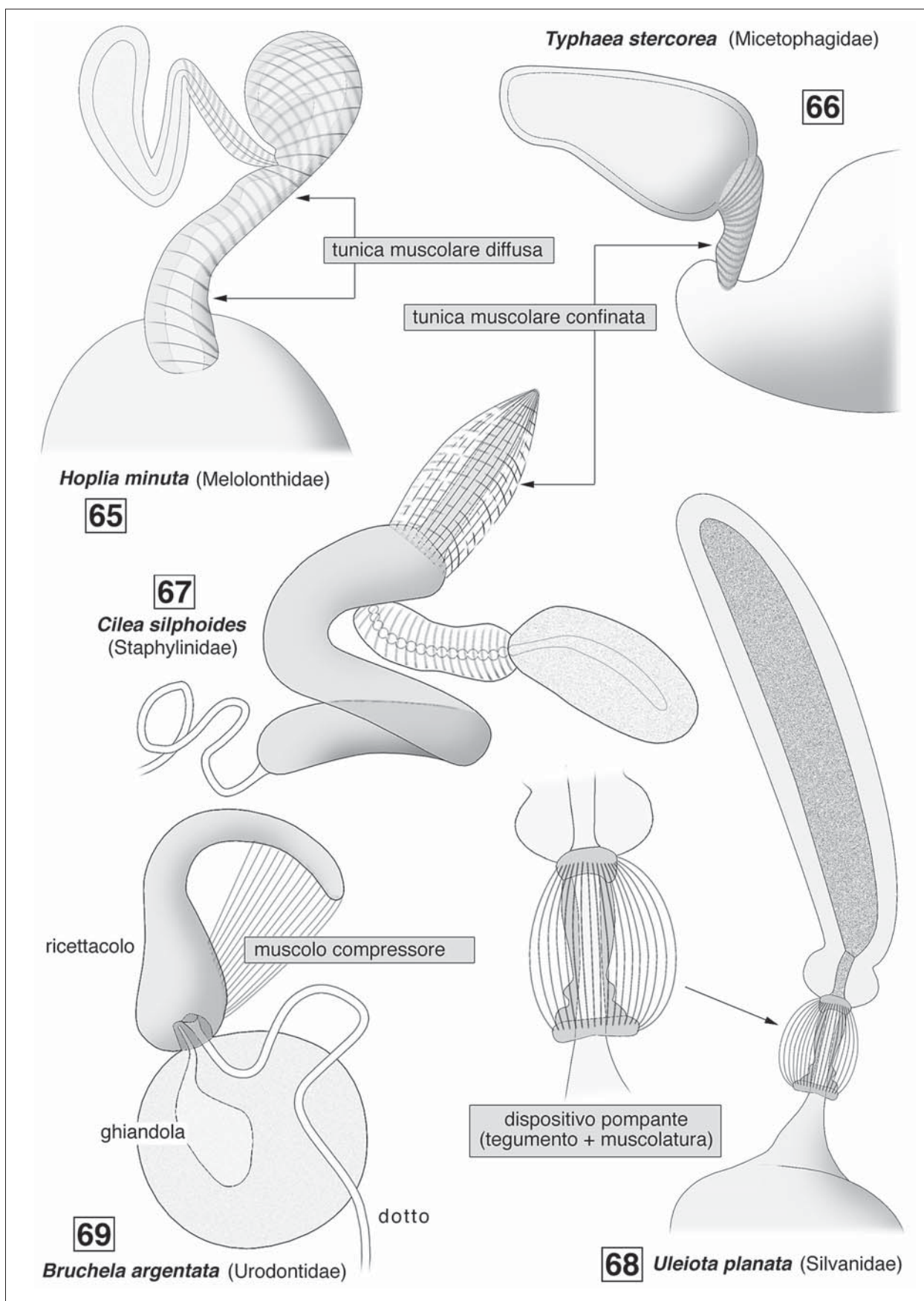
Figg. 56-60

56) Ricettacolo in condizione rigonfia e suo volume iniziale nella specie indicata. 57) Parte cuticolare della spermateca con ricettacolo rigonfiabile nella specie indicata. 58) Esempio di ricettacolo ramificato. 59-60) Esempi di ricettacoli bipartiti e multipartiti.



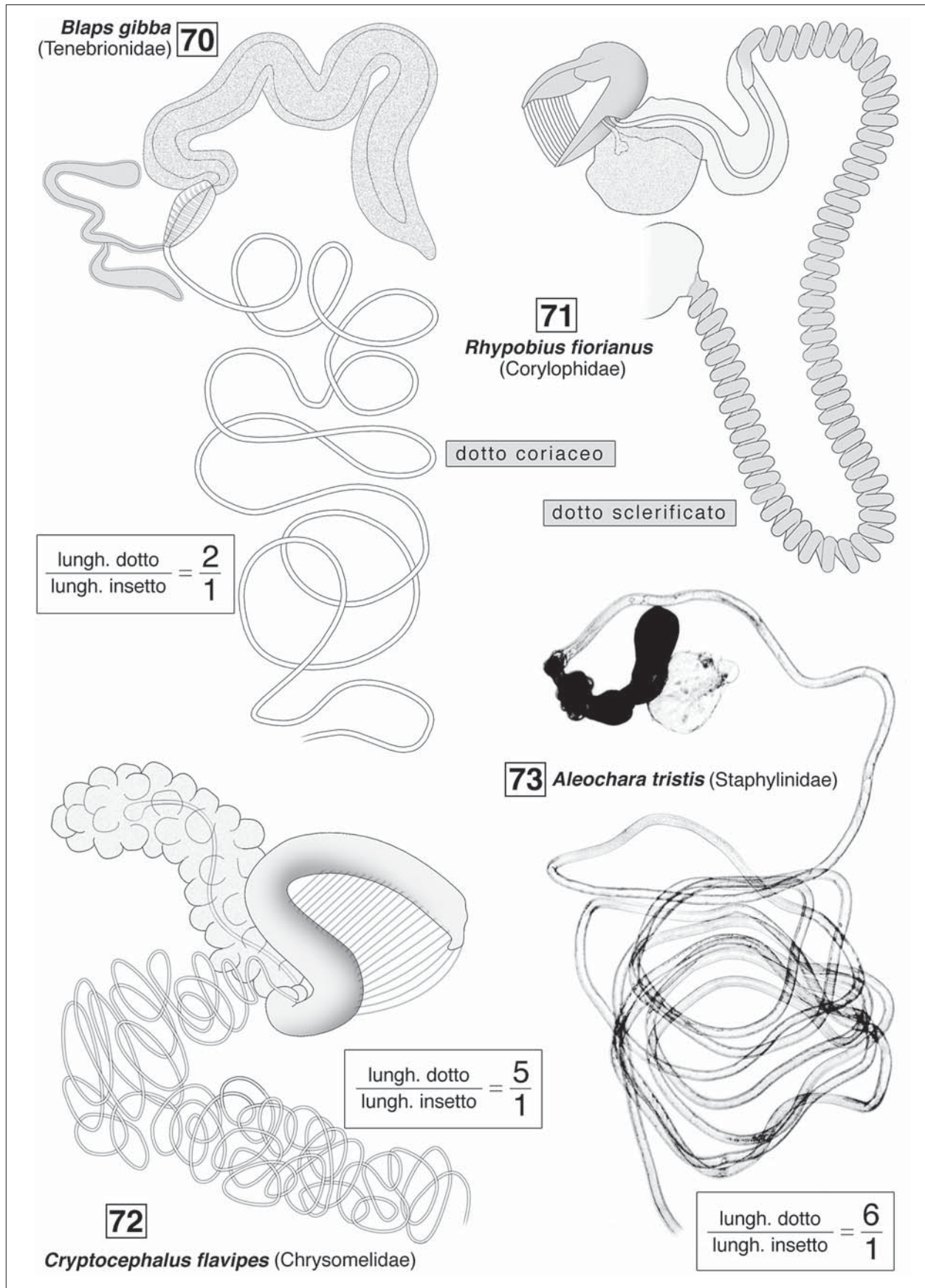
Figg. 61-64

61) Esempio di ricettacolo suddiviso in due camere coassiali. 62) Esempio di ricettacolo munito di un setto trasversale forato. 63) Ricettacolo rinforzato da uno sclerite bastoncellare. 64) Peculiare aspetto della sclerificazione dell'intima nel Carabide indicato.



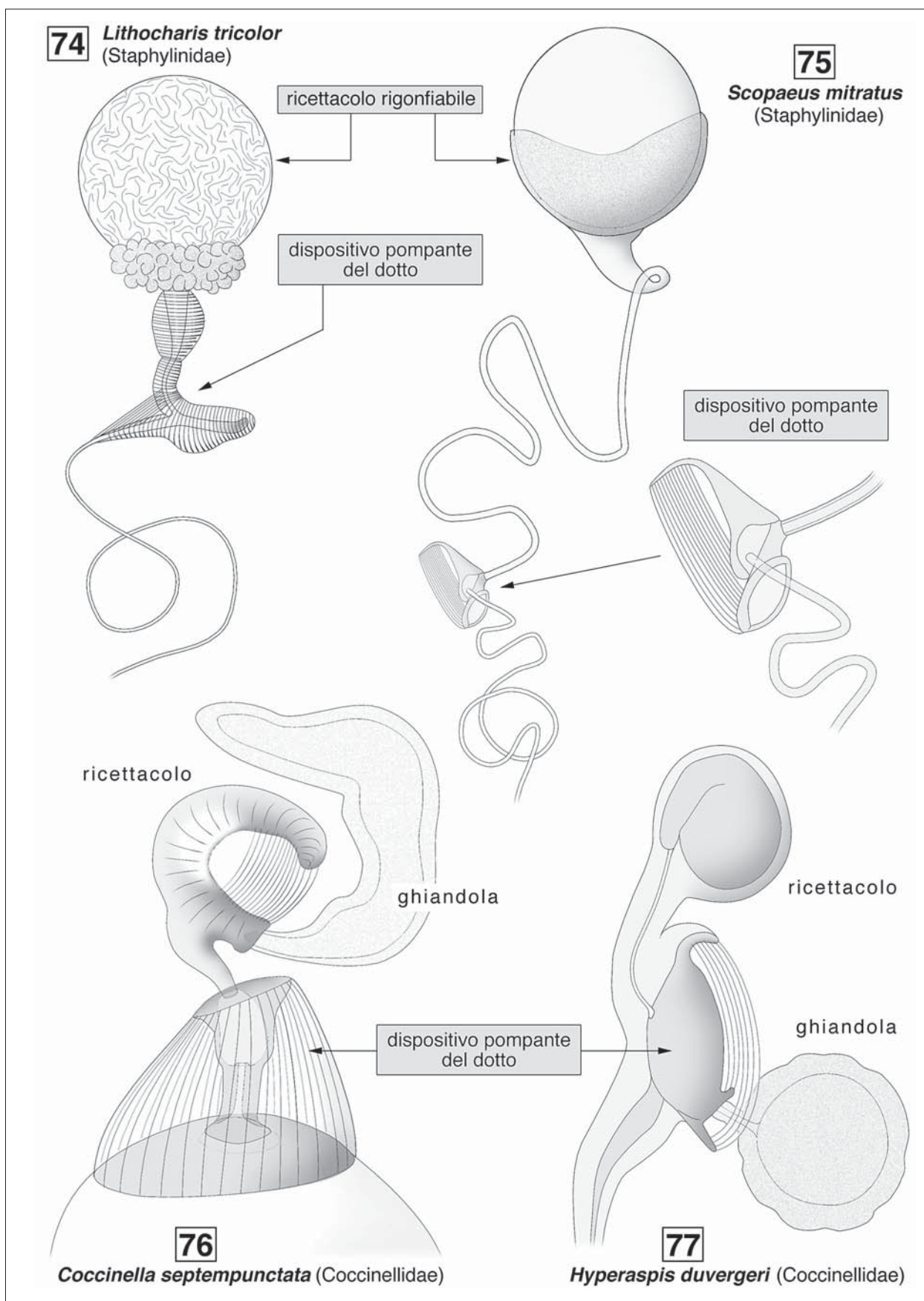
Figg. 65-69

65) Esempio di ricettacolo rivestito interamente dalla tunica muscolare. 66) Ricettacolo con la tunica muscolare confinata alla base. 67) Ricettacolo con la tunica muscolare confinata all'apice. 68) Dispositivo pompante alla base del ricettacolo. 69) Esempio di ricettacolo munito di muscolo compressore.



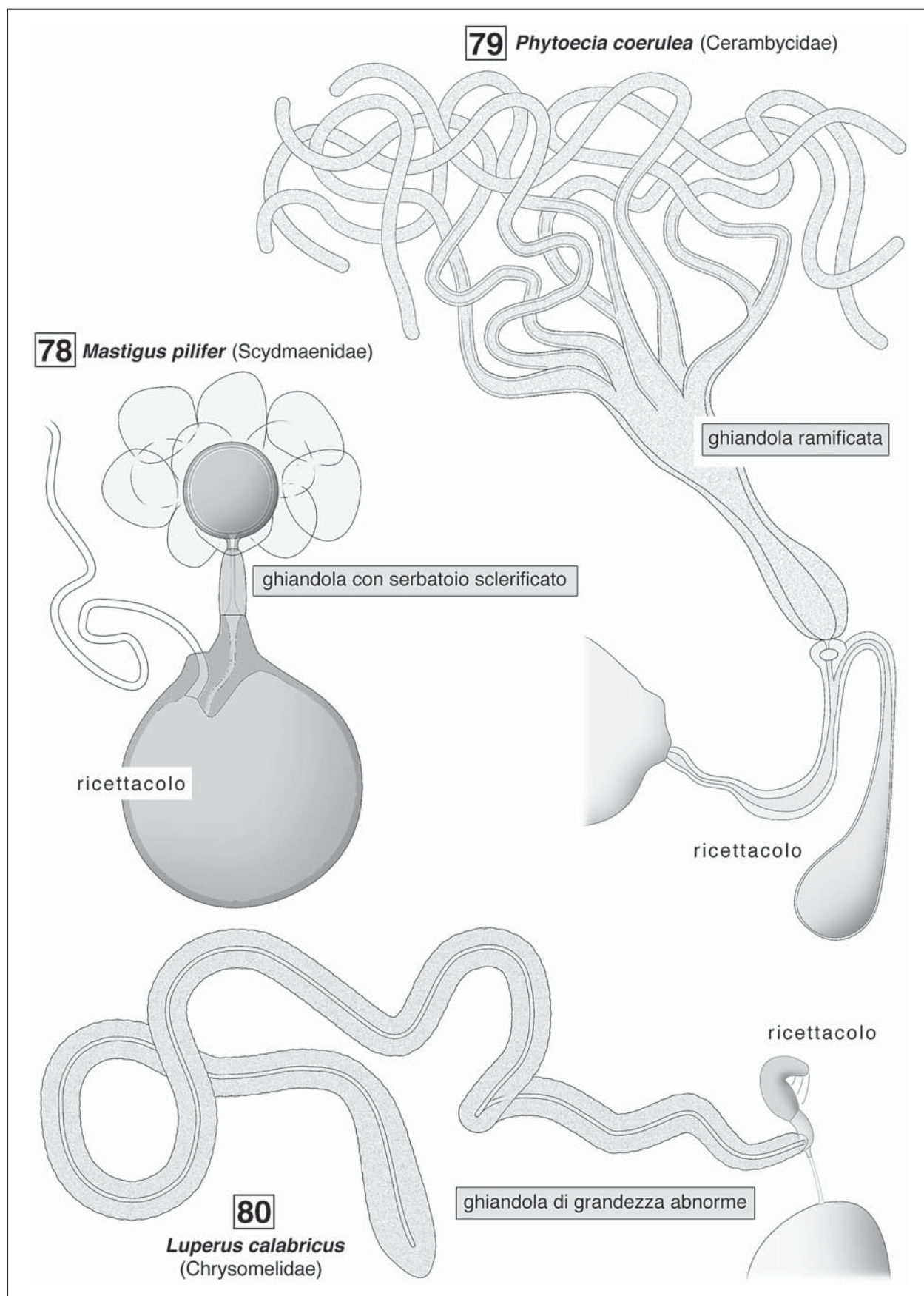
Figg. 70-73

Particolarità del dotto della spermateca nelle specie indicate, in riferimento alla differente consistenza della cuticola e alla sua lunghezza rapportata a quella dell'insetto.



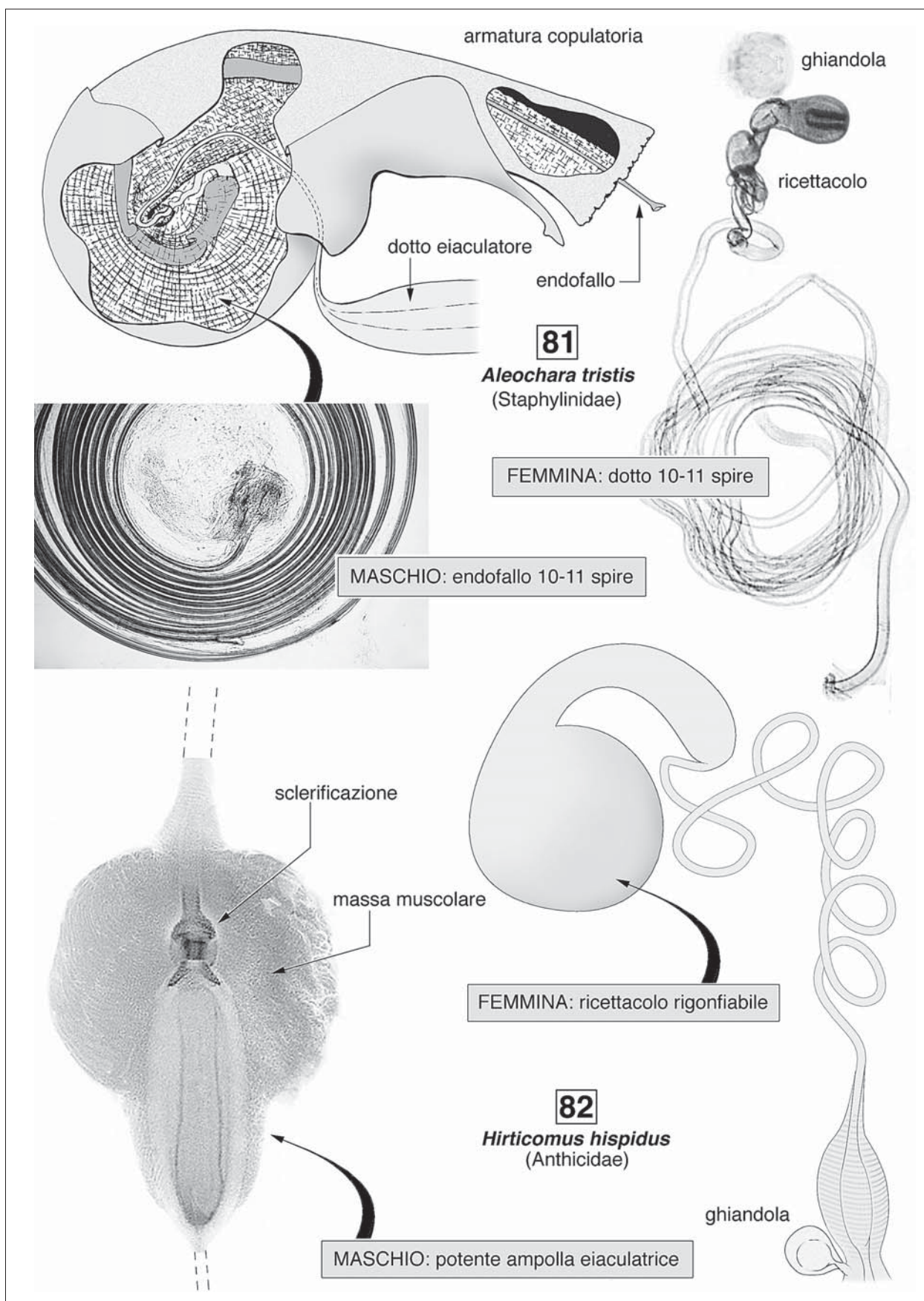
Figg. 74-77

Particolarità del dotto della spermateca nelle specie indicate, in merito alla realizzazione di dispositivi pompanti.



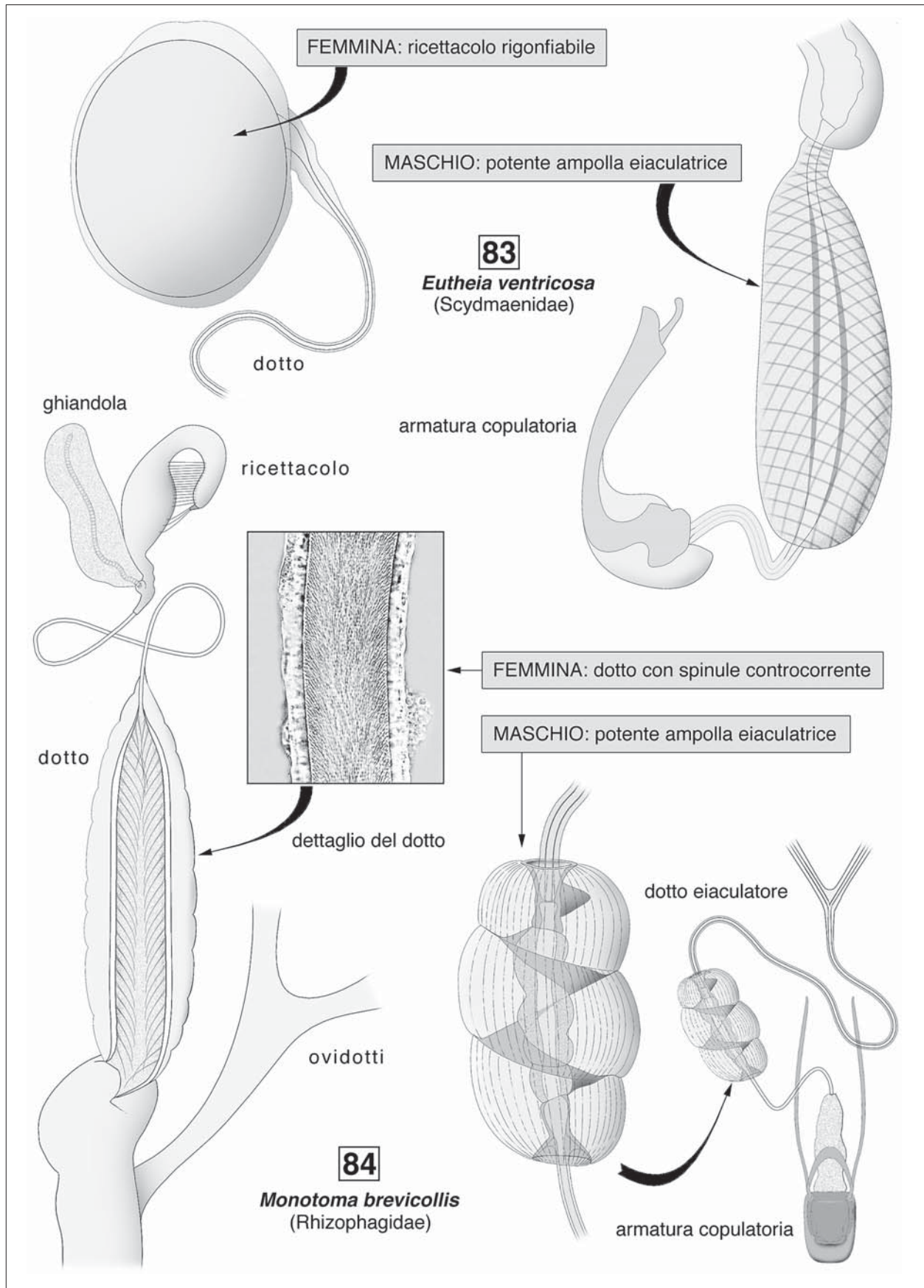
Figg. 78-80

Qualche lineamento della ghiandola nelle specie indicate: differente consistenza della cuticola, forma ramificata, grandezza abnorme rispetto al ricettacolo.



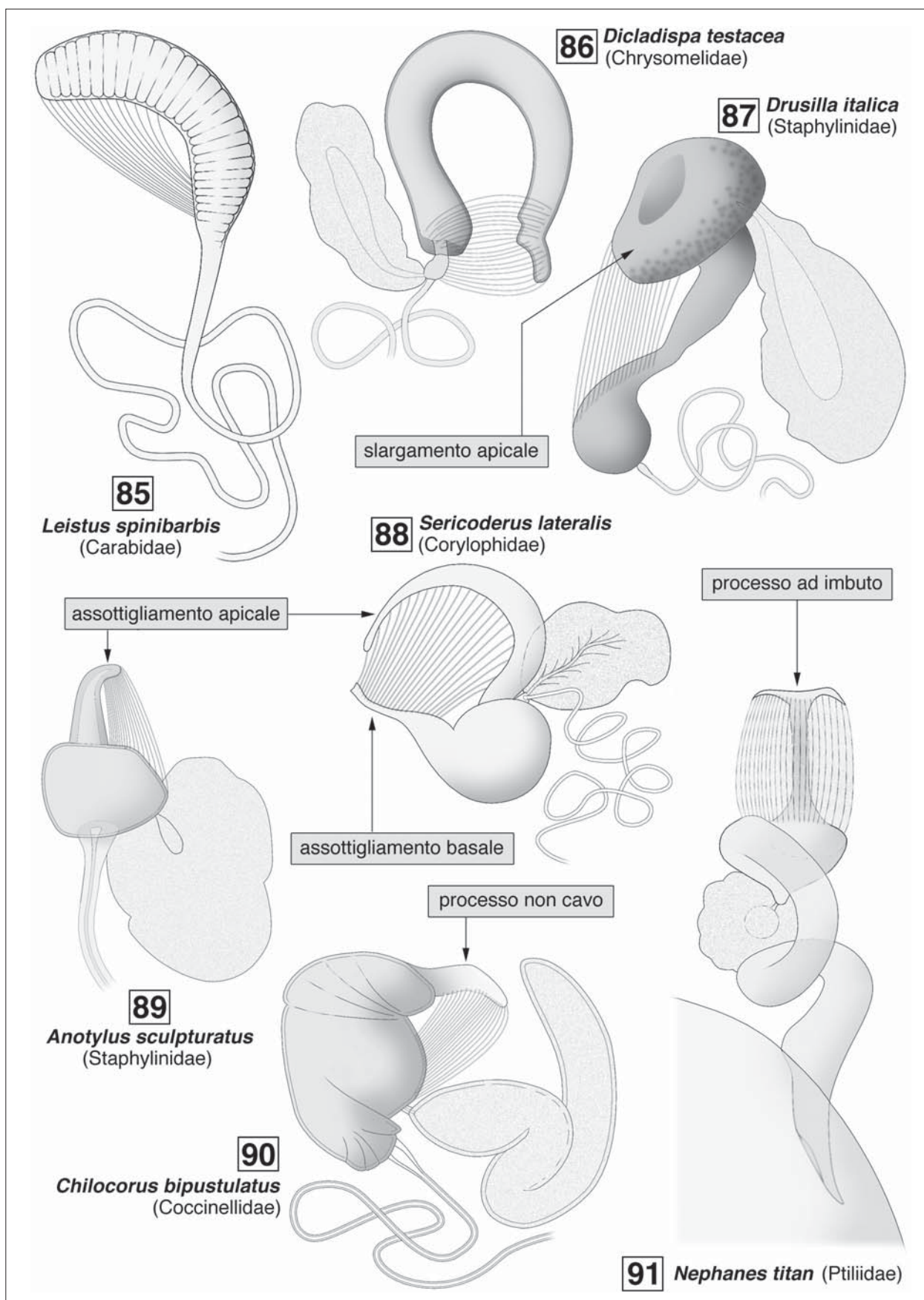
Figg. 81-82

Esempi di coadattamento fra la spermateca e le vie genitali maschili: endofallo e del dotto della spermateca di lunghezza congruente in uno Stafilinide; potente ampolla eiaculatrice e ricettacolo rigonfiabile in un Anicidae.

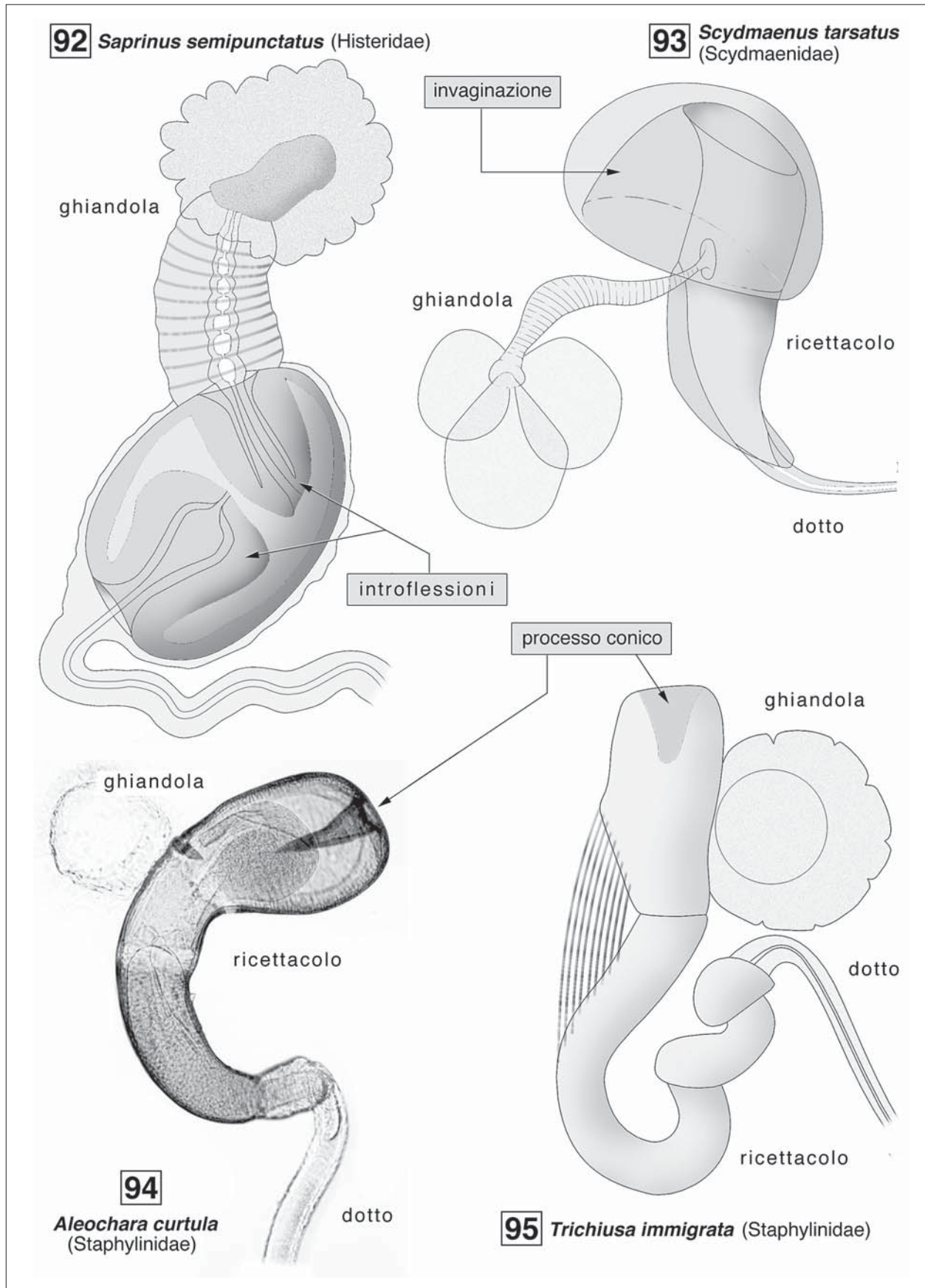


Figg. 83-84

Ulteriori esempi di coadattamento fra la spermateca e le vie genitali maschili: ricettacolo rigonfiabile e potente ampolla eiaculatrice in uno Scidmenide; dotto della spermateca con spinule controcorrente e ampolla eiaculatrice ben strutturata in un Rizofagide.

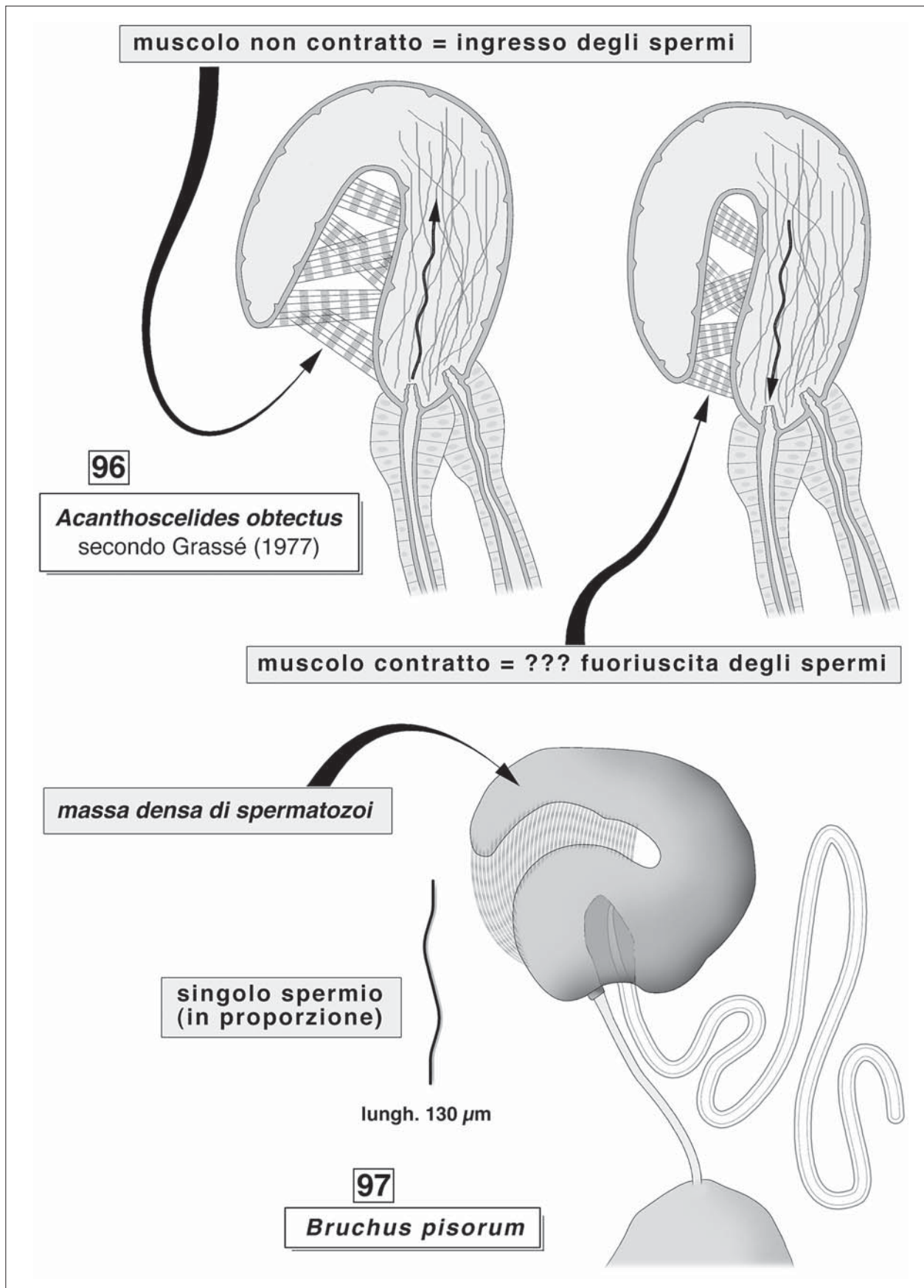


Figg. 85-91
Diversità di forma del ricettacolo in rapporto alla presenza del muscolo compressore.



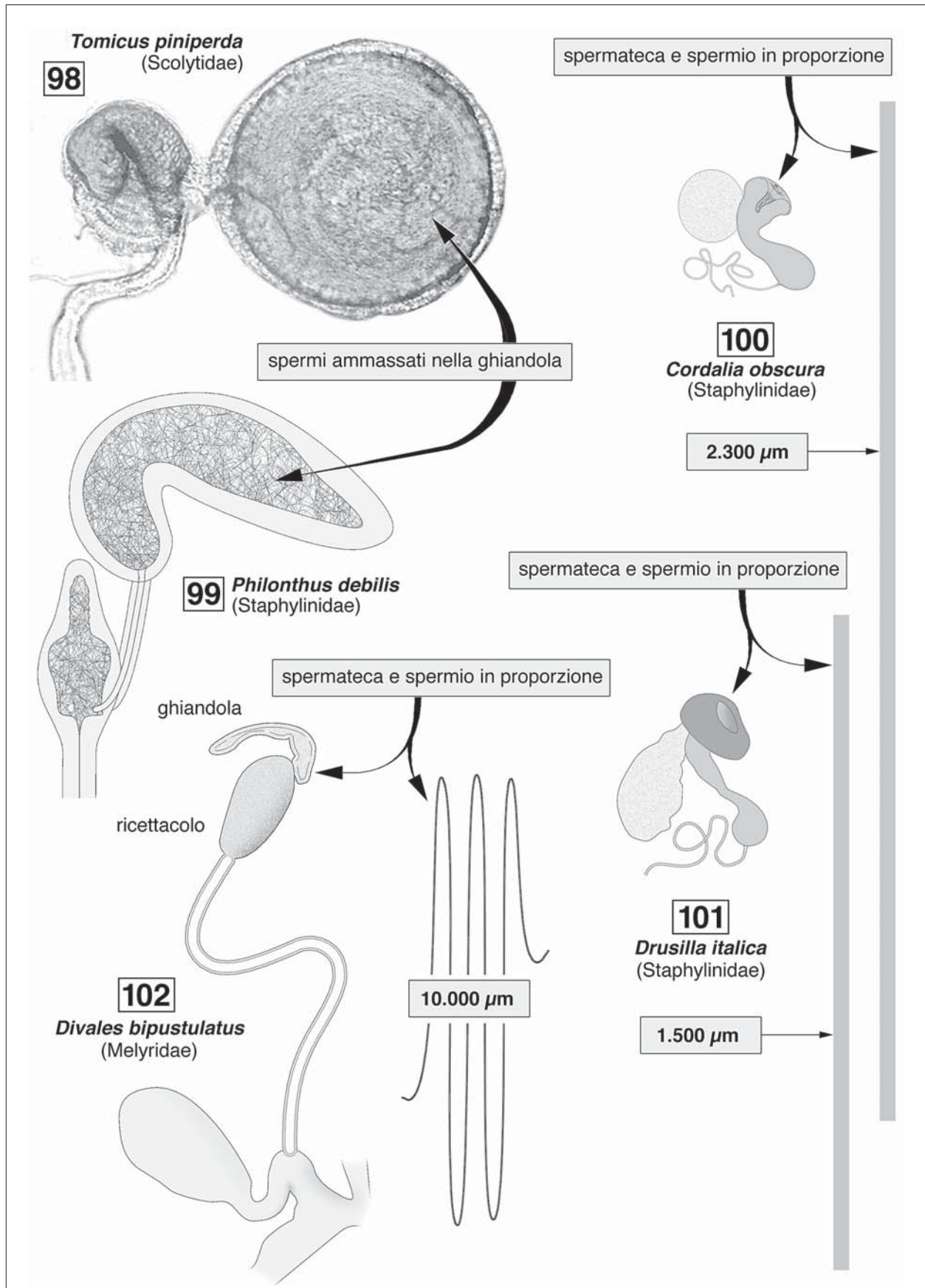
Figg. 92-95

Esempi di introflessioni del ricettacolo, dalla presumibile funzione di rendere ordinato il flusso degli spermatozoi in ingresso.



Figg. 96-97

96) Interpretazione di Grassé (1977) del processo di ingresso-uscita degli spermatozoi dal ricettacolo in un Bruchide. 97) Risultato di osservazioni effettuate su un altro Bruchide.



Figg. 98-102

98-99) Esempi di spermatheca con spermatozoi segregati nella ghiandola spermofila. 100-102) Esempi di Coleotteri con spermatozoi smodatamente più lunghi del ricettacolo.

97 Bianca

NORME REDAZIONALI

I testi devono essere spediti a: Redazione Atti Accademia Entomologia (c/o Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia, via Lanciola, 12/a - 50125 Firenze).

I lavori possono anche essere inviati per posta elettronica al coordinatore della Redazione:

roberto.nannelli@isza.it

I contenuti dei lavori sono di esclusiva responsabilità dell'Autore.

Il dattiloscritto sottoposto per la pubblicazione deve essere scritto a spazio doppio e solo da un lato del foglio, lasciando un margine di almeno 3 cm in ognuno dei quattro lati; il testo deve essere digitato sempre in minuscolo tondo (la maiuscola solo per i nomi propri e inizio periodo) e poi cambiato nello «stile» desiderato (MAIUSCOLO, MAIUSCOLETTA, *corsivo*, **neretto**, *corsivo neretto*), non deve contenere indicazioni di carattere redazionale e deve essere uniformato alle seguenti norme:

- Titolo, informativo ma conciso.
- Nome dell'Autore (o degli Autori).
- Istituto di appartenenza dell'Autore (o degli Autori) e indirizzo; e-mail dell'autore corrispondente.
- Titolo in inglese.
- Summary.
- Key words, in inglese, massimo cinque parole, che devono dare brevi informazioni integrative al titolo del lavoro.
- Testo del lavoro con ben indicato l'inizio e la fine di ogni capitolo; i rimandi bibliografici devono essere così indicati: (RAMARKERS, 1983) o RAMARKERS (1983); (RIOM e GERBINOT, 1977) oppure DEUBERT & RHODE (1971); (ROBERTSON *et al.*, 1989).
- Eventuali ringraziamenti.
- Riassunto in italiano.
- Bibliografia indicata come da esempio:

DALLAI R., 1975 – *Fine structure of the spermatheca of Apis mellifera*. - J. Insect Physiol., 21: 89-109.

WALLWORK J.A., 1967 – *Acari*. In: Soil Biology, Burgers A. & Raw F. Ed., Academic Press, London, New York, pp. 365-395.

HILL D.S., 1987 – *Agricultural insect pests of the tropics and their control*. Cambridge University Press, XII+746 pp.

NORDLUND D.A., JONES R.L., LEWIS W.J. (Eds.), 1981 – *Semiochemical: their role in Pest control*. Wiley, N.Y., 850 pp.

Le figure devono essere realizzate tenendo presente le dimensioni dello spazio massimo utile della pagina (formato pagina A4 - cm 21×29,7; spazio massimo utilizzabile cm 16,5×25,00) e dovrebbero essere di dimensioni tali da permettere una riduzione fino al 65%. Tavole e illustrazioni insieme con le relative didascalie devono essere indicate in cifre arabe (es. Fig. 1, Tav. I, ecc.); anche le tabelle devono portare il numero in cifre arabe (es: Tab. 1 ecc.). L'Autore può suggerire la riduzione o l'ingrandimento delle figure originali per portarle alle dimensioni già indicate. Le didascalie devono essere fornite in una pagina a parte, con preciso riferimento alla figura.

Manoscritto del testo definitivo – Il testo definitivo deve essere fornito sia in formato elettronico (MS Word) sia in formato cartaceo; è auspicabile anche l'invio del file salvato in formato PDF.

Per chi usa «Office 2007» si prega di salvare una versione del documento finale come «documento di Word 97-2003» e assicurarsi che abbia l'estensione «.doc».

Figure – In aggiunta alle figure originali gli Autori sono invitati a fornire versioni delle figure su supporto elettronico sia nel formato TIFF o EPS. Le figure dovrebbero essere «salvate in file separati» senza didascalie, da inserire nel testo alla fine dell'articolo. Per i grafici è preferito il formato EPS, le linee non dovrebbero essere più sottili di 0,25 pts e i retini avere una densità di almeno il 10%. Per le figure b/n sono ottimali risoluzioni di 600-1200 dpi, per le fotografie 300 dpi; più alte risoluzioni non migliorano la qualità, appesantiscono le dimensioni del file e possono creare problemi tipografici, basse risoluzioni possono compromettere la qualità.

Figure e fotografie possono essere fornite anche in formato JPG ma devono avere alta risoluzione o dimensione tale da essere ridotte e convertite in TIFF. Figure in JPG possono inserite nel documento Word solo nel testo che deve essere revisionato, mentre nella versione definitiva è preferito il formato TIFF o PDF. Se i files sono troppo pesanti per l'invio tramite e-mail, i files devono essere salvati su CD o DVD e inviati per posta alla Redazione, insieme ad una stampa di buona qualità.