



**ATTI**  
DELLA  
**ACCADEMIA**  
**NAZIONALE ITALIANA**  
**DI ENTOMOLOGIA**

**RENDICONTI**  
Anno LXXI  
2023



FIRENZE



ATTI  
DELLA  
ACCADEMIA  
NAZIONALE ITALIANA  
DI ENTOMOLOGIA

RENDICONTI

Anno LXXI

2023



CEREBRO FAVCIBVS VTERO  
AB ORBIS ORIGINE  
TENENT

FIRENZE

ISSN 0065-0757

Direttore Responsabile: *Prof. Francesco Pennacchio*  
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.	7
Elenco degli Accademici . . . . .	»	8
Verbali delle adunanze del 17 e 18 febbraio 2023 . . . . .	»	11
Verbali delle adunanze del 13 giugno 2023 . . . . .	»	16
Verbali delle adunanze del 10 e 11 novembre 2023 . . . . .	»	19

### Commemorazioni

LAURA MANCINI, IRENE DI GIROLAMO E SIMONE CIADAMIDARO – Commemorazione Leo Rivosecchi, 1923-2022 . . . . .	»	27
RENZO BARBATTINI, FRANCESCO NAZZI E PIETRO ZANDIGIACOMO – Commemorazione Franco Frilli, 1936-2023. . . . .	»	31

### Lecture

MASSIMO FACCOLI – Cambiamenti climatici, abete rosso e bostrico tipografo: una difficile convivenza. . . . .	»	35
ENRICO SCHIFANI – Il ruolo del mimetismo nella diversificazione delle formiche nel Palearctico occidentale: un approccio multidisciplinare al genere <i>Colobopsis</i> . . . . .	»	39
PASQUALE TREMATERRA – Note faunistiche sui Tortricidae italiani (Lepidoptera). . . . .	»	45

### Tavola Rotonda su:

CHEMICAL ECOLOGY IN INSECT PARASITOIDS . . . . .	»	57
ERIC CONTI E STEFANO COLAZZA – Chemical ecology of egg parasitoids: what's known and what's next? . . . . .	»	59
NINA FATOUROS – <i>Natural selection on butterfly sex scents by egg parasitoids and implications for biological control</i> . . . . .	»	63
ANTONINO CUSUMANO, JEFFREY A. HARVEY, MITCHEL E. BOURNE E JETSKA G. DE BOER – <i>Ruolo dell'ecologia chimica per la gestione degli iperparassitoidi nel controllo biologico</i> . . . . .	»	65
EMILIO GUERRIERI – <i>Root elicitors altering the behaviour of foraging parasitoids</i> . . . . .	»	73
JOACHIM RUTHER – <i>Pheromones in the Nasonia group: behavior and biochemistry</i> . . . . .	»	79
GIANFRANCO ANFORA, LORENZO FELLIN, ALBERTO SADDI, RACHELE NIERI, CLAUDIO IORIATTI, VALERIO MAZZONI E MARCO VALERIO ROSSI STACCONI – <i>Chimica ecologica e biotremologia delle interazioni tra pianta-fitofago-parassitoide a supporto dei progetti di controllo biologico (il caso studio di Drosophila suzukii vs Ganaspis brasiliensis)</i> . . . . .	»	83
ERNESTO MOLLO – <i>Gusto e olfatto: una teoria unificatrice</i> . . . . .	»	87

### Tavola Rotonda su:

I CULICIDI VETTORI DI INFEZIONI DI INTERESSE MEDICO-VETERINARIO: DALLA BIOLOGIA MOLECOLARE ALLO SVILUPPO DI METODOLOGIE DI CONTROLLO . . . . .	»	89
RICCARDO MOLteni, MIRIAM VADALÀ, GIULIA MARIA CATTANEO, GIORGIA BETTONI, SARA EPIS E CLAUDIO BANDI – <i>I culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo</i> . . . . .	»	91
MIRIAM FORMICA E THOMAS VACCARI – <i>Drosophila, "toolkit" della ricerca biomedica e biotecnologia</i> . . . . .	»	97
AYDA KHORRAMNEJAD E MARIANGELA BONIZZONI – <i>Da cosa dipende il successo invasivo di Aedes albopictus?</i> . . . . .	»	101
GIOVANNI NARO, GIUSEPPE RABBITO E PAOLO GABRIELLI – <i>Ricostruzione ultrastrutturale dell'apparato pungitore nelle zanzare e meccanismi bio-molecolari del pasto ematico</i> . . . . .	»	105
MARIANNA VARONE, FRANCESCA LUCIBELLI, PAOLO DI LILLO E MARCO SALVEMINI – <i>La determinazione del sesso in Nematoceri vettori: stato dell'arte e prospettive di studio</i> . . . . .	»	111
VERENA PICHLER, BENIAMINO CAPUTO E ALESSANDRA DELLA TORRE – <i>La resistenza agli insetticidi in Culicidi vettori di patogeni umani e zoonotici in Italia</i> . . . . .	»	117
ALESSIA CAPPELLI E GUIDO FAVIA – <i>Simbiosi e controllo dei Ditteri vettori e delle malattie trasmesse</i> . . . . .	»	121



ANNO ACCADEMICO

2023

CONSIGLIO DI PRESIDENZA

---

PRESIDENTE

PENNACCHIO Prof. Dott. Francesco

VICE-PRESIDENTE

FAUSTO Prof. Dott.sa Anna Maria

SEGRETARIO

CERVO Prof. Dott.sa Rita

TESORIERE

NANNELLI Dott. Roberto

## ELENCO DEGLI ACCADEMICI

### ACCADEMICI SENIORES

ARZONE Prof. Dott. Alessandra	- Torino	1984
BALLETTO Prof. Dott. Emilio	- Torino	2016 - 2020
BARBAGALLO Prof. Dott. Sebastiano	- Catania	1982
BINAZZI Dott. Andrea	- Firenze	1998 - 2011
BONVICINI PAGLIAI Prof. Dott. Anna	- Modena	1983 - 2001
BRIOLINI Prof. Dott. Giovanni	- Bologna	1977 - 1982
BULLINI Prof. Dott. Luciano	- Roma	1986
COBOLLI Prof. Dott. Marina	- Roma	2001 - 2018
CRAVEDI Prof. Dott. Piero	- Piacenza	1999 - 2005
DELRIO Prof. Dott. Gavino	- Sassari	1989 - 2000
FRILLI Prof. Dott. Franco <sup>1</sup>	- Udine	1978 - 1982
GASPERI Prof. Dott. Giuliano	- Pavia	2005 - 2013
GIORDANA Prof. Dott. Barbara	- Milano	1997 - 2003
GIROLAMI Prof. Dott. Vincenzo	- Padova	1993 - 2004
LONGO Prof. Dott. Santi	- Catania	1995 - 2021
MAINI Prof. Stefano	- Bologna	2005 - 2014
MALVA Dott. Carla	- Napoli	2001 - 2010
MAROLI Prof. Dott. Michele	- Roma	2003 - 2010
MASSA Prof. Dott. Bruno	- Palermo	2011 - 2017
MASUTTI Prof. Dott. Luigi	- Padova	1972 - 1977
MAZZINI Prof. Dott. Massimo	- Viterbo	2000
MELLINI Prof. Dott. Egidio	- Bologna	1962 - 1972
MINELLI Prof. Alessandro	- Padova	1986 - 1993
NANNELLI Dott. Roberto	- Firenze	1998 - 2005
NUZZACI Prof. Dott. Giorgio	- Bari	1988 - 1994
OLMI Prof. Dott. Massimo	- Viterbo	2002 - 2013
PELLIZZARI Prof. Giuseppina	- Padova	2011 - 2018
RAGUSA DI CHIARA Prof. Dott. Salvatore	- Palermo	1993 - 2000
ROTUNDO Prof. Dott. Giuseppe	- Campobasso	1999 - 2010
SANTINI Prof. Dott. Luciano	- Pisa	1993 - 2000
SBORDONI Prof. Dott. Valerio	- Roma	1986
SOLINAS Prof. Dott. Mario	- Perugia	1978
SÜSS Prof. Dott. Luciano	- Milano	1987 - 1993
TRANFAGLIA Prof. Dott. Antonio	- Potenza	1993 - 2021
TRIGGIANI Prof. Oreste	- Bari	2001 - 2011

### ACCADEMICI ORDINARI

ALMA Prof. Dott. Alberto	- Torino	2007 - 2013
AUDISIO Prof. Paolo Aldo	- Napoli	2004 - 2015
BALLERIO Dott. Alberto	- Brescia	2015 - 2020
BANDI Prof. Dott. Claudio	- Milano	2015 - 2022
BATTISTI Prof. Andrea	- Padova	2010 - 2014
BIONDI Prof. Dott. Maurizio	- L'Aquila	2012 - 2019

BOLOGNA Prof. Dott. Marco	- Roma	2001 - 2008
BOSCO Prof. Dott. Domenico	- Torino	2015 - 2021
BRANDMAYR Prof. Dott. Pietro	- Rende (CS)	2005 - 2014
CASALE Prof. Dott. Achille	- Sassari	1996 - 2002
CERVO Prof. Dott. Rita	- Firenze	2012 - 2018
COLAZZA Prof. Dott. Stefano	- Palermo	2013 - 2019
CRISTOFARO Dott. Massimo	- Roma	2014 - 2022
DE LILLO Prof. Dott. Enrico	- Bari	2011 - 2018
DIGILIO Prof. Dott. Maria Cristina	- Napoli	2015 - 2022
DI PALMA Prof. Dott. Antonella	- Foggia	2014 - 2020
FAUSTO Prof. Dott. Anna Maria	- Viterbo	2011 - 2016
FLORIS Prof. Dott. Ignazio	- Sassari	2011 - 2017
FRATI Prof. Dott. Francesco	- Siena	2011 - 2016
GARGIULO Prof. Dott. Giuseppe	- Bologna	2013 - 2019
GERMINARA Prof. Giacinto Salvatore	- Foggia	2014 - 2021
ISIDORO Prof. Dott. Nunzio	- Ancona	2013 - 2020
LUCCHI Prof. Dott. Andrea	- Pisa	2015 - 2022
LUCIANO Prof. Dott. Pietro <sup>2</sup>	- Sassari	2009 - 2014
NAZZI Prof. Dott. Francesco	- Udine	2012 - 2019
PENNACCHIO Prof. Dott. Francesco	- Napoli	2001 - 2007
POGGI Dott. Roberto	- Genova	1989 - 1999
RAPISARDA Prof. Dott. Carmelo	- Catania	2005 - 2012
ROVERSI Prof. Dott. Pio Federico	- Firenze	2008
RUSSO Prof. Dott. Agatino	- Catania	2011 - 2017
TURILLAZZI Prof. Dott. Stefano	- Firenze	1989 - 2000
ZAPPAROLI Prof. Dott. Marzio	- Viterbo	2012 - 2019

#### ACCADEMICI ONORARI

ALTIERI Prof. Miguel Angel	- Berkeley (California, USA)	2004
BEUTEL Prof. Dott. Rolf G.	- Jena (Germania)	2018
CRISANTI Prof. Dott. Andrea	- Padova	2020
DALLAI Prof. Dott. Romano	- Siena	2022
GATEHOUSE Prof. Angharad M.R.	- Newcastle (U.K.)	2015
HARRIS Dott. Keit Murray	- Ripley, Woking (U.K.)	2002
LENTEREN Prof. Dott. Johan Coert van	- Wageningen (Olanda)	2006
TAUTZ Prof. Dott. Jürgen	- Würzburg (Germania)	2006
VIGGIANI Prof. Dott. Gennaro	- Napoli	2020

#### ACCADEMICI STRAORDINARI

ANFORA Prof. Dott. Gianfranco	- Trento	2020
ANGELI Prof. Sergio	- Bolzano	2023
BARTOLOZZI Dott. Luca	- Firenze	2022
BEANI Prof. Dott. Laura	- Firenze	2021
BONELLI Prof. Dott. Simona	- Torino	2021
BURGIO Prof. Dott. Giovanni	- Bologna	2018
CARAPELLI Prof. Dott. Antonio	- Siena	2020

CASARTELLI Prof. Dott. Morena	- Milano	2020
CONTI Prof. Dott. Barbara	- Pisa	2019
CONTI Prof. Dott. Eric	- Perugia	2018
DANI Prof. Dott. Francesca Romana	- Firenze	2022
DAPPORTO Prof. Dott. Leonardo	- Firenze	2018
DELLA TORRE Prof. Alessandra	- Roma	2023
DI GIULIO Prof. Dott. Andrea	- Roma	2019
DINDO Prof. Dott. Maria Luisa	- Bologna	2019
DUSO Prof. Dott. Carlo	- Padova	2016
FACCOLI Prof. Dott. Massimo	- Padova	2020
FANCIULLI Prof. Dott. Pietro Paolo	- Siena	2019
GARONNA Prof. Dott. Antonio Pietro	- Napoli	2016
GRASSO Prof. Dott. Donato	- Parma	2020
GUERRIERI Prof. Dott. Emilio	- Napoli	2019
MARINI Prof. Lorenzo	- Padova	2022
MASON Dott. Franco	- Verona	2019
MAZZONI Prof. Dott. Emanuele	- Piacenza	2018
MONTAGNA Prof. Dott. Matteo	- Napoli	2023
PALMERI Prof. Dott. Vincenzo	- Reggio Calabria	2021
PANTALEONI Prof. Dott. Roberto	- Sassari	2016
PERI Prof. Ezio	- Palermo	2022
ROMANI Prof. Dott. Roberto	- Perugia	2018
SABBATINI PEVERIERI Dott. Giuseppino	- Firenze	2020
SIMONI Dott. Sauro	- Firenze	2018
SISCARO Prof. Dott. Gaetano	- Catania	2018
TAVELLA Prof. Dott. Luciana	- Torino	2018
TREMATERRA Prof. Dott. Pasquale	- Campobasso	2021
TSOLAKIS Prof. Dott. Haralabos	- Palermo	2018
VANIN Prof. Dott. Stefano	- Huddersfield (UK)	2018
ZAPPALÀ Prof. Dott. Lucia	- Catania	2019

N.B. - Per gli Accademici seniores ed ordinari le date sono rispettivamente quelle della nomina ad Accademico straordinario e ad Accademico ordinario.

## VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 17 E 18 FEBBRAIO 2023

Presiede il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa RITA CERVO

### SEDUTA PUBBLICA

Venerdì 17 febbraio 2023 alle ore 14: 30, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A e su piattaforma (<https://unipd.zoom.us/j/y9248768113>) iniziano i lavori della Seduta pubblica:

Sono presenti i seguenti Accademici:

*Seniores*: E. BALLETO, M. MAROLI

*Ordinari*: A. BALLERIO, A. BATTISTI, R. CERVO, S. COLAZZA, M. CRISTOFARO, E. DE LILLO, M. C. DIGILIO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, S. MAINI, B. MASSA, R. NANNELLI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, F.P. ROVERSI, S. TURILLAZZI

*Straordinari*: G. ANFORA, S. BONELLI, M. CASARTELLI, E. CONTI, F.R. DANI, L. DAPPORTO, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, C. DUSO, M. FACCOLI, A.P. GARONNA, D.A. GRASSO, E. GUERRIERI, E. PERI, V. PALMERI, G. SABBATINI, S. SIMONI, G. SISCARO, H. TSOLAKIS, S. VANIN, L. ZAPPALA'.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores*: L. BULLINI, M. COBOLLI, G. GASPERI, V. SBORDONI, L. SUSS; *Ordinari*: A. ALMA, B. BALLERIO, P. BRANDMAYR, D. BOSCO, A. LUCCHI, A. MINELLI, R. POGGI;

*Onorari*: R.G. BEUTEL;

*Straordinari*: G. BURGIO, L. BARTOLOZZI, E. MAZZONI, R. ROMANI, L. TAVELLA.

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

Il tema della Tavola Rotonda verte su: '*Chemical Ecology in Insect parasitoids*'

Coordinata dagli Accademici Eric CONTI e Stefano COLAZZA

- Ore 14:30 Opening by the President Francesco Pennacchio
- Ore 14:40 Introduction by Stefano COLAZZA and Eric CONTI

*Interventi*:

- Eric CONTI (University of Perugia, Italy): Chemical Ecology of egg parasitoids: what's known and what's next?
- Nina FATOUROS (University of Wageningen, The Netherlands): Natural selection on butterfly sex scents by egg parasitoids and implications for biological control.
- Antonino CUSUMANO (University of Palermo, Italy): Exploiting chemical ecology to manage hyperparasitoids in biological control of arthropod pests.
- Emilio GUERRIERI (CNR – IPSP, Italy): Root elicitors altering the behaviour of foraging parasitoids.
- Joachim RUTHER (University of Regensburg, Germany): Pheromones in the *Nasonia* group: behavior and biochemistry.
- Gianfranco ANFORA (University of Trento, Italy): Studies of chemical ecology of plant-pest-parasitoid interactions to support biological control projects.

- Ernesto MOLLO (CNR – IBC, Italy): Taste and smell: a unifying chemosensory theory.
- Discussione e Conclusioni

I testi delle relazioni saranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2023.

*Il Segretario verbalizzante*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## ASSEMBLEA PLENARIA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa Rita CERVO

Sabato 18 febbraio 2023 alle ore 09:30, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A e su piattaforma Zoom (<https://unipd.zoom.us/j/y9248768113>) come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores*: E. BALLETO, M. COBOLLI, M. MAROLI, L. MASUTTI, L. SANTINI, V. SBORDONI, M. SOLINAS

*Ordinari*: P.A. AUDISIO, A. BALLERIO, A. BATTISTI, M. BIONDI, M. BOLOGNA, R. CERVO, S. COLAZZA, M. CRISTOFARO, E. DE LILLO, M.C. DIGILIO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G.S.

GERMINARA, A. LUCCHI, B. MASSA, R. NANNELLI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, P. F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, M. ZAPPAROLI

*Onorari*: R. DALLAI

*Straordinari*: L. BARTOLOZZI, S. BONELLI, G. BURGIO, M. CASARTELLI, B. CONTI, E. CONTI, F.R. DANI, L. DAPPORTO, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, C. DUSO, M. FACCOLI, D.A. GRASSO, L. MARINI, E. MAZZONI, V. PALMERI, E. PERI, G. SABBATINI, S. SIMONI, G. SISCARO, L. TAVELLA, S. VANIN, L. ZAPPALA'.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores*: G. GASPERI, L. SUSS;

*Ordinari*: A. ALMA, P. BRANDMAYR, D. BOSCO, A. MINELLI;

*Onorari*: R. BEUTEL;

*Straordinari*: R. ROMANI.

Viene discusso il seguente Ordine del Giorno:

### 1) Approvazione del verbale della Seduta precedenti (18 e 19 novembre 2022)

- Viene esaminato il verbale della Seduta Pubblica del 18 novembre e quello dell'Assemblea Plenaria del 19 novembre 2022, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

### 2) Comunicazioni del Presidente

- Il Presidente aggiorna l'Assemblea relativamente al Corso di "Analisi di dati in entomologia" per studenti di dottorato o post-dottorato che verrà tenuto presso l'Università di Padova; la data del corso sarà resa nota appena possibile.
- Il Presidente informa che, come di consueto, si sta lavorando all'organizzazione del prossimo Annual Meeting European PhD Network Insect Science che si terrà i giorni immediatamente precedenti all'Assemblea di novembre. Informa, inoltre, che l'organizzazione di questa edizione sarà seguita da MORENA CASARTELLI e ERIC CONTI.
- Il Presidente invita gli Accademici ad aggiornare il proprio CV sul sito dell'Accademia. Gli eventuali aggiornamenti dovranno essere inviati alla Segretaria.

- Il Presidente informa gli Accademici che la prima edizione dell'assegnazione del Premio Silvestri si terrà durante il prossimo ICE a Kyoto nel 2024. Il Presidente invita gli Accademici a fare delle nominations.

### 3) Pubblicazioni dell'Accademia

- Il Presidente informa che la stampa del volume degli Atti dell'Accademia del 2022 è conclusa.
- Il Presidente descrive lo stato di avanzamento del progetto editoriale per la realizzazione di un'opera in più volumi riguardanti i diversi ambiti dell'Entomologia e destinata alla didattica universitaria e post-universitaria. E' in fase di completamento il primo volume "Sistematica ed Evoluzione degli Esapodi".

### 4) XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia

- Il Presidente invita l'Accademico STEFANO COLAZZA a fornire un aggiornamento sull'organizzazione del 27° Congresso Nazionale di Entomologia. L'Accademico STEFANO COLAZZA prende la parola e informa l'Assemblea che tutte le Letture plenarie sono state definite e che è stato deciso di prorogare la scadenza con quota ridotta dal 13 febbraio al 4 marzo. Raccomanda di prenotare per tempo la sistemazione alberghiera. Invita poi l'Accademico BRUNO MASSA ad intervenire riguardo alla gita naturalistica. L'Accademico BRUNO MASSA fornisce dettagli relativamente all'escursione al Parco delle Madonie. Il Presidente, infine, prende la parola per informare che i relatori del Congresso, se vorranno, potranno presentare i loro contributi in lingua inglese per permettere un maggior scambio con colleghi stranieri che saranno presenti.

### 5) Fauna d'Italia

Su richiesta del Presidente dell'ANIE, prende la parola l'Accademico MARCO A. BOLOGNA, Presidente del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, relazionando sulle attività del CSFI. In data odierna mi è stato indicato da uno degli autori che è stato appena stampato il volume LIV della collana Fauna d'Italia, relativo ai lepidotteri Papilionoidea, scritto dagli accademici E. BALLETO, S. BONELLI E L. DAPPORTO, con altri due colleghi. La casa editrice Calderini (New Business media) non si è peritata di rispondere ai solleciti del sottoscritto. Né di avvisare dell'avvenuta stampa. Ciò non è una novità rispetto ai difficilissimi rapporti editoriali tra l'editore ed il Comitato Scientifico che, come già detto, in una recente riunione ha valutato la possibilità di rescissione dei rapporti editoriali e si sta muovendo su questa strada, grazie anche all'aiuto per aspetti legali dell'Accademico A. BALLERIO.

Sono peraltro ancora in fase di preparazione alcuni volumi della collana, tra cui: Neuroptera, a cura di ROBERTO A. PANTALEONI ed altri; Dermaptera, a cura del Dott. P. FONTANA ed altri; Chondrichthyes, a cura del Dott. F. SERENA e collaboratori; il volume II dei lepidotteri ropaloceri a cura dell'Accademico E. Balletto ed altri. In fase preliminare di preparazione è il volume sui policheti sabellidi da parte della prof.ssa A. Giangrande.

Circa la nuova Checklist della Fauna d'Italia, il CSFI ha avuto una serie di incontri con la piattaforma LifeWatch, di cui fa parte, per la costruzione del nuovo sito interattivo in cui saranno collocate tutte le checklist. Nei primi di marzo è prevista un'ulteriore riunione operativa per il trasferimento delle checklist ora collocate nel vecchio sito, oltre alle ulteriori versioni modificate di alcune liste precedentemente completate e nuove checklist che perverranno.

Come già detto in precedenti adunanze, sul giornale internazionale Biogeographia (Società Italiana di Biogeografia) sono stati già stampati alcuni data-papers e altri pervengono alla rivista per la pubblicazione.

### 6) Proclamazione e consegna dei diplomi ai nuovi Accademici

- Le votazioni effettuate lo scorso mese di novembre hanno sancito l'ingresso nella Accademia Nazionale Italiana di Entomologia dei seguenti accademici:

Onorari: R. DALLAI

Ordinari: M. CRISTOFARO, M.C. DIGILIO

Straordinari: L. BARTOLOZZI, F.R. DANI, L. MARINI, E. PERI

A tutti le nostre congratulazioni e un caloroso saluto di benvenuto.

- Il Presidente consegna i diplomi agli Accademici Straordinari neo-eletti e all'accademico Onorario.

#### 7) Conferma programma delle Sedute per l'A.A. 2023 e del 2024

- Il Presidente illustra cosa è stato programmato per le prossime Adunanze del 2023 e chiede conferma agli Accademici coinvolti nelle attività.

- Adunanze di giugno 2023:

Si svolgeranno nell'ambito dell'CNIE 2023 dove è prevista una seduta pubblica con la Proclamazione del vincitore del Premio Osella (Dr. Enrico Schifani) e la commemorazione dell'Accademico FRANCO FRILLI da parte dell'Accademico FRANCESCO NAZZI.

- Adunanze di novembre 2023:

Tavola Rotonda su "Entomologia medico sanitaria" coordinata dall'Accademico CLAUDIO BANDI

Lettura su "Lepidotteri Tortricidae della fauna italiana" che sarà tenuta dall'Accademico PASQUALE TREMATERRA.

Commemorazione di G. B. OSELLA tenuta dall'Accademico M. BIONDI e dai Dr. M. D'ACCORDI e G. COADURO

- Su questo punto all'o.g. chiede la parola l'Accademico PIO ROVERSI che propone per il futuro una Tavola Rotonda sui Programmi di lotta biologica classica e l'Accademico STEFANO TURILLAZZI che propone una Tavola Rotonda sulle possibili applicazioni in vari ambiti utilizzando gli insetti. Chiedono la parola gli Accademici V. SBORDONI e S. VANIN per appoggiare la proposta di S. TURILLAZZI.

#### 8) Varie ed eventuali

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Plenaria è tolta alle ore 10,30

### SEDUTA PUBBLICA

Sabato 18 febbraio alle ore 10.30, presso la propria sede in via Lanciola 12/A Cascine del Riccio, Firenze e su piattaforma ZOOM (<https://unipd.zoom.us/j/y9248768113>) il Presidente Francesco PENNACCHIO dichiara aperta la Seduta Pubblica.

Oltre agli Accademici presenti all'Assemblea Plenaria, partecipano altri studiosi e ricercatori ospiti dell'Accademia.

Il Presidente invita l'Accademico MASSIMO FACCOLI a presentare la Lettura dal titolo: "*Cambiamenti climatici, abete rosso e bostrico tipografo: una difficile convivenza*"

Segue un'interessante discussione, al termine della quale il Presidente ringrazia il relatore e coloro che sono intervenuti.

Il testo della lettura sarà pubblicato sugli Atti-Rendiconti 2023.

Il Presidente invita LAURA MANCINI, IRENE DI GIROLAMO e SIMONE CIADAMIDARO a presentare la Commemorazione dell'Accademico LEO RIVOSECCHI.

La Seduta è tolta alle ore 11:30.

*Il Segretario verbalizzante*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante: la Segretaria Prof. ssa Rita CERVO

Sabato 18 febbraio 2023 alle ore 11:30, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A e su piattaforma (<https://unipd.zoom.us/j/y9248768113>) come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Ordinaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores:* E. BALLETO, M. COBOLLI, M. MAROLI, L. MASUTTI, L. SANTINI, V. SBORDONI, M. SOLINAS

*Ordinari:* P.A. AUDISIO, A. BALLERIO, A. BATTISTI, M. BIONDI, M.A. BOLOGNA, R. CERVO, S. COLAZZA, M. CRISTOFARO, E. DE LILLO, M.C. DIGIGLIO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, B. MASSA, R. NANNELLI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, P. F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, M. ZAPPAROLI

*Onorari:* R. DALLAI

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores:* L. BULLINI, M. COBOLLI, G. GASPERI, V. SBORDONI, L. SUSS;

*Ordinari:* A. ALMA, P. BRANDMAYR, D. BOSCO, A. MINELLI,

*Onorari:* R.G. BEUTEL;

*Straordinari:* G. BURGIO, E. MAZZONI, R. ROMANI, L. TAVELLA.

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

1) Approvazione del verbale della Seduta precedente (19 novembre 2022)

- Viene esaminato il verbale della Seduta Ordinaria del 19 novembre 2022, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

2) Comunicazioni del Presidente

- Il Presidente comunica l'attuale numero di posti disponibili:

Straordinari: 8 posti; Ordinari: 4 posti; Onorari: 7 posti.

Di questi posti, Il Consiglio di Presidenza ha ritenuto opportuno mettere in copertura con le prossime elezioni di novembre: 3 posti di Accademico Straordinario; 2 di Accademico Ordinario; nessun posto di accademico Onorario.

3) Esame e approvazione conto consuntivo anno finanziario 2022

- Prende la parola l'Accademico Roberto NANNELLI, in qualità di Tesoriere dell'Accademia, illustrando il Bilancio Consuntivo per l'a.f. 2022 già revisionato dal collegio dei Revisori dei Conti. Il Tesoriere quindi illustra i diversi punti dei capitoli delle entrate e delle uscite. L'Assemblea non pone rilievi ed approva all'unanimità.

4) Varie ed eventuali

- Nessuna

La Seduta è tolta alle ore 12.

Firenze, 18 febbraio 2023

*Il Segretario verbalizzante*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 13 GIUGNO 2023

Presiede il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa RITA CERVO

### SEDUTA PUBBLICA

Martedì 13 giugno 2023 alle ore 18 a Palermo presso Campus Universitario – Università degli Studi di Palermo Edificio 19, corpo C (ingresso F) nell'ambito del XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (CNIE 2023) iniziano i lavori della Seduta pubblica:

Sono presenti i seguenti Accademici:

*Seniores:* B. MASSA, G. NUZZACI, S. RAGUSA DI CHIARA

*Onorari:* R. DALLAI

*Ordinari:* A. ALMA, A. BATTISTI, M. BOLOGNA, D. BOSCO, P. BRANDMAYER, R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, I. FLORIS, F. FRATI, G. GARGIULO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA, F.P. ROVERSI, A. RUSSO

*Straordinari:* G. ANFORA, G. BURGIO, M. CASARTELLI, B. CONTI, E. CONTI, F.R. DANI, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, D.A. GRASSO, E. MAZZONI, V. PALMERI, E. PERI, R. ROMANI, G. SISCARO, L. TAVELLA, P. TREMATERRA, S. VANIN, L. ZAPPALA'

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores:* S. BARBAGALLO, M. COBOLLI, L. SANTINI, V. SBORDONI;

*Ordinari:* A. BALLERIO, M. BIONDI, M.C. DIGILIO, A. MINELLI;

*Straordinari:* L. BARTOLOZZI, L. BEANI, S. BONELLI, G. SABBATINI.

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

Ore 18.00: Il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO conferisce il PREMIO OSELLA al Dr. Enrico Schifani congratulandosi per la sua attività e lo invita a presentare la lettura dal titolo "Il ruolo del mimetismo nella diversificazione delle formiche nel Palearctico occidentale: un approccio multidisciplinare al genere *Colobopsis*"

Al termine della lettura vengono fatte numerose domande e si apre una breve discussione.

Ore 18.20: Il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO invita l'Accademico FRANCESCO NAZZI a nome anche dei colleghi Renzo Barbatini e Pietro Zandigiaco a tenere la Commemorazione dell'Accademico FRANCO FRILLI.

Ore 18.50-19.00: Il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO invita l'Accademico MARCO BOLOGNA, a nome anche dell'Accademico ALESSANDRO MINELLI, a presentare il volume dal titolo "Sistematica ed Evoluzione degli Esapodi" della Collana dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, pubblicato solo in versione online dalla casa editrice Liguori di Napoli.

### ASSEMBLEA PLENARIA

Presiede il Presidente Prof. FRANCESCO PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa RITA CERVO

Martedì 13 giugno alle ore 19.00 a Palermo presso Campus Universitario – Università degli Studi di Palermo Edificio 19, corpo C (ingresso F) nell'ambito del XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (CNIE 2023)

Come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores*: B. MASSA, G. NUZZACI, S. RAGUSA DI CHIARA

*Onorari*: R. DALLAI

*Ordinari*: A. ALMA, A. BATTISTI, M. BOLOGNA, D. BOSCO, P. BRANDMAYER, R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, I. FLORIS, F. FRATI, G. GARGIULO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA, F.P. ROVERSI, A. RUSSO

*Straordinari*: G. ANFORA, G. BURGIO, M. CASARTELLI, B. CONTI, E. CONTI, F.R. DANI, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, D.A. GRASSO, E. MAZZONI, V. PALMERI, E. PERI, R. ROMANI, G. SISCARO, L. TAVELLA, P. TREMATERRA, S. VANIN, L. ZAPPALA'.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores*: S. BARBAGALLO, M. COBOLLI, L. SANTINI, V. SBORDONI;

*Ordinari*: A. BALLERIO, M. BIONDI, M.C. DIGILIO, A. MINELLI;

*Straordinari*: L. BARTOLOZZI, L. BEANI, S. BONELLI, G. SABBATINI.

Viene discusso il seguente Ordine del Giorno:

1) Approvazione del verbale della Seduta precedente.

- Viene esaminato il verbale della Seduta Plenaria del 18 febbraio 2023, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici.

Il verbale viene approvato all'unanimità.

2) Comunicazioni del Presidente.

Il presidente informa l'assemblea che si sta organizzando un Simposio 'Bioprotection' nell'ambito del XII European Congress of Entomology (ECE 2023) a Creta nel prossimo ottobre, sotto l'egida dell'Accademia.

3) Pubblicazioni dell'Accademia.

Il Presidente Il Presidente descrive lo stato di avanzamento del progetto editoriale per la realizzazione di un'opera in più volumi, riguardanti i diversi ambiti dell'Entomologia e destinata alla didattica universitaria e post-universitaria.

4) Fauna d'Italia.

- Su richiesta del Presidente dell'ANIE, prende la parola l'Accademico prof. MARCO A. BOLOGNA, Presidente del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, relazionando sulle attività del CSFI. Per quanto attiene la stampa dei volumi della Fauna d'Italia, dopo l'uscita del volume di Balletto *et al.* relativo ai lepidotteri ropaloceri (I), nulla è cambiato nei difficilissimi rapporti editoriali con la casa editrice ed il Comitato sta definendo i termini della rescissione dei rapporti contrattuali. Sono in fase di preparazione una decina di volumi della serie collana, tra cui, quelli in più avanzata fase di preparazione sono il volume II dei lepidotteri ropaloceri a cura dell'Accademico E. Balletto ed altri, ma anche il volume I relativo ai policheti Sabellida da parte della prof.ssa A. Giangrande di Lecce e collaboratori. Tra i volumi entomologici in preparazione ricordiamo quello sui Neuroptera, a cura del prof. Roberto A. Pantaleoni, quello sui Dermaptera, a cura del Dott. P. Fontana ed altri, il volume II dei Synphyta a cura del Dott. F. Pesarini. Per la nuova Checklist della Fauna d'Italia, la nuova piattaforma LifeWatch è quasi completata e saranno forniti a settembre le checklist di oltre 37.000 specie già inserite nella precedente piattaforma malfunzionante, alcune altre liste mai consegnate, ma pronte, alcuni aggiornamenti su liste già pubblicate, nonché tutte le vecchie liste per le quali non è stato possibile procedere ad un aggiornamento. Non sono pervenuti nuovi meta-papers delle checklist per la rivista Biogeographia.

5) Varie ed eventuali.

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Plenaria è tolta alle ore 19,15

*Il Segretario verbalizzante*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante: la Segretaria Prof. ssa Rita CERVO

Martedì 13 giugno 2023 alle ore 19.15, a Palermo presso Campus Universitario – Università degli Studi di Palermo Edificio 19, corpo C (ingresso F) nell'ambito del XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (CNIE 2023) come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Ordinaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores:* B. MASSA, G. NUZZACI, S. RAGUSA DI CHIARA

*Onorari:* R. DALLAI

*Ordinari:* A. ALMA, A. BATTISTI, M. BOLOGNA, D. BOSCO, P. BRANDMAYER, R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A. DI PALMA, A.M. FAUSTO, I. FLORIS, F. FRATI, G. GARGIULO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, F. NAZZI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA, F.P. ROVERSI, A. RUSSO

*Straordinari:* G. ANFORA, G. BURGIO, M. CASARTELLI, B. CONTI, E. CONTI, F.R. DANI, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, D.A. GRASSO, E. MAZZONI, V. PALMERI, E. PERI, R. ROMANI, G. SISCARO, L. TAVELLA, P. TREMATERRA, S. VANIN, L. ZAPPALA'.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores:* S. BARBAGALLO, M. COBOLLI, L. SANTINI, V. SBORDONI;

*Ordinari:* A. BALLERIO, M. BIONDI, M.C. DIGILIO, A. MINELLI;

*Straordinari:* L. BARTOLOZZI, L. BEANI, S. BONELLI, G. SABBATINI.

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

1) Approvazione del verbale della Seduta precedente (18 febbraio 2023)

- Viene esaminato il verbale della Seduta Ordinaria del 18 febbraio 2023, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

2) Comunicazioni del Presidente

- Il Presidente comunica che sono pervenute entro il termine previsto 3 proposte per i tre posti resi disponibili dal Consiglio di Presidenza ad Accademico Straordinario e 2 Proposte per i due posti resi disponibili ad Accademico Ordinario per le prossime elezioni di novembre.

3) Varie ed eventuali

Nessuna

La Seduta è tolta alle ore 19,30.

Palermo, 13 giugno 2023

*Il Segretario verbalizzante*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 10 E 11 NOVEMBRE 2023

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa Rita CERVO

### SEDUTA PUBBLICA

Venerdì 10 novembre 2023 alle ore 14:00 a Firenze Cascine del Riccio via Lanciola 12/A e per via telematica su piattaforma Zoom, Link: <https://unipd.zoom.us/j/88347700325> iniziano i lavori della Seduta Pubblica:

Sono presenti i seguenti Accademici:

*Seniores*: E. BALLETO, M. COBOLLI, G. GASPERI, B. MASSA, S. RAGUSA DI CHIARA, V. SBORDONI, L. SUSS;

*Ordinari*: C. BANDI, A. BATTISTI, D. BOSCO, R. CERVO, E. DE LILLO, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G. GARGIULO, R. NANNELLI, F. NAZZI, G. PELLIZZARI, F. PENNACCHIO, C. RAPISARDA, S. TURILLAZZI;

*Straordinari*: M. CASARTELLI, E. CONTI, D.A. GRASSO, E. MAZZONI, E. PERI, G. SABBATINI, S. SIMONI, P. TREMATERRA, H. TSOLAKIS, S. VANIN.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores*: A. BINAZZI, P. CRAVEDI, M. MAZZINI, L. SANTINI, L. SUSS;

*Ordinari*: P. BRANDMAYER, A. CASALE, M. CRISTOFARO, I. FLORIS, A. BALLERIO, A. LUCCHI, A. MINELLI, A. DI PALMA, R. POGGI, P. ROVERSI, M. ZAPPAROLI;

*Straordinari*: M.L. DINDO, L. BARTOLOZZI, L. BEANI, F.R. DANI, S. BONELLI, C. DUSO, M. FACCOLI, L. TAVELLA.

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

Il tema della Tavola Rotonda verte su: *'I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo'*

Coordinata dall'Accademico CLAUDIO BANDI e SARA EPIS

- Saluti del Presidente, FRANCESCO PENNACCHIO
- Apertura dei lavori, CLAUDIO BANDI
- *Drosophila*, "tool kit" della ricerca biomedica e biotecnologia (THOMAS VACCARI, Università degli Studi di Milano).
- Da cosa dipende il successo invasivo di *Aedes albopictus*? (MARIANGELA BONIZZONI, Università degli Studi di Pavia).
- Ricostruzione ultrastrutturale dell'apparato pungitore nelle zanzare e meccanismi bio-molecolari del pasto ematico (PAOLO GABRIELI, Università degli Studi di Milano).
- Pausa caffè
- Studio della determinazione del sesso e strategie innovative di community-engagement per il controllo eco-sostenibile di ditteri di interesse sanitario (MARCO SALVEMINI, Università di Napoli Federico II).
- La resistenza agli insetticidi in Culicidi vettori di patogeni umani e zoonotici: meccanismi di diffusione e approcci diagnostici molecolari (ALESSANDRA DELLA TORRE Università di Roma La Sapienza).

- Simbiosi e controllo dei ditteri vettori e delle malattie trasmesse (GUIDO FAVIA, Università di Camerino).
- Segue un'interessante discussione coordinata da SARA EPIS e ANNA MARIA FAUSTO, al termine della quale la Seduta si conclude alle ore 18.

I testi delle relazioni saranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2023.

*Il Segretario*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## ASSEMBLEA PLENARIA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante la Segretaria Prof.ssa Rita CERVO

Sabato 11 novembre 2023 ore 9:00 a Firenze Cascine del Riccio via Lanciola 12/A e per via telematica su piattaforma Zoom al seguente link: <https://unipd.zoom.us/j/88956265755> come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores:* E. BALLETO, M. COBOLLI, G. GASPERI, V. GIROLAMI, S. LONGO, C. MALVA, B. MASSA, S. RAGUSA DI CHIARA, V. SBORDONI, L. SUSS;

*Ordinari:* A. ALMA, A. BALLERIO, C. BANDI, A. BATTISTI, M. BIONDI, M.A. BOLOGNA, D. BOSCO, R. CERVO, E. DE LILLO, C. DIGILIO, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G. GARGIULO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, R. NANNELLI, F. NAZZI, G. PELLIZZARI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA, A. RUSSO, S. TURILLAZZI, M. ZAPPAROLI;

*Onorari:* R. DALLAI;

*Straordinari:* G. BURGIO, A. CARAPELLI, M. CASARTELLI, B. CONTI, L. DAPPORTO, A. DI GIULIO, M.L. DINDO, C. DUSO, A. P. GARONNA, E. MAZZONI, V. PALMERI, E. PERI, G. SABBATINI, S. SIMONI, G. SISCARO, P. TREMATERRA, H. TSOLAKIS, S. VANIN, L. ZAPPALA.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores:* A. BINAZZI, P. CRAVEDI, M. MAZZINI, L. SANTINI;

*Ordinari:* P. BRANDMAYER, A. CASALE, M. CRISTOFARO, I. FLORIS, A. MINELLI, P.F. ROVERSI, A. DI PALMA

*Straordinari:* S. BONELLI, L. BEANI, L. BARTOLOZZI, F.R. DANI, D. GRASSO, M. FACCOLI, L. TAVELLA.

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

### 1) Approvazione del verbale della Seduta precedente

- Viene esaminato il verbale della Seduta Plenaria dell'13 giugno 2023, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

### 2) Comunicazioni del Presidente

- Il Presidente comunica all'Assemblea che si è svolto con successo il Simposio 'Bioprotection' nell'ambito del XII European Congress of Entomology (ECE 2023) tenutasi a Creta in ottobre, sotto l'egida dell'Accademia e AGRITEC.
- Il Presidente comunica che nei giorni precedenti alle Assemblee di novembre (8-10 novembre) si è svolto con il XIV PhD network Annual European Meeting of Insect Science che ha visto la partecipazione di molti dottorandi Italiani e stranieri.

- Il Presidente comunica che il prossimo Congresso SEI si terrà a Siena presumibilmente nella prima metà del Giugno 2025. Ricorda che anche la sede di Bologna si era candidata e ospiterà il congresso successivo che è programmato per il 2027.
- Il Presidente informa l'Assemblea che l'Accademia sta organizzando, grazie al contributo di Matteo Montagna, il Corso "Methods in DNA taxonomy: a special focus on insects" che si terrà a Napoli il 22,23 e 24 aprile 2024.
- Il Presidente comunica che è stato assegnato il "Filippo Silvestri Memorial Award" allo studioso statunitense George Heimpel, University of Minnesota. In occasione degli 800 anni dalla fondazione dell'Università di Napoli è possibile che il vincitore del Premio Silvestri verrà invitato a Napoli.
- Il Presidente inoltre ricorda agli Accademici di aggiornare il proprio Cv sul sito dell'accademia
- Il Presidente comunica infine le date per le Assemblee dell'Accademia per il 2024: 16-17 febbraio; 14-15 giugno e 15-16 novembre. Naturalmente queste date potranno subire variazioni se si presenterà la necessità.

3) Pubblicazioni dell'Accademia. Il Presidente descrive lo stato di avanzamento del progetto editoriale per la realizzazione dell'opera in più volumi curata da Liguori. Il prossimo volume che dovrà essere pubblicato è quello relativo alla Morfologia, Fisiologia e Anatomia. Un altro volume generale sulla Riproduzione e Sviluppo curato dal R. DALLAI e G. GARGIULO sta procedendo e quelli sull'Entomologia agraria e sull'Entomologia forestale sono in produzione. Da alcuni Accademici coinvolti nell'opera viene sollevato il problema relativo alla necessità o meno di trattare, nei volumi su specifiche tematiche, degli argomenti già trattati nei volumi di carattere generale. Il Presidente auspica un incontro tra i responsabili di questi volumi per discutere del problema.

Il Presidente inoltre sollecita l'invio da parte degli oratori della Tavola Rotonda dello scorso febbraio e di quella di questo novembre di inviare i contributi per la stampa a ROBERTO NANNELLI entro metà di gennaio 2024.

4) Consegna diplomi il Presidente consegna il diploma all'Accademica Ordinaria MARIA CRISTINA DIGILIO e quei diplomi rimasti in giacenza a causa delle assenze degli Accademici nelle sedute precedenti.

5) Fauna d'Italia. Su richiesta del Presidente dell'ANIE, prende la parola l'Accademico prof. MARCO A. BOLOGNA, Presidente del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, relazionando sulle attività del CSF.

Per decisione unanime del CSFI, è stata inviata alla casa editrice New Business Media una e-mail, predisposta con la collaborazione dell'Accademico Alberto Ballerio, in cui si decide unilateralmente la recessione dei rapporti editoriali. E' stato inoltre definito un incontro con il Direttore editoriale a dicembre per discutere eventuali problematiche di chiusura di detti rapporti e per la continuazione della stampa della collana della Fauna d'Italia con una nuova casa editrice. In tal senso, sono stati già portati avanti dei contatti con due potenziali editori, disposti a stampare i volumi senza spese.

Dopo l'uscita del volume di Balletto *et al.* relativo ai lepidotteri ropaloceri (I), sono in preparazione una decina di volumi della serie collana. Quelli in fase più avanzata sono: a) il volume II dei lepidotteri ropaloceri a cura dell'Accademico E. Balletto, per il quale bisogna risolvere solo il problema delle mappe di distribuzione; b) il volume II degli imenotteri sinfiti, a cura di F. Pesarini ed altri, per il quale è da completare l'iconografia; c) il volume I relativo ai policheti Sabellida a cura di A. Giangrande dell'Università di Lecce e collaboratori; d) il volume sui condroitti a cura di F. Serena del CNR e collaboratori, per il quale è necessario completare alcune immagini. Tra i volumi entomologici in preparazione, vi sono anche quello sui Neuropterida, a cura di R. A. Pantaleoni, quello sui Dermaptera, a cura del Dott. P. Fontana ed altri.

Per la nuova Checklist della Fauna d'Italia, la nuova piattaforma LifeWatch è in fase di implementazione.

6) Programma definitivo delle Sedute per l'A.A. 2024 Il Presidente informa l'Assemblea sui contenuti del programma per il prossimo anno e chiede conferma agli Accademici che hanno proposto le Tavole Rotonde e le letture.

– FEBBRAIO 2024

Tavola Rotonda su “Studio e ‘integrazione di semiochimici ed altre modalità di comunicazione degli insetti (es. segnali vibrazionali) per lo sviluppo di metodi di monitoraggio e controllo multimodali coordinata dall'Accademico G. ANFORA.

Lettura tenuta da M. Cristofaro: titolo da definire.

Commemorazione di PIETRO LUCIANO.

– GIUGNO 2024

Tavola Rotonda su “Lotta biologica” coordinata dall'Accademico P. ROVERSI.

Lettura tenuta da G. VIGGIANI, titolo da definire.

Commemorazione di OSELLA.

– NOVEMBRE 2024

Tavola Rotonda su “Contributi per la realizzazione di un indice di Entomologia urbana” coordinata dall'Accademico P. TREMATERRA.

Lettura: Strategie di habitat management su scala aziendale per potenziare il controllo biologico conservativo” tenuta da G. BURGIO.

Il Presidente sollecita gli Accademici a fornire proposte per Tavole Rotonde e Letture per il 2025 e il 2026.

7) Varie ed eventuali

– Il Presidente dà la parola all'Accademico S. VANIN per informare l'Assemblea che l'Accademia ha dato il patrocinio ad un evento dal titolo “Sulla scena del crimine” da lui organizzato nell'ambito del Festival della Scienza che si è tenuto a Genova dal 26 ottobre al 5 novembre e che globalmente ha visto la partecipazione di 1200-1600 persone.

– Il Presidente dà la parola all'Accademico M.A. BOLOGNA che informa l'Assemblea che la Società Entomologica Italiana (SEI) sta organizzando il 3° ciclo di seminari dal titolo “Incontri entomologici” per il 2023-24. Tali seminari sono calendarizzati per un venerdì al mese alle ore 17,30 e le date sono già disponibili. L'Accademico M.A. BOLOGNA propone di mettere il calendario di questi eventi anche sul sito ANIE.

La seduta dell'Assemblea Plenaria è tolta alle ore 10.00

Firenze, 11 novembre 2023

*Il Segretario*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO

## SEDUTA PUBBLICA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante: la Segretaria Prof. ssa Rita CERVO

Sabato 11 novembre 2023 alle ore 10:00, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A e su piattaforma ZOOM : <https://unipd.zoom.us/j/88956265755> come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta Pubblica alla presenza degli Accademici e numerosi ricercatori e studiosi ospiti dell'Accademia.

Letture: *Note faunistiche sui Tortricidae italiani* da parte dell'Accademico PASQUALE TREMATERRA

## ASSEMBLEA ORDINARIA

Presiede il Presidente Prof. Francesco PENNACCHIO  
Segretario verbalizzante: la Segretaria Prof. ssa Rita CERVO

Sabato 11 novembre 2023 alle ore 10:30, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A e su piattaforma ZOOM: <https://unipd.zoom.us/j/88956265755> come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Ordinaria alla presenza degli Accademici:

*Seniores*: E. BALLETO, M. COBOLLI, G. GASPERI, V. GIROLAMI, S. LONGO, C. MALVA, B. MASSA, S. RAGUSA DI CHIARA, V. SBORDONI, L. SUSS;

*Ordinari*: A. ALMA, A. BALLERIO, C. BANDI, A. BATTISTI, M. BIONDI, M.A. BOLOGNA, D. BOSCO, R. CERVO, E. DE LILLO, C. DIGILIO, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G. GARGIULO, G.S. GERMINARA, A. LUCCHI, R. NANNELLI, F. NAZZI, G. PELLIZZARI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA, A. RUSSO, S. TURILLAZZI, M. ZAPPAROLI;

*Onorari*: R. DALLAI;

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici:

*Seniores*: A. BINAZZI, P. CRAVEDI, M. MAZZINI, L. SANTINI;

*Ordinari*: P. BRANDMAYER, A. CASALE, M. CRISTOFARO, I. FLORIS, A. MINELLI, P.F. ROVERSI, A. DI PALMA.

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

### 1) Approvazione del verbale della Seduta precedente

- Viene esaminato il verbale della Seduta Ordinaria del 13 giugno 2023, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici. Il verbale viene approvato all'unanimità.

### 2) Comunicazioni del Presidente

- Il Presidente comunica che l'Accademia ha ricevuto un finanziamento di 8500 euro per il 2023 dal Ministero dei Beni Culturali.
- Il Presidente informa gli Accademici che, se le risorse economiche lo permetteranno, l'Accademia potrebbe acquistare un sistema audiovisivo trasportabile per evitare di doverlo noleggiare ad ogni adunanza o incontro.

### 3) votazione per l'elezione di nuovi Accademici Ordinari

- A norma dello Statuto (Articoli 4 e 6) e del Regolamento (Articoli 6 e 7), a fronte di 4 posti disponibili per Accademico Ordinario, sono pervenute, entro il 30 aprile 2023, 2 proposte per nuovi Accademici Ordinari per essere votate nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2023.

Le 2 proposte per nuovi Accademici Ordinari riguardano gli Accademici Straordinari:

- Carlo DUSO, presentato Accademici G. PELLIZZARI, A. MINELLI, N. ISIDORO;
- Antonio Pietro GARONNA, presentato dagli Accademici G. ROTUNDO, G. GASPERI, G. S. GERMINARA.

Il Presidente, verificata, come disposto dall'Articolo 4.10 dello Statuto attualmente in vigore, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari effettivi, dichiara valida l'Assemblea.

Vengono designati gli Accademici C. RAPISARDA e A. BATTISTI quali scrutatori per questa e per le altre votazioni previste per la presente seduta.

#### 4) votazione per l'elezione di nuovi Accademici Ordinari

- a) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Carlo DUSO. Come previsto dall'Articolo 4.9 dell'attuale Statuto, l'Accademica G. PELLIZZARI illustra all'Accademia i meriti scientifici e accademici del candidato. Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Carlo DUSO eletto e da proporre, a norma dell'Articolo 4.11 dello Statuto, al Ministero dei Beni e delle Attività Culturali e del Turismo per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte di tale Ministero.
- b) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Antonio Pietro GARONNA. Come previsto dall'Articolo 4.9 dell'attuale Statuto, l'Accademico Ordinario G. S. GERMINARA illustra all'Accademia i meriti scientifici e accademici del candidato. Il Candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Antonio Pietro GARONNA eletto e da proporre, a norma dell'Articolo 4.11 dello Statuto, al Ministero dei Beni e delle Attività Culturali e del Turismo per la nomina ad Accademico Ordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia da parte di tale Ministero.

#### 5) votazione per l'elezione di nuovi Accademici Straordinari

- A norma dello Statuto allora in vigore (Articoli 4 e 6) e del Regolamento (Articoli 6 e 7), a fronte di 6 posti per Accademico Straordinario, sono pervenute entro il 30 aprile 2023 le seguenti 3 proposte per nuovi Accademici Straordinari per essere votate nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2023.
- Sergio ANGELI, presentato dagli Accademici F. NAZZI, M. A. BOLOGNA, A. BATTISTI;
- Alessandra DELLA TORRE, presentata dagli Accademici S. TURILLAZZI, C. BANDI, M. MAROLI.
- Matteo MONTAGNA, presentata dagli Accademici M. A. BOLOGNA, A. ALMA, S. COLAZZA;

Il Presidente, verificata, come disposto dall'Articolo 4.10 dell'attuale Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari, dichiara valida l'Assemblea.

- a) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura di Sergio ANGELI. Come previsto dall'Articolo 4.9, dell'attuale Statuto, l'Accademico A. BATTISTI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato. Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama, come previsto dall'Articolo 4.4 del nuovo Statuto, Sergio ANGELI Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il triennio 2023-2025.
- b) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura di Alessandra DELLA TORRE. Come previsto dall'Articolo 4.9, dell'attuale Statuto, l'Accademico C. BANDI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici della candidata. La candidata raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama, come previsto dall'Articolo 4.4 del nuovo Statuto, Alessandra DELLA TORRE Accademica Straordinaria dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il triennio 2023-2025.
- c) Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura di Matteo MONTAGNA. Come previsto dall'Articolo 4.9, dell'attuale Statuto, l'Accademico A. ALMA illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici della candidata. Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama, come previsto dall'Articolo 4.4 del nuovo Statuto, Matteo MONTAGNA Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il triennio 2023-2025.

#### 6) votazione per la conferma degli Accademici Straordinari in scadenza

- A norma dello Statuto (Articoli 4 e 6) e del Regolamento (Art. 6 e 7), viene sottoposta all'Assem-

blea la votazione per la conferma dei seguenti Accademici Straordinari in scadenza. Ciascuno dei sottocitati Accademici, che ha maturato il periodo di conferma, ha fatto pervenire al Consiglio di Presidenza una dichiarazione personale dell'interesse a continuare a far parte dell'Accademia, dei contributi forniti alle attività della medesima durante il periodo in cui ha ricoperto il ruolo di Accademico straordinario, nonché eventuali proposte di contributi per il futuro. Il Presidente verificata, come disposto dall'art. 4.10 dello Statuto, la presenza della maggioranza assoluta degli Accademici Ordinari, dichiara valida l'Assemblea.

- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademico Straordinario Gianfranco ANFORA. Il Presidente lo conferma Accademico Straordinario.
- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademico Straordinario Antonio CARAPELLI. Il Presidente lo conferma Accademico Straordinario.
- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademica Straordinaria Morena CASARTELLI. Il Presidente la conferma Accademico Straordinario.
- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademico Straordinario Giuseppino SABBATINI. Il Presidente lo conferma Accademico Straordinario.
- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademico Straordinario Massimo FACCOLI. Il Presidente lo conferma Accademico Straordinario.
- Viene portata in votazione per acclamazione la conferma dell'Accademico Straordinario Donato Antonio GRASSO. Il Presidente lo conferma Accademico Straordinario.

7) Esame e approvazione del Bilancio preventivo a. f. 2024

Prende la parola l'Accademico Roberto NANNELLI, in qualità di Tesoriere dell'Accademia, illustrando il bilancio di previsione per l'a.f. 2024.

8) Varie ed eventuali

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Ordinaria è tolta alle ore 12.00.

Firenze, 11 novembre 2023

*Il Segretario*  
Rita CERVO

*Il Presidente*  
Francesco PENNACCHIO



LEO RIVOSECCHI (1923-2022)

LAURA MANCINI<sup>a</sup> – IRENE DI GIROLAMO<sup>b</sup> – SIMONE CIADAMIDARO<sup>c</sup>

<sup>a</sup> *Istituto Superiore di Sanità, Roma*

<sup>b</sup> *Ministero dell’Ambiente e della Sicurezza Energetica*

<sup>c</sup> *ENEA - Laboratorio Biodiversità e Servizi Ecosistemici, C.R. Saluggia - Strada per Crescentino snc, 13040 Saluggia (VC)*

Commemorazione tenuta nella Seduta Pubblica dell’Accademia, Firenze, 18 febbraio 2023.

Il Prof. Leo Rivosecchi, morto a Roma nel dicembre 2022, all’età di 99 anni, era riconosciuto in tutto il mondo come un’autorità nel campo della sistematica e dell’ecologia dei ditteri Simuliidae, oltre che un valido esperto di numerosi altri gruppi di insetti e di ditteri a sviluppo acquatico come indicatori biologici, uno scienziato che ha sempre condiviso generosamente le sue conoscenze e le sue idee di ricerca con altri esperti, allievi e amici.

BIOGRAFIA LAVORATIVA

Leo Rivosecchi nacque a Grottammare (Ascoli Piceno) il 28 agosto 1923 e trascorse l’infanzia a Tolentino (Macerata). La famiglia si trasferì a Roma mentre frequentava le scuole medie e in quella città, al liceo “Ennio Quirino Visconti”, conseguì poi il diploma di maturità classica. Appassionato di Lepidotteri e Coleotteri, sostenuto dalla famiglia, intraprese lo studio degli insetti; seppure con un sensibile ritardo provocato dallo scoppio della Seconda Guerra Mondiale, alla quale non partecipò militarmente, si laureò infine in Scienze Naturali all’Università di Roma “La Sapienza” con una tesi sui Ditteri Tephritidae. In seguito, fu assunto all’Istituto Superiore di Sanità (ISS), dove si occupò per molti anni di parassitismo e lotta biologica. Condusse 40 anni di attività sul campo e studi di laboratorio sulla fauna dei simulidi in Italia. Scrisse 32 “Contributi alla conoscenza dei Simulidi italiani”, pubblicati sulla “Rivista di Parassitologia”, che, insieme a un numero considerevole di altri lavori, costituiscono la più ampia fonte di informazioni sulla presenza, la distribuzione e l’ecologia di questa famiglia di Ditteri in Italia.

Il Prof. Rivosecchi raccontava spesso di aver preso la decisione di studiare i Simulidi in seguito a un evento del tutto casuale: stava lavorando con alcuni operatori del “Comitato antimalarico” per il controllo delle zanzare *Anopheles* residue nelle pianure pontine quando, mentre la squadra faceva colazione nei pressi di una sorgente sulfurea, fu attratto da un sasso di colore scuro che si stagliava in netto rilievo sul letto bianco della sorgente. Il colore scuro era dovuto a un gran numero di larve mescolate a diversi piccoli bozzoli. Mise quindi il sasso in un sacchetto di plastica e lo mise nel bagagliaio della sua automobile, ma quando arrivò nel suo laboratorio a Roma, scoprì che il sacchetto era pieno di piccole mo-

sche. Studiandole si rese conto di trovarsi di fronte a una nuova specie, che descrisse come *Simulium pontinum*, successivamente trovata in tutte le sorgenti sulfuree del Lazio meridionale.

Nel frattempo, quando Rivosecchi trovò impiego presso l’Istituto Superiore di Sanità, il Direttore del reparto di Parassitologia gli disse che doveva occuparsi di mosche domestiche (*Musca domestica*), data la vocazione sanitaria dell’Istituto. Seguì le sue raccomandazioni e, studiando i genitali di alcuni esemplari africani che aveva ricevuto dal Prof. Saccà, descrisse un nuovo taxon, *Musca domestica curviforceps*, che è tuttora considerato una sottospecie valida.

In realtà, all’inizio gli fu permesso di lavorare solo sui simulidi di un’area bonificata delle paludi pontine, con l’aiuto di un autista del comitato antimalarico. In seguito alla descrizione di *S. pontinum* (1960), condusse uno studio ecologico sulle concentrazioni di ossigeno e acido solforico compatibili con la vita delle larve di questa specie in diverse altre sorgenti sulfuree. Ma quando scoprì una nuova specie nell’area meridionale della regione (*S. liriense*, 1961), ebbe l’idea di effettuare uno studio ecofaunistico della zonazione dei fiumi attraverso la fauna a Simulidi, dalle sorgenti alla foce del fiume. Così, scoprì alcune nuove specie: *Prosimulium albense* (1961) e *S. (Nevermannia) fucense* (1962). In seguito, preso dall’entusiasmo, la sua ricerca seguì un percorso prevalentemente faunistico. Estese le sue ricerche alle montagne dell’Appennino centro-meridionale, compresa la Sicilia. Grazie a queste ricerche non fu più considerato un “tecnico” dai suoi colleghi, che ora gli riconoscevano un ruolo di ricercatore autonomo, sebbene fosse anche fortemente criticato perché i suoi studi avevano un’utilità limitata per la salute nazionale. Ma due eventi relativamente “fortunati” cambiarono radicalmente la situazione: nel 1974, un massiccio attacco di Simulidi al bestiame in Trentino e, nel 1984, diversi attacchi all’uomo in Friuli reclamarono la necessità di un esperto di questi ditteri. Allora la sua competenza venne finalmente ritenuta necessaria!

Divenne un grande ammiratore di Rubtsov mentre l’entomologo russo studiava le specie del gruppo “aureum” (allora considerato come un’unica specie nel mondo occidentale). Ma questa ammirazione si trasformò in “disperazione”

quando, nel 1962, Rubtzov fu invitato dal Prof. Goidanich dell'Università di Torino a studiare la fauna dei Simulidi in Italia, con un finanziamento del CNR italiano. Fu una terribile umiliazione e fu sul punto di abbandonare la ricerca sui simulidi. Ma grazie all'incoraggiamento del Prof. Sandro Ruffo, Direttore del Museo di Storia Naturale di Verona, decise di resistere. Poi iniziò a comunicare con diversi ricercatori. La collaborazione con Vera Zivkovic, di Belgrado, fu facile grazie all'amicizia esistente tra i loro Direttori (Corradetti e Simic), e si scambiarono materiale e visite. Scambiò materiale anche con Knoz e Raastad. Tentò di fare lo stesso con Couvert, un grande disegnatore che collaborava con Rubtzov, ma questi rimase dubbioso e morì tragicamente di ritorno da un viaggio in India. Ebbe contatti epistolari solo con Crosskey, Zwick, Davies e Fallis, con quest'ultimo che gli insegnò a catturare le mosche adulte con trappole a CO<sub>2</sub>. Ebbe altri contatti, ma si lamentò spesso di non aver sviluppato collaborazioni con altri ricercatori, come avrebbe voluto. Considerava questo fatto un limite per la sua ricerca, poiché si sentiva in parte isolato dal resto della comunità dei simulidologi. Anche per questo motivo, ha apprezzato molto il tentativo di Aleksandra Cupina (Università di Novi Sad) di tenerlo informato inviandogli gli atti di diversi simposi internazionali, a partire da Berlino 2004.

#### DITTERI ACQUATICI

Negli anni Ottanta la comunità entomologica nazionale era in fermento per l'affermarsi del nuovo approccio che vedeva gli insetti come biondicatori della qualità delle acque correnti; in questo ambito il Prof. Sandro Ruffo coordinava per il CNR la realizzazione di una collana di "Guide per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane" e il prof. Rivosecchi partecipò al progetto producendo due guide – una sulle larve dei Simulidi e un'altra sulle larve a sviluppo acquatico di altre famiglie di Ditteri – approfondendo specificatamente il loro significato come indicatori biologici di qualità delle acque.

Rivosecchi ha sempre condotto con entusiasmo le attività legate alla verifica dell'equilibrio degli ecosistemi acquatici attraverso lo studio delle popolazioni animali e molti sono i corsi d'acqua che ha studiato negli anni (solo a titolo d'esempio il Tordino, il Salinello, il Mignone e diversi corsi d'acqua minori) fino al suo ultimo lavoro "*Black flies (Diptera, Simuliidae) as ecological indicators of stream ecosystem health in an urbanizing area (Rome, Italy)*" pubblicato nel 2016 per gli Annali Istituto Superiore di Sanità.

Partecipò solo al I Congresso Internazionale di Entomologia e al VI Simposio Internazionale sui Simuliidae tenuto a Torino nel 2014, dove tenne una *lectio magistralis* sulla sua vita di ricerca, invitato dal suo allievo Simone Ciadamidaro, avendo finalmente la possibilità di incontrare alcuni dei più stimati esperti internazionali nella ricerca sui simulidi, tutti entusiasti di fare la sua conoscenza.

#### RISULTATI DELLE RICERCHE

Grazie alle notevoli conoscenze acquisite sulla fauna italiana dei Simulidi, il professor Rivosecchi ha curato per Calderini "Fauna d'Italia - Simuliidae" (1978). La

"Fauna d'Italia" contiene lo stato dell'arte, alla fine degli anni Settanta, dell'immenso lavoro di ricerca sistematica, sul campo e in laboratorio, svolto dal Prof. Rivosecchi, senza trascurare il lavoro di altri specialisti che hanno operato in Italia.

Il professore raccontava di aver discusso con i curatori della collana, anche animatamente, sulla scelta di mettere in copertina di una chiave sistematica un'immagine di paesaggio (figura 1), piuttosto che uno o più disegni morfologici (nella realizzazione dei quali era comunque un maestro, e infatti la chiave ne è piena; figura 2).

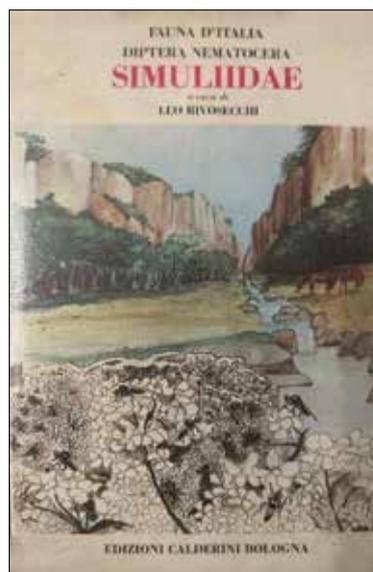


Fig. 1 - Frontespizio della "Fauna d'Italia"

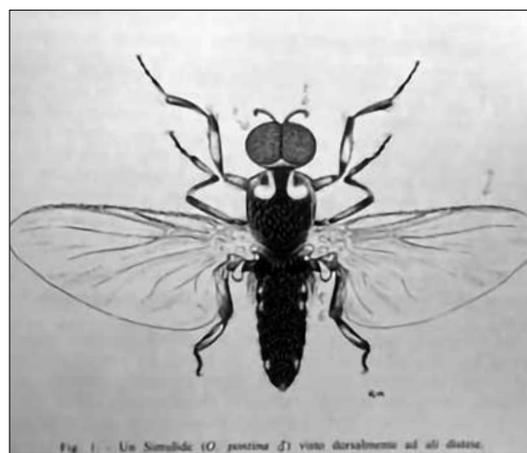


Fig. 2 - Disegno di un simulide adulto realizzato del prof. Rivosecchi per la "Fauna d'Italia"

Secondo il professor Rivosecchi, tuttavia era fondamentale evidenziare il legame indissolubile tra la famiglia dei Ditteri Simulidi e la presenza di tutti gli elementi del paesaggio di cui fanno parte e da cui dipendono: un corso d'acqua intatto per gli stadi preimmaginali, arbusti e alberi per l'appostamento degli adulti, prati e pascoli fioriti per l'alimentazione nettivarora, mammiferi e/o

uccelli per il pasto di sangue delle femmine. La presenza delle diverse specie è legata alle caratteristiche locali e all'integrazione di questi elementi.

Oltre alla chiave, l'opera contiene descrizioni dettagliate di tutte le specie e sottospecie conosciute all'epoca per l'Italia, con sezioni separate e molto precise sui diversi stadi e sessi: larve, pupe, adulti maschi e femmine, oltre a informazioni sulla distribuzione e l'ecologia. L'apparato iconografico è vasto e straordinariamente dettagliato, tanto che ancora oggi anche all'estero (Spagna, Germania, Balcani...) è ampiamente utilizzato, nonostante le difficoltà con l'italiano. Al Prof. Rivosecchi piaceva molto disegnare, ma alla fine prese coscienza del fatto che un disegnatore scientifico deve sapersi dare dei limiti, nel senso che il disegno deve essere il più possibile schematico, omettendo tutti i dettagli che non servono all'identificazione. Un disegno troppo dettagliato confonde le idee. In questo senso, il disegno è importante perché rappresenta ciò che il ricercatore ha realmente compreso dell'elemento che stava affrontando, e talvolta anche ciò che non ha compreso.

La sistematica dei Simuliidi è molto cambiata negli ultimi 40 anni, anche per la scelta fatta a livello internazionale di accorpare numerosi generi e specie e di non riconoscere le sottospecie; per questo motivo, la "Fauna d'Italia" può risultare di difficile utilizzo per un neofita che deve conciliare le moderne chiavi di identificazione con questo testo fondamentale (e ancora insuperato se si vogliono identificare i Simuliidi italiani). Tuttavia, con l'aiuto degli "Inventories of the world's Simuliidae" di Adler (pubblicati annualmente) e della nuova "Check-list della Fauna d'Italia" (Ciadamidaro & Mancini, 2022; <https://www.lifewatchitaly.eu/iniziative/checklist-fauna-italia-it/checklist-table/>), è possibile riconciliare abba-

stanza facilmente tutti i taxa della Fauna con la nomenclatura attuale.

Attualmente sono considerate valide 17 specie descritte dal Prof. Rivosecchi:

1. *Metacnephia nuragica* (Rivosecchi, Raastad & Contini, 1975)
2. *Metacnephia sardoa* (Rivosecchi & Contini, 1965)
3. *Prosimulium albense* (1961)
4. *Prosimulium calabrum* (1966)
5. *Prosimulium italicum* (1967)
6. *Simulium (Eusimulium) petricolum* (1963)
7. *Simulium (Hellichella) saccai* (1967)
8. *Simulium (Nevermannia) dolomitense* (1971)
9. *Simulium (Nevermannia) ibrium* (1966)
10. *Simulium (Nevermannia) ichnusae* (Rivosecchi & Contini, 1994)
11. *Simulium (Nevermannia) fucense* (1962)
12. *Simulium (Nevermannia) marsicanum* (1962)
13. *Simulium (Simulium) liriense* (1961)
14. *Simulium (Simulium) pontinum* (1960)
15. *Simulium (Simulium) sicanum* (1963)
16. *Simulium (Trichodagmia) continii* (Rivosecchi & Cardinali, 1975)
17. *Urosimulium aculeatum* (1963)

Negli ultimi anni, inoltre, alcuni dei taxa descritti dal Prof. Rivosecchi che erano caduti in sinonimia sono stati ripristinati grazie a tecniche di analisi citogenetica e molecolare. Ne è un esempio *Prosimulium italicum*, specie endemica della penisola italiana che un'équipe internazionale ha riconosciuto valida al rango di specie dopo che persino il Prof. Rivosecchi nella Fauna d'Italia si era rassegnato a collocarla come sottospecie di *P. hirtipes*. Lo studio in corso del vasto complesso di specie



Fig. 3 - Alcuni schizzi e appunti del Professor Rivosecchi testimoniano la sua passione e talento per il disegno.

“*Simulium ornatum*” (per il quale il Prof. ha descritto 8 taxa solo in Italia) potrebbe riservare ulteriori sorprese.

La collezione di Ditteri di Leo Rivosecchi, conservati sia in alcool sia a secco, appartenenti a varie famiglie, si trova al Museo di Zoologia dell’Università Sapienza - Roma. I Culicidae si trovano presso l’Istituto Superiore di Sanità (Roma). Le larve di Ditteri acquatici sono al Museo di Entomologia di Roma. Infine, per i Simuliidae: la collezione in alcool è al Museo di Scienze Naturali di Trento, mentre la collezione a secco (adulti)

è al Museo di Scienze Naturali di Verona.

L’ultimo prodotto del Prof. è costituito dai “Ricordi entomologici di nonno Leo”, un magnifico riassunto della sua vita, come entomologo ma non solo (Fig. 4). Noi suoi allievi in tempi diversi, le prime Irene e Laura e l’ultimo Simone, vorremo ringraziarlo per essere stato nostro maestro e per aver condiviso con noi esperienze e scoperte, per averci trasmesso il suo entusiasmo nella ricerca e la passione per le scienze naturali, le attività di campo e il disegno.



Fig. 4 - Frontespizio del suo libro autobiografico “Ricordi entomologici di nonno Leo”. Fig. 5 - Un’immagine del Professore che a nostro avviso coglie lo spirito allo stesso tempo scientifico e romantico del suo approccio all’entomologia.

## COMMEMORAZIONE

FRANCO FRILLI, 1936-2023

RENZO BARBATTINI - FRANCESCO NAZZI - PIETRO ZANDIGIACOMO

*Dipartimento di Scienze Agroalimentari, Ambientali e Animali, Università degli Studi di Udine  
Via delle Scienze 206, 33100 Udine*

Commemorazione tenuta nella Seduta Pubblica dell'Accademia nell'ambito del XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Palermo 13 giugno 2023.

Franco Frilli nasce il 26 maggio 1936, a Trieste, dove rimarrà fino al momento degli studi universitari. Di padre romano, madre veneta e nonni paterni tedeschi, eredita una visione decisamente cosmopolita, tanto che in un'intervista dichiarerà: «Io mi sento del mondo, non mi sento legato a nessuna terra, a nessuna radice. Mi sento un uomo libero, non condizionato da linguaggi, né da campanili, forse per la miscela di sangue che c'era nella mia famiglia». Ha due amate sorelle, una delle quali resterà con lui fino all'ultimo giorno.

L'infanzia è segnata dal secondo conflitto mondiale che costringe la famiglia a trasferirsi in Veneto. Il trasferimento rappresenta un'importante occasione formativa per il giovane Franco Frilli. A proposito di quel periodo, infatti, dirà: «Durante la guerra ero stato a Schio dove mia mamma aveva del terreno. Io vivevo con un mio zio agronomo e mi ero appassionato alla natura. Mi ero convinto che agraria non comportasse solo coltivare la terra ma pure scienza e ricerca applicata».

All'età di 16 anni, effettua il primo viaggio a Lourdes con il treno dell'UNITALSI; a questa prima esperienza ne seguiranno altre 27, ed è difficile non ravvisare in questi viaggi da volontario una prima traccia della sua generosità nei confronti del prossimo ma anche della sua attitudine nei confronti della sofferenza fisica di cui darà prova negli ultimi anni.

Nel '54 si trasferisce a Piacenza per frequentare l'università. Commentando questa sua scelta, dichiara in un'intervista: «Sapevo che a Piacenza c'era una nuova facoltà con buone attrezzature. Inoltre, sono sempre stato un cattolico praticante e quindi mi sembrava una giusta e logica scelta quella di andare all'Università Cattolica».

Prima di finire l'università, decide di entrare in seminario. La scelta è marcata da un confronto con padre Agostino Gemelli, francescano, medico e psicologo italiano, fondatore dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Milano. Il Gemelli, conosciute le intenzioni del giovane studente, gli chiede: «Lo sai che fare il prete non è facile?». Gli risponde Franco Frilli: «Ci ho pensato seriamente». Ribatte Agostino Gemelli: «Se vuoi fermarti in università, credo che spazi ce ne siano, sappimi dire se preferisci fare il ricercatore o l'assistente spirituale». Dopo qualche settimana di riflessione, Franco Frilli fa sapere che rimarrà come ricercatore in entomologia. Di conseguenza, il Gemelli parla con il docente di tesi che lo libera da impegni il sabato e un pomeriggio alla settimana,

per studiare filosofia e teologia. A Piacenza Franco Frilli rimarrà dal '58 al '79, prima come borsista e assistente, infine come professore incaricato stabilizzato.



Fig. 1 - Il Prof. Frilli in occasione del suo 83° compleanno (foto del Sig. Flavio Lodoli).

La prima pubblicazione scientifica è del 1960 ed è dedicata a *Aglossa cuprealis*, ora *Aglossa caprealis*: un lepidottero piraloideo dannoso alle derrate. Di questa prima pubblicazione colpiscono innanzitutto le prime parole che suonano così: «Il 7 luglio 1956, visitando alcuni locali adibiti alla stagionatura del formaggio grana nel Piacentino, per compiere una ricerca sugli insetti dannosi alle derrate alimentari conservate nei magazzini della zona, ho riscontrato sulle scaffalature in legno di un magazzino un certo numero di larve molto scure di un lepidottero [...] è questo un lepidottero non molto comune e poco conosciuto sia dal punto di vista morfologico che da quello biologico. Ho creduto utile, perciò, fornire una descrizione dell'adulto e degli stadi preimmaginali ed esporre i dati biologici che sono riuscito a rilevare in quattro anni di osservazioni». Lo stile narrativo dell'incipit, non deve fuorviare poiché questo primo articolo consta di 23 pagine fitte di dati, disegni e fotografie.

Nel 1965 firma il primo contributo sugli Icnemionidi che riguarda *Devorgilla canescens*, ora *Venturia canescens*. Anche in questo caso l'articolo si apre con un incipit di tipo narrativo in cui il ricercatore ricorda l'incoraggiamento ricevuto da parte del prof. Roberti a occuparsi

degli *Iceumonidi*, in ragione del loro notevole interesse ma anche delle difficoltà collegate a questo studio. Si tratta, in questo caso, di un contributo di 80 pagine in cui Frilli approfondisce soprattutto la morfologia di *V. canescens*, ma fornisce anche interessanti informazioni sull'etologia dell'imenottero e, in particolare, parla del comportamento di ovideposizione della femmina, che avviene soprattutto nel torace dell'ospite.



Fig. 2 - Il Prof. Frilli, giovane ricercatore al suo tavolo di lavoro negli anni 60.

Leggendo l'introduzione dell'articolo si comprende come si tratti di un esordio nello studio degli *Iceumonidi* di cui nel tempo il Frilli diventerà esperto. A questo proposito è interessante ricordare ciò che Charles Darwin annotava a proposito degli *Iceumonidi* in una lettera del 1860 a Asa Gray: «Riconosco che non posso vedere, altrettanto chiaramente di altri e come io stesso vorrei vedere, le prove di un disegno e di una benevolenza divina verso di noi. Mi pare che nel mondo ci sia troppa sofferenza. Non riesco a persuadermi che un Dio benefico e onnipotente abbia volutamente creato gli *Iceumonidi* con l'espressa intenzione che essi si nutrano entro il corpo vivente dei bruchi». Come accade molto spesso negli scritti di Darwin, che sono tutti frutto di lunghe riflessioni compiute nell'età matura, il naturalista inglese, dopo aver esposto il problema, suggerisce una plausibile spiegazione. In questo caso dice: «Io sento, nel mio intimo, che l'intero argomento è troppo profondo per l'intelletto umano. Sarebbe come se un cane si mettesse a speculare sulla mente di Newton. Lasciamo che ogni uomo spera e creda in ciò che può». Evidentemente, osservando le femmine dei suoi *Iceumonidi* all'opera, al giovane sacerdote-entomologo non deve essere sfuggito il problema presentato da Darwin, però, a don Franco, più familiare con il libro di Giobbe di quanto non fosse Darwin, la conclusione del grande evoluzionista deve essere balenata molto prima.

Nel tempo, seguiranno altri 10 contributi sugli *Iceumonidi* ma anche studi sugli insetti delle derrate, affiancati da altri lavori riguardanti l'entomofauna del piacentino e l'impollinazione delle colture agrarie.

Nel 1978, il prof. Servadei, il primo Rettore Magni-

fico della neonata Università di Udine, convoca Franco Frilli per proporgli un possibile trasferimento in quella sede. Il ricordo di quel dialogo, nella testimonianza del prof. Frilli è interessante perché rivela la sua opinione a riguardo della mobilità accademica. Dice Servadei: «Guardi Frilli, se lei cambia sede, ringiovanisce di dieci anni e recupera molto, non solo in entusiasmo ma pure in capacità» e Franco Frilli, in un'intervista, confermerà: «Cambiare ambiente vuol dire sentirsi valorizzato, perché purtroppo quando uno nasce e cresce accademicamente in una sede, rimane sempre il pivellino, l'allievo, quello che difficilmente riesce a imporsi, ad essere valutato per quello che veramente è».

Così, l'1 novembre 1979, poco più che quarantenne, Franco Frilli si trasferisce a Udine alla facoltà di Agraria che inizia proprio allora la sua attività nell'ambito della neonata Università.

Conviene a questo punto ricordare il modo peculiare e anche un po' rocambolesco in cui nacque l'ateneo friulano alla fine del 1978, nonostante la sua fondazione sia stata a lungo osteggiata soprattutto per non nuocere alla vicina Università di Trieste. Di fatto, l'Università di Udine, differentemente da tutte le altre università italiane, è frutto di una legge di iniziativa popolare avviata proprio per vincere quelle resistenze. La raccolta di firme inizia nella primavera del 1976 ma subisce un brutto colpo quando il terremoto distrugge gran parte del Friuli centrale. In quelle condizioni, ai promotori della raccolta di firme non sembra il caso di dedicarsi a un'attività che al momento sembra meno importante del soccorso ai terremotati, ma sono proprio questi ultimi a richiedere che la raccolta continui, anche nelle tendopoli. Alla fine, raccolto un numero di firme più che doppio rispetto al necessario, si ottiene che la creazione dell'università friulana venga inserita nella legge della ricostruzione.

I primi momenti di Frilli a Udine sono a dir poco avventurosi. Il 5 novembre 1979 viene accolto assieme agli altri quattro docenti di Agraria dal Rettore del neonato ateneo, in via Antonini, sede del rettorato. Servadei porta la piccola compagnia al terzo piano dove ci sono tre aule e dice:

«Questa è la facoltà di Agraria». Ricorda Frilli: «In un'aula c'erano 12 banchi, in un'altra sei, due scrivanie, due scaffali, qualche seggiola, non il telefono o altro».

Da subito le capacità organizzative di Frilli gli fruttano alcuni incarichi di responsabilità (nel 1981 è delegato rettorale per il controllo degli atti amministrativi e contabili, dal 1981 al 1983 è prorettore vicario) che affianca all'attività didattica. Insegna «Entomologia» e «Difesa delle derrate» e istituisce anche un corso di «Apicoltura e impollinazione», avviando ricerche in quel settore.

Negli stessi anni il parassita delle api *Varroa destructor*, al tempo indicato con il binomio *Varroa jacobsoni*, raggiunge l'Europa e nel 1981 viene per la prima volta individuato in un apiario vicino al confine con la Slovenia. Udine si viene a trovare sulla prima linea del campo di una battaglia che gradualmente divamperà in tutta Europa e viene proiettata al centro di una fitta rete di collaborazioni nazionali e internazionali sul tema della

Varroosi. Franco Frilli gestisce da par suo la situazione tanto che nel 1988, sotto l'egida della Commissione europea, si svolge a Udine il secondo meeting degli esperti sulla Varroosi.

Nel frattempo, nonostante gli impegni accademici, don Franco si rende disponibile per il servizio sacerdotale in un paesino delle Valli del Torre che raggiunge periodicamente incurante della lontananza di questa sua nuova parrocchia d'adozione.

Nel 1983 diventa Rettore dell'Università di Udine, un ruolo che verrà confermato per ben due volte, il che lo porterà a rimanere in carica per nove anni consecutivi, massimo periodo rettorale allora stabilito dallo Statuto d'ateneo. A proposito dell'elezione dirà: «mi era stato proposto da un gruppo di colleghi di candidarmi, ma di fronte a un mio primo diniego ci fu maggior pressione. Alla fine ho detto: "Io accetto soltanto se anche i colleghi di altre facoltà vogliono; in ogni caso, però, non mi candido"».

Gli anni del rettorato di Frilli sono anni di vigorosa espansione per l'Università di Udine: triplica il numero di studenti (da 3083 nell'83-84 a 8711 nel 91-92); i corsi di laurea passano da 8 a 13 e le facoltà passano da 5 a 7; più che triplica il numero dei docenti (da 146 unità a 492); più che raddoppia il numero delle unità di personale tecnico-amministrativo (da 155 a 390).

A titolo di esempio di quella fase spumeggiante si può ricordare, nel febbraio del 1987, la posa della prima pietra del Polo scientifico dell'Università di Udine. Nel 1992, l'edificio ormai completato verrà benedetto dal pontefice Giovanni Paolo II in occasione di una visita pastorale.

Durante l'estate, trascorre le ferie in montagna, a Ravascletto, dove dando prova del consueto spirito di servizio, si mette a disposizione del parroco ma approfitta anche per raccogliere bombi e altri apoidei. Anche da queste raccolte scaturiranno alcuni contributi sugli apoidei del Friuli Venezia Giulia. Di fatto, se il numero di specie di apoidei del Friuli non è troppo diverso da quello dell'intera Italia è merito senz'altro delle peculiari condizioni di quest'area ma anche dello sforzo di studio e coordinamento esercitato dal prof. Frilli.

In quegli anni, dall'impegno didattico nell'ambito dell'apicoltura nasce l'"Atlante dell'ape", arricchito dai bellissimi disegni di Alessandro Sensidoni e dalle dettagliatissime fotografie al microscopio elettronico a scansione eseguite dal prof. Norberto Milani. A riprova del valore dell'opera, che verrà adottata da numerosi Istituti, Università e Associazioni, nel 1989 essa verrà premiata con la Medaglia d'oro al Concorso per le pubblicazioni apistiche al Congresso Internazionale di APIMONDIA di Rio de Janeiro.

Nello stesso periodo Franco Frilli ricopre molti diversi incarichi, tra cui: membro della Consulta ecclesiale per l'università presso la Conferenza episcopale italiana, presidente dell'Ente regionale per la promozione e lo svilup-

po agricolo e del Centro dei servizi agrometeorologici del Friuli Venezia Giulia, direttore del Dipartimento di Biologia Applicata alla Difesa delle Piante, direttore del Centro Bibliotecario di Scienze, membro del Comitato Esperti per la Scuola Superiore, membro del Consiglio di Amministrazione dell'Università di Udine. Senza contare gli incarichi ricoperti nell'ambito dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia di cui sarà tesoriere e vice-presidente.

Nel 2009, dopo una carriera lunga 50 anni, il prof. Frilli va in pensione. Nel 2010, il Consiglio di Facoltà di Agraria, sorprendentemente, non approva la proposta di conferimento del titolo di professore emerito. Nel 2016, però, su iniziativa del Rettore, prof. Alberto Felice De Toni, il Senato accademico propone all'unanimità di attribuirgli l'onorificenza di "professore emerito", poi conferita con decreto del Presidente della Repubblica. Così, nel 2017,



all'inaugurazione del 40° anno accademico dell'Università di Udine, il prof. Frilli tiene la prolusione di fronte al Presidente della Repubblica.

Ci piace pensare alla stretta di mano del Presidente Mattarella di fronte al Rettore come a una riconciliazione ufficiale con l'Accademia. Ma non è solo la rappacificazione con il mondo accademico che dona a Franco Frilli una notevole serenità, nonostante i problemi di salute degli ultimi anni; la serenità di chi ha combattuto la buona battaglia, ha terminato la corsa e conservato la fede, per dirle con le parole di Paolo a Timoteo.

A tutti noi resta un'eredità fatta di lezioni e testimonianze, tra cui non si possono non citare:

la grande capacità di ascolto delle persone, la generosità dimostrata durante tutta la vita: dai viaggi come barelliere, al servizio sacerdotale nelle comunità più disagiate, fino agli aiuti materiali dispensati senza ritegno negli anni più recenti, l'impegno indefesso, che costituisce un esempio particolarmente arduo da emulare, l'idea che qualsiasi incarico debba essere ricoperto solo se richiesto con sufficiente insistenza e mai per ambizione ma solo in spirito di servizio, lo scrupoloso impegno nell'insegnamento, e, in-

fine, quanto fatto per seminare a Udine l'albero degli studi apidologici, che è diventato una pianta robusta che continua a fruttificare. Ma ci piace lasciare incompiuto questo

elenco perché ognuno possa pensare a quanto egli o ella stessa ha ereditato dal prof. Frilli, perché riteniamo che questo sia il modo migliore per preservarne la memoria.

## CAMBIAMENTI CLIMATICI, ABETE ROSSO E BOSTRICO TIPOGRAFO: UNA DIFFICILE CONVIVENZA

MASSIMO FACCOLI

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE), Università degli Studi di Padova, Viale dell'Università, 16, 35030 Legnaro (PD), Italia

E-mail: massimo.faccoli@unipd.it

Lettura tenuta nella Seduta Pubblica dell'Accademia, Firenze, 18 febbraio 2023.

### *Climate change, Norway spruce and spruce bark beetle infestations*

In October 2018 the storm Vaia caused the death of more than 16 million cubic meters of Norway spruce forests growing in South-Eastern Alps, creating the perfect conditions for the proliferation of the spruce bark beetle *Ips typographus*. The current state of the populations and their infestations is presented, and the possible management strategies and future perspective are discussed.

KEY WORDS: *Ips typographus*, Vaia storm, Southern Alps

### INTRODUZIONE

Sicuramente sarà successo anche agli osservatori meno attenti di notare estesi arrossamenti dei boschi di conifere che negli ultimi due anni hanno interessato molti versanti delle valli alpine. Si tratta di attacchi protratti a carico delle piante di abete rosso da parte del coleottero corticicolo *Ips typographus* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae), il ben noto e mal definito “bostrico tipografo”. Il bostrico è un piccolo scolitide (4-5 mm) classificato fra le dieci specie di insetti responsabili dei maggiori danni alle foreste europee, sebbene si tratti di una specie definita “parassita di debolezza”. Gli adulti, infatti, attaccano in via preferenziale alberi maturi o stramaturi, fortemente debilitati, malati, indeboliti da siccità, o recentemente morti a causa di schianti da neve o vento. Individuate le piante idonee alla riproduzione, in primavera ciascun maschio scava un piccolo foro d'ingresso lungo il tronco; il foro si allarga poi sotto la corteccia a formare una “camera nuziale” in cui sarà raggiunto da 1-3 femmine permettendo gli accoppiamenti. Nel giro di pochi giorni le femmine fecondate iniziano lo scavo sottocorticale di gallerie materne lungo i lati delle quali avviene la deposizione delle uova (circa 50-60 per femmina) da cui schiudono le larve. Queste scaveranno lunghe gallerie larvali che distruggono l'intero tessuto floematico della pianta fino al completamento dello sviluppo e alla comparsa estiva di decine di migliaia di nuovi adulti che lasceranno la pianta ormai morta (Fig. 1). In boschi di abete rosso della fascia montana e sub-montana (cresciuti a quote inferiori ai 1400 m circa) si può spesso osservare una seconda generazione a carico di nuove piante, in quanto quelle infestate in primavera presentano una corteccia completamente distrutta dalle larve di prima generazione.

Benché l'attacco da parte del bostrico determini sempre la morte delle piante colpite, in un ecosistema naturale e con una buona complessità strutturale l'azione del bostrico è tuttavia positiva in quanto elimina progressivamente le piante malate e meno adatte alle condizioni climatiche e ambientali in cui crescono, favorisce le piante più resistenti, e crea nicchie ecologiche estremamente importanti per garantire la presenza e lo sviluppo di moltissime altre specie animali, inclusi vertebrati come ad esempio i picchi. Soprassuoli fortemente danneggiati da vento o neve o altri fattori climatici estremi possono però favorire lo sviluppo incontrollato del bostrico, che pas-



Fig. 1 - Sistema riproduttivo di *Ips typographus*. Si notino la galleria materna centrale, con diametro costante, e le gallerie larvali laterali con diametro crescente al crescere delle dimensioni delle larve.

sando da una fase endemica a una epidemica può originare pullulazioni che si innescano a partire dagli alberi schiantati per poi, a causa della elevata densità delle popolazioni di insetti, spostarsi dal materiale a terra alle piante sane presenti nelle immediate vicinanze.

#### GLI SCHIANTI DA VAIA E LE INFESTAZIONI DI BOSTRICO

Come molti ricorderanno, tra il 28 e il 30 ottobre 2018 molte zone montane e pedemontane delle Alpi centro-orientali sono state interessate da una forte perturbazione con venti che hanno raggiunto punte di oltre 200 km/h (Monte Cesen, TV; Passo Rest, UD). Anche le precipitazioni sono state tali da costituire un record assoluto per diverse località alpine. Tale evento, a cui i meteorologi hanno dato il nome “Vaia”, ha comportato danni ai boschi soprattutto del Triveneto per oltre 16 milioni di m<sup>3</sup>, divenendo il disturbo da vento più forte mai registrato nel versante meridionale delle Alpi. Nelle primavere ed estati successive a Vaia il bostrico tipografo si è moltiplicato in massa sull'enorme disponibilità di tronchi schiantati dal vento, facendo aumentare in modo esponenziale le sue popolazioni. Questo fenomeno è durato per circa 2 anni (2019-2020) fintanto che la disponibilità di alberi



Fig. 2 - Estate 2021, estese infestazioni di bostrico tipografo (piante arrossate) partite da alberi abbattuti da Vaia (in alto a destra).

abbattuti, ma ancora freschi, è stata sufficiente a soddisfare la crescente richiesta delle popolazioni di bostrico di nuovi tronchi in cui moltiplicarsi. Il progressivo disseccamento degli alberi a terra associato al loro esbosco da parte delle ditte boschive ha in seguito determinato il passaggio del bostrico dagli alberi a terra a quelli in piedi presenti nelle immediate vicinanze, causando i danni che dal 2021 si sono palesati nei nostri boschi (Fig. 2).

Il disseccamento delle chiome e il loro cambiamento di colore, che le ha rese rossegianti e visibili da lontano, non

è infatti altro che il sintomo di attaccato dei fusti da parte del bostrico. Sebbene in Italia il problema non sia nuovo, disturbi di scala così rilevante come quella rappresentata dalla tempesta Vaia e dalle successive infestazioni di bostrico non sono stati mai registrati. Oltre al danno diretto causato alle foreste in seguito alla morte delle piante infestate, che alla fine del 2022 ammontava a oltre 5 milioni di m<sup>3</sup>, estese pullulazioni di bostrico hanno più ampie ripercussioni sull'ambiente alpino incidendo in modo significativo sul sistema idrogeologico dei versanti, aumentando ad esempio la suscettibilità a frane o valanghe, o incrementando il rischio di incendi legati alla grande disponibilità di alberi secchi o, non ultimo, alterando il paesaggio di luoghi a grande fruizione turistica.

#### LA RICERCA APPLICATA ALLA PROTEZIONE DELLE FORESTE

Il rischio che dopo Vaia potessero verificarsi estese pullulazioni di bostrico ha indotto diversi soggetti istituzionali delle Alpi orientali (Regioni, Province, Università) a promuovere un esteso programma di monitoraggio delle popolazioni del parassita. In particolare, ogni anno a partire dal 2019 nei mesi primaverili ed estivi è stato condotto un monitoraggio delle popolazioni di

bostrico con specifiche trappole attrattive dislocate nelle principali aree colpite dalla tempesta e a maggior rischio di infestazione. Le trappole sono state posizionate all'interno di buche di schianto, in aree di esbosco, lungo i margini di peccete colpite da Vaia e nei pressi delle zone di stoccaggio dei tronchi. Lo svuotamento delle trappole e il conteggio degli insetti è stato effettuato mediamente ogni 10-15 giorni al fine di indagare l'andamento delle popolazioni nel corso delle stagioni. Parallelamente sono state attivate collaborazioni scientifiche internazionali nell'ambito di specifici progetti cofinanziati dall'Unione Europea, fra cui lo studio “DolomIps: Ruolo di batteri e funghi simbiotici nella dinamica di diffusione del bostrico tipografo” finanziato nell'ambito di Interreg V Italia-Austria CLLD

Dolomiti Live. A questo progetto, finalizzato a migliorare la gestione del bostrico per proteggere le foreste dell'area Dolomitica, collaborano dal 2020 l'Università degli Studi di Padova, l'Università di Bolzano e l'Università di Vienna, coadiuvati da enti territoriali quali il GAL Alto Bellunese, il GAL Val Pusteria, e dal LAG RMO di Lienz nel Tirolo Orientale. Al primo studio, nel 2021 a fatto seguito un nuovo progetto internazionale “DolomIps 2: Distribuzione e dinamica di popolazione del bostrico tipografo nelle Dolomiti”, in cui lo stesso

gruppo di lavoro esplora i principali fattori in grado di regolare, e in alcuni casi contenere, le infestazioni di *Ips typographus*. Un aspetto innovativo di tale progetto è rappresentato dalla valutazione e previsione dei danni del bostrico tipografo mediante nuovi sistemi di individuazione e valutazione delle aree danneggiate presenti nelle foreste di abeti rossi utilizzando tecniche di fotointerpretazione da satellite. Con l'ausilio di metodi di telerilevamento vengono infatti valutate le immagini satellitari al fine di identificare gli alberi colonizzati dal bostrico e monitorare la diffusione spaziale e temporale delle sue infestazioni. Questi dati sono in seguito utilizzati per sviluppare modelli previsionali innovativi per contribuire così a una migliore gestione delle popolazioni del parassita. Riconoscendo precocemente gli alberi infestati, i focolai di infestazione possono infatti essere esboscati in anticipo, in modo localizzato, prevenendo le propagazioni su larga scala. In particolare vengono acquisite e analizzate foto satellitari riferite alle stesse zone ma prelevate in periodi diversi, e sottoposte a filtri per la radiazione ultravioletta. L'applicazione di tali filtri alla banda del non visibile consente infatti di evidenziare l'attività di fotosintesi clorofilliana svolta da parte delle piante e valutare quindi le condizioni fisiologiche degli alberi al fine di identificare quelli infestati dal bostrico (morti), oppure sani, o indeboliti e quindi suscettibili a future colonizzazioni. Questa tecnica permette di monitorare in modo preciso la presenza delle infestazioni, e valutare la loro espansione (o contrazione) nello spazio e nel tempo. I risultati derivati da questo studio saranno poi incrociati con i dati climatici e stagionali al fine di valutare in modo corretto le condizioni epidemiologiche delle varie popolazioni monitorate per via satellitare.

#### LA GESTIONE DELLE INFESTAZIONI

Il grande sforzo di utilizzazione della massa legnosa condotto nel corso degli ultimi anni nelle aree di schianto, dove realizzato, ha consentito di sottrarre un substrato potenzialmente utilizzabile dal bostrico come sede riproduttiva. Al contrario gli schianti diffusi, finora sfuggiti al rilevamento preciso in quanto difficilmente individuabili con le immagini satellitari e meno facilmente recuperabili dalle squadre di esbosco, hanno rappresentato il vero problema. Si tratta infatti di una grande massa di alberi a terra, il cui volume è stato probabilmente sottovalutato, che l'ombreggiamento delle piante circostanti ha mantenuto freschi e suscettibili di colonizzazione per molti mesi. Nelle zone di difficile accesso o in corrispondenza di numerosi schianti diffusi, infatti, il materiale abbattuto dal vento è rimasto in gran parte a terra e ha determinato le condizioni per l'avvio delle infestazioni che stanno flagellando molte valli alpine.

L'abbattimento e lo scortecciamento delle piante colonizzate dal bostrico in fase di sviluppo è una delle azioni più incisive di contenimento delle infestazioni. Si tratta tuttavia di interventi costosi e spesso di non facile realizzazione, che richiedono competenza, tempi-

smo e un efficace coordinamento di personale e risorse. Le piante devono infatti essere utilizzate finché le larve del parassita si stanno sviluppando sotto la corteccia, e questa fase si conclude in meno di due mesi dall'avvio della colonizzazione. Interventi tardivi sono invece inutili, anzi dannosi in quanto distruggono le popolazioni di nemici naturali del bostrico che generalmente abbandonano le cortecce anche mesi dopo il loro ospite. L'asportazione di grandi porzioni di bosco ormai morto aumenta inoltre i rischi idrogeologici, soprattutto in contesti di pendii fortemente scoscesi, ed espone le piante superstiti a nuovi danni da vento e neve e quindi a nuove infestazioni. Al riguardo, il miglioramento dell'accessibilità alle aree forestali (viabilità forestale) sotto il profilo qualitativo e/o quantitativo è uno strumento utile per aumentare tempestività, efficacia e convenienza degli interventi di esbosco e bonifica forestale. L'utilizzo di trappole per la cattura degli adulti è infine uno strumento indispensabile per il monitoraggio delle popolazioni del bostrico al fine di seguirne le dinamiche spazio-temporali e conoscerne la densità numerica e le sue fluttuazioni. Le trappole da sole sono tuttavia di scarso aiuto per il contenimento delle popolazioni in fase epidemica.

Nei prossimi anni vi sarà molto verosimilmente un'ulteriore crescita della mortalità degli alberi di abete rosso, la cui entità dipenderà tuttavia da fattori al momento di difficile previsione, quali l'andamento meteorologico e la gestione del materiale colpito.

#### IL FUTURO DELL'ABETE ROSSO

Oltre a eventi improvvisi ed eccezionali quali Vaia, l'abete rosso dei versanti meridionali delle Alpi soffre un cronico e progressivo aumento della frequenza e dell'intensità delle infestazioni di bostrico in gran parte dovuto a situazioni climaticamente sempre più sfavorevoli alla pianta, probabilmente associate al cambiamento climatico e al riscaldamento globale registrato sia a livello alpino che europeo. Le popolazioni di bostrico sono pronte ad approfittare di condizioni di debolezza dell'abete per svilupparsi in massa anche a carico di alberi non colpiti da tempeste e apparentemente sani. Boschi maturi o stramaturi di abete rosso con elevate densità di alberi soffrono sempre più spesso stress idrici dovuti alle frequenti estati torride, alle primavere asciutte, e alla mancanza di neve; fenomeni che si accentuano nella fascia montana, a quote inferiori ai 1200-1400 m. Se da un lato il riscaldamento del clima indebolisce l'abete rosso, specie tipicamente legata ad ambienti freddi e che trova sulle Alpi il limite meridionale della sua vastissima area di distribuzione paleartica, dall'altro incrementa il successo riproduttivo del bostrico fornendogli continuamente piante ospiti idonee a essere colonizzate, accelerandone i tempi medi di sviluppo, consentendogli di completare un numero maggiore di generazioni, e riducendone la mortalità invernale smorzata da temperature sempre meno rigide. La gestione di lungo periodo delle foreste di abete rosso presenta dunque non poche incognite e incertezze per il

futuro, e richiede probabilmente scelte coraggiose che dovranno essere pianificate in modo oculato sulla base dei veloci cambiamenti climatici che stanno interessando anche le nostre regioni. Formazioni della fascia montana, pure, dense e ormai invecchiate non sembrano essere

in grado di rispondere ai nuovi scenari ambientali che si prospettano per i prossimi decenni, e una graduale sostituzione di queste foreste con boschi più stabili sembra essere l'unica soluzione per evitare di assistere alla morte di interi versanti.

# IL RUOLO DEL MIMETISMO NELLA DIVERSIFICAZIONE DELLE FORMICHE NEL PALEARTICO OCCIDENTALE: UN APPROCCIO MULTIDISCIPLINARE AL GENERE *COLOBOPSIS*

ENRICO SCHIFANI <sup>a\*</sup>

*a* - Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale, Università degli Studi di Parma, Parco Area delle Scienze 11/A, 43124 Parma - enrsc8@gmail.com

\*Vincitore del Premio Marco Osella

Lettura tenuta nella Seduta Pubblica dell'Accademia nell'ambito del XXVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Palermo 13 giugno 2023.

## *The role of mimicry in the diversification of western Palearctic ants: a multidisciplinary approach to the genus Colobopsis*

*Colobopsis* is a relatively small formicine ant genus distributed across the Holarctic, Indomalayan and Australasian regions, and most diversified in the tropics. Ants of this genus are typically characterized by phragmotic soldiers, defending the entrances of the nests – normally built in the wood – with their specially adapted head shapes, and behave as timid subordinate ants that live in small colonies. A few tropical species employ another rare defensive strategy, involving suicidal autothysis with the release of toxic substances on enemy ants. Working with an integrative taxonomic approach, we questioned the assumption that the western Palearctic *Colobopsis* fauna was represented by a single taxon and reviewed the sparse and overlooked literature claims that *Colobopsis* ants of the region were mimics of different other ant species. Combining behavioral, biogeographical, ecological, genetic, and morphological evidence, we revealed the existence of two allopatric species, *Co. imitans* Schifani *et al.*, 2022 and *Co. truncata* (Spinola, 1808). The results of this study, first published by the *Zoological Journal of the Linnean Society* in 2021 (10.1093/zoolinnean/zlab035), suggest that the two species to be sister taxa of very recent separation based on morphometric and genetic data, while they have developed marked divergences in chromatic and behavioral features linked to mimicry. *Co. imitans* closely resembles and follows the trails of the sympatric dominant ant species *Crematogaster scutellaris*, in a similar way to another ant, *Camponotus lateralis*. On the other hand, *Co. truncata* closely resembles an ant that is almost absent from *Co. imitans* distribution range, *Dolichoderus quadripunctatus*, living in larger colonies and armed with powerful defensive chemicals. The evolutionary advantages of these putative ant-ant mimicry relationships are likely those of a Batesian mimicry and/or dilution effect system, but their understanding requires further investigation of these ants and their predators.

KEY WORDS: speciation; evolutionary strategies; integrative taxonomy.

## INTRODUZIONE

Il genere *Colobopsis* (Formicidae, Formicinae, Camponotini) è distribuito nell'Australasia, nella regione Indomalese e in quella Olartica. Come nel caso di molti altri generi di formiche, la sua diversità è maggiore nelle regioni tropicali, in questo caso a cavallo della linea di Wallace. Si tratta nella maggior parte dei casi di formiche che costituiscono colonie di dimensioni medie o piccole, e che occupano il ruolo di subordinate all'interno delle gerarchie comportamentali che si instaurano nelle comunità di formiche. Le operaie spesso non costituiscono file di foraggiamento ma si muovono al di fuori del nido in modo piuttosto solitario, evitando anche il contatto con le altre specie. I nidi, tipicamente costruiti nel legno morto a partire da gallerie precedentemente scavate da altri insetti, vengono difesi il più delle volte tramite la singolare strategia della fragmosi. Per metterla in atto, i soldati e le regine (queste ultime svolgono questa funzione solo prima della nascita delle prime operaie) sono dotati da

appositi adattamenti morfologici e comportamentali: il capo è allungato, e presenta una porzione appiattita che viene orientata frontalmente, sigillando l'ingresso del nido (Fig. 1). La stessa strategia difensiva è presente soltanto in pochissime altre formiche (mentre fra insetti sociali è più frequente nelle termiti). Più unica che rara nel mondo delle formiche è poi la modalità di difesa della colonia scelta dal gruppo specie *Colobopsis cylindrica*, diffuso ampiamente nel Sud-Est Asiatico. Le operaie si difendono mediante il rilascio di un liquido appiccicoso e tossico, rilasciandolo in alcune specie anche mediante autotisi, cioè tramite la rottura dei propri tessuti corporei in un'azione di ultimo sacrificio che è valso il nome di "formiche kamikaze". Al di là delle strategie difensive, il rapporto con le piante in cui queste formiche abitano, in certe specie, raggiunge delle vette di altissima specializzazione evolutiva. *Colobopsis schmitzi*, che vive nel Borneo, è famosa per abitare all'interno della gigantesca pianta carnivora *Nepenthes bicalcarata* instaurando con essa un rapporto di mutualismo (facoltativo per la



Fig. 1 - Un soldato di *Colobopsis truncata* “sigilla” con il capo l’entrata del nido costruito dentro un albero presso l’Orto Botanico di Parma. Foto di Daniele Giannetti.

pianta): le formiche si nutrono di parte delle prede intrappolate dagli ascidi della pianta, ma ne curano l’igiene e proteggono la pianta da alcuni coleotteri fitofagi. Ancora, *Colobopsis quadriceps* dell’Indonesia e della Papua Nuova Guinea, ha operaie grandi, numerose e aggressive, che attaccano chiunque si avvicini troppo alle piante mirmecofite in cui queste formiche abitano, specie arboree appartenenti al genere *Endospermum*.

Le *Colobopsis* olartiche sono tutte dotate di adattamenti per la fragrosità in soldati e regine, e in generale ricalcano quell’identikit generico sopra enunciato: si tratta di specie subordinate e “timide”, con colonie relativamente piccole, che nidificano in porzioni di legno morto sugli alberi (privi di specifici adattamenti mirmecofili) e foraggiano prevalentemente sugli stessi (Fig. 1). Anche loro però si sono rivelate ricche di “sorprese” evolutive. Il nostro studio, svoltosi attraverso la collaborazione fra specialisti di Parma, Budapest e Bologna e pubblicato sulla rivista *Zoological Journal of the Linnean Society* (SCHIFANI *et al.*, 2022), si è occupato di studiare il genere *Colobopsis* nel Palearctico occidentale attraverso l’approccio multidisciplinare della tassonomia integrata: è stato possibile sia chiarire non solo numero di taxa presenti nella regione, ma anche far luce su interessanti relazioni di mimetismo in passato tralasciate ma apparentemente fondamentali per capire la diversificazione delle *Colobopsis* lungo il Mediterraneo. Siamo partiti da osservazioni personali condotte sul campo, in Italia, per poi confrontarci con quanto fino a quel momento riportato in letteratura, in modo talvolta contraddittorio. In tutto il Palearctico occidentale, si è quasi sempre ritenuto esserci una sola specie del genere *Colobopsis*, cioè *Co. truncata*, descritta nel 1808 dall’entomologo italiano Massimiliano SPINOLA (1780-1857) a partire da esemplari raccolti nei dintorni di Genova. Un primo confronto di quanto osservato sul comportamento e sull’aspetto delle *Colobopsis* siciliane viste a Palermo con quelle emiliane incontrate a Parma ha però suggerito l’esistenza di differenze notevoli e meritevoli di approfondimenti.

Le operaie di *Colobopsis* osservate in Sicilia erano bicolori, con il capo (e a volte la parte anteriore del mesosoma) di un rosso vivo ed il resto del corpo nero. Una colorazione molto simile a una delle specie di formiche

arboricole più comuni in Italia, cioè *Crematogaster scutellaris*, della sottofamiglia Myrmicinae. In Sicilia si osservano anche operaie di *Colobopsis* accostarsi ai fianchi o all’interno delle caratteristiche lunghe file di foraggiamento caratteristiche di *Cr. scutellaris*, seguendole per dei tratti. Questo comportamento peculiare è ben noto per un’altra formica della stessa tribù Camponotini cui appartiene *Colobopsis*, cioè *Camponotus lateralis*, e anche in questa specie le operaie hanno una colorazione molto simile a quella di *Cr. scutellaris* di cui seguono le file. Nella letteratura si tratta di un caso tipicamente interpretato come mimetismo batesiano: mentre *Ca. lateralis* costituisce anch’essa colonie relativamente piccoli, non costituisce file proprie e tende a fuggire di fronte ai pericoli, *Cr. scutellaris* è una specie dominante, territoriale e relativamente aggressiva, che costruisce colonie popolosissime e spesso addirittura distribuite su più nidi collegati da grandi file permanenti di operaie. A Parma, le operaie di *Colobopsis* osservate non solo sembravano disinteressate dalle pur presenti file di *Cr. scutellaris*, ma erano anche di tutt’altro colore: capo e mesosoma questa volta variavano dal bruno-rossiccio al nerastro, con il primo chiaramente più scuro del secondo, mentre il gastero nero era macchiato di bianco in due punti. Questa colorazione ricorda un’altra specie ancora di formica arboricola, questa volta afferente alla sottofamiglia Dolichoderinae, e cioè *Dolichoderus quadripunctatus*, caratterizzata da capo nero, mesosoma rosso, e gastero nero con quattro chiazze bianche. Sebbene descritta genericamente come meno aggressiva di *Cr. scutellaris*, come quest’ultima anche *D. quadripunctatus* è dotata di potenti sostanze repellenti.



Fig. 2 - Nelle due immagini in alto, la freccia bianca indica operaie di *Colobopsis* che si avvicinano alle fila di foraggiamento di *Cr. scutellaris* su delle piante di agrumi a Palermo. Nell’immagine in basso, lo stesso comportamento è osservato da parte di un’operaia di *Ca. lateralis* indicata dalla freccia. Foto dell’autore.

La letteratura europea sulle formiche ha una storia lunga ed è ricca di informazioni più di quanto accada per qualsiasi altra regione del mondo. Una ricerca approfondita ha svelato osservazioni analoghe alle nostre, menzio-

nate in modo isolato da autori diversi nel tempo. Il primo a esprimersi in merito fu Auguste-Henri FOREL (1848-1931), importantissimo mirmecologo svizzero (oltre che studioso di neuroanatomia e psichiatria). Nella sua opera sulle formiche della Svizzera, pubblicata nel 1879, definiva *Colobopsis truncata* un caso di mimetismo batesiano in cui la specie modello era *D. quadripunctatus*. Altri autori successivi hanno descritto in modi diversi delle relazioni speciali fra *C. truncata* e *Cr. scutellaris*, o fra *C. truncata* e *D. quadripunctatus*, menzionando aspetti di mimetismo o operaie di *Colobopsis* osservate seguire le fila delle altre due specie. Più di tutti ci ha sicuramente colpito come CARPINTERO *et al.* (2005), all'interno di uno studio condotto nel Parco Nazionale di Doñana, in Andalusia, parlassero di *Co. truncata* come di mimo di *Cr. scutellaris* analogo a *Ca. lateralis*, affermando anche che le regine di *Co. truncata* preferiscano selezionare alberi già abitati da *Cr. scutellaris* per fondare la propria colonia. La stessa formica non può, allo stesso tempo, imitare sia *Cr. scutellaris* che *D. quadripunctatus*, ma nessuna delle pubblicazioni che avevamo letto si interrogava su questa contraddizione: si tratta in tutti i casi di studi che indagano prevalentemente altri aspetti, in cui osservazioni puntiformi o commenti su *Co. truncata* sono presenti ma marginali, e mai messi a confronto con la letteratura.

Abbiamo quindi deciso di esplorare la diversità di *Colobopsis* nel Paleartico occidentale, chiedendoci se le due forme cromatiche da noi osservate fossero le sole della regione e come fossero distribuite, se fossero sempre associate agli aspetti comportamentali che avevamo rilevato, e soprattutto se si trattasse di aspetti di variabilità intra- o interspecifica. Di fronte ai primi indizi di un sistema con aspetti evolutivi complessi e affascinante crediamo che il modo più interessante per cercare risposte fosse l'approccio multidisciplinare della tassonomia integrata. Abbiamo quindi deciso di estendere il più possibile l'area di studio a tutta la regione, e analizzare in modo integrato i tratti morfologici quantitativi e qualitativi, genetici, ecologici, etologici e biogeografici delle popolazioni di *Colobopsis* nelle modalità e con i risultati che seguono.

#### LO STUDIO TASSONOMICO INTEGRATO

**La colorazione** - Una volta definite le caratteristiche salienti delle due forme cromatiche diverse di operaie in *Colobopsis* sulla base delle prime osservazioni, abbiamo studiato esemplari o fotografie da quante più aree possibili, cercando di capire se esistessero forme "di transizione" con caratteri intermedi o altre forme cromatiche o, ancora, se le due da noi osservate potessero comparire entrambe all'interno di una stessa colonia. Su un campione più ristretto di immagini abbiamo invece comparato i rapporti, calcolati a partire dai valori dello spettro cromatico RGB, del capo e del mesosoma fra le due forme cromatiche di *Colobopsis*, *Cr. scutellaris*, e *D. quadripunctatus*. Potendo lavorare anche con immagini, abbiamo trovato di grandissima utilità esaminare anche quelle disponibili online su piattaforme di citizen science come iNaturalist.org, riuscendo alla fine a osservare 212

campioni di colonie da 18 paesi. Alla fine, dalla Penisola Iberica all'Anatolia, non abbiamo mai riscontrato terze forme cromatiche o forme intermedie e poco distinguibili, né la presenza di forme diverse fra operaie di una stessa colonia. Inoltre, i rapporti dei valori ottenuti dalla scala RGB si sono rivelati significativamente diversi fra le due forme cromatiche di *Colobopsis*, mentre ciascuna è invece risultata non significativamente diversa rispettivamente da *Cr. scutellaris* e da *D. quadripunctatus*.

**La morfometria lineare** - Affidandoci all'approccio metodologico di maggior successo nel descrivere le differenze più criptiche fra formiche e trarre conclusioni tassonomiche, abbiamo misurato 12 caratteri morfometrici continui su 115 operaie di 44 campioni di colonie di *Colobopsis* provenienti da 9 paesi. Il dataset risultante è stato prima studiato tramite la comparazione dei risultati di diversi metodi di analisi di clustering e analisi delle componenti principali, producendo così un'ipotesi sul numero di specie esistenti poi testata mediante analisi discriminante lineare. I risultati hanno consistentemente indicato la presenza di due cluster morfometrici che sorpassano i valori soglia minimi considerati indicativi della presenza di specie diverse, e che contengono ognuno campioni attribuiti a una sola delle due forme cromatiche. Sette rapporti numerici fra i caratteri morfometrici risultano ciascuno significativamente differente fra i due gruppi, ma nessuno dei caratteri da solo può essere utilizzato per identificare un individuo come appartenente all'uno o all'altro, indicando una significativa crisi morfologica. È risultato possibile però identificare le operaie adoperando una funzione discriminante che sfrutta solo sei dei dodici caratteri utilizzati con una possibilità di errore del 4.3% sul singolo individuo.

**Il DNA mitocondriale** - Abbiamo scelto di condurre la nostra esplorazione a partire dal marcatore più diffuso, e che anche fra le formiche, in molti gruppi compresi alcuni di quelli particolarmente criptici e difficili, risulta particolarmente costo-efficiente per l'identificazione molecolare delle specie e l'esplorazione dei pattern di diversificazione. Abbiamo quindi sequenziato il frammento 'barcode' del mtCOI da 41 operaie di colonie diverse provenienti da 6 paesi, ricostruendo poi i rapporti filogenetici fra i campioni utilizzati tramite un'analisi di massima verosomiglianza delle sequenze. In questo caso abbiamo rilevato quattro cladi principali, ciascuno contenente soltanto sequenze di esemplari appartenenti a uno stesso gruppo cromatico a eccezione di una sola sequenza "fuori posto", osservando però nel complesso una polifilia fra le sequenze appartenenti ai due gruppi.

**L'associazione con le presunte specie modello** - Abbiamo esaminato 64 alberi abitati da *Colobopsis* divisi 13 siti nella penisola italiana (Emilia-Romagna, Toscana) e in Sicilia, annotando l'eventuale presenza sia di *Cr. scutellaris* che di *D. quadripunctatus* sullo stesso albero, attraverso un'osservazione continuata lunga 10 minuti attorno a un raggio di 1.5 m sul tronco dell'albero a par-

tire dal primo punto in cui veniva individuata la presenza di *Colobopsis*. In Sicilia, nel 97% dei casi *Colobopsis* è stata rinvenuta in alberi in cui era presente anche *Cr. scutellaris*, mentre in nessun caso si è trovata insieme a *D. quadripunctatus*, piuttosto localizzata e poco frequente nella regione. Al contrario, nella penisola, l'associazione con *D. quadripunctatus* è risultata la più frequente, osservata nel 40% dei casi, mentre quella con *Cr. scutellaris* è stata osservata nel 20% di essi (con alcuni casi in cui tutte e tre le specie erano presenti).

**L'etologia** - Negli stessi siti indicati al paragrafo precedente, abbiamo selezionato alberi in cui *Colobopsis* e *Cr. scutellaris* o *Colobopsis* e *D. quadripunctatus* fossero compresenti, in questo caso per rilevare, sempre mediante osservazioni continuate di 10 minuti, la presenza o assenza del comportamento di seguimento delle fila odorose di *Cr. scutellaris* o *D. quadripunctatus* da parte di operaie di *Colobopsis*. È stato possibile condurre le osservazioni su 30 alberi abitati da *Colobopsis* e *Cr. scutellaris* in Sicilia, e 29 da *Colobopsis* e *Cr. scutellaris* e 23 da *Colobopsis* e *D. quadripunctatus* nella penisola. In Sicilia, abbiamo osservato le operaie di *Colobopsis* seguire le file di *Cr. scutellaris* nel 77% dei casi (Fig. 2), mentre lo stesso comportamento non è mai stato osservato nella penisola, né nei confronti di *Cr. scutellaris* né in quelli di *D. quadripunctatus*.

**La biogeografia** - La distribuzione dei due cluster morfometrici corrispondenti alle due forme cromatiche risulta allopatrica in base al nostro set di dati, con un'area di contatto accertata solo nel sud della Penisola Iberica e ulteriori indagini ancora necessarie in Calabria. La forma osservata in Sicilia è infatti presente in Algeria, Marocco ed estremo sud della Penisola Iberica e quasi certamente in Tunisia (da dove non abbiamo avuto dati certi). Al contrario, la forma osservata inizialmente in Emilia-Romagna corrisponde al materiale tipico ligure di *Co. truncata* ed è secondo ogni apparenza l'unica diffusa nel restante ampio areale della specie, che comprende tutta l'Europa escluse le regioni più settentrionali, nel Mediterraneo orientale Cipro, la Turchia, la Siria, il Libano, e Palestina/Israele, e più a Est tutto il Caucaso seguendo poi la sponda meridionale del Mar Caspio fino a lambire Iran e Turkmenistan. Queste due distribuzioni, con molte piccole possibili variazioni, sono osservate in molti altri organismi, comprese molte specie di formiche, anche all'interno della tribù Camponotini. D'altro canto, invece, le distribuzioni corrispondenti ai cladi mitocondriali appare per lo più non ascrivibile a pattern biogeografici noti in altre specie: le popolazioni marocchine e andaluse formano uno stesso clade, ma quelle siciliane sono accomunate a una sequenza catalana, mentre un terzo clade è presente solo alle Baleari e nel centro della Spagna, ed il quarto invece è presente almeno in Spagna centro-settentrionale, Francia, Italia, Ungheria e Bulgaria. L'areale della forma di *Colobopsis* rassomigliante a *Cr. scutellaris* è caratterizzato dalla presenza di *Cr. scutellaris* ovunque, mentre al suo interno *D. quadripunctatus* è quasi del tutto assente se non in una fascia

marginale di confine. Al contrario, l'areale della *Colobopsis* rassomigliante a *D. quadripunctatus* è interamente caratterizzato dalla presenza di quest'ultimo, ma solo in parte minoritaria anche da quella di *Cr. scutellaris*.



Fig. 3 - *Dolichoderus quadripunctatus* (in alto) e *Colobopsis truncata* (in basso), fotografate in Toscana. Foto di Daniele Giannetti.



Fig. 4 - *Crematogaster scutellaris* (in alto) e *Colobopsis imitans* (in basso), fotografate in Sicilia. Foto di Daniele Giannetti.

## CONCLUSIONI

L'analisi morfometrica, considerata la singola metodologia più affidabile fra quelle utilizzate quando si tratta di delineare i confini fra specie di formiche, sostiene l'ipotesi che vi siano due specie distinte fra le *Colobopsis* del Palearctic occidentale, e quasi tutte le altre evidenze raccolte descrivono una realtà similmente dicotomica. La natura criptica delle differenze morfometriche fra i due cluster individuati, le cui differenze superano appena la soglia accettata per parlare di specie diverse, può indicare una separazione recente fra due taxa, il che potrebbe essere anche la spiegazione più probabile per il pattern non monofiletico osservato nel DNA mitocondriale. Le nette differenze cromatiche (Fig. 3-4), ma anche comportamentali, suggeriscono al contempo una rapida capacità adattativa per quelle che sembrano strategie di mimetismo simili ma con specie modello diverse. Se tutti gli indizi sembrano indicare come *Co. truncata* "imiti" *D. quadripunctatus*, e la nuova specie descritta come *Co.*

*imitans* Schifani *et al.*, 2022 “imiti” *Cr. scutellaris*, nascono però nuovi interrogativi che attendono di essere studiati. Alcuni riguardano il comportamento stesso con cui *Co. imitans*, come *Ca. lateralis*, segue le file di *Cr. scutellaris* grazie alla capacità di percepirne le tracce feromonalmente che segnalano le piste di foraggiamento. Lo stesso comportamento è raramente esibito anche da parte di *Co. truncata* nei confronti sia di *Cr. scutellaris* che di *D. quadripunctatus* (che di norma non crea file stabili), sebbene da noi non sia stato osservato direttamente. In tutti questi casi, a differenza di quanto osservato con formiche di altre regioni del mondo, non sembrerebbe esserci alcun mimetismo chimico: le operaie di *Colobopsis* e *Camponotus* evitano accuratamente il contatto con le antenne delle operaie di *Cr. scutellaris*, e quando saltuariamente “scoperte” dalle residenti evadono prontamente gli attacchi con rapidi movimenti. Questo comportamento rispetto alle file di un’altra specie può avere multipli vantaggi: al di là dell’effetto diluzione (visto che poche operaie di *Colobopsis* o *Camponotus* si “infiltrano” in file di numerosissime *Crematogaster*) è possibile, infatti, che seguendo le si ottengano anche dei vantaggi nella localizzazione di risorse trofiche “stabili” come colonie d’afidi. Occorre poi comprendere quali predatori possano avere esercitato una pressione selettiva tale da contribuire in modo significativo all’emergere di queste differenze fenotipiche e adattative in un tempo evolutivo relativamente breve. Questo permetterebbe, inoltre, di comprendere meglio le caratteristiche della strategia mimetica stessa, che può essere ascritta a modelli diversi a seconda, ad esempio, dei predatori presi in considerazione. Infine, è molto curioso osservare come le macchie bianche sul gastro di tutte le caste femminili di *Co. truncata*, apparentemente un adattamento specifico al mimetismo nei

confronti delle operaie di *D. quadripunctatus*, siano normalmente visibili anche in *Co. imitans* ma soltanto in quelle caste che non si trovano ordinariamente al di fuori del nido, cioè regine e soldati. Questo suggerisce che possa trattarsi di un carattere ancestrale, mantenuto in *Co. truncata* e progressivamente ridotto in *Co. imitans*.

#### LETTERATURA CITATA

- CARPINTERO S., REYES-LÓPEZ J., ARIAS DE REYNA L., 2005 - *Impact of Argentine ants (Linepithema humile) on an arboreal ant community in Donana National Park, Spain.* - *Biodiversity & Conservation*, 14: 151-163. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-3947-6>
- FOREL A., 1874 - *Les fourmis de la Suisse. Systématique, notices anatomiques et physiologiques, architecture, distribution géographique, nouvelles expériences et observations de mœurs.* - *Neue Denkschriften der Allgemeinen Schweizerischen Gesellschaft für die Gesamten Naturwissenschaften*, 26: 1-452.
- SCHIFANI E., GIANNETTI D., CSÖSZ S., CASTELLUCCI F., LUCHETTI A., CASTRACAN, C., SPOTTI F.A., MORI A., GRASSO D.A., 2022 - *Is mimicry a diversification-driver in ants? Biogeography, ecology, ethology, genetics and morphology define a second West-Palaeartic Colobopsis species (Hymenoptera: Formicidae).* - *Zoological Journal of the Linnean Society*, 194: 1424-1450. <http://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlab035>
- SPINOLA M., 1808 - *Insectorum Liguria species novae aut rariores, quae in agro ligustico nuper detexit, descripsit et iconibus illustravit Maximilianus Spinola, adjecto catalogo specierum auctoribus jam enumeratarum, quae in eadam regione passim occurrent.* Tom. II. Fasc. 4. Genova: Y. Gravier.



## NOTE FAUNISTICHE SUI TORTRICIDAE ITALIANI (LEPIDOPTERA)

PASQUALE TREMATERRA\*

\*Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università degli Studi del Molise, Via de Sanctis, Campobasso;  
e-mail: [trema@unimol.it](mailto:trema@unimol.it)

Lettura tenuta nella Seduta Pubblica dell'Accademia - Firenze 11 novembre 2023.

### *Faunistic notes on Lepidoptera Tortricidae of the Italian fauna*

*A historical excursus is given referring to faunistic research carried out in Italy involving the Lepidoptera Tortricidae, one of the most numerous families of microlepidoptera. Information on these moths over time has been fragmentary: in fact, most of the papers refer to species of agrarian importance, while relatively few faunistic and systematic surveys appear to have been carried out. However, various Italian and foreign entomologists have studied our alpine fauna, that of the two major islands and other places of tourist interest. In the present work, starting from the 366 species listed in Saggio di un catalogo dei Lepidotteri d'Italia by Curò (1880), we turn to Mariani's (1940-41) work Fauna Lepidopterorum Italiae. Entomological expeditions subsequent to the 1980s helped to increase knowledge, in fact in Trematerra's Checklist della fauna italiana (1995) and later in the Catalogo dei Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana, 633 species are listed. To these are added the results of more recent surveys realized on various parts of the Italian territory, bringing to 702 the number of entities surveyed in Italy. Italy is one of the richest countries in Europe.*

KEY WORDS: *Lepidoptera Tortricidae, Italian fauna.*

### INTRODUZIONE

I Tortricidae sono una delle più grandi famiglie dei cosiddetti Microlepidotteri, con oltre 1800 generi e circa 11600 specie descritte assegnate a 22 tribù di 3 sottofamiglie, e un gran numero di *taxa* ancora da scoprire, principalmente nelle foreste pluviali. Sono distribuiti in tutto il Pianeta, ma la maggior parte dei *taxa* si trovano nelle regioni temperate e nelle aree montuose tropicali (BROWN, 2005; GILLIGAN *et al.*, 2023).

Malgrado presentino una grande varietà nella forma delle ali e nella loro colorazione, i Tortricidi hanno un aspetto generale caratteristico e facilmente riconoscibile. Sono di solito farfalle piccole, anche se alcune superano i 25 mm di apertura alare. Si possono distinguere dagli altri lepidotteri della stessa taglia, e con aspetto simile, soprattutto dalla forma delle ali, dai palpi labiali diretti in avanti e per la spirotromba non rivestita di squame; quando i palpi sono ricurvi verso l'alto, il segmento terminale non è mai lungo e sottile.

### INQUADRAMENTO SISTEMATICO

Non è stato ancora rintracciato un apomorfismo che possa testimoniare l'origine monofiletica dei Tortricidae (HORAK e BROWN, 1991); vari plesiomorfismi, invece, sono stati riscontrati nella biologia di diverse entità. Tra questi la deposizione di uova singole, osservata in alcune specie, viene considerata da POWELL (1964) un carattere ancestrale; lo stesso autore sostiene che originariamente i Tortricidi potessero essere endofagi, così come altri lepidotteri con caratteristiche arcaiche. Alcune specie austra-

liane, poco specializzate e non vicine filogeneticamente, si nutrono di foglie della lettiera, comportamento alimentare considerato di tipo primordiale.

I Tortricidi presentano un certo numero di caratteri morfologici primitivi in comune con i Cossidi, come, ad esempio, la venatura mediana (M) nella cellula discoidale delle ali anteriori di alcune specie. I due raggruppamenti vengono spesso associati, anche se il nostro è per molti versi più specializzato (BRADLEY *et al.*, 1973).

Come è noto, tra i caratteri maggiormente utilizzati nelle moderne classificazioni dei Lepidoptera vi sono la struttura dell'apparato genitale maschile e la sua muscolatura; su tale base i Tortricidi possono essere ripartiti in tre sottofamiglie - Tortricinae, Chlidanotinae e Olethreutinae - a loro volta suddivise in varie tribù. Nella sottofamiglia Tortricinae, gruppo polifiletico, sono incluse le forme che hanno l'apparato genitale maschile meno specializzato. Le specie europee fanno capo a 6 tribù: Tortricini, Cochylini, Cnephasiini, Archipini, Sparganothini ed Euliini (RAZOWSKI, 2001). Chlidanotinae costituisce una sottofamiglia monofiletica i cui componenti presentano una profonda invaginazione dorso-longitudinale sulle valve dell'apparato genitale maschile, molto caratteristica. I suoi maggiori centri di diffusione sono la Regione Neotropica e le Regioni Orientale e Australiana (HORAK e BROWN, 1991). Le Olethreutinae formano la sottofamiglia più numerosa. Caratteristica dei suoi componenti è la fusione dell'*aedeagus* con l'*anellus* e la *juxta*, e la presenza di una escavazione alla base della valva (HORAK e BROWN, 1991). Le specie europee vengono suddivise da RAZOWSKI (2001, 2002) in 5 tribù: Bactrini, Olethreutini, Enarmoniini, Eucosmini e Grapholitini.

Per carenza di dati, le relazioni filogenetiche tra le sottofamiglie non sono ancora possibili (HUANG *et al.*, 2023).

#### CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE

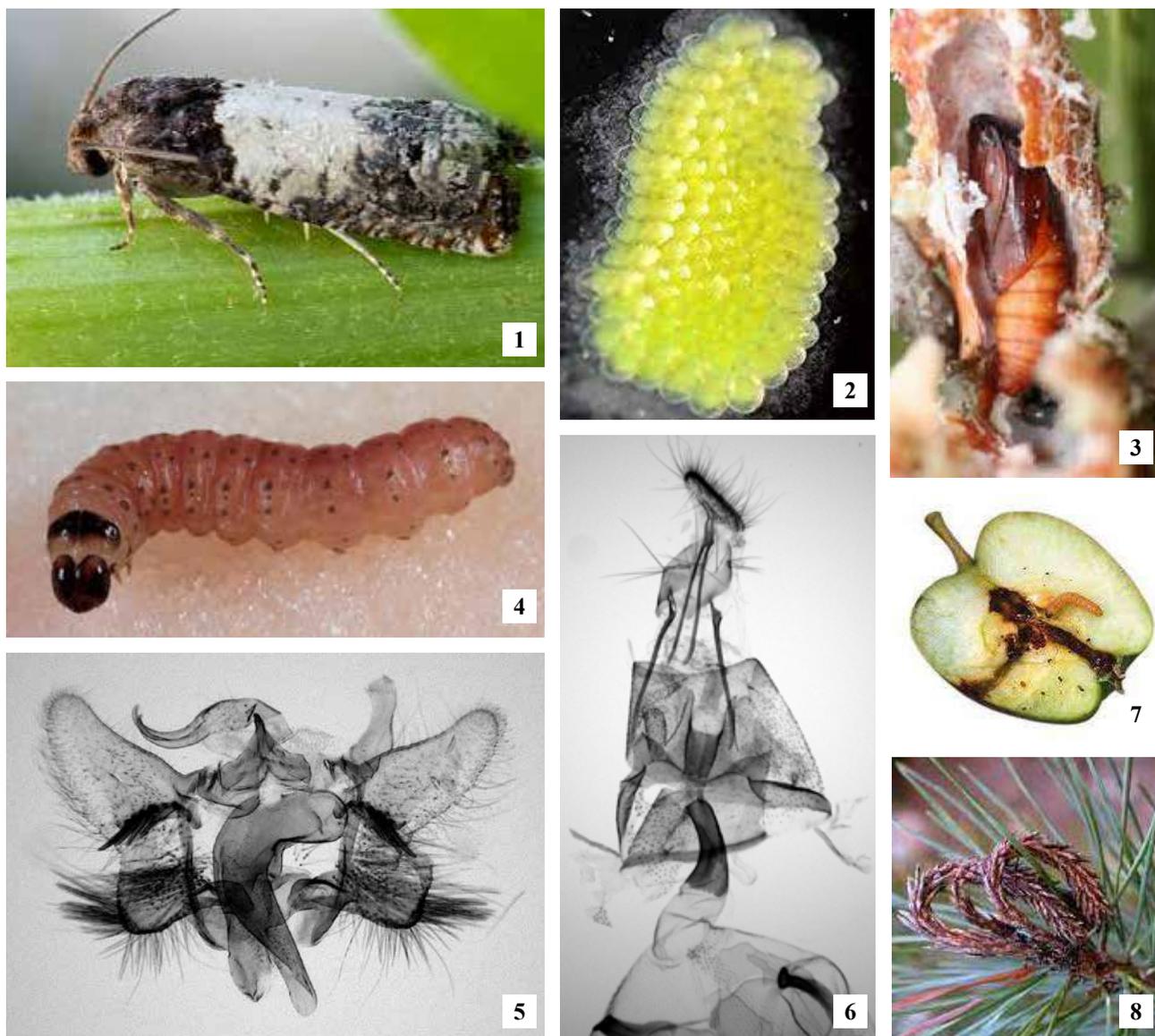
**Adulto.** Il capo è rivestito di squame, generalmente poco aderenti o sollevate, spesso con ciuffi laterali, lisci o ruvidi, che si uniscono più o meno sopra il vertice e si protendono tra le antenne. Queste ultime sono meno dei due terzi della lunghezza delle ali. I palpi labiali sono costituiti da tre segmenti; il secondo è più o meno ricoperto di squame rialzate, mentre quello terminale, più corto, presenta squamette aderenti. Le zampe sono fornite, nelle tibiae, di epifisi le anteriori, di speroni apicali le centrali e di speroni apicali e mediani le posteriori. Di solito le ali sono ben sviluppate nei due sessi; poche specie hanno femmine brachittere.

Fig. 1 – Lepidoptera Tortricidae: adulto (1), ovatura (2), crisalide (3), larva (4), genitale maschile (5), genitale femminile (6), danno su mela (7), danno su conifera (8).

Le **uova** sono lenticolari, rivestite da *chorion* normalmente liscio, a volte reticolato. Sono deposte singolarmente, a coppie o in gruppi che formano una grossa massa embricata, con il micropilo esposto verso l'esterno. Di solito i germi sono ricoperti dal secreto delle ghiandole colleteriche; in molti casi, anche alcune squame dei ciuffi anali o delle ali restano imprigionate nella massa.

La **larva** presenta 6 ocelli su ogni lato del capo. Sul protorace, il gruppo laterale di setole (L) è formato da tre elementi; nei segmenti addominali, dal I all'VIII, il gruppo è costituito da due setole molto vicine. Le pseudozampe hanno uncini che possono essere uniordinali, biordinali o triordinali; gli uncini delle anali sono organizzati in una linea continua diritta. Di solito è presente un pettine anale, ma non nelle specie endofaghe.

La **pupa** (o crisalide) è *obtecta* e mostra vari segmenti addominali mobili; in numerosi casi hanno spine dorsali. Il I e il II segmento sono uniti in entrambi i sessi; nel maschio sono fusi insieme l'VIII, il IX e il X, nella femmina dal VII al X. Il *cremaster* può essere variamente sviluppato.



Come accennato, i Tortricidi sono conosciuti principalmente dalle regioni temperate e tropicali, la loro distribuzione, in molti casi, è fortemente limitata da fattori climatici.

La maggior parte delle entità presenta una singola generazione l'anno, altre invece ne hanno due o più; il numero di generazioni dipende essenzialmente dalla lunghezza e dalle temperature della stagione calda; ad esempio, nei Paesi mediterranei molte hanno comportamento polivoltino.

Le larve delle specie monovoltine, che nascono durante l'estate, di solito si nutrono fino ad autunno inoltrato, passano l'inverno in bozzoli, che servono anche come *hibernacula*, e si impupano durante la primavera successiva. In alcune bivoltine gli adulti della seconda generazione appaiono in estate o più tardi, restano in volo sino al tardo autunno, poi ibernano e agli inizi della primavera si accoppiano.

Diversi *taxa* presentano individui occasionali che impiegano due anni per completare il ciclo di vita, rimanendo in diapausa per due inverni successivi; il fenomeno avviene in particolar modo negli ambienti con condizioni climatiche variabili a seconda dell'annata, come ad esempio in alta montagna.

Allo stadio larvale i Tortricidi si sviluppano a spese di una o più essenze vegetali, nel complesso al mondo circa 700 specie hanno importanza economica (VAN DER GEEST and EVENHUIS, 1991; Zhang, 1994). I Cochylini sono monofagi od oligofagi e quasi invariabilmente fitofagi interni. I Tortricinae e i Chlidanotinae sono più polifagi, e di solito vivono nascoste all'interno di foglie e fiori ripiegati o intessuti insieme. Durante le prime età molte larve si nutrono scavando nei germogli, nei ramoscelli, nella parte basale della foglia o nei piccioli. I componenti dei Tortricini sono fitofagi di un vastissimo numero di vegetali, soprattutto di Dicotiledoni. Rosaceae e Pinaceae sono le essenze preferite dagli Archipini oloartici, mentre gli Cnephasiini si nutrono di piante disperate. Tra le Olethreutinae si riscontra una grande varietà di modi di alimentarsi; alcune si sviluppano in foglie e germogli ripiegati o intessuti insieme, altre scavano nei fusti, nelle radici, nei frutti, nei semi, e occasionalmente anche nella corteccia o in galle. Molte hanno abitudini monofaghe od oligofaghe.

Completato lo sviluppo, di solito, le larve dei Tortricidi impupano all'interno di fili sericei embricati, a volte in un bozzolo. Le specie che ibernano come larve mature, fuorché quelle che scavano nei fusti e nelle radici, normalmente costruiscono, nelle anfrattuosità di cortecce, nella lettiera di foglie o nei detriti sul terreno, un bozzolo che serve come *hibernaculum* e nel quale si incrisalidano.

Il clima e gli elementi meteorologici, in generale, rivestono molta importanza sia nella diffusione che nell'attività di questi microlepidotteri; un altro fattore che incide fortemente sulla loro ecologia è la reperibilità delle piante alimentari.

Le informazioni sui Tortricidi componenti la fauna italiana, nel tempo, sono state frammentarie: gran parte dei lavori si riferisce a specie di importanza agraria, ai danni che apportano e ai mezzi di lotta, relativamente poche risultano invece le indagini strettamente faunistiche e sistematiche. Tuttavia, vari entomologi, anche stranieri, hanno studiato la nostra fauna alpina, quella delle isole maggiori e di altri luoghi di interesse turistico. Al riguardo, in generale, la letteratura paleartica è piuttosto abbondante, grazie soprattutto alle opere di A. Diakonoff, H.J. Hannemann, J. Kennel, V.I. Kuznetsov, N.S. Obraztsov e J. Razowski. A queste si aggiungono contributi monografici relativi a diversi Paesi d'Europa: Norvegia, Finlandia, Danimarca, Gran Bretagna, Russia europea, Spagna e Portogallo, Francia-Belgio e Corsica, Olanda, Germania, Austria, Polonia, Romania. Lavori complessivi mancano, però, per i Paesi balcanici, mentre sono rintracciabili note di buon livello riferite alla Mitteleuropa, ai territori alpini della Svizzera e a diverse zone dell'ex-Cecoslovacchia e dell'Ungheria.

Nell'elenco presente in *The Lepidoptera of Europe*, coordinato da KARSHOLT e RAZOWSKI (1996), sono incluse 925 specie appartenenti ai Tortricidae, raggruppate in 125 generi. In tale contesto, dal punto di vista numerico, le conoscenze maggiori si hanno proprio in Italia 613 specie, seguono la parte europea della Russia con 612, Francia e Corsica 594, Germania 506, Romania 468, Polonia 441, Spagna 423 e Gran Bretagna 375.

In Lepiforum.org, per l'Europa riferite al 2023 si citano 1093 specie (Subfam. Tortricinae 445 specie; Subfam. Chlidanotinae 12 specie; Subfam. Olethreutinae 636 specie).

Per il nostro paese, prima che fosse redatta la *Checklist delle specie della fauna italiana* da parte di TREMATERRA (1995a), i tentativi di sintesi erano dovuti a opere di carattere generale, riguardanti tutti i Lepidotteri, ed essenzialmente a CURÒ (1880) con *Saggio di un catalogo dei Lepidotteri d'Italia* e a MARIANI (1940-41) per *Fauna Lepidopterorum Italiae*. Ciò nonostante, il contributo complessivo di quanti hanno studiato i Tortricidi ha consentito la raccolta di un discreto volume di informazioni, tanto che la fauna nel nostro territorio è passata da 366 specie elencate da Curò, a circa 450 citate da Mariani, alle 606 della checklist di Trematerra (1995a), per attestarsi a 633 nel Catalogo *Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana* (TREMATERRA, 2003). Arrivando a 702 nella nuova checklist in fase di realizzazione (TREMATERRA, dati non publ.). I territori meglio indagati sono Friuli Venezia Giulia, Venezia Tridentina, Piemonte, Valle d'Aosta, Alpi Marittime, Lombardia, Romagna, Molise, Calabria, Sardegna e Sicilia, zone in cui questi microlepidotteri sono stati oggetto di ricerche estese e piuttosto organiche. Altre aree sono state visitate in modo discontinuo, mentre la porzione centro-meridionale della catena appenninica e la gran parte delle aree costiere si presentano faunisticamente quasi sconosciute.

Tuttavia, è opportuno altresì ricordare che il materiale

raccolto è stato pubblicato solo in parte e sarebbe necessario studiare quanto è depositato in varie collezioni entomologiche all'estero.

DAL CATALOGO DI ANTONIO CURÒ (1880)  
A QUELLO DI MARIO MARIANI (1940-41)

Nell'opera di Antonio Curò (1880) vengono riportati 366 Tortricidi assegnati a 31 generi, l'Autore scrive: "Prima di riassumere ciò che ho potuto raccogliere intorno ai cosiddetti Microlepidotteri italiani, è bene ch'io avverta come le nozioni intorno alla loro distribuzione nelle nostre diverse zone, le epoche delle apparizioni e l'enumerazione delle erbe e piante di cui si cibano le larve, sono riuscite piuttosto incomplete. Non posso poi tralasciare di rilevare la scarsità delle nostre pubblicazioni, di fronte all'importanza dei lavori di parecchi entomologi stranieri sui Microlepidotteri che sono stati osservati e raccolti in varie parti d'Italia".

Durante gli anni che seguirono, lo stesso Curò (1883) fece un aggiornamento al catalogo, elencando altre 28 specie, nella sezione aggiunte alle Piralidine e Tortricine; Gianfranco Turati (1884) fornendo ulteriori nuove annotazioni, cita: "servono di aggiunta al pregevolissimo lavoro del nostro amico Curò, e provano ancora una volta che l'Italia può senza dubbio competere per ricchezza e varietà di prodotti entomologici con qualunque altra regione europea".

Uno dei primi contributi alle conoscenze sui Tortricidi di una regione italiana era giunto però già qualche anno prima dal conte Emilio Turati (1879) con *Contribuzione alla Fauna Lepidotterologica Lombarda*, nella quale riportava 109 specie afferenti alla famiglia.

Nel 1889, si affacciò a questo un altrettanto vasto studio che interessava i lepidotteri della Sicilia, per opera di Minà-Palumbo e Failla-Tedaldi, nel quale gli autori elencavano 113 Tortricidi viventi nell'Isola.

Verso la fine del secolo ben poco di rilievo venne ancora pubblicato su tali insetti: Cavanna (1882) riferisce di una escursione fatta *Al Vulture ed al Pollino* nel luglio del 1880 e Cecconi (1897) studia la fauna vallombrosana, ma nei due scritti le specie annotate sono poche e di scarsa importanza.

Nei primi dieci anni del 1900, soprattutto per merito del Verity, ebbero sviluppo le conoscenze sui Microlepidotteri della Toscana: nel 1904 venne pubblicato dapprima *Elenco di Lepidotteri raccolti nell'Appennino Pistoiese* - in cui figuravano 10 Tortricidi - e poi riportato un nutrito numero di farfalle raccolte nel Lucchese, formato da 284 specie, fra le quali 83 microeteroceri, con 14 tortricidi. Dopo appena due anni, Verity (1906) inviò alle stampe una lista dei Lepidotteri della Vallombrosa, località classica di rinomanza tra gli entomologi dell'epoca, anche stranieri; nelle 456 specie raccolte venivano citati 124 microeteroceri con 24 Tortricidi.

Nel 1910 Gianelli pubblica un corposo lavoro a carattere generale sui Microlepidotteri, da lui stesso raccolti in Piemonte e in Valle d'Aosta; nei Tortricidi, tra specie nuove, varietà e aberrazioni, più di 270 sono le entità citate.

L'anno successivo Emilio Turati e Roger Verity (1911) studiano la *Faunula Valderiensis nell'alta Valle del Gesso (Alpi Marittime)* e, nell'affrontare la parte dei Microlepidotteri, riportano 24 specie di Tortricidi, annotando: "dobbiamo far però rilevare che la nostra attenzione si è rivolta più specialmente ai Pyralidi e ai Pterophoridi: riuscirà quindi proporzionalmente scarso il numero delle specie notate nelle altre grandi divisioni e famiglie. Crediamo tuttavia non privo di interesse, malgrado poco si sia potuto fare, di indicare l'elenco delle specie raccolte".

Negli anni che seguirono si ebbe, in Italia, un notevole calo di interesse per questi insetti. Fino a che nel 1935 Della Beffa, ritoccando un lavoro del 1934, elenca per il Piemonte 213 specie. Nel 1938 venne pubblicato da Klimesch uno dei primi contributi alla conoscenza della fauna del Trentino, al cui studio complessivo parteciparono soprattutto entomologi di scuola austriaca. Klimesch soffermò l'attenzione sui Microlepidotteri della Valle Venosta, che venne indagata durante due brevi soggiorni effettuati nel 1934 e nel 1935. Il bottino entomologico fu ritenuto dallo stesso molto soddisfacente, con 267 specie raccolte delle quali 52 appartenenti ai Tortricidae.

Per la Sicilia, dopo il catalogo di Enrico Ragusa (1905) dedicato ai Lepidotteri dell'isola, e in seguito ai risultati ottenuti in 15 anni di ricerche eseguite sul posto da Mariani, il numero delle specie conosciute aumentò notevolmente. Nel 1938 proprio Mariani pubblicò un nuovo catalogo che apportava sostanziali modifiche, soprattutto sistematiche, al vecchio lavoro, trovando che esso non rispondeva più alle esigenze della classificazione naturale non portando né indicazione di località né di epoca di cattura. Nella sua opera avverte i lettori: "le specie precedute da asterisco sono di interesse fitopatologico e sono da me additate ai fitopatologi, ai quali vorrei raccomandare di non fidarsi, per le determinazioni delle specie, dei soliti manuali di entomologia agraria nei quali la sistematica è assai trascurata e qualche volta addirittura strapazzata". Ai Tortricidi vengono assegnate 184 specie a cui con ritardo, in una nota apparsa nel 1948, per "le gravi vicende che hanno travolto il nostro Paese", lo stesso Autore aggiunge *Tortrix amplana* (Hübner) e *Phalonia atricapitana* (Stephens).

Uno dei primi contributi allo studio della fauna dell'Italia Centrale viene dal conte Federico Hartig (1939) che, soffermando l'attenzione sulle entità presenti nella conca e nelle vicinanze di Fondi (Latina), nomina 31 Tortricidi; citando come di notevole importanza zoogeografica la presenza di *Argyroploce doubledayana* Barrett, conosciuta fino a poco tempo prima soltanto nella Germania settentrionale, in Inghilterra e in Manciuria. L'Autore suppone che questa specie appartenesse a un nucleo che aveva saputo resistere ai grandi cambiamenti alimentari, e probabilmente floristici, subiti dall'antica area di diffusione.

Trascorsi 61 anni dalla pubblicazione del catalogo dei Lepidotteri d'Italia del Curò il risultato delle ricerche faunistiche ha quadruplicato il numero delle specie italiane, Mariani (1940-41) nel dare alle stampe il suo *Fauna Lepidopterorum Italiae*, catalogo ragionato dei

Lepidotteri d'Italia, scrive: "Pensai dunque che, se per ogni specie fosse considerato anche l'interesse che questa specie può avere per l'economia agricola nazionale, le specie di piante danneggiate, l'elemento faunistico che la specie rappresenta dal punto di vista zoogeografico, la località di raccolta, per regione d'Italia, e finalmente l'epoca di volo degli adulti – non si potrebbe desiderare di più da un semplice catalogo". Nell'opera risulta che le aree meglio studiate dagli entomologi del tempo erano state Trentino, Sardegna, Alpi Marittime, Liguria, il Piemonte, Lombardia, il Modenese, l'Emilia e la Sicilia. Per la superfamiglia Tortricoidea, divisa in Phaloniidae, Tortricidae ed Eucosmidae, figurano circa 450 specie - la gran parte delle quali conservate anche in seguito, solo alcune oggi messe in sinonimia con altre - e 49 generi.

DAL 1950 AL CATALOGO DEI LEPIDOPTERA TORTRICIDAE  
DELLA FAUNA ITALIANA DEL 2003

Le indagini faunistiche che coinvolgono i Tortricidi italiani trovano nuovo impulso dal 1950 al 1960, soprattutto per i lavori di KLIMESCH (1950), HARTIG e AMSEL (1951), HARTIG (1956, 1958, 1960), MARIANI e KLIMESCH (1957), ZANGHERI S. (1956, 1960).

Grazie all'aiuto del Museo di Storia Naturale della Venezia Tridentina, Klimesch nel 1950 ebbe ancora modo di studiare i Micro del Trentino, soffermandosi in particolare sulle specie minatrici (Stigmellidae, Lithocolletidae, Lyonetiidae, Coleophoridae ecc.). Secondo tale Autore la fauna trentina, nella quale fece figurare anche 74 tortricidi, era essenzialmente mista, caratterizzata dalla coesistenza di componenti alticoli e di valle, con elementi che le conferivano anche una *facies* boreoalpina.

Riferito allo stesso territorio, dopo pochi anni, venne alla luce un corposo lavoro diviso in tre parti di Hartig: *Prodromus dei Lepidotteri della Venezia Tridentina e delle regioni adiacenti* (1956) e *Microlepidotteri della Venezia Tridentina e delle regioni adiacenti* (1958 e 1960). Nell'opera complessiva sono elencate 1.862 specie di Microlepidotteri, delle quali ben 348 appartenenti ai Tortricidi, con varie entità segnalate per la prima volta nel nostro Paese.

Nel 1936 Hartig e Amsel si recarono nella parte centrale e meridionale della Sardegna. I risultati ottenuti vennero pubblicati con notevole ritardo solo nel 1951, "per le condizioni politiche che in quel decennio ostacolarono ogni lavoro scientifico", in *Lepidoptera Sardinica*, apparso su *Fragmenta Entomologica*, vi figurano 89 Tortricidi con la descrizione di alcune specie nuove per la scienza.

Durante la primavera del 1954 Mariani e Klimesch decisero di collaborare per redigere una seconda addenda al catalogo dei Lepidotteri di Sicilia. Poterono realizzare però il loro lavoro solo nel 1957, dopo il compimento degli studi di alcuni gruppi da parte di specialisti stranieri e che fosse pronta la descrizione delle specie nuove trovate. Vennero così ad aggiungersi alla prima addenda ancora 10 Tortricidi.

Per le regioni meridionali dell'Italia continentale,

sino a quel tempo purtroppo trascurate, o studiate essenzialmente da entomologi con interesse per i Macrolepidotteri, Sergio Zangheri (1956) pubblica i risultati delle indagini compiute sul Gargano negli anni 1953-1955 a cui unisce le notizie, fino ad allora note, sui Lepidotteri di quel territorio e delle Isole Tremiti, soffermando l'attenzione sulle specie a distribuzione Transadriatica; viene così citata la presenza complessiva di 25 Tortricidi. Ulteriori conoscenze sulla fauna del meridione ci vengono, a distanza di qualche anno, dallo stesso ZANGHERI (1960) con le raccolte compiute nella Penisola Salentina, sulle Murge Baresi e in numerose zone della Lucania, dai litorali jonico e tirrenico alle località più interne; i tortricidi citati in tale caso sono 31.

Negli anni successivi Klimesch (1963) studia la fauna dei Lepidotteri del Parco Nazionale Gran Paradiso, a cui avevano validamente già lavorato alcuni illustri entomologi italiani, e soprattutto il conte Emilio Turati, l'ing. Mario Simonetti, il dott. Attilio Fiori e Luigi Rocca fornendo anche dei materiali sui Macrolepidotteri al dott. Roger Verity per la sua grande opera sulle farfalle diurne d'Italia. Dal 24 giugno al 15 luglio, Klimesch assieme alla moglie prese alloggio a Cogne e nello spazio di tre settimane raccolse 287 Micro, tra i quali 29 Tortricidi.

A distanza di un anno, nelle Memorie del Museo Civico di Storia naturale di Verona, PARENTI (1962) pubblica un lavoro su *Microlepidotteri della Maielletta (Appennino Centrale)* nel quale elenca e discute le specie da lui raccolte dal 1950 al 1961 in una zona abruzzese che, dalla costa adriatica nei pressi di Pescara, giunge sino ai 1955 m/slm della Maielletta. Viene colmata così una lacuna nelle conoscenze della fauna microlepidotterologica appenninica e in particolare dell'Abruzzo, che era praticamente inesplorato. L'Autore illustra la distribuzione geografica di 332 lepidotteri, tra i quali 73 Tortricidi. Nel complesso, la fauna presa in esame appare caratterizzata da elementi a distribuzione europea, mentre bassa risulta la percentuale di specie mediterranee o eurosibiriche.

Spostandoci più a nord, con *Repertorio sistematico e topografico della Flora e Fauna vivente e fossile della Romagna*, Pietro Zangheri (1969) fornisce uno dei più autorevoli compendi naturalistici riferiti a una particolare area del nostro territorio. I Tortricidi elencati, divisi nelle famiglie Cochylidae e Tortricidae, sono 158, raggruppati in 67 generi; per ciascuna specie sono riportate la località di raccolta, le piante ospiti o le consociazioni vegetali in cui è stata rinvenuta. A questi tempi risalgono inoltre i ritrovamenti in Italia delle pericolose *Adoxophyes orana* (Fischer von Röslerstamm) e *Choristoneura lafauryana* (Ragonot) fitofaghe dannose a fruttiferi e fragola coltivata, nonché di *Epichoristodes acerbella* (Walker) nociva in floricoltura.

Alla fine degli anni settanta, Karl Burmann (1979), di Innsbruck, confortato dall'aiuto di illustri colleghi d'oltralpe, pubblica una nota in cui riporta i Tortricidi Laspeyresiini rinvenuti nel Tirolo: 90 specie, delle quali 67 presenti anche nel territorio italiano delle province di Bolzano e di Trento.

Passando al decennio successivo, nel 1983 Sergio Zan-

gheri da alle stampe *Sguardo sintetico sulla lepidottero-fauna della Foresta di Campigna*, dedicato alla memoria del padre Pietro, che studiò l'entomofauna della zona, una delle più belle e intatte dell'Appennino Tosco-Romagnolo. Le farfalle note ammontavano a oltre 750 specie - delle quali 290 microlepidotteri, in cui si rintracciano 71 Tortricidae e 13 Cochyliidae - gran parte entità alpine o centro-europee molto localizzate sull'Appennino.

Del 1989 è la pubblicazione dei risultati ottenuti da Triberti nelle sue ricerche riguardanti la biocenosi di Lepidotteri osservata nella Palude del Busatello, al confine tra Lombardia e Veneto. Dello stesso anno è anche il contributo di Bassi e Scaramozzino su alcuni interessanti reperti di Tortricidi del Piemonte con la descrizione di *Stenodes tiraculana*.

Dall'inizio degli anni 80, gli studi faunistici e sistematici riguardanti i Lepidoptera Tortricidae trovano attenzione nelle attività di ricerca realizzate dallo scrivente - prima presso l'Università degli Studi di Milano e l'Università della Tuscia in Viterbo, successivamente nell'Università del Molise - interessando vari territori italiani e stranieri.

Dalle indagini si elencano le specie raccolte nella parte collinare e montana dell'entroterra molisano sino al Matese (le segnalazioni sono 59) e quelle circoscritte al Parco Nazionale d'Abruzzo (un complesso di 36 specie) (TREMATERRA, 1987 e 1988). Più tardi vengono pubblicati i resoconti di studi sulla fauna della Val Fontana, nelle Alpi Retiche, che interessano 51 Tortricidi (TREMATERRA, 1990); i risultati di campagne di raccolta effettuate sul Massiccio del Pollino, con 54 entità, e sui Monti della Sila centro-settentrionale, per 89 specie (TREMATERRA, 1991a; TREMATERRA *et al.*, 1994a). Seguono un piccolo contributo alle conoscenze dell'Isola di Capraia e uno studio sulla fauna delle Alpi Orobie e delle aree montane adiacenti, comprendente un centinaio di specie (TREMATERRA, 1993a e 1995b).

Tra i microlepidotteri del Friuli-Venezia Giulia il collega ungherese Imre Fazekas (1996) annota 15 Tortricidae. Nella stessa regione, la fauna dei fiumi prealpini Meduna e Tagliamento studiata dall'austriaco Peter Huemer (1996) è ricca di 365 lepidotteri con 42 Tortricidi. Dello stesso periodo è da ricordare anche un contributo di Huemer e Trematerra (1992) che considera alcune entità poco note nel nostro Paese.

Nel 1995 viene pubblicato il fascicolo 85 della *Checklist delle specie della fauna italiana* in cui trovano ospitalità 603 Lepidoptera Tortricoidea (TREMATERRA, 1995a).

L'anno successivo, dopo l'esame del materiale raccolto da Giorgio Baldizzone (Asti), famoso esperto di Coleophoridae, viene stampato un lavoro riguardante gli elementi del Parco Naturale del Monte Avic e delle zone limitrofe, nelle Alpi Graie valdostane, con la identificazione di 92 Tortricidi (TREMATERRA, 1996a). Più avanti, grazie a una ulteriore collaborazione, si avvia uno studio pluriennale dedicato alle Alpi Marittime piemontesi, che ha consentito l'individuazione di oltre 150 specie, alcune delle quali di particolare interesse faunistico (TREMATERRA, 2005).

Nel 1999 Huemer e Erlebach descrivono *Pammene laserpitiana* raccolta nel versante meridionale delle Alpi, tra Bolzano e Verona. Nei dintorni di Monfalcone (Gorizia) Huemer (2000) designa alcuni esemplari come *Cochylimorpha halophilana adriatica*. Ancora nel bolzanese, sempre HUEMER (2001) realizza una valutazione ecologica delle comunità di lepidotteri presenti nel biotopo Lago di Caldaro elencando 389 specie, tra queste *Endothenia pullana* (Haworth) nuova per l'Italia e altri 54 Tortricidi.

Trematerra e Gentile (2002), contribuiscono ad analizzare gli aspetti faunistici e zoogeografici riguardanti i Tortricidi della Valle d'Aosta (con 218 specie censite) e del Piemonte (con 396 specie censite). *Epibactra sareptana*, nuova per l'Italia è segnalata in Val Curone, tra Piemonte e Lombardia (Trematerra e Nel, 2003).

Intanto, ad altri lavori, che trattano le entità presenti nei territori dell'Italia meridionale (TREMATERRA *et al.*, 1997) e centro-meridionale (TREMATERRA e GENTILE, 1998), si associano campagne di raccolta effettuate in aree a elevato valore naturalistico, come Pantano Longarini (Siracusa), dove vennero trovate poche specie ma di una certa rilevanza ecologica (TREMATERRA *et al.*, 1999). Le spedizioni entomologiche che hanno interessato la Riserva Naturale Orientata di Grotticelle di Monticchio, a Rionero in Vulture (Basilicata), con la segnalazione di 57 specie, hanno permesso di esaminare la zoogeografia della tortricofauna del luogo, caratterizzata anche dalla presenza di specie a gravitazione centroasiatica o turanica (TREMATERRA e GENTILE, 2001).

Nel mentre, i colleghi romani pubblicano una nota sui lepidotteri della Tenuta Presidenziale di Castelporziano, tra Ostia e Pratica di Mare (ZILLI *et al.*, 2001), in cui si elencano 60 Tortricidi, raccolti tra il 1994 e il 2001.

Un ulteriore contributo alle conoscenze dei Tortricidi arriva, negli anni, dalla revisione del materiale conservato nelle raccolte di vari entomologi o naturalisti italiani. Per il settentrione, sono state acquisite nuove informazioni dallo studio dei Cochylini della Collezione A. Fiori, tenuta nel Museo Civico di Storia naturale di Milano, che raccoglie 72 specie (TREMATERRA, 1991b), e dei Tortricidi della Collezione Antonio Curò, del Museo Civico di Storia Naturale di Bergamo, formata da 254 specie (TREMATERRA, 1993b). Si aggiunge l'esame della raccolta dell'Istituto di Entomologia agraria dell'Università di Bari, in gran parte realizzata da Paolo Parenzan, che ha consentito di catalogare varie entità interessanti e 25 specie nuove per la fauna meridionale (TREMATERRA *et al.*, 1997). Altre indicazioni utili alla conoscenza della biodiversità del nostro Paese sono state prese dai materiali tenuti nelle collezioni di Giorgio Baldizzone e di Umberto Parenti (Torino), come pure dalle raccolte realizzate da illustri lepidotterologi stranieri tra cui Peter Huemer (Innsbruck, Austria), Ole Karsholt (Copenaghen, Danimarca), Josef Klimesch (Linz, Austria) e Józef Razowski (Cracovia, Polonia).

All'inizio degli anni 90 le ricerche effettuate su Monti del Pollino e nelle aree adiacenti (tra Basilicata e Calabria) portarono alla descrizione di cinque entità nuove

per la scienza: *Isotrias martelliana*, *Cnephasia polliniana*, *Cnephasia zangheriana* e *Isotrias huemeri*, oltre a *Dichrorampha baixerasana*, presente anche in altri rilievi dell'Appennino centro-meridionale (TREMATERRA, 1990b, 1991c-d, 1993c).

Indagini successive, hanno portato alla scoperta di ulteriori *taxa* sconosciuti: *Lathronympha sardinica*, dai rilievi del Gennargentu (TREMATERRA, 1995c); *Cochylin sannitica*, dal Molise (TREMATERRA, 1995d); *Cochylinomorpha erlebachi* Huemer e Trematerra, dalle colline adiacenti il Lago di Garda e dalle Alpi occidentali francesi (HUEMER e TREMATERRA, 1997); *Cnephasia etnana* Razowski e Trematerra, raccolta nel 1949 dal conte Friedrich von Hartig sul Monte Etna (RAZOWSKI e TREMATERRA, 1999); *Pelochrista cannatana* Trematerra, dai Pantani di Vendicari (TREMATERRA, 2000).

A tali osservazioni se ne sommano altre, con la descrizione delle femmine di: *Dichrorampha alexandrea* Passerin d'Entrèves, dalle Alpi centrali (TREMATERRA, 1991f); *Isotrias joannisana* (Turati) trovata in varie località dell'Appennino centro-meridionale (TREMATERRA, 1991e); *Cydia johanssoni* Aarvik & Karsholt, raccolta in Puglia, (TREMATERRA e AARVIK, 1998); *Archicnephasia hartigi* Razowski, catturata in Basilicata e Calabria, ed *Eucosma gradensis* (Galvagni) scoperta alla foce del fiume Biferno (TREMATERRA e SCJARRETTA, 1999). Degni di nota sono anche i ritrovamenti di quattro specie nuove per la fauna europea: *Aterpia circumfluxana* (Cristoph), del lontano oriente, trovata nei dintorni di Trieste (TREMATERRA e HUEMER, 1994); *Aethes rubiginana* (Walsingham), nota in Algeria e Marocco, raccolta in Calabria e Sicilia, e *Osthelideriella amardiana* Obraztsov, dell'Iran settentrionale, catturata sul Pollino (TREMATERRA, 1999); *Cydia multi-striana* (Chrétien) presente in Marocco e Tunisia, rinvenuta a Pantano Longarini (TREMATERRA *et al.*, 1999).

Altro risultato positivo, frutto delle numerose indagini effettuate dal 1980 al 2002, è stata la segnalazione di una ventina di specie nuove per la fauna italiana, catturate in varie parti del territorio nazionale, con prevalenza per il centro-meridione. In ordine temporale, le specie interessate, oltre a quelle già ricordate, sono: *Cnephasia conspersana* Douglas; *Celypha striana* ssp. *obsoletana* Gibeaux; *Cydia internana* (Guenée); *Dichrorampha sedatana* Busck, 1906; *Hysterosia drenowsky* (Rebel); *Aphelia amplana* (Hübner); *Celypha rosaceana* (Schläger); *Dichrorampha eximia* Danilevsky; *Pammene albuginana* (Guenée); *Eana viardi* (Réal); *Pseudeulia asinana* (Hübner); *Strophedra weirana* (Douglas); *Eana joannis* (Schawerda); *Eucosma balatonana* (Osthelder); *Dichrorampha incognitana* (Kremky & Maslowski); *Pammene suspectana* (Lienig & Zeller); *Dichrorampha infuscata* (Danilevsky); *Aethes beatricella* (Walsingham); *Eucosma scorzonera* (Benander); *Phtheochroa fulvicinctana* (Constant); *Cydia vallesiaca* (Sauter); *Cnephasia hellenica* Obraztsov; *Aethes scalana* (Zerny), *Cydia trogodana* Pröse; *Endothenia pullana* (Haworth) (TREMATERRA, 1989, 1993d, 1995e, 1996b e 2001; TREMATERRA e GENTILE, 1998a e 2001; TREMATERRA e HUEMER, 1994; TREMATERRA e ROTUNDO, 1993; TREMATERRA e SCJARRETTA, 1997, 1998, 2000 e 2002).

Il *Catalogo Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana* (edito come supplemento al Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura) riporta 632 specie di Lepidotteri Tortricidae. Per ciascuna entità sono fornite informazioni su geonomia, corotipo, distribuzione in Italia, biologia e identificazione (TREMATERRA, 2003). Lo stesso anno in una missione a Pantelleria, vengono catturate *Cnephasia bizensis* Réal e *Cnephasia amseli* (D. Lucas), specie nuove per l'Italia e poco note anche per la fauna europea.

Nel 2005, contribuendo al lavoro coordinato da Giorgio Baldizzone dedicato a *I Microlepidotteri del Parco Naturale Alpi Marittime (Italia, Piemonte)* (Lepidoptera), si è avuta la possibilità di individuare 174 Tortricidi con la segnalazione di *Cydia vallesiaca* (Sauter) nuova per la nostra fauna (TREMATERRA 2005a). Sempre in Piemonte, nel Parco Naturale delle Capanne di Marcarolo (in provincia di Alessandria), sono state osservate 169 specie (TREMATERRA, 2013).

Ancora, nel 2004 Trematerra segnala 11 entità nuove per la fauna italiana, di provenienza varia. Per l'Italia settentrionale, HUEMER e TRIBERTI nel 2004 elencano i lepidotteri raccolti sul Monte Pastello (nei Lessini Occidentali, Prealpi Venete) annotando 119 entità. Altre poche segnalazioni sono in HUEMER *et al.* (2004); ancora, HUEMER e MORANDINI (2005) riportano i Tortricidi rintracciati negli habitat umidi di aree relitte in Friuli-Venezia Giulia, tra i 1314 lepidotteri rinvenuti in 18 siti Natura 2000, nei tortricoidi si annoverano 177 specie.

Mettendo assieme alcuni reperti inediti e i dati riportati in letteratura, Trematerra (2005b) realizza il *Repertorio faunistico dei Tortricidi della Sardegna*, le specie citate nell'Isola arrivano a 185, qualcuna segnalata per la prima volta sull'Isola.

Nel 2006 Manuela Pinzari, Mario Pinzari e Alberto Zilli raggruppano in una pubblicazione delle novità faunistiche, frutto di catture realizzate anche da altri colleghi, soprattutto da Carlo Prola, i reperti riguardano 167 specie, principalmente raccolti nelle regioni dell'Italia centrale e citano per la prima volta *Phtheochroa reisseri* (Razowski) e *Cydia conicolana* (Hylaerts). Quattro anni dopo gli stessi Autori elencano 287 Tortricidi esplorando, in provincia di Rieti, il Monte Cagno e differenti località confinanti (PINZARI M. *et al.*, 2010).

In una nota del 2007 Trematerra segnala alcune specie nuove per la fauna di vari Paesi dell'Europa meridionale. Due anni dopo dalle pendici dell'Etna, in un'area castanicola, numerosi frutti bacati portano allo sfarfallamento di adulti identificati, anche tramite l'analisi genetica, come la nuova *Pammene castanicola* Trematerra (TREMATERRA e CLAUSI, 2009).

Tra il 2014 e il 2015 sono stati studiati i Tortricidi presenti nelle collezioni del Museo Friulano di Storia Naturale (TREMATERRA e COLACCI, 2015), un elenco di 163 specie rintracciate nel tempo nel "Carso Classico" (Altopiano del Carso italiano e sloveno, 122 *taxa*) e nei territori limitrofi in Friuli Venezia Giulia e in Slovenia.

*Pammene purpureana* (Constant, 1888) è citata per la prima volta in Italia.

Gli elementi che in ordine di abbondanza partecipano alla costituzione della fauna dell'Altopiano sono: il contingente Oloartico e Paleartico (27,9%), l'Asiatico-Europeo (27%) e l'Europeo (13,9%).

Nel 2016 viene presa in esame la Collezione Usvelli, custodita presso il Museo Friulano di Storia Naturale (in Udine), il materiale si riferisce a una meticolosa raccolta, realizzata dal naturalista Adelmo Usvelli dal 1978 al 2005, a Badia della Valle, nell'Appennino Tosco-Romagnolo (in provincia di Firenze). Nella Collezione si sono identificate 215 specie, ma soprattutto è stato possibile annotare importanti informazioni sulla fenologia degli adulti riferita a quasi un trentennio, e segnalate tre specie nuove per la fauna italiana, *Lathronympha balearici* Diakonoff, *Lobesia anderegiana* (H-S) e *Eucosma agnatana* (Christoph) (TREMATERRA e COLACCI, 2016a, b). Dal punto di vista corologico in maggioranza gli elementi che partecipano alla costituzione della fauna di quella parte appenninica sono il contingente Asiatico-Europeo (26%), l'Oloartico e Paleartico (24,2%), l'Europeo (11,6%).

Baldizzone e Scalercio nel 2018 pubblicano i risultati di una settimana di raccolte di microlepidotteri, soffermandosi all'Aspromonte e alla foce della Fiumara

Amendolea, con la cattura di *Eana nervana* (de Joannis) non ancora citata in Italia. Nello stesso anno Trematerra e collaboratori (2018) pubblicano un lavoro dedicato ai Tortricidi rinvenuti in diverse spedizioni entomologiche effettuate in Calabria, con la segnalazione di 181 specie, molte delle quali al loro limite meridionale di distribuzione. Dominanti sono gli elementi forestali ad ampia distribuzione paleartica. Nelle stesse indagini vengono catturati anche alcuni individui di un nuovo taxon, descritto come *Cochylimorpha scalerciana* (TREMATERRA, 2019).

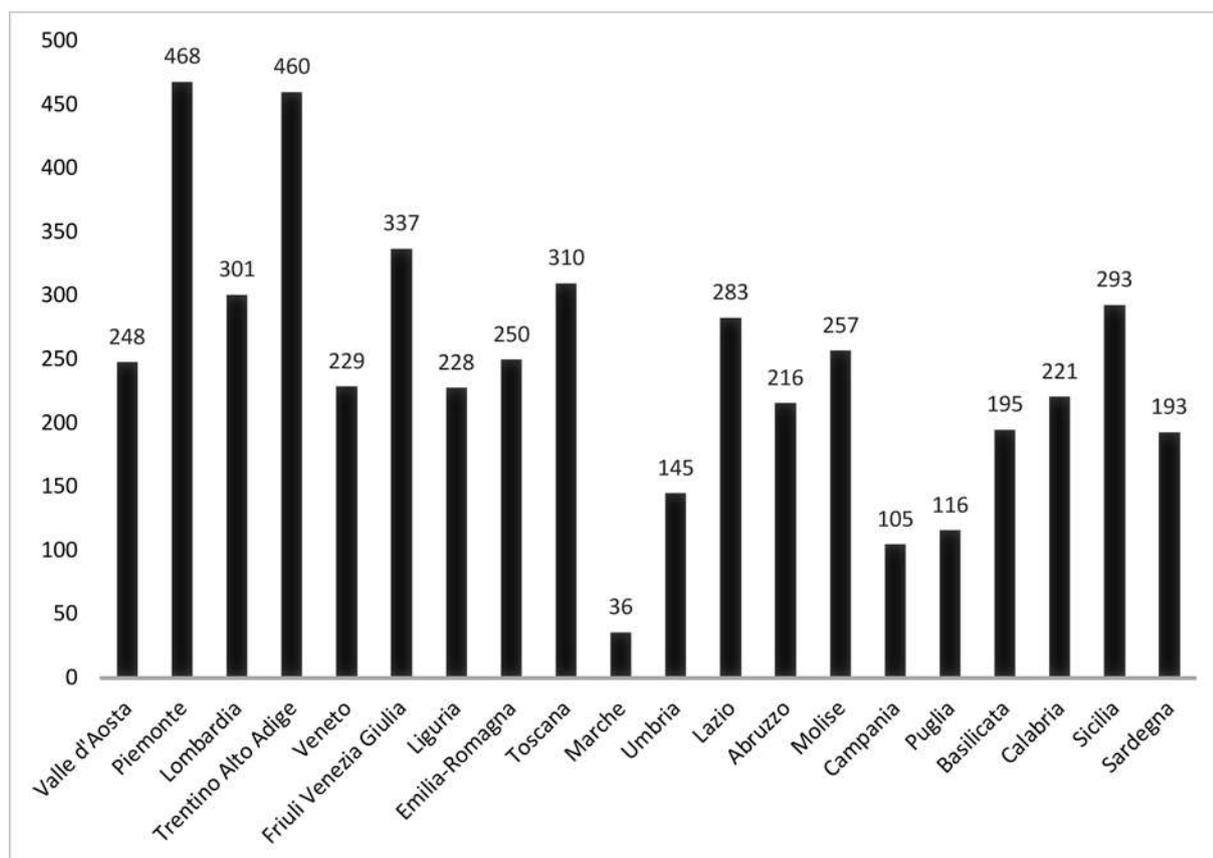
Nel 2020 Timossi fornisce un contributo alle conoscenze dei lepidotteri dell'area protetta di Bosco Nordia (Chioggia, Venezia) citando, tra l'altro, la presenza delle poco diffuse e interessanti *Cydia rymarczyki* Varenne e *Cydia sammuti* Diakonoff.

In una nota riassuntiva di aggiornamento al *Catalogo dei Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana*, nel 2020 Trematerra aggiunge al vecchio elenco 37 specie rintracciate in più parti del nostro territorio dal 2003 al 2020. A queste ultime, dopo due anni, si sommano altre 19 entità, frutto di raccolte realizzate da colleghi stranieri, essenzialmente dell'Europa centro-orientale, ed elencate in piattaforme elettroniche internazionali come Lepiforum.org o Fauna europaea (AARVIK, 2013; TREMATERRA, 2022).

Tabella I - Alcuni Entomologi che si sono dedicati allo studio dei Tortricidi italiani, con riferimento all'area geografica e al numero di specie citate.

Autore	Area Geografica	N. Specie
<b>Curò (1880)</b>	<b>Italia</b>	<b>366</b>
Turati E. (1879)	Lombardia	109
Minà-Palumbo & Failla-Tedaldi (1889)	Sicilia	113
Gianelli (1910),	Piemonte-Val d'Aosta	270
Della Beffa (1935)	Piemonte	213
Klimesch (1938)	Val Venosta	52
Mariani (1938)	Sicilia	184
<b>Mariani (1940-41)</b>	<b>Italia</b>	<b>450</b>
Amsel (1951), S	Sardegna	89
Hartig (1958-1960)	Venezia Tridentina	348
Parenti (1962)	Maielletta	73
Zangheri P. (1969)	Romagna	158
Burmann (1979)	Tirolo	67
Zangheri S. (1983)	Campigna	84
Zilli et al. (2001)	Castelporziano	60
<b>Trematerra (2003)</b>	<b>Italia</b>	<b>633</b>
Huemer e Triberti (2004)	M. Pastello, Veneto	119
Huemer e Morandini (2005)	Friuli-Venezia Giulia	177
Pinzari Man. et al. (2006)	M. Cagno, Lazio	168
Pinzari Man. et al. (2010)	Toscana Umbria Lazio Abruzzo	167
Zerunian et al. (2022)	Umbria	58
Trematerra, varie; Trematerra et al.	Varie località	-
<b>Trematerra (2023)</b>	<b>Italia</b>	<b>702</b>

Fig. 2 – Rappresentazione grafica della ripartizione geografica regionale dei lepidotteri Tortricidi italiani.



Continuando le indagini faunistiche iniziate da Sergio Zangheri, dedicate alle aree meridionali della Penisola, nel 2021 si segnalano 67 specie dal promontorio del Gargano tra le quali *Ancylis minimana* (Caradja) presente essenzialmente nel sud est europeo (TREMATERRA *et al.*, 2021a). Gli elementi rinvenuti a maggioranza hanno una distribuzione paleartica con prevalenza asiatico-europea e turanico-europea.

Recentemente, associando i risultati di campagne entomologiche varie e i reperti conservati nella collezione del collega siciliano Salvatore Bella, riferiti al Parco dell'Etna, ai Monti Iblei, ai Nebrodi e ai Peloritani, è stata redatta una lista di 155 specie con la citazione per la prima volta in Italia di *Phtheochroa ochralana* (Chrétien) e *Cydia magnesiae* Trematerra e Colacci, mentre *Fulvoclysia forsteri* Osthelder e *Tortricodes selma* Koçak sono risultate nuove anche per la fauna Europea (TREMATERRA *et al.*, 2021b). Nello stesso lavoro è stato inoltre possibile descrivere le femmine, non ancora note, di *Thiodia major* (Rebel) e *Pammene castanicola* (Trematerra). Gran parte del materiale è a distribuzione paleartica, ma anche turanica e asiatica-europea.

Nel 2022 viene descritta *Cydia murgiai* Morin e Nel, scoperta nella località Mela Murgia, da alcuni esemplari trovati in provincia di Cagliari, in Sardegna.

Nel 2023 Trematerra e collaboratori hanno inviato alle stampe un lavoro dedicato ai Tortricidi rintracciati sul Massiccio della Sila, in Calabria, in cui si raccolgono 90 specie e viene descritta *Ancylis silana* Trematerra.

A quanto riportato nelle pagine precedenti, sono an-

cora da aggiungere tre specie fitofaghe polifaghe, di recente intercettazione, la cui attività nel prossimo futuro potrebbe rivelarsi molto dannosa per l'agricoltura, non solo in Italia ma anche in altre aree nel sud Europa: *Platynota stultana* Walsingham, *Thaumatotibia leucotreta* (Meyrick) ed *Epiphyas postvittana* (Walker) (TREMATERRA e COLACCI, 2022; TREMATERRA, 2023).

Da ultimo, *Cnephasia kenneli* (Obraztsov), nuova per l'Europa, corotipo Indo-Mediterraneo, nel tardo 2022 è stata raccolta in un'area retrodunale molisana (TREMATERRA e COLACCI, 2023).

Concludendo, nel complesso, le conoscenze riferite ai Lepidoptera Tortricidae presenti sul territorio italiano consentono di stilare un elenco di 702 specie. La ricchezza della fauna nostrana è interessante, tuttavia è opportuno rilevare che molte aree, soprattutto collinari e litoranee, sono ancora poco esplorate o addirittura del tutto inesplorate. Ben vengano ulteriori indagini faunistiche e tassonomiche dedicate a questo gruppo di insetti.

#### RIASSUNTO

Si delinea un quadro storico riferito alle ricerche faunistiche effettuate in Italia che hanno interessato i Lepidoptera Tortricidae, una delle più numerose famiglie dei microlepidotteri. Le informazioni al riguardo, nel tempo, sono state frammentarie: la gran parte dei lavori pubblicati si riferisce infatti a specie di importanza agraria, relativamente limitate risultano invece le indagini fauni-

stiche e sistematiche. Tuttavia, vari entomologi stranieri hanno studiato la nostra fauna alpina, quella delle due isole maggiori e di altri luoghi di interesse turistico. Nel presente lavoro, partendo dalle 366 specie elencate nel *Saggio di un catalogo dei Lepidotteri d'Italia* a opera di Curò (1880), si passa al lavoro di Mariani (1940-41) *Fauna Lepidopterorum Italiae*. Campagne di raccolta successive agli anni 80 hanno contribuito a incrementare le conoscenze, infatti nella *Checklist delle specie della fauna italiana* di Trematerra (1995) e nel successivo *Catalogo dei Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana* (Trematerra, 2003), si arriva a elencare 633 specie. A queste si aggiungono i risultati di indagini più recenti dedicate a varie parti del territorio Italiano che portano a 702 le entità censite, uno dei Paesi più ricchi d'Europa.

KEY WORDS: Lepidoptera Tortricidae, fauna italiana.

#### BIBLIOGRAFIA

I principali riferimenti bibliografici dal 1880 al 2003, sono rintracciabili in:

- TREMATERRA P., 1995 - *Lepidoptera Tortricoidea*. In: Minelli A., Ruffo S. & La Porta S. (Eds.), Checklist delle specie della fauna italiana, 85. - Calderini, Bologna: 1-17
- TREMATERRA P., 2003 - *Catalogo dei Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana: geonomia, distribuzione in Italia, note biologiche, identificazione*. - Boll. Zool. agr. Bachic., ser II, 35 (suppl. 1): 1-270.

Principali riferimenti bibliografici dal 2003 al 2023

- AARVIK L.E., 2013 - *Fauna Europaea: Tortricidae*. In: Karsholt, O. & Nieuwenhuis, E.J. van (2013) *Fauna Europaea: Lepidoptera, Moths*. - Fauna Europaea version 2.6.2, <http://www.faunaeur.org>
- BALDIZZONE G., SCALERCIO S., 2018 - *Contributo alla conoscenza dei microlepidotteri dell'Aspromonte (Lepidoptera)*. - Boll. Soc. Ent. It., 150: 55-79.
- BROWN J.W., 2005 - *Tortricidae (Lepidoptera)*. In: *World Catalogue of Insects 5*. - Apollo Books, Stenstrup, 571 pp.
- GILLIGAN T.M., BAIXERAS J., BROWN J.W., 2023 - *Torts: Online World Catalogue of the Tortricidae (Ver. 4.0)*. <http://www.tortricid.net/catalogue.asp>.
- HUANG W., ZHANG C., ZHANG T., XU Y., XU S., TIAN L., LI H., CAI W., SONG F., 2023 - Features and evolution of control regions in leafroller moths (Lepidoptera: Tortricidae) inferred from mitochondrial genomes and phylogeny - *Int. J. Biol. Macromol.*, 236, 123928.
- HUEMER P., TRIBERTI P., 2004 - *Il Monte Pastello. I Lepidotteri*. - Mem. Museo Civico Storia Nat. Verona. Mon. Nat., 2: 177-208.
- HUEMER P., MORANDINI C., 2005 - *Habitat umidi in Friuli Venezia Giulia: biodiversità nei Lepidotteri di aree relitte*. - Gortiana, Atti Museo Friul. Storia Nat., 27: 137-226.
- HUEMER P., MORANDINI C., MORIN L., 2004 - *Nuove segnalazioni di Lepidotteri per la fauna italiana*. - GORTIANA, Atti Museo Friul. Storia Nat., 26: 261-274.
- MORIN L., NEL J., 2022 - *Descrizione di Cydia murgiai sp.n. scoperta in Sardegna (Italia)*. - Revue Ass. Rous. Entomol., Tome XXXI (1): 56-60.
- PINZARI E., PINZARI M., ZILLI A., 2006. - *Nuovi dati sui Tortricidi Italiani*. - Boll. Ass. Rom. Entomol., 61 (1-4): 53-101.
- PINZARI M., PINZARI M., ZILLI A., 2010 - *Deep Lepidopterological exploration of Mt Cagno and surroundings (Central Italy), a restricted mountain massif and hotspot for butterfly and moth diversity (Lepidoptera)*. - Boll. Ass. Rom. Entomol., 65 (1-4): 3-383.
- RAZOWSKI J., 2002 - *Tortricidae of Europe. Volume 1. Tortricinae and Chlidanotinae*. - Frantisek Slamka, Bratislava, 247. pp
- RAZOWSKI J., 2003 - *Tortricidae of Europe. Volume 2. Olethreutinae*. - Frantisek Slamka, Bratislava, 301 pp.
- RAZOWSKI J., 2008 - *Tortricidae (Lepidoptera) of the Palaearctic Region, Volume 1, Cochilini*. - Frantisek Slamka, Kraków-Bratislava, 152 pp.
- RAZOWSKI J., 2009 - *Tortricidae (Lepidoptera) of the Palaearctic Region, Volume 2, General Part and Tortricini*. - Frantisek Slamka, Kraków-Bratislava, 195 pp.
- TIMOSI G., 2020 - *Contributo alla conoscenza dei lepidotteri della Riserva Naturale Regionale Integrale "Bosco Nordio"*. - Lavori - Soc. Venez. Sc. Nat., 45: 5-29.
- TREMATERRA P., 2003 - *Cnephasia bizensis Réal, 1953, and Cnephasia amseli (D. Lucas, 1942) found in Italy, two Cnephasiini little known for the European fauna (Lepidoptera Tortricidae)*. - Redia, LXXXVI: 67-70.
- TREMATERRA P., 2003 - *Catalogo dei Lepidoptera Tortricidae della fauna italiana: geonomia, distribuzione in Italia, note biologiche, identificazione*. - Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, Ser. II, 35 (suppl. 1): 1-270.
- TREMATERRA P., 2004 - *Note su undici Lepidotteri Tortricidi nuovi per la fauna italiana*. - Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II, 36 (2): 221-228.
- TREMATERRA P., 2005a - *Tortricidae*. In: Baldizzone G. (ed.), *I Microlepidotteri del Parco Naturale Alpi Marittime (Italia, Piemonte) (Lepidoptera)*. - Boll. Mus. Reg. Sci. Nat. Torino, 22 (1) (2004): 141-202.
- TREMATERRA P., 2005b - *Repertorio faunistico e considerazioni zoogeografiche dei Tortricidi della Sardegna (Lepidoptera Tortricidae)*. - Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II, 37 (3): 169-178.
- TREMATERRA P., 2007 - *New records of Lepidoptera Tortricidae from Southern Europe*. - Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II, 39 (2): 113-120.
- TREMATERRA P., 2013 - *Tortricoidea, Tortricidae*. In: Baldizzone G, Cabella C., Fiori F., Varalda P.G. (eds.), *I Lepidotteri del Parco Naturale delle Capanne di Marcarolo*. - Memorie Ass. Nat. Piemontese, vol. XII: 117-144.

- TREMATERRA P., 2019 - *Description of Cochyylimorpha scalerciana sp.n. (Lepidoptera Tortricidae) from Calabria (Italy)*. - Redia, 102: 23-26.
- TREMATERRA P., 2020 - *Update to the "Catalogue of Lepidoptera Tortricidae of the Italian fauna" (2003-2020)*. - J. Entomol. Acarol. Res., 52 (2): 45-49.
- TREMATERRA P., 2022. - *New taxa for the Italian Lepidoptera Tortricidae fauna*. - J. Entomol. Acarol. Res., 54: 10419.
- TREMATERRA P., 2023 – *Thamatotibia leucotreta and Epiphyas postvittana found in Italy, invasive pests in Europe (Lepidoptera Tortricidae)*. - Bulletin of Insectology, 76 (2): 203-207.
- TREMATERRA P., CLAUSI M., 2009 - *Pammene castanicola sp.n. a new Lepidoptera Tortricidae from Sicily*. - Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II, 41 (2): 123-128.
- TREMATERRA P., COLACCI M., 2015 - *I Tortricidi del Friuli Venezia Giulia e della Slovenia nelle collezioni del Museo Friulano di Storia Naturale (Lepidoptera Tortricidae)*. - Gortania, Botanica, Zoologia, 36 (2014): 69-86.
- TREMATERRA P., COLACCI M., 2016a - *Four Olethreutinae new for the Italian fauna from Tuscan-Romagnol Apennines (Lepidoptera, Tortricidae)*. - J. Entomol. Acarol. Res., 48: 335-338.
- TREMATERRA P., COLACCI M., 2016b - *I Tortricidae della Collezione Usvelli (Lepidoptera)*. - Gortiana, Botanica, Zoologia, 37 (2015): 47-81.
- TREMATERRA P., COLACCI M., 2022 - *Platynota stultana Walsingham found in Italy, invasive pest in Europe (Lepidoptera Tortricidae)*. - Redia, 105: 183-189.
- TREMATERRA P., COLACCI M., 2023 – *Phtheochroa appenninana, Epinotia cinereana and Cydia indivisa not yet listed in the Italian fauna, Cnephasia kenneli new to Europe (Lepidoptera Tortricidae)*. – Redia, 106: 129-132.
- TREMATERRA P., GOGLIA L., COLACCI M. 2021a - *Faunistic notes on Lepidoptera Tortricidae of Gargano territory with recording of Ancyliis minimana (Caradja, 1916) new to Italy*. - Redia, 104: 45-53.
- TREMATERRA P., COLACCI M., GOGLIA L., BELLA S., 2021b - *Lepidoptera Tortricidae from Sicily with new taxa for Italian and European fauna and description of Thiodia major (Rebel) and Pammene castanicola Trematerra females*. - J. Entomol. Acarol. Res., 53: 10144.
- Trematerra P., Goglia L., Scalercio S., Colacci M., 2018 – *Lepidoptera Tortricidae from Calabria (southern Italy)*. - Redia, 101: 167-181.
- TREMATERRA P., SCALERCIO S., FUMO F., COLACCI M., 2023 - *Lepidoptera Tortricidae from the Sila Massif and surrounding territory (southern Italy) with description of Acleris silana sp. n.* - Redia, 106: 3-12.



SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE, 17 FEBBRAIO 2023

Tavola Rotonda su:

CHEMICAL ECOLOGY IN INSECT PARASITIDS

Coordinatori:

ERIC CONTI e

STEFANO COLAZZA



## CHEMICAL ECOLOGY OF EGG PARASITOIDS: WHAT'S KNOWN AND WHAT'S NEXT?

ERIC CONTI <sup>a</sup> - STEFANO COLAZZA <sup>b</sup>

<sup>a</sup> *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia*

<sup>b</sup> *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Forestali, Università degli Studi di Palermo*

Sintesi della lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "Chemical Ecology in Insect parasitoids". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 17 febbraio 2023.

Egg parasitoids are major regulators of insect populations and important agents of both classical and inundative biological control. Knowledge of their behaviour and ecology is important for species selection, risk assessment, breeding, successful application (CONTI *et al.*, 2004; VAN LENTEREN & BIGLER, 2009; MILLS, 2010; PERI *et al.*, 2018; CONTI *et al.*, 2021). Like all parasitic Hymenoptera, their survival and reproduction largely depend on their ability to exploit a wide array of different chemical signals during intraspecific and interspecific interactions. Depending on the physiological state, egg parasitoids use semiochemicals to communicate with conspecifics during competition and sexual behaviour, to locate food sources and shelters, to search host eggs for oviposition. Here we focus on interspecific interactions.

Like other parasitoids, egg associated species need and search for shelters and for nutrients such as nectar and honeydew. A recent paper (COLAZZA *et al.*, 2023) reviews the role of flowering plants as food sources for entomophages, including egg parasitoids. Hypothetically, naïve parasitoids foraging for floral resources are innately attracted toward common floral volatile compounds shared among different plant species. Then, through experience gained while foraging and rewarded by feeding (associative learning), parasitoids are expected to fine-tune their ability to specifically recognize suitable flowers. Remarkably, nectar-inhabiting microorganisms can modify some nectar traits, especially the sugar and amino acid profiles, with effects on parasitoid longevity and reproduction, and they can change floral odours by producing microbial volatile organic compounds, with effects on parasitoid olfactory responses to flowers.

Finding a suitable host is not an easy process for egg parasitoids, because eggs are minute, often concealed, and inactive with a very small biomass, thus the volatile cues they emit are quantitatively negligible, which makes them hardly detectable. In addition, host eggs are generally available during a short period of time due to rapid embryo development, so their quality for most parasitoid species decreases quite quickly after deposition. However, egg parasitoids have developed distinctive strategies to overcome these constraints and locate suitable hosts. Several species show the ability to exploit plant synomones that are induced by host egg deposition, which are potentially highly detectable because they can be emitted in high quantity due to the relatively large plant biomass. Additionally, these oviposition-induced synomones are highly reliable because they are directly related to the

presence of suitable host eggs (reviewed by COLAZZA *et al.*, 2010; HILKER & FATOUROS, 2015). Moreover, several species also exploit cues that are indirectly related to the host eggs, such as adult pheromones, allomones, chemical traces from stink bugs, or Lepidoptera scales. These stimuli are less reliable, but in general easily detectable because they are produced in significant amounts by non-host instars (VET & DICKE, 1992; COLAZZA *et al.*, 2010). A special strategy is shown by phoretic species which exploit adult instar of host to gain access to freshly laid eggs (GREENBERG *et al.*, 2023).

Parasitoid response to chemical cues depends on the taxonomic group and can change in time due to previous experience and resulting associative learning. Focusing on species of *Trissolcus* (Hymenoptera: Scelionidae), which include important biological control agents of highly invasive stink bugs, such as *Halyomorpha halys* Stål and *Nezara viridula* L. (Hemiptera: Pentatomidae), the parasitoid females seem to exploit a hierarchical sequence of diverse stimuli. Hypothetically, the sequence from furthest to closest might be: oviposition-induced plant synomones, which are apparently perceived from a medium-long distance; volatile kairomones from host adults; short-range kairomones (chemical traces) from host adults, perceived by parasitoid after alighting on plant; volatiles from eggs when getting very close; recognition kairomone when in contact with egg (CONTI & COLAZZA, 2012). However, when investigating *Trissolcus brochymenae* Ashmead versus *Murgantia histrionica* Hahn (Hemiptera: Pentatomidae) on cabbage plants, a slightly different sequence of cues is observed. *Trissolcus brochymenae*, which is not attracted in the olfactometer to induced plant volatiles, responds from a distance to host pheromones and allomones and then it shows an arrestment and intense searching behaviour on plants that contain host eggs. Then the sequence follows as for the other species on host traces, egg volatiles and egg contact cues. Oviposition by *M. histrionica* on cabbage plants results in a change of chemical profile on plant surface with combined emission of induced synomones. We hypothesized that volatiles are adsorbed by the plant epicuticular waxes and then partly released over time (CONTI *et al.*, 2010).

Emission of oviposition-induced synomones to recruit egg parasitoids can be considered as an indirect defence strategy evolved by plants. Interestingly, egg deposition by *H. halys* on faba bean plants also pre-activates direct defences, resulting in an increased expression of

plant's inhibitor of insect proteinase with reduction of body weight and size of *H. halys* nymphs feeding on such plants. This suggests that plants recognize *H. halys* oviposition as a warning signal and prime defences against future nymphal herbivory (RONDONI *et al.*, 2018).

The available information on egg parasitoid chemical ecology indicates important prospective for improvement of biological control. A first chance is field application of semiochemicals (kairomones and synomones) to recruit parasitoids, although a literature meta-analysis on this topic indicates a significant attraction of egg parasitoids on treated fields but no significant increase of parasitism (G. Rondoni and E. Conti, unpublished). While this might not be very encouraging, at least one aspect should be considered. In simplified agricultural landscapes two important resources for parasitoids, such as food and shelter, are often lacking. A starved parasitoid, deprived of energy, shows a reduction of fitness and host foraging activity. Therefore, in Conservation Biological Control, the use of flower strips and field margins with highly attractive and food rewarding plant species, for recruitment of natural enemies, is under consideration. Laboratory and field experiments show contrasting effects on egg parasitoid populations and biological control efficacy, depending on species and systems, and highlight that knowledge of the mechanisms is still limited (COLAZZA *et al.*, 2023).

Another important aspect is plant indirect defences, which need further investigations, with evaluation of cultivar performances and breeding of those expressing high levels of both indirect and direct resistance. Previous studies conducted in Brazil show that resistant soybean cultivars attracted a higher number of egg parasitoids, partly improving parasitism of *Euschistus eros* (Fabricius) (Hemiptera: Pentatomidae) (MICHEREFF *et al.*, 2015). In the future, use of new breeding technologies and genome editing should aim also at improving indirect plant resistance towards herbivores. Moreover, possible implementation of plant defence elicitors is also under evaluation. Applications of Cis-jasmone on soybean (VIEIRA *et al.*, 2013) and of *Trichoderma harzianum* Strain T22 on tomato plants (ALINÇ *et al.*, 2021) were effective in improving indirect and direct defences, respectively, but increasing of biological control efficacy has not been shown yet.

Hopefully, as a future prospective, classical, inundative or conservation biological control could be effectively integrated with application of semiochemicals and plant resistance elicitors, within organic farming or IPM, to improve egg parasitoid efficacy and pest management. However, effective and efficient integration of different complex strategies is not easy using conventional methods. This goal could be achieved through the development and implementation of digital decision support systems (DSS), automatic data collection devices, predictive tools based on mechanistic and machine learning algorithms that also consider the third trophic level.

In conclusion, knowledge of egg parasitoid chemical ecology is fundamental for a finely tuned planning

of biocontrol and IPM programmes. Acquired knowledge would help select effective biocontrol agents and improve risk assessment (BERTOLDI *et al.*, 2019), allowing to predict possible non-target effects under field conditions. Applied chemical ecology shows potential for improvement of egg parasitoid efficacy in the field, but strategies and techniques must be defined, including the combined use of smart technologies. Multidisciplinary research under laboratory and field conditions is still strongly needed.

KEY WORDS: Host selection, kairomone, synomone, Trichogrammatidae, Scelionidae, Mymaridae, biological control.

#### REFERENCES

- ALINÇ T., CUSUMANO A., PERI E., TORTA L., COLAZZA S., 2021 - *Trichoderma harzianum strain T22 modulates direct defense of tomato plants in response to Nezara viridula feeding activity.* - *Journal of Chemical Ecology*, 47: 455-462.
- BERTOLDI V., RONDONI G., BRODEUR J., CONTI E., 2019 - *An egg parasitoid efficiently exploits cues from a coevolved host but not those from a novel host.* - *Frontiers in Physiology*, 10: 746.
- COLAZZA S., PERI E., SALERNO G., CONTI E., 2010 - *Host searching by egg parasitoids: exploitation of host chemical cues.* In: *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*, Cònsoli F.L., Parra J.R.P., Zucchi R.A. Ed., Springer, Dordrecht, pp. 97–147.
- COLAZZA S., PERI E., CUSUMANO A., 2023 - *Chemical Ecology of Floral Resources in Conservation Biological Control.* *Annual Review of Entomology*, 2023. 68:13–29.
- CONTI E., AVILA G., BARRATT B., CINGOLANI F., COLAZZA S., GUARINO S., ... WAJNBERG E., 2021 - *Biological control of invasive stink bugs: Review of global state and future prospects.* - *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 169(1), 28-51.
- CONTI E., COLAZZA S., 2012 - *Chemical ecology of egg parasitoids associated with true bugs.* - *Psyche*, 2012: 651015.
- CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S. B., 2004 - *The role of host semiochemicals in parasitoid specificity: a case study with Trissolcus brochymenae and Trissolcus simoni on pentatomid bugs.* - *Biological Control*, 29(3): 435-444.
- CONTI E., SALERNO G., LEOMBRUNI B., FRATI F., BIN F., 2010. - *Short-range allelochemicals from a plant-herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid.* - *Journal of Experimental Biology*, 213(22): 3911-3919.
- GREENBERG L. O., HUIGENS M. E., GROOT A. T., CUSUMANO A., FATOUROS N. E., 2023 - *Finding an egg in a haystack: variation in chemical cue use by egg parasitoids of herbivorous insects.* - *Current Opinion in Insect Science*, 55: 101002.

- HILKER M., FATOUROS N.E., 2015 - *Plant Responses to Insect Egg Deposition*. - *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 493-515.
- MICHEREFF M. F., MICHEREFF FILHO M., BLASSIOLI-MORAES M. C., LAUMANN R. A., DINIZ I. R., BORGES M., 2015 - *Effect of resistant and susceptible soybean cultivars on the attraction of egg parasitoids under field conditions*. - *Journal of Applied Entomology*, 139(3): 207-216.
- MILLS N., 2010 - *Egg Parasitoids in Biological Control and Integrated Pest Management*. - In: *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*, Consoli F., Parra J., Zucchi R. Ed., *Progress in Biological Control*, vol 9, Springer, Dordrecht, pp. 389-411.
- PERI E., MOUJAHED R., WAJNBERG E., COLAZZA S., 2018 - *Applied chemical ecology to enhance insect parasitoid efficacy in the biological control of crop pests*. In: *Chemical ecology of insects*, Tabata J. Ed., CRC Press, pp. 234-267.
- RONDONI G., BERTOLDI V., MALEK R., DJELOUAH K., MORETTI C., BUONAURO R., CONTI E., 2018 - *Vicia faba plants respond to oviposition by invasive Halyomorpha halys activating direct defences against offspring*. - *Journal of Pest Science*, 91: 671-679.
- VAN LENTEREN J.C., BIGLER F., 2009 - *Quality Control of Mass Reared Egg Parasitoids*. In: *Egg Parasitoids in Agroecosystems with Emphasis on Trichogramma*, Consoli F., Parra J., Zucchi R. Ed., *Progress in Biological Control*, vol 9, Springer, Dordrecht, pp. 315-340.
- VET L.E.M., DICKE M., 1992 - *Ecology of infochemical use by natural enemies in a tritrophic context*. - *Ann. Rev. Entomol.*, 37: 141-172.
- VIEIRA C. R., MORAES M. C. B., BORGES M., SUJII E. R., LAUMANN R. A., 2013 - *Cis-Jasmone indirect action on egg parasitoids (Hymenoptera: Scelionidae) and its application in biological control of soybean stink bugs (Hemiptera: Pentatomidae)*. - *Biological Control*, 64(1): 75-82.



## NATURAL SELECTION ON BUTTERFLY SEX SCENTS BY EGG PARASITIDS AND IMPLICATIONS FOR BIOLOGICAL CONTROL

NINA E. FATOUROS <sup>a</sup>

<sup>a</sup>Biosystematics Group, Wageningen University, Wageningen, The Netherlands

E-mail: nina.fatouros@wur.nl

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Chemical Ecology in Insect parasitoids”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 17 febbraio 2023.

### SYNTHESIS OF LECTURE

Hymenopteran wasps that are specialized to parasitize eggs are one of the most common mortality factors in Hexapods. About half of all hexapod orders are attacked by such egg parasitoids, mostly known from orders that contain herbivorous species (FATOUROS *et al.*, 2020). To find minuscule eggs in complex environments, egg parasitoids commonly use an interplay between short- and long-range chemical cues emitted by the host and/or host plant (FATOUROS *et al.*, 2008; GREENBERG *et al.*, 2023). Two important long-range cues that have been identified for egg parasitoids are plant volatiles induced by herbivore egg deposition, so-called oviposition-induced plant volatiles (OIPVs) (HILKER e FATOUROS, 2015), and pheromones emitted by the adult host, sometimes used in combination with hitch-hiking on the latter (HUIGENS e FATOUROS, 2013). However, how and when a particular cue is

used varies, and a better understanding of this variability in egg parasitoid host-finding strategies is needed to further enhance the use of egg parasitoids in biological control of pest eggs (FATOUROS *et al.*, 2008; FATOUROS *et al.*, 2016).

We are studying minute *Trichogramma* wasps, the most used biological control agents worldwide, and their cabbage white butterfly hosts of the family Pieridae. Eggs of cabbage white butterflies have been shown to induce OIPVs in different *Brassica* species that attract different *Trichogramma* wasps (FATOUROS *et al.*, 2012; AFENTOULIS *et al.*, 2021). Moreover, previous research revealed that *Trichogramma* spies on their butterfly’s host anti-sex pheromones to subsequently hitch a ride on the female butterfly to egg-laying sites (FATOUROS e HUIGENS, 2012). Anti-sex pheromones or anti-aphrodisiacs are transferred from males to females to render females less attractive to conspecific males (ANDERSON *et al.*, 2003). A better understanding of whether *Trichogramma* egg parasitoids are selection factors on these *Pieris* butterfly anti-sex pheromones is needed for enhancing biological control.

To do so, we want to a) measure inter- and intraspecific variation in pheromones between and within butterfly species and differences in luring egg parasitoids, b) understand whether variation in pheromones is linked to local parasitoid selection pressure, c) understand whether there is genetic variation in response to pheromones, and d) identify whether laboratory selection on pheromone attraction leads to higher parasitism rates. Through a combination of behavioral tests, genetic analyses, fieldwork, and chemical analyses, we hope to improve our knowledge of host-finding strategies in these minute wasps. We are in need to find sustainable solutions for crops like cabbages that are cultivated in open fields where farmers largely depend on chemical control. The application of natural chemicals, such as insect pheromones, in combination with the selection of wasp genotypes that are attracted to them could be a sustainable and promising alternative to pesticides (GREENBERG *et al.*, 2023; PERI *et al.*, 2018).



Fig. 1 - *Trichogramma* egg parasitoid wasp hitch-hiking on a cabbage white butterfly (FATOUROS *et al.* 2020).

KEY WORDS: *Trichogramma*, pheromones, host location, plant volatiles, phoresy

REFERENCES

- AFENTOULIS D.G., CUSUMANO A., GREENBERG L.O., CAARLS L., FATOUROS N.E., 2021 - *Attraction of Trichogramma wasps to butterfly oviposition-induced plant volatiles depends on Brassica species, wasp strain and leaf necrosis*. - *Front. Ecol. Evol.*, 9.
- ANDERSSON J., BORG-KARLSON A.K., WIKLUND C., 2003 - *Antiaphrodisiacs in pierid butterflies: A theme with variation!* - *Journal of Chemical Ecology*, 29: 1489-99.
- FATOUROS N.E., HUIGENS M.E., 2012 - *Phoresy in the field: natural occurrence of Trichogramma egg parasitoids on butterflies and moths*. - *BioControl*, 57: 493-502.
- FATOUROS N.E., DICKE M., MUMM R., MEINERS T., HILKER M., 2008 - *Foraging behavior of egg parasitoids exploiting chemical information*. - *Behav. Ecol.*, 19: 677-89.
- FATOUROS N.E., LUCAS-BARBOSA D., WELDEGERGIS B.T., PASHALIDOU F.G., VAN LOON J.J.A., DICKE M., HARVEY J.A., GOLS R., HUIGENS M.E., 2012 - *Plant Volatiles Induced by Herbivore Egg Deposition Affect Insects of Different Trophic Levels*. - *PLoS One*, 7.
- FATOUROS N.E., CUSUMANO A., DANCHIN E.G.J., COLAZZA S., 2016 - *Prospects of herbivore egg-killing plant defenses for sustainable crop protection*. - *Ecology and Evolution*, 6: 6906-18.
- FATOUROS N.E., CUSUMANO A., BIN F., POLASZEK A., VAN LENTEREN J.C., 2020 - *How to escape from insect egg parasitoids: a review of potential factors explaining parasitoid absence across the Insecta*. - *Proc. R. Soc. B.*, 287: 20200344.
- GREENBERG L.O., HUIGENS M.E., GROOT A.T., CUSUMANO A., FATOUROS N.E., 2023 - *Finding an egg in a haystack: variation in chemical cue use by egg parasitoids of herbivorous insects*. - *Current Opinion in Insect Science*, 55: 101002.
- HILKER M., FATOUROS N.E., 2015 - *Plant responses to insect egg deposition*. - *Annu. Rev. Entomol.*, 60: 493-515.
- HUIGENS M.E., FATOUROS N.E., 2013 - *A hitch-hiker's guide to parasitism: The chemical ecology of phoretic insect parasitoids*. ' In: E. Wajnberg and S. Colazza (eds.), *Chemical Ecology of Insect Parasitoids* (John Wiley & Sons, Ltd.: West Sussex).
- PERI E., MOUJAHED R., WAJNBERG E., COLAZZA S., 2018 - *Applied Chemical Ecology to Enhance Insect Parasitoid Efficacy in the Biological Control of Crop Pests*. In: *Chemical Ecology in Insects, Plants, and Microbes—Interactions and Applications* (INRA: France).

## RUOLO DELL'ECOLOGIA CHIMICA PER LA GESTIONE DEGLI IPERPARASSITOIDI NEL CONTROLLO BIOLOGICO

ANTONINO CUSUMANO <sup>a\*</sup> - JEFFREY A. HARVEY <sup>b,c</sup> - MITCHEL E. BOURNE <sup>a†</sup> - JETSKE G. DE BOER <sup>b,d</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Entomology, Wageningen University, P.O. Box 16, 6700 AA, Wageningen, The Netherlands.

<sup>a</sup>Department of Terrestrial Ecology, Netherlands Institute of Ecology (NIOO-KNAW), Droevendaalsesteeg 1, 6708 PB, Wageningen, The Netherlands,

<sup>c</sup>VU University Amsterdam, Department of Ecological Sciences, Section Animal Ecology, De Boelelaan 1085, 1081 HV Amsterdam, The Netherlands

<sup>d</sup>Aeres University of Applied Sciences, Faculty Wageningen, Mansholtlaan 18, 6708PB, Wageningen, The Netherlands

\* *Indirizzo attuale: Department of Agricultural, Food, and Forest Sciences, University of Palermo, Palermo, Italy*

† *Indirizzo attuale: National Centre for Vector Entomology, Institute of Parasitology, Vetsuisse and Medical Faculty, University of Zürich, Zürich, Switzerland*

Corresponding Author: Antonino Cusumano; E-mail: antonino.cusumano@unipa.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "Chemical Ecology in Insect parasitoids". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 17 febbraio 2023.

### *Chemical ecology and hyperparasitoid management in biological control*

Hyperparasitoids are fourth-trophic level organisms which are ubiquitous in terrestrial food webs. There is increasing awareness that these natural enemies of parasitoid insects can interfere with biological control causing an increase of pest population densities, especially in greenhouse crops where augmentative biological control is used. Recent advances in the chemical ecology of hyperparasitoids may pave the way towards the manipulation of hyperparasitoid behavior to enhance biological control. In this manuscript, we propose to modify the behavior of hyperparasitoid insects through the use of chemical compounds (infochemicals) used in intra- and inter-specific communication. In particular, a "push-pull" strategy is discussed in order to remove (i.e. push) hyperparasitoids from agricultural crops and attract them (i.e. pull) into traps.

KEY WORDS: Push-pull, Infochemical-based strategies, Fourth trophic level organisms, Hyperparasitoid foraging, Multitrophic interactions, Herbivore-induced plant volatiles

### INTRODUZIONE

Gli insetti iperparassitoidi (o parassitoidi secondari), sono organismi appartenenti al quarto livello trofico i quali hanno come ospiti gli insetti parassitoidi. Questi organismi sono molto comuni nelle reti trofiche associate agli ecosistemi terrestri. Oltre agli iperparassitoidi "obbligati", ossia quelli che si sviluppano sempre a carico di parassitoidi, esistono anche gli iperparassitoidi "facoltativi", i quali possono sia svilupparsi a carico di un parassitoide primario oppure su un fitofago. Così come i loro ospiti parassitoidi, gli iperparassitoidi si distinguono in "ecto"-iperparassitoidi se si sviluppano all'esterno del corpo dell'ospite (anche se all'interno della mummia nel caso di iperparassitoidi associati agli afidi), e in "endo"-iperparassitoidi se si sviluppano all'interno del corpo dei loro ospiti parassitoidi (Fig. 1).

Gli iperparassitoidi mostrano notevoli adattamenti che consentono loro di utilizzare i parassitoidi come ospiti e, infatti, l'iperparassitismo è una strategia di grande successo: ad esempio alcuni parassitoidi sono attaccati da decine di specie di iperparassitoidi in natura (HOL-

LER *et al.*, 1993; KELLOGG *et al.*, 2003; HARVEY *et al.*, 2014) e possono falciare le popolazioni dei parassitoidi nel corso di poche generazioni (HOLLER *et al.*, 1993; SCHOOLER *et al.*, 2011). Di conseguenza, gli iperparassitoidi possono interferire con il controllo biologico degli insetti parassitoidi, in particolare in serra (controllo biologico aumentativo), ma anche in campo (controllo biologico classico) (MCDONALD e KOK, 1991; RHAINDS e MESSING, 2005). Attualmente non esiste una strategia valida di contenimento degli iperparassitoidi in agricoltura, e ciò è in parte dovuto a lacune nella ecologia degli iperparassitoidi. I primi studi sugli iperparassitoidi erano in gran parte descrittivi e si concentravano principalmente sulla caratterizzazione delle comunità di iperparassitoidi associate agli ospiti parassitoidi. Più recentemente sono stati compiuti notevoli progressi nel comportamento degli iperparassitoidi, in particolare sulla ricerca dell'ospite, processo principalmente guidato da segnali chimici (semiochimici o infochimici) (VÖLKL e SULLIVAN, 2000; BUITENHUIS *et al.*, 2005; ZHU *et al.*, 2015; CUSUMANO *et al.*, 2019). Mentre l'idea di manipolare gli iperparassitoidi per migliorare il controllo biologico è stata suggerita

più di due decenni fa (MICA *et al.*, 1993; GRASSWITZ, 1998), i recenti progressi nell'ecologia chimica rendono ora possibile sviluppare strategie concrete di contenimento degli iperparassitoidi.

Sebbene i volatili delle piante indotti dall'attacco dei fitofagi (HIPVs) siano noti per essere segnali chimici chiave per la ricerca dell'ospite da parte dei parassitoidi associati ai fitofagi (MUMM e DICKE, 2010), poche sono le

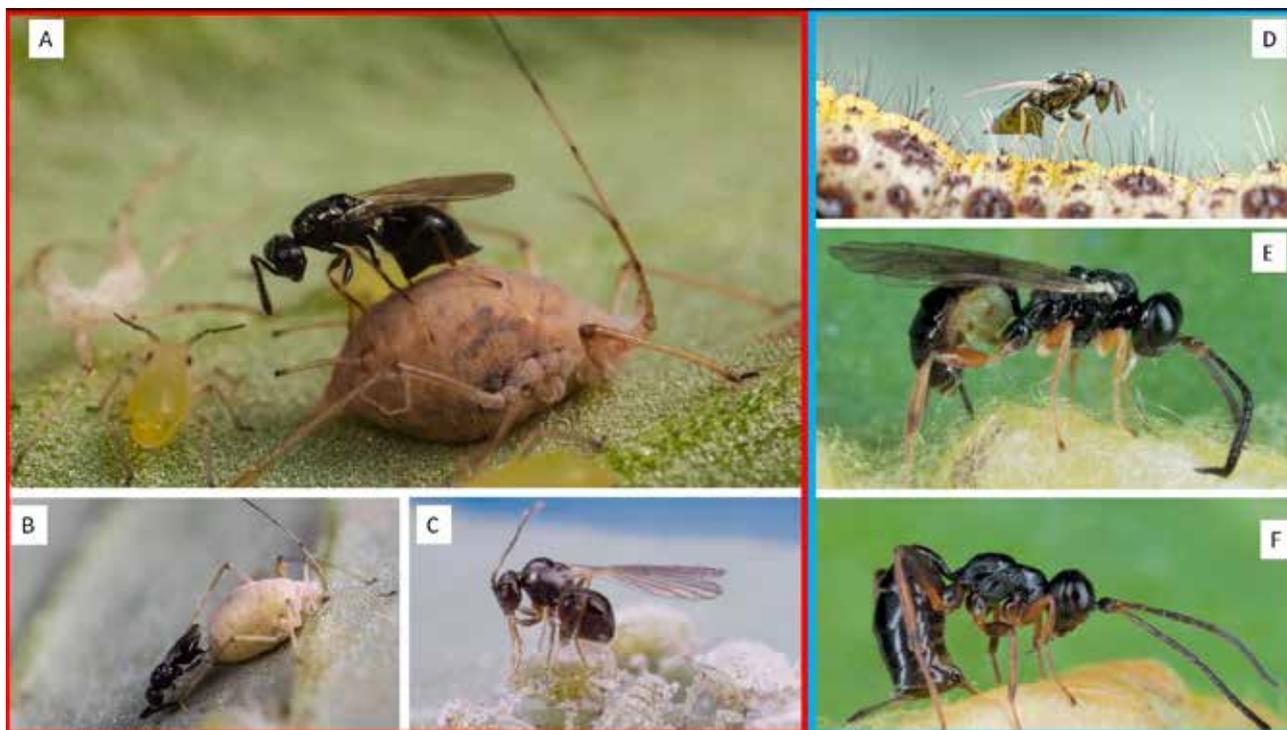


Fig. 1 - Esempi di iperparassitoidi obbligati (riquadro rosso: iperparassitoidi associati agli afidi; riquadro blu: iperparassitoidi associati ai bruchi). A) *Asaphes vulgaris* (Hymenoptera: Pteromalidae), foto di Nina Fatouros; B) *Dendrocerus aphidum* (Hymenoptera: Megaspilidae) foto di Nina Fatouros; C) *Alloxysta* sp. (Hymenoptera: Figitidae) foto di Hans Smid; D) *Baryscapus galactopus* (Hymenoptera: Eulophidae) foto di Hans Smid; E) *Lysibia nana* (Hymenoptera: Ichneumonidae) foto di Tibor Bukovinszky; F) *Gelis agilis* (Hymenoptera: Ichneumonidae) foto di Tibor Bukovinszky.

In questo lavoro vengono illustrate le conoscenze attuali sull'ecologia chimica degli iperparassitoidi trattando in particolare (1) gli infochimici potenzialmente utili per manipolarne il comportamento e (2) possibili strategie di gestione degli iperparassitoidi basate sugli infochimici, quali la strategia "push-pull". È possibile prevedere che tali strategie abbiano maggiori chances di successo nelle colture in serra rispetto al pieno campo, a causa dei vantaggi derivanti dall'operare in ambienti confinati e in condizioni ambientali controllate. Per ulteriori informazioni sull'ecologia dei parassitoidi obbligati si rimanda a CUSUMANO *et al.*, (2020); POELMAN *et al.*, (2022).

#### INFOCHIMICI UTILIZZATI DAGLI IPERPARASSITOIDI

Gli infochimici vengono utilizzati dagli insetti nella ricerca del partner, dell'ospite o del cibo e i (blend) composti chimici che guidano questi processi possono essere potenzialmente utilizzati per manipolare il comportamento degli iperparassitoidi (Fig. 2). Gli infochimici possono avere origini diverse e possono mediare sia le interazioni tra gli iperparassitoidi e altri organismi come segnali interspecifici (ad esempio composti volatili emessi dalle piante o segnali associati a fitofagi parassitizzati), sia le interazioni intraspecifiche (feromoni).

specie note di iperparassitoidi in grado di rispondere agli HIPVs. *Lysibia nana*, un ecto-iperparassitoide specifico di parassitoidi del genere *Cotesia*, preferisce gli HIPVs emessi da piante di cavolo attaccate da bruchi parassitizzati rispetto ai volatili emessi in risposta all'attacco di bruchi non parassitizzati (POELMAN *et al.*, 2012). La composizione chimica del blend di HIPVs cambia a seconda dello stato di parassitizzazione del fitofago, consentendo agli iperparassitoidi di localizzare i loro ospiti. È interessante notare che l'attrazione degli HIPVs da parte di *L. nana* avviene indipendentemente dall'identità dei fitofagi in cui si sviluppano le larve del parassitoide *Cotesia glomerata* (*Pieris brassicae* o *P. rapae*), dimostrando che l'influenza del parassitoide prevale sull'identità del fitofago in questo sistema multi-trofico (ZHU *et al.*, 2015; CUSUMANO *et al.*, 2019). Mentre gli HIPVs emessi in risposta all'attacco di fitofagi parassitizzati rappresentano segnali affidabili per la ricerca dell'ospite da parte di iperparassitoidi associati ai lepidotteri, al momento non esistono studi che dimostrino come tali stimoli chimici siano utilizzati dagli iperparassitoidi associati agli afidi, molti dei quali sono fitofagi di notevole interesse agrario. Studi futuri dovrebbero essere condotti in modo da verificare se l'utilizzo di HIPVs è ristretto agli iperparassitoidi associati ai lepidotteri, oppure se tale fenomeno esista an-

che per gli iperparassitoidi associati agli afidi, ipotesi più probabile anche se attualmente non dimostrata.

Studi che mettano in evidenza come gli iperparassitoidi utilizzino, durante il processo di localizzazione dell'ospite, infochimici derivanti dai fitofagi sono noti sia per gli iperparassitoidi associati ai bruchi che per quelli associati agli afidi. Ad esempio, l'endo-iperparassitoide *Baryscapus galactopus* utilizza gli odori corporei del fitofago per discriminare tra i bruchi non parassitizzati e quelli in cui si stanno sviluppando le larve dei parassitoidi ospiti (ZHU *et al.*, 2014). L'endo-iperparassitoide *Alloxysta victrix* risponde fortemente agli estratti apolari di afidi parassitizzati, mentre gli afidi non parassitizzati evocano risposte deboli. Ciò suggerisce che i composti apolari, quali gli idrocarburi cuticolari, possono essere coinvolti nel riconoscimento, da parte dell'iperparassitoide, degli afidi di *Myzus persicae* parassitizzati dall'ospite *Aphidius colemani* (GRASSWITZ, 1998).

in presenza della melata emessa dagli afidi (BUDENBERG, 1990; GRASSWITZ, 1998). Gli infochimici della melata sembrano avere un certo grado di specificità poiché alcune specie di iperparassitoidi non rispondono alla melata prodotta dalle cocciniglie, i quali sono fitofagi non-ospiti per i parassitoidi primari (BUITENHUIS *et al.*, 2004). Tuttavia, gli iperparassitoidi non sono in grado di discriminare tra la melata prodotta dagli afidi parassitizzati e quella prodotta da afidi non parassitizzati (BUITENHUIS *et al.*, 2004). L'importanza degli infochimici della melata nella gestione degli iperparassitoidi è quindi probabilmente limitata, rispetto a segnali più specifici come i composti cuticolari o gli HIPVs, questi ultimi hanno l'ulteriore vantaggio di essere percepiti su larga scala.

I feromoni sono un altro gruppo di infochimici potenzialmente interessanti per la gestione degli iperparassitoidi. I composti feromonalari per definizione regolano la comunicazione intraspecifica e sono importanti negli

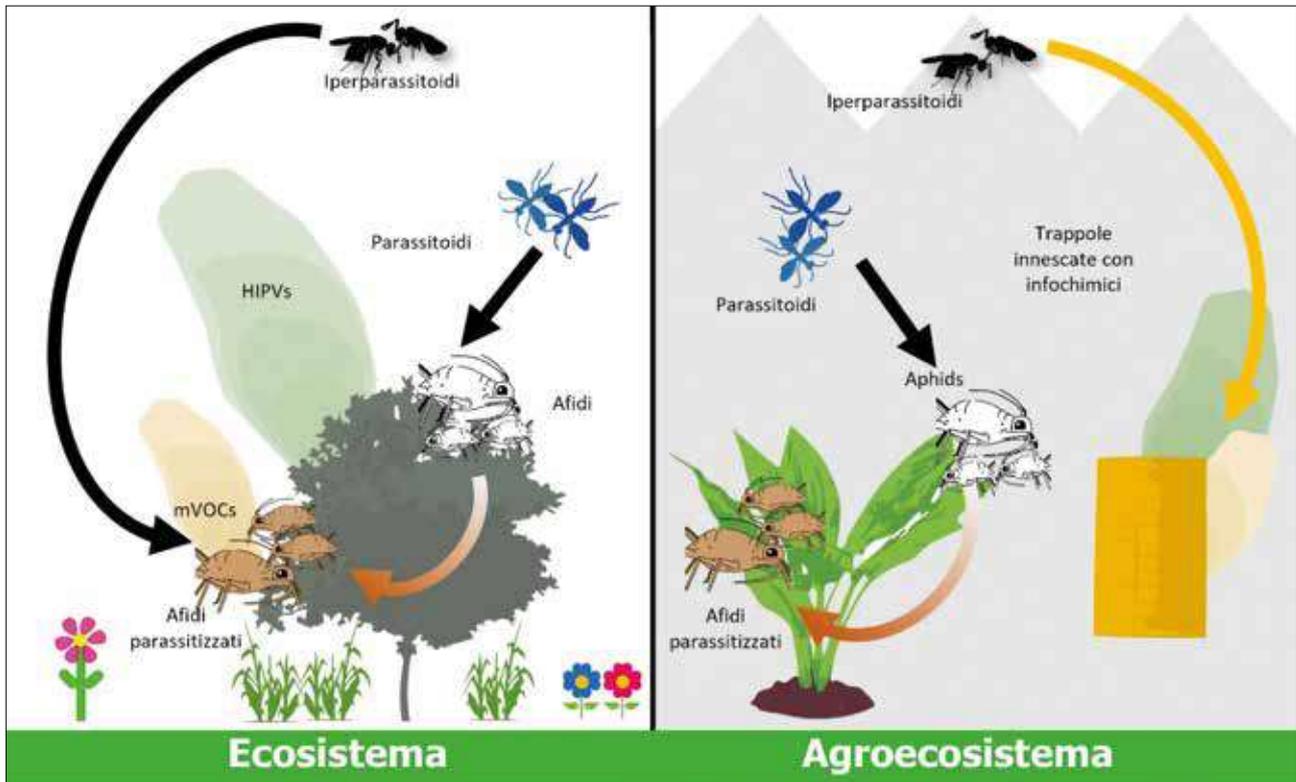


Fig. 2 - Processo di localizzazione degli ospiti da parte degli iperparassitoidi. A) In condizioni naturali, gli iperparassitoidi localizzano i loro ospiti parassitoidi utilizzando segnali chimici di origine vegetale (HIPVs) e segnali chimici associati ai fitofagi parassitizzati. B) Nell'agroecosistema, gli stessi infochimici potrebbero essere utilizzati nelle strategie di gestione degli iperparassitoidi per allontanarli dai fitofagi parassitizzati e attrarli verso dispositivi di attrazione quali trappole adesive. HIPVs = Volatili delle piante indotti dall'attacco dei fitofagi, mVOC = Composti organici volatili di origine microbica (Modificato da Cusumano *et al.*, 2020).

La melata, un prodotto di scarto degli afidi e di altri insetti fitomizi, può anche essere utilizzata dagli iperparassitoidi per localizzare l'ospite. La melata è una preziosa fonte di cibo che può prolungare la longevità delle specie iperparassitoidi dei generi *Asaphes* e *Dendrocerus* (DE BOER *et al.*, 2019), ma può anche indicare la presenza di ospiti di iperparassitoidi. Infatti, gli iperparassitoidi degli afidi di diverse famiglie (Megaspilidae, Alloxystidae, Encyrtidae) esibiscono un comportamento di arresto

insetti per la ricerca e il riconoscimento del partner, per l'aggregazione, per la marcatura di aree precedentemente visitate, e per prevenire il superparassitismo. Esiste una vasta letteratura sui feromoni dei fitofagi, in particolare dei lepidotteri (JACOBSEN, 1972; WITZGALL *et al.*, 2010; HANKS e MILLAR 2016), mentre sono meno noti i feromoni di insetti carnivori. Tuttavia, le informazioni limitate disponibili sugli iperparassitoidi sembrerebbero illustrare una certa complessità della comunicazione

intraspecifica, almeno in alcune specie. L'afide iperparassitoide *Alloxysta victrix* produce un feromone sessuale volatile il cui composto principale, 6-metil-5-epten-2-one (MHO, noto anche come sulcatone), sembra agire come un feromone sessuale e di distanziamento (MCHA *et al.*, 1993). Sorprendentemente, non ci sono prove che l'MHO svolga un ruolo nella comunicazione intraspecifica nella specie strettamente imparentata *Alloxysta brevis* (VÖLKL *et al.*, 1994). Sebbene l'(E)- $\beta$ -farnesene sia un noto feromone d'allarme per gli afidi, questo composto è risultato attrattivo per l'afide iperparassitoide *A. victrix* (SIRI, 1993), dimostrando – in alcuni iperparassitoidi – la capacità di intercettare la comunicazione feromonale tra altri organismi.

Infine, è noto che i composti organici volatili di origine microbica (mVOC) possono fungere da infochimici negli insetti (DAVIS *et al.*, 2013). La manipolazione della comunicazione chimica tra insetti e microrganismi potrebbe rappresentare una nuova frontiera per controllare i fitofagi in agricoltura (BECK e VANNETTE, 2017). Sfortunatamente, non si sa molto sul ruolo dei composti organici volatili di origine microbica (mVOC) nell'ecologia chimica degli organismi associati al quarto livello trofico. A tal proposito le ricerche future dovrebbero chiarire se gli mVOC costituiscano segnali affidabili per gli iperparassitoidi durante la ricerca del partner e/o dell'ospite e se tali composti chimici possano essere impiegati per sviluppare strategie di gestione degli iperparassitoidi.

#### LA STRATEGIA PUSH-PULL PER LA GESTIONE DEGLI IPERPARASSITOIDI NEL CONTROLLO BIOLOGICO

Gli infochimici sono utilizzati con successo nel controllo biologico degli insetti fitofagi per il monitoraggio, la cattura massale o la confusione sessuale (PICKETT *et al.*, 1997; RODRIGUEZ-SAONA *et al.*, 2009; RODRIGUEZ-SAONA *et al.*, 2012). La maggior parte di queste strategie basate sugli infochimici fanno affidamento sui feromoni dei fitofagi bersaglio (WITZGALL *et al.*, 2010). I composti volatili emessi dalle piante, d'altro canto, sono stati utilizzati con maggior successo nelle strategie push-pull per manipolare il comportamento dei fitofagi e/o dei loro nemici naturali (KHAN *et al.*, 1997; COOK *et al.*, 2006; COOK *et al.*, 2007; PICKETT *et al.*, 2014; EIGENBRODE *et al.*, 2016).

Una strategia push-pull è una strategia a due fasi ove gli infochimici vengono usati per alterare il comportamento degli organismi bersaglio (i fitofagi o i loro nemici naturali) al fine di influenzarne la densità di popolazione nell'agroecosistema (COOK *et al.*, 2007). Quando l'organismo bersaglio è un insetto fitofago, composti repellenti o deterrenti vengono utilizzati per "allontanarlo" dalla coltura agraria di interesse (fase push) e contemporaneamente segnali attrattivi o stimolanti "attirano" il fitofago in altre aree quali ad esempio una trappola (fase pull). Nel caso dei parassitoidi, l'obiettivo della strategia push-pull è quello di combinare segnali chimici al fine di attirarli nella coltura di interesse dalle aree circostanti. L'implementazione push-pull ha in alcuni casi ottenuto successi considerevoli, ad esempio nella gestione delle piralidi

del mais e del sorgo nell'Africa sub-sahariana (KHAN e PICKETT, 2004). L'erba melassa, *Melinis minutiflora*, (componente push) emette composti quali (E)- $\beta$ -ocimene e (E)-4,8-dimetil-1,3,7-nonatriene con attività repellente nei confronti dell'ovideposizione delle piralidi (KHAN *et al.*, 1997). L'erba di Napier, *Pennisetum purpureum*, (componente pull) viene utilizzata come coltura trappola in quanto le piralidi sono stimolate ad ovideporre su questa pianta nonostante l'elevata mortalità larvale conseguente alla schiusura delle uova (KAHN *et al.*, 2006). Un notevole vantaggio di una strategia push-pull, rispetto alle strategie basate su un singolo infochimico, è quello di sfruttare gli effetti combinati delle componenti attrattive e repellenti, le quali spesso agiscono sinergicamente sul comportamento degli insetti (COWLES e MILLER, 1992; NALYANYA *et al.*, 2000; DURAIMURUGAN e REGUPATHY, 2005). Infatti, sia la componente push che quella pull potrebbero non essere sufficientemente efficaci quando agiscono singolarmente, specialmente quando le riposte comportamentali indotte non risultano essere abbastanza intense da modificare la densità di popolazione degli insetti bersaglio. In questo lavoro mettiamo in evidenza come la strategia push-pull possa anche essere utilizzata per ridurre la densità di popolazione degli iperparassitoidi negli appezzamenti agricoli, minimizzando l'impatto sugli insetti carnivori utili. Diversi infochimici possono essere combinati per allontanare gli iperparassitoidi dai loro ospiti parassitoidi (fase push) e contemporaneamente attirarli all'interno di trappole (fase pull). In alternativa, se un composto chimico (o miscela di composti) possiede sia capacità attrattive nei confronti degli iperparassitoidi che capacità repellenti nei confronti dei parassitoidi primari, può essere utilizzato per attirare selettivamente gli iperparassitoidi all'interno di trappole (Fig. 3). Questa strategia push-pull alternativa, è simile alla cattura massale convenzionale, con la differenza che gli infochimici utilizzati hanno una duplice funzione: attrattiva nei confronti degli iperparassitoidi e repellente nei confronti dei parassitoidi primari.

I feromoni degli iperparassitoidi sono particolarmente adatti come componente push. Ad esempio, i feromoni di marcatura esterna dell'ospite, utilizzati dagli iperparassitoidi per prevenire il superparassitismo o per delimitare aree precedentemente esplorate, potrebbero interferire con il comportamento di ricerca degli iperparassitoidi, camuffando i fitofagi parassitizzati in risorse già utilizzate. Pertanto, un feromone di marcatura potrebbe essere erogato nei punti di rilascio dei parassitoidi primari, utilizzati quali agenti di controllo biologico, per proteggere questi ultimi dall'attacco degli iperparassitoidi durante l'introduzione nella serra. Questa strategia potrebbe essere importante per i parassitoidi ospiti di *Dendrocerus* spp. e *Asaphes* spp., iperparassitoidi noti per attaccare le mummie di afidi contenenti al loro interno i parassitoidi primari (MITSUNAGA *et al.*, 2014; DE BOER *et al.*, 2019). Gli infochimici con un raggio d'azione più ampio rispetto ai feromoni di marcatura sarebbero ancora più adatti come prima linea di difesa contro l'attacco degli iperparassitoidi. Tuttavia, ad oggi, tali composti feromonalmente non

sono noti negli iperparassitoidi, probabilmente a causa del fatto che tali organismi del quarto livello trofico sono poco studiati da un punto di vista bio-etologico.

I feromoni sono applicati con successo nel monitoraggio e nella cattura massale di insetti fitofagi (WITZGALL *et al.*, 2010). Ad esempio, le femmine dei coleotteri cerambicidi producono un feromone di aggregazione che attrae sia maschi che femmine conspecifiche (HANKS e MILLAR, 2016). Tali feromoni risultano particolarmente

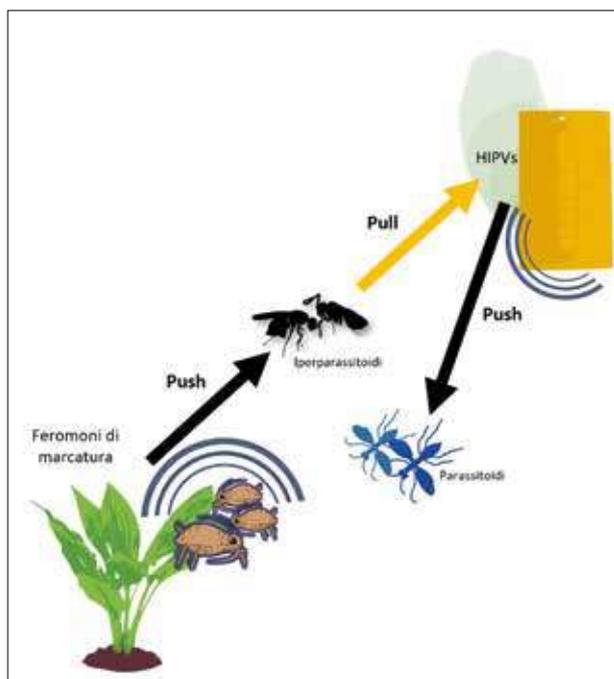


Fig. 3 - Possibile strategia push-pull in cui i feromoni di marcatura vengono utilizzati per allontanare gli iperparassitoidi dai fitofagi parassitizzati e gli HIPVs vengono utilizzati per attirare gli iperparassitoidi all'interno di trappole. Inoltre gli HIPVs emessi da piante attaccate da fitofagi parassitizzati hanno un effetto repellente nei confronti dei parassitoidi agenti di controllo biologico (Modificato da CUSUMANO *et al.*, 2020).

utili dal punto di vista applicativo perché agiscono su tutti gli individui della popolazione del fitofago. Sebbene non siano stati identificati feromoni di aggregazione negli iperparassitoidi, sono disponibili feromoni sessuali per le specie dei generi *Dendrocerus* e *Alloxysta*, ove i maschi sono attratti dalle femmine conspecifiche (MICHA *et al.*, 1993; SCHWORER *et al.*, 1999). I feromoni sessuali non sono adatti alla cattura massale, in quanto rimuoverebbero solo i maschi iperparassitoidi dalla coltura di interesse agrario, mentre tali infochimici potrebbero essere utilizzati nel monitoraggio con l'ausilio di trappole. Tuttavia, quando l'agente di controllo biologico viene attaccato da un complesso di iperparassitoidi, le trappole dovrebbero essere innescate con differenti composti feromonalmente. L'MHO, è un feromone sessuale in *Alloxysta victrix* altamente specifico perché tale composto chimico non risulta avere attività biologica nei confronti della specie congenerica *A. brevis* (MICHA *et al.*, 1993; VÖLKL *et al.*, 1994). Tuttavia, l'MHO induce la dispersione del

parassitoide di afidi *Aphidius uzbekistanicus*, interferendo quindi con l'efficienza di parassitizzazione di questo agente di controllo biologico (HOLLER *et al.*, 1994).

Gli HIPVs sono di potenziale interesse per le strategie push-pull data la loro capacità di indurre risposte comportamentali sia negli iperparassitoidi che nei loro ospiti parassitoidi. Studi sulle brassicacee hanno dimostrato che i volatili delle piante emessi in risposta all'attacco di bruchi fitofagi parassitizzati attraggono gli iperparassitoidi (POELMAN *et al.*, 2012) ed agiscono anche da repellenti per i parassitoidi primari (FATOUROS *et al.*, 2005). Si ritiene che la repellenza dei parassitoidi nei confronti di questi HIPVs riduca la competizione intraspecifica e migliori l'efficienza di ricerca, in quanto i parassitoidi eviterebbero di visitare piante infestate da fitofagi già parassitizzati. Poiché gli HIPVs emessi in risposta a fitofagi parassitizzati attraggono selettivamente gli iperparassitoidi associati ai bruchi, è auspicabile una loro implementazione nei programmi di controllo biologico. Inoltre, poiché le trappole innescate con HIPVs attirano principalmente iperparassitoidi femmine, è possibile prevedere che tali trappole possano portare ad un effettivo declino delle popolazioni di iperparassitoidi. Come illustrato precedentemente, altri infochimici inducono risposte comportamentali negli iperparassitoidi, ma poiché questi segnali (odori corporei di bruchi e idrocarburi cuticolari di afidi) sono percepiti a breve distanza, il loro valore applicativo è più limitato rispetto agli HIPVs, in quanto questi ultimi sono generalmente percepiti a distanze maggiori.

In conclusione, per controllare gli iperparassitoidi con strategie push-pull, sarebbe auspicabile combinare gli stimoli più promettenti attualmente disponibili (HIPVs come componente pull, feromoni come componente push) per ottenere molteplici finalità, quali: (a) protezione dei parassitoidi, il che è particolarmente importante quando lo stadio dell'agente di controllo biologico rilasciato nella coltura agraria è anche lo stadio suscettibile di attacco da parte degli iperparassitoidi; (b) attrazione degli iperparassitoidi adulti verso trappole innescate con infochimici; (c) repellenza dei parassitoidi primari nei confronti delle trappole innescate con gli stessi infochimici (Figura 3).

#### CONCLUSIONI E PROSPETTIVE FUTURE

Gli studi sull'ecologia chimica degli iperparassitoidi obbligati hanno evidenziato che questi organismi appartenenti al quarto livello trofico rispondono a una varietà di segnali chimici emessi sia dalle piante che dagli insetti. Tuttavia, al fine di utilizzare gli infochimici nelle strategie di gestione degli iperparassitoidi per il controllo biologico, è necessaria una comprensione più approfondita della loro ecologia chimica. Colmare questo gap di conoscenze sarà sia difficoltoso che stimolante, data la diversità tassonomica degli iperparassitoidi in grado di attaccare specie di parassitoidi utilizzati quali agenti di controllo biologico. Allo stato attuale poco si conosce sugli infochimici che potrebbero essere utilizzati come "push" al fine di "allontanare" gli iperparassitoidi dai loro ospiti parassitoidi.

Infatti, le informazioni attuali sull'ecologia chimica degli iperparassitoidi sono frammentarie e sparse in diversi sistemi biologici, rendendo difficoltose possibili generalizzazioni. In particolare, non è ancora chiaro se gli HIPVs svolgano un ruolo chiave nella ricerca dell'ospite da parte degli iperparassitoidi e di conseguenza quale sia il vero potenziale applicativo di tali infochimici per lo sviluppo di tecniche push-pull. Ad oggi, è ben noto infatti che gli iperparassitoidi associati ai bruchi di lepidotteri sono in grado di discriminare tra HIPVs indotti da fitofagi parassitizzati e non, ma resta da dimostrare se tale discriminazione esista anche negli iperparassitoidi associati agli afidi.

In futuro, la ricerca dovrebbe concentrarsi nell'identificare le molecole biologicamente attive nel processo di localizzazione degli iperparassitoidi, focalizzandosi in particolare sugli iperparassitoidi associati agli afidi perché questi ultimi sono spesso in grado di interferire nel controllo biologico in serra (BLOEMHARD *et al.*, 2014). Al fine di raggiungere tale obiettivo, una possibile road-map dovrebbe includere le seguenti fasi: (1) caratterizzazione chimica di miscele di composti coinvolte nelle risposte comportamentali (attrazione/repellenza) degli iperparassitoidi; (2) studi di elettro-antennografia (EAG) e/o test comportamentali con composti chimici di sintesi per selezionare un pool di infochimici da utilizzare in test successivi; (3) test in serra (o di campo) con composti candidati precedentemente selezionati, inclusa la valutazione dell'impatto su organismi non target, in particolare sui parassitoidi utilizzati come agenti di controllo biologico. Attualmente sono già stati identificati diversi composti con attività feromonale negli iperparassitoidi associati agli afidi e questi infochimici potrebbero già essere testati in serra (fase 3). Sfortunatamente, composti attrattivi quali l'MHO (già disponibile in commercio) inducono anche un effetto non-target di dispersione dei parassitoidi, ed è quindi necessaria un'attenta analisi per valutare se i vantaggi derivanti dall'uso di trappole innescate con MHO superino gli svantaggi derivanti da una potenziale riduzione dell'efficienza dei parassitoidi.

Lo sviluppo di strategie di gestione degli iperparassitoidi trova migliori possibilità applicative in ambienti confinati come le serre, sia dal punto di vista economico che biologico. In ambienti confinati, è stato dimostrato che gli iperparassitoidi possono causare l'estinzione di popolazioni locali di parassitoidi usati quali agenti di controllo biologico (SCHOOLER *et al.*, 2011). Lo sviluppo di metodi di controllo biologico efficienti è quindi necessario soprattutto nell'agricoltura protetta, considerando l'alto reddito di tali colture, la progressiva riduzione di pesticidi utilizzabili, ed i rischi a cui sono esposti gli agricoltori che operano in ambienti confinati (VAN LENTEREN, 2000). Inoltre, le condizioni ambientali sono molto più variabili in campo aperto che in serra, e tale variabilità può essere un serio ostacolo all'implementazione di strategie di successo basate sugli infochimici. In effetti, esiste una vasta letteratura che dimostra come i parassitoidi e altri artropodi carnivori vengano attratti dagli infochimici in condizioni di laboratorio, ma gli studi in campo sono limitati, con insuccessi spesso dovuti alla complessità degli agroecosistemi di pieno cam-

po (LEWIS *et al.*, 1979; GROSS, 1981; MEINERS e PERI, 2013; BRUCE *et al.*, 2015). In serra, l'uso di infochimici non è stata ancora presa in considerazione in un contesto di controllo biologico, perché l'attenzione degli agricoltori si è concentrata sui parassitoidi del terzo livello trofico i quali sono rilasciati in un ambiente confinato, quindi con pochi rischi di dispersione nelle aree circostanti (MESSELINK *et al.*, 2014). Tuttavia, la crescente consapevolezza che gli iperparassitoidi possono seriamente limitare l'efficacia dei parassitoidi usati nel controllo biologico, potrebbe aprire nuovi scenari per l'implementazione di infochimici nelle serre.

In conclusione, in futuro potrebbe essere possibile gestire gli iperparassitoidi in serra attraverso approcci sostenibili, ma sono ancora necessari studi al fine di sviluppare strategie efficaci di tipo "push-pull". In questo lavoro, abbiamo voluto delineare delle linee di ricerca che potrebbero portare all'implementazione di strategie eco-compatibili in ambienti agricoli confinati, specialmente quando gli iperparassitoidi interferiscono nel controllo biologico aumentativo basato sul rilascio di parassitoidi degli afidi.

#### RIASSUNTO

Gli iperparassitoidi sono insetti del quarto livello trofico ampiamente presenti nelle reti trofiche terrestri, tuttavia sono organismi poco studiati. Vi è una crescente consapevolezza che questi nemici naturali degli insetti parassitoidi possono interferire con il controllo biologico comportando un incremento della densità di popolazione dei fitofagi. Ciò è particolarmente evidente in ambienti confinati quali le colture in serra ove si utilizza il controllo biologico aumentativo. Attualmente non esiste una strategia eco-sostenibile efficace che possa essere utilizzata per controllare gli iperparassitoidi. I recenti progressi nell'ecologia chimica di questi insetti rappresentano delle opportunità per manipolare il comportamento degli iperparassitoidi e consentire un efficiente controllo biologico. In questo manoscritto, vengono proposte strategie per modificare il comportamento degli insetti iperparassitoidi attraverso l'utilizzo di composti chimici impiegati nella comunicazione intra- ed inter-specifica (infochimici). In particolare, viene discussa la strategia "push-pull" al fine di allontanare (= push) gli iperparassitoidi dalle colture agrarie ed attrarli (= pull) in delle trappole.

#### RINGRAZIAMENTI

Si ringrazia Erik H. Poelman (Wageningen University, Laboratory of Entomology) per le stimolanti discussioni sull'ecologia degli iperparassitoidi obbligati.

#### BIBLIOGRAFIA

BECK J.J., VANNETTE R.L., 2017 – *Harnessing insect-microbe chemical communications to control insect pests of agricultural systems*. - J. Agric. Food. Chem., 65: 23-28.

- BLOEMHARD C.M.J., VAN DER WIELEN M., MESSELINK G.J., 2014 – *Seasonal abundance of aphid hyperparasitoids in organic greenhouse crops in The Netherlands*. - IOBC-WPRS Bulletin, 102:15-19.
- BRUCE T.J.A., ARADOTTIR G.I., SMART L.E., MARTIN J.L., CAULFIELD J.C., DOHERTY A., SPARKS C.A., WOODCOCK C.M., BIRKETT M.A., NAPIER J.A., JONES H.D., PICKETT J.A., 2015 – *The first crop plant genetically engineered to release an insect pheromone for defence*. - Scientific Reports, 5:11183.
- BUDENBERG W.J., 1990 – *Honeydew as a contact kairomone for aphid parasitoids*. - Entomol. Exp. Appl., 55:139-148.
- BUITENHUIS R., MCNEIL J.N., BOIVIN G., BRODEUR J., 2004 – *The role of honeydew in host searching of aphid hyperparasitoids*. - J. Chem. Ecol., 30: 273-285.
- BUITENHUIS R., VET L.E.M., BOIVIN G., BRODEUR J., 2005 – *Foraging behavior at the fourth trophic level: a comparative study of host location in aphid hyperparasitoids*. - Entomol. Exp. Appl., 114: 107-117.
- COOK S.M., KHAN Z.R., PICKETT J.A., 2007 – *The use of push-pull strategies in integrated pest management*. - Ann. Rev. Entomol., 52: 375-400.
- COOK S.M., SMART L.E., MARTIN J.L., MURRAY D.A., WATTS N.P., WILLIAMS I.H., 2006 – *Exploitation of host plant preferences in pest management strategies for oilseed rape (Brassica napus)*. - Entomol. Exp. Appl., 119: 221-229.
- COWLES R.S., MILLER J.R., 1992 – *Diverting Delia antiqua (Diptera, Anthomyiidae) ovipositing with cull onions - Field studies on planting depth and a greenhouse test of the stimulo-deterrent concept*. - Environ. Entomol., 21: 453-460.
- CUSUMANO A., HARVEY J.A., DICKE M., POELMAN E.H., 2019 – *Hyperparasitoids exploit herbivore-induced plant volatiles during host location to assess host quality and non-host identity*. - Oecologia, 189: 699-709.
- CUSUMANO A., HARVEY J.A., BOURNE M.E., POELMAN E.H., DE BOER J.G., 2020 – *Exploiting chemical ecology to manage hyperparasitoids in biological control of arthropod pests*. - Pest Manag. Sci., 76: 432-443.
- DAVIS T.S., CRIPPEN T.L., HOFSTETTER R.W., TOMBERLIN J.K., 2013 – *Microbial volatile emissions as insect semiochemicals*. - J. Chem. Ecol., 39: 840-859.
- DE BOER J.G., SALIS L., TOLLENAAR W., VAN HEUMEN L. J.M., COSTAZ T.P.M., HARVEY J.A., KOS M., VET L.E.M., 2019 - *Effects of temperature and food source on reproduction and longevity of aphid hyperparasitoids of the genera Dendrocerus and Asaphes*. - BioControl; 64: 277-290.
- DURAIMURUGAN P., REGUPATHY A., 2005 – *Push-pull strategy with trap crops, neem and nuclear polyhedrosis virus for insecticide resistance management in Helicoverpa armigera (Hubner) in cotton*. - Am. J. Appl. Sci., 2: 1042-1048.
- EIGENBRODE S.D., BIRCH A.N.E., LINDZEY S., MEADOW R., SNYDER W.E., 2016 – *A mechanistic framework to improve understanding and applications of push-pull systems in pest management*. - J. Appl. Ecol., 53: 202-212.
- Fatouros N.E., Van Loon J.J.A., Hordijk K.A., Smid H.M., Dicke M., 2015 – *Herbivore-induced plant volatiles mediate in-flight host discrimination by parasitoids*. - J. Chem. Ecol., 31: 2033-2047.
- GRASSWITZ T.R., 1998 – *Contact kairomones mediating the foraging behavior of the aphid hyperparasitoid Alloxysta victrix (Westwood) (Hymenoptera: Charipidae)*. - J. Insect Behav., 11: 539-548.
- GROSS H.R., 1981 – *Employment of kairomones in the management of parasitoids*. In Semiochemicals: Their Role in Pest Control, ed. by Nordlund DA, Jones RL and Lewis WJ. John Wiley & Sons: New York, pp. 137-150.
- HANKS L.M., MILLAR J.G., 2016 – *Sex and aggregation-sex pheromones of cerambycid beetles: Basic science and practical applications*. - J. Chem. Ecol., 42: 631-654.
- HARVEY J.A., SNAAS H., MALCICKA M., VISSER B., BEZEMER T.M., 2014 – *Small-scale spatial resource partitioning in a hyperparasitoid community*. - Arthropod-Plant Interactions, 8: 393-401.
- HOLLER C., MICHA S.G., SCHULZ S., FRANCKE W., PICKETT J.A., 1994 – *Enemy-induced dispersal in a parasitic wasp*. Experientia, 50: 182-185.
- HOLLER C., BORGEMEISTER C., HAARDT H., POWELL W., 1993 – *The relationship between primary parasitoids and hyperparasitoids of cereal aphids: an analysis of field data*. - J. Anim. Ecol., 62: 12-21.
- JACOBSEN M., 1972 – *Insect sex pheromones*. Academic Press, New York.
- KHAN Z.R., AMPONG-NYARKO K., CHILISWA P., HASSANALI A., KIMANI S., LWANDE W., OVERHOLT W.A., PICKETT J.A., SMART L.E., WADHAMS L.J., WOODCOCK C.M., 1997 – *Intercropping increases parasitism of pests*. - Nature, 388: 631-632.
- KHAN Z.R., PICKETT J.A., 2004 – *The 'push-pull' strategy for stemborer management: a case study in exploiting biodiversity and chemical ecology*. In Ecological Engineering for Pest Management: Advances in Habitat Manipulation for Arthropods, ed. by Gurr GM, Wratten SD and Altieri MA. CABI: Wallington, Oxon, U.K., pp. 155-164.
- KHAN Z.R., MIDEGA C.A.O., HUTTER N.J., WILKINS R.M., WADHAMS L.J., 2006 – *Assessment of the potential of Napier grass (Pennisetum purpureum) varieties as trap plants for management of Chilo partellus*. - Entomol. Exp. Appl., 119: 15-22.
- KELLOGG S.K., FINK L.S., BROWER L.P., 2003 – *Parasitism of native luna moths, Actias luna (L.) (Lepidoptera: Saturniidae) by the introduced Compsilura concinnata (Meigen) (Diptera: Tachinidae) in central Virginia, and their hyperparasitism by trigonalid wasps (Hymenoptera: Trigonalidae)*. - Environ. Entomol., 32: 1019-1027.
- LEWIS W.J., BEEVERS M., NORDLUND D.A., GROSS H.R.J., HAGEN K.S., 1979 – *Kairomones and their use for management of entomophagous insects*. IX. Investi-

- gations of various kairomone treatment patterns for Trichogramma spp.* - J. Chem. Ecol., 5: 673-680.
- MCDONALD R.C., KOK L.T., 1991 – *Hyperparasites attacking Cotesia glomerata (L.) and Cotesia rubecula (Marshall) (Hymenoptera: Braconidae) in Southwestern Virginia.* - Biol. Control., 1: 170-175.
- MEINERS T., PERI E., 2013 – *Chemical ecology of insect parasitoids: essential elements for developing effective biological control programmes.* In Chemical ecology of insect parasitoids, ed. by Wajnberg E and Colazza S. Wiley-Blackwell: U.K., pp. 193–224.
- MESSELINK G.J., BENNISON J., ALOMAR O., INGEGNO B.L., TAVELLA L., SHIPP L., PALEVSKY E., WÄCKERS F.L., 2014 – *Approaches to conserving natural enemy populations in greenhouse crops: current methods and future prospects.* - BioControl; 59: 377-393.
- MICHA S.G., STAMMEL J., HOLLER C., 1993 – *6-Methyl-5-heptene-2-one, A putative sex and spacing pheromone of the aphid hyperparasitoid, Alloxysta victrix (Hymenoptera, Alloxystidae).* - Eur. J. Entomol., 90: 439-442.
- MITSUNAGA T., NAGASAKA K., MORIYA S., 2014 – *Development and parasitization of an aphid's secondary parasitoid, Dendrocerus laticeps (Hymenoptera: Megaspilidae), on Aphidius colemani (Hymenoptera: Braconidae).* - Appl. Entomol. Zool., 49: 511-518.
- MUMM R., DICKE M., 2010 – *Variation in natural plant products and the attraction of bodyguards involved in indirect plant defense.* - Can. J. Zool., 88: 628-667.
- NALYANYA G., MOORE C.B., SCHAL C., 2000 – *Integration of repellents, attractants, and insecticides in a "push-pull" strategy for managing German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) populations.* - J. Med. Entomol., 37: 427-434.
- PICKETT J.A., WADHAMS L.J., WOODCOCK C.M., 1997 – *Developing sustainable pest control from chemical ecology.* - Agric. Ecosyst. Environ., 64: 149-156.
- PICKETT J.A., WOODCOCK C.M., MIDEGA C.A.O., KHAN Z.R., 2014 – *Push-pull farming systems.* - Curr. Opin. Biotechnol., 26: 125-132.
- POELMAN E.H., BRUINSMAN M., ZHU F., WELDEGERGIS B.T., BOURSALT A.E., JONGEMA Y., VAN LOON J.J.A., VET L.E.M., HARVEY J.A., DICKE M., 2012 – *Hyperparasitoids use herbivore-induced plant volatiles to locate their parasitoid host.* - Plos Biology; 10: e1001435.
- POELMAN E.H., CUSUMANO A., DE BOER J.G., – *The ecology of hyperparasitoids.* – Annu. Rev. Entomol., 67: 143-161.
- RODRIGUEZ-SAONA C., BLAAUW B.R., ISAACS R., 2012 – *Manipulation of natural enemies in agroecosystems: habitat and semiochemicals for sustainable insect pest control.* In Integrated Pest Management and Pest Control: Current and Future Tactics, ed. by Larramendy ML and Soloneski S. InTech: Rijeka, Croatia, pp. 89-126.
- RODRIGUEZ-SAONA C.R., STELINSKI L.L., 2009 – *Behavior-modifying strategies in IPM: theory and practice.* In Integrated Pest Management: Innovation Development Process, ed. by Peshin R and Dhawan AK. Springer: Dordrecht, The Netherlands, pp. 263-315.
- RHAINDS M., MESSING R.H., 2005 – *Spatial and temporal density dependence in a population of melon aphid, Aphis gossypii Glover (Homoptera: Aphididae), on established and sentinel taro plants.* - Appl. Entomol. Zool., 40: 273-282.
- SCHOOLER S.S., DE BARRO P., IVES A.R., 2011 – *The potential for hyperparasitism to compromise biological control: Why don't hyperparasitoids drive their primary parasitoid hosts extinct?* - Biol. Control., 58: 167-173.
- SCHWORER U., VÖLKL W., HOFFMANN K.H., 1999 – *Foraging for mates in the hyperparasitic wasp, Dendrocerus carpenteri: impact of unfavourable weather conditions and parasitoid age.* Oecologia, 119: 73-80.
- SIRI N., 1993 – *Analysis of host finding behaviour of two aphid hyperparasitoids (Hymenoptera: Alloxystidae, Megaspilidae).* Christian-Albrechts University, Kiel, Germany, PhD thesis.
- VÖLKL W., HUBNER G., DETTNER K., 1994 – *Interactions between Alloxysta brevis (Hymenoptera, Cynipoidea, Alloxystidae) and honeydew-collecting ants - How an aphid-hyperparasitoid overcomes ant aggression by chemical defense.* - J. Chem. Ecol., 20: 2901-2915.
- VAN LENTEREN J.C., 2000 – *A greenhouse without pesticides: fact or fantasy?* Crop Prot., 19: 375-384.
- VÖLKL W., SULLIVAN D.J., 2000 – *Foraging behaviour, host plant and host location in the aphid hyperparasitoid Euneura augarus.* - Entomol. Exp. Appl., 97: 47-56.
- WITZGALL P., KIRSCH P., CORK A., 2010 – *Sex pheromones and their impact on pest management.* - J. Chem. Ecol., 36:80-100.
- ZHU F., WELDEGERGIS B.T., LHIE B., HARVEY J.A., DICKE M., POELMAN E.H., 2014 – *Body odors of parasitized caterpillars give away the presence of parasitoid larvae to their primary hyperparasitoid enemies.* - J. Chem. Ecol., 40: 986-995.
- ZHU F., BROEKGAARDEN C., WELDEGERGIS B.T., HARVEY J.A., VOSMAN B., DICKE M., POELMAN E.H., 2015 – *Parasitism overrides herbivore identity allowing hyperparasitoids to locate their parasitoid host by using herbivore-induced plant volatiles.* - Mol. Ecol., 24: 2886-2899.

## ROOT ELICITORS ALTERING THE BEHAVIOUR OF FORAGING PARASITIODS

EMILIO GUERRIERI <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Portici - Italia*

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "Chemical Ecology in Insect parasitoids". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 17 febbraio 2023.

### *Root elicitors altering the behaviour of foraging parasitoids*

Plants communicate through chemical signals, releasing and detecting messages for one another and their surroundings. It was previously demonstrated that uninfested *Vicia faba* (Fabaceae) plants maintained in the same pot together with plants infested by the pea aphids *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) became more attractive towards the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) than when placed in the same pot with healthy plants. Root exudates were collected from aphid infested plants using Solid-Phase Extraction (SPE) and both hydrophilic and lipophilic compounds were identified using bioassay-guided fractionation. Among the former, the non-protein amino acid L-DOPA, released from roots of *Acyrtosiphon pisum* aphid-infested *Vicia faba* plants, was found to be an active compound in triggering the production of VOCs released aboveground in uninfested plants responsible for the enhanced attractiveness towards the aphid parasitoid *Aphidius ervi*. The same positive effect on *Aphidius ervi* was recorded treating uninfested plants with three small lipophilic volatile compounds isolated from the exudates of aphid infested plants: 1-Octen-3-ol, Sulcatone and Sulcatol. Root released compounds add to the list of plant elicitors of direct and indirect defences and constitute a further sustainable tool for reducing the pesticide-dependency of modern agriculture.

KEY WORDS: Root exudates, hydrophilic compounds, lipophilic compounds, Aphids

### INTRODUCTION

Plant communication with other organisms mainly relies on the release of constitutive or stress-induced chemical signals that travel both through the air headspace or the soil matrix (KARBAN, 2008; ERB *et al.*, 2015). In the rhizosphere, comprising the complex soil environment in close contact with plant roots, plants contribute a steady production of root exudates, including ions, free oxygen and water, enzymes, mucilage, and a variety of other secondary metabolites. Once released, root exudates can function as signals regulating plant-microbe (BADRI & VIVANCO, 2009), plant-animal (JOHNSON & RASMANN, 2015) and plant-plant interactions (BAIS *et al.*, 2006). Belowground plant-plant communication has been proven to mediate key ecological interactions, such as competition and facilitation, in both natural and applied systems, and several molecules have been identified as key agents of chemical communication (VAN DAM & BOUWMEESTER, 2016).

Belowground signaling (and in turn the elicitors involved) is, under several circumstances, more efficient than aboveground signaling because: the information can travel via exudates (liquid state) and volatile compounds (gaseous state), the incidence of wind, temperature, humidity and UV radiation, is far less subject to high fluctuations in respect to aboveground. Belowground communication is also enhanced by the presence mycorrhizal fungi, whose mycelia constitute a large web generating multiple interactions (Fig. 1).

The ecological impact of root elicitors is far from be-

ing unveiled. However, an alert signal travelling belowground could amplify an individual response up to a set of neighbouring individuals. Nonetheless, this phenomenon is likely to require roots to grow in close proximity, as it is the case for an agricultural system, or within a

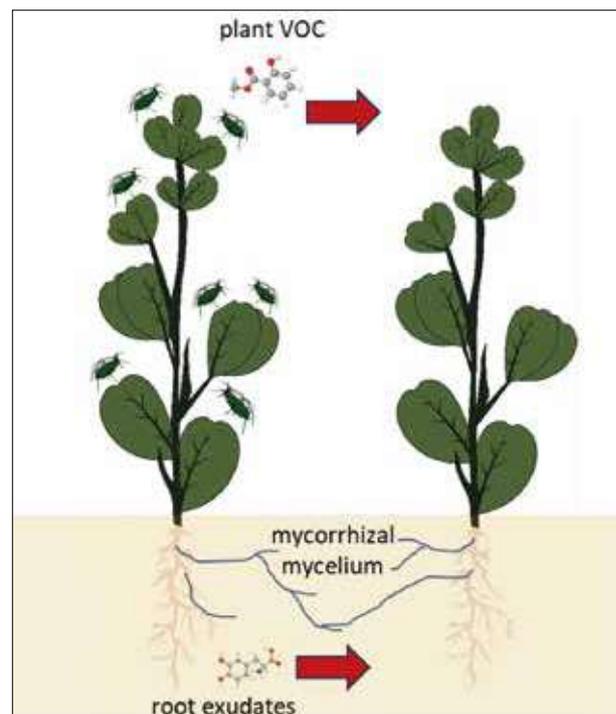


Fig. 1 - Schematic representation of plant-plant communication above and below ground.

grassland dominated by few plant species. Accordingly, a larger number of plant individuals warned against a sudden herbivore attack could be more efficient in facing it, by for instance attracting a large number of predators or parasitoids, than if only one individual would be sending the alert signal.

In a pioneering experiment conducted in hydroponic solution (Fig. 2), it was demonstrated that uninfested *Vicia faba* (Fabaceae) plants maintained in the same pot together with plants infested by the pea aphids *Acyrtosiphon pisum* (Homoptera: Aphididae) became more attractive towards the aphid parasitoid *Aphidius ervi* (Hymenoptera: Braconidae) than when placed in the same pot with healthy plants (GUERRIERI *et al.*, 2002). This change in attractiveness was not observed when root contact was prevented among plants that had their aerial parts in close proximity, and thus freely exchanging aboveground volatile organic compounds (VOCs) (GUERRIERI *et al.*, 2002). These results were further confirmed using hydroponic growing conditions. Uninfested *V. faba* plants placed in hydroponic solution that was previously used to grow aphid-infested plants became attractive to *A. ervi* parasitoids, whereas placing them in the hydroponic solution of uninfested plants did not change their attractiveness (GUERRIERI *et al.*, 2002). It was therefore predicted that aphid-damaged plants would be induced to produce a unique blend of molecules that elicits a response in neighbouring plants if in contact through the soil matrix.

In order to characterize the elicitors involved in these interactions the hydroponic solution from uninfested (P) and infested (P+A) plants was collected and filtered using filter paper to remove any debris and small polar and lipophilic compounds from water organic compounds present in the solutions extracted by solid-phase extraction (SPE) (CASCONE *et al.*, 2023a, b).

#### BIOASSAY-GUIDED FRACTIONATION OF ROOT EXUDATES AND IDENTIFICATION OF HYDROPHILIC ELICITORS

The chemical signal present in P+A root exudate was identified by bioassay-guided fractionation giving three fractions of different polarities collected at 0-15min (Fraction 1), 15-40min (Fraction 2) and from 40-55 min (Fraction 3) (Fig. 2) (CASCONE *et al.*, 2023a).

These fractions were tested in wind tunnel for their effect in eliciting an indirect defensive response in terms of attractiveness towards the aphid parasitoid *Aphidius ervi* when added to the hydroponic solution of uninfested plants. Seven times more *A. ervi* oriented to and landed on *V. faba* plants treated with *fraction 1* (the most polar fraction) from P+A, compared with the similar HPLC fraction of P (Fig. 1C; G test,  $\chi = 45.297$ ,  $p < 0.001$ ; G test,  $\chi = 11.514$ ,  $p < 0.001$ ). No significant synergistic effects of combining fractions were observed for oriented flights and landings (Fig. 1C; G test,  $\chi = 3.306$ ,  $p = 0.069$ ; G test,  $\chi = 0.471$ ,  $p = 0.492$ ).

*Fraction 1* was then further fractionated into four subfractions of different polarities collected at 0-6min (Fraction 1a), 6-12 min (Fraction 1b), 12-24 min (Fraction 1c) and 24-55 min (Fraction 1d). Among them, both Fraction 1a and 1d subfractions showed to elicit the most significant effect of indirect defence in terms of oriented flights (Fig. 1D; G test,  $\chi = 38.339$ ,  $p < 0.001$ , G test,  $\chi = 43.625$ ,  $p < 0.001$ , respectively) and landings (Fig. 1D; G test,  $\chi = 20.723$ ,  $p < 0.001$ , G test,  $\chi = 14.748$ ,  $p < 0.001$ , respectively) in uninfested *V. faba* plants (Fig. 3)

Thus, by further analysing fraction 1a using peak enhancement by co-injection with enantiomerically pure authentic standards, L-DOPA (RT=4.276 min under our HPLC conditions) (Fig. 5) was identified as one key active compound mediating plant-plant communication. The estimated amount of exuded L-DOPA by

infested plants was 5.67  $\mu\text{g/g/day}$  and by uninfested plants was 4.95  $\mu\text{g/g/day}$  (ANOVA,  $df=1$ ,  $p=0.001$ ). Subsequent bioassays using pure compounds showed that about 5 times more *A. ervi* oriented to (G test,  $\chi = 48.643$ ,  $p < 0.001$ ) and about 3 times more landed on (G test,  $\chi = 16.794$ ,  $p < 0.001$ ), *V. faba* plants grown in hydroponic solution treated with L-DOPA relative to when treated with D-DOPA (at both concentrations of 0.1 ppm and 0.01 ppm) and relative to untreated *V. faba* plants (Fig. 6), indicating enantiomers-dependent activity. No dose-dependent effect was noted for L-DOPA in terms of oriented flights (Fig. 6; 0.01ppm: 35.4% vs 0.1ppm: 48.4%; G test,  $\chi = 3.378$ ,  $p = 0.066$ ) and landings (Fig. 6; 0.01ppm: 18.7% vs 0.1ppm: 24.7%; G test,  $\chi = 0.656$ ,  $p = 0.418$ ). These response patterns were subsequently confirmed by

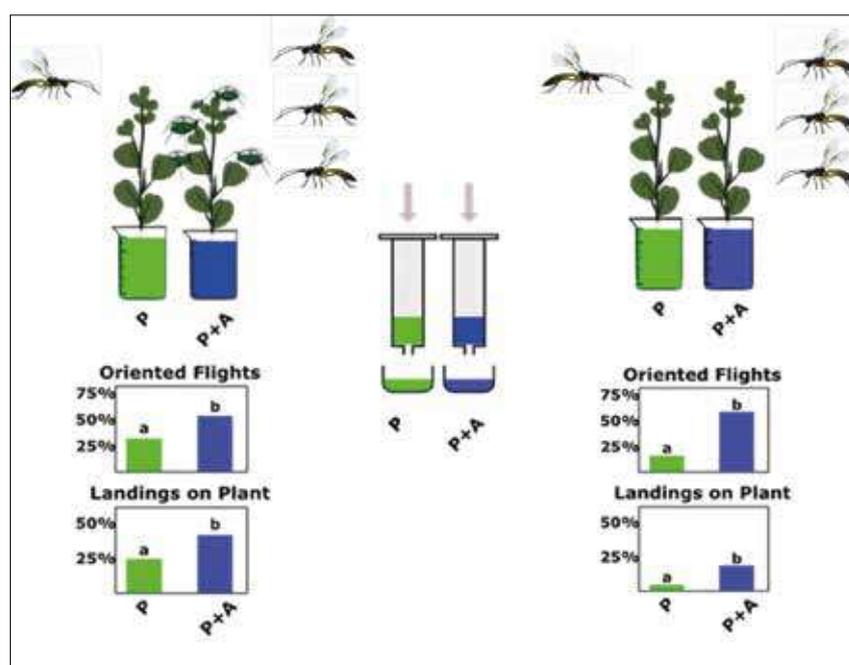


Fig. 2 - Evidence of the release of root elicitors by aphid infested plants

performing experiments with plants grown in soil and treated with synthetic L-DOPA at a dose of 0.1 ppm (Fig. 6; G test,  $\chi = 27.496$ ,  $p < 0.001$ ; G test,  $\chi = 11.121$ ,  $p < 0.001$ ).

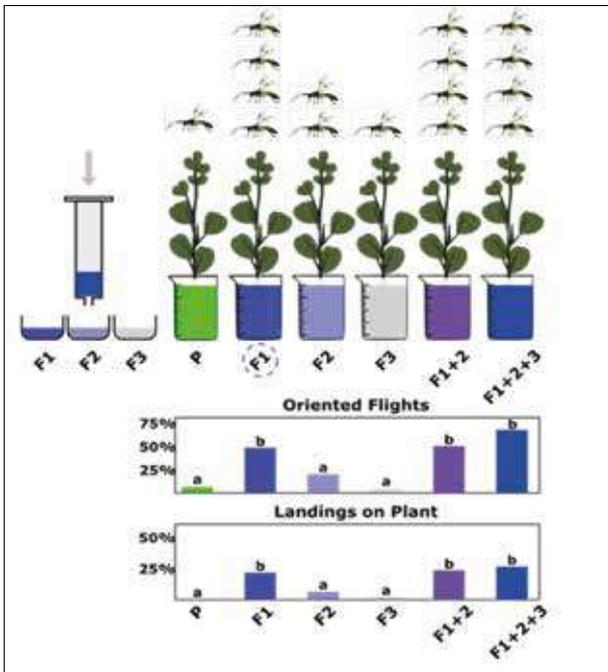


Fig. 3 - Effect of different fractions of hydrophilic extract on the foraging behaviour of *Aphidius ervi*.

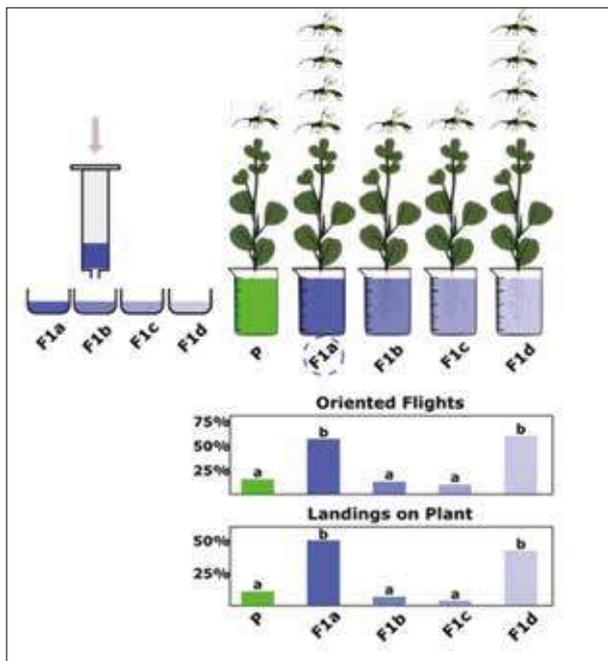


Fig. 4 - Effect of different subfractions of hydrophilic extract on the foraging behaviour of *Aphidius ervi*.

The higher attractiveness of uninfested *V. faba* plants towards *A. ervi* when treated with L-DOPA was related to the release of volatile organic compounds known to play a role in the foraging behaviour of this parasitoid. Across all VOCs collected L-DOPA-treated plants released 10

times and 5 times more methyl salicylate, 3 times and 4 times more of the sesquiterpene (E)-ocimene, 3 times and 7 times more (E)-caryophyllene than control (untreated) and D-DOPA treated plants, respectively (Fig. 7).

The involvement of a brain neurotransmitter in plant-plant communication is not that surprising considering that the leaves and pods of *V. faba* plants contain high quantities of L-DOPA (BURBANO *et al.* 1995), whose presence can affect the community of insect herbivores attacking these plants. Accordingly, it has been shown that L-DOPA is detrimental for most generalist herbivores, whilst it is exploited in different ways by specialists. For example, it was shown that *A. pisum* can sequester this compound, which was reported to provide benefits for wound healing and protection against UVA-radiation (HUANG *et al.*, 2011).

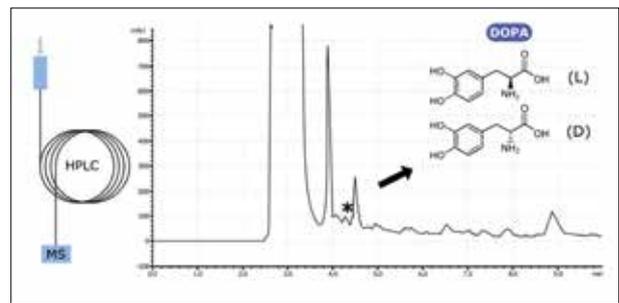


Fig. 5 - Identification of L-DOPA in the subfraction 1a of aphid-infested *Vicia faba* root exudates.

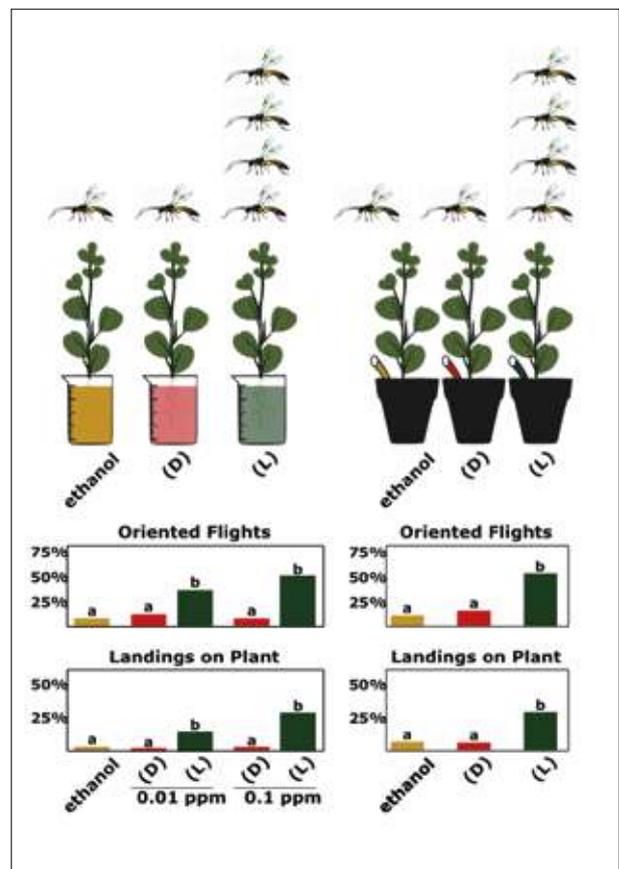


Fig. 6 - The eliciting effect of L-DOPA on *Aphidius ervi* foraging behaviour.

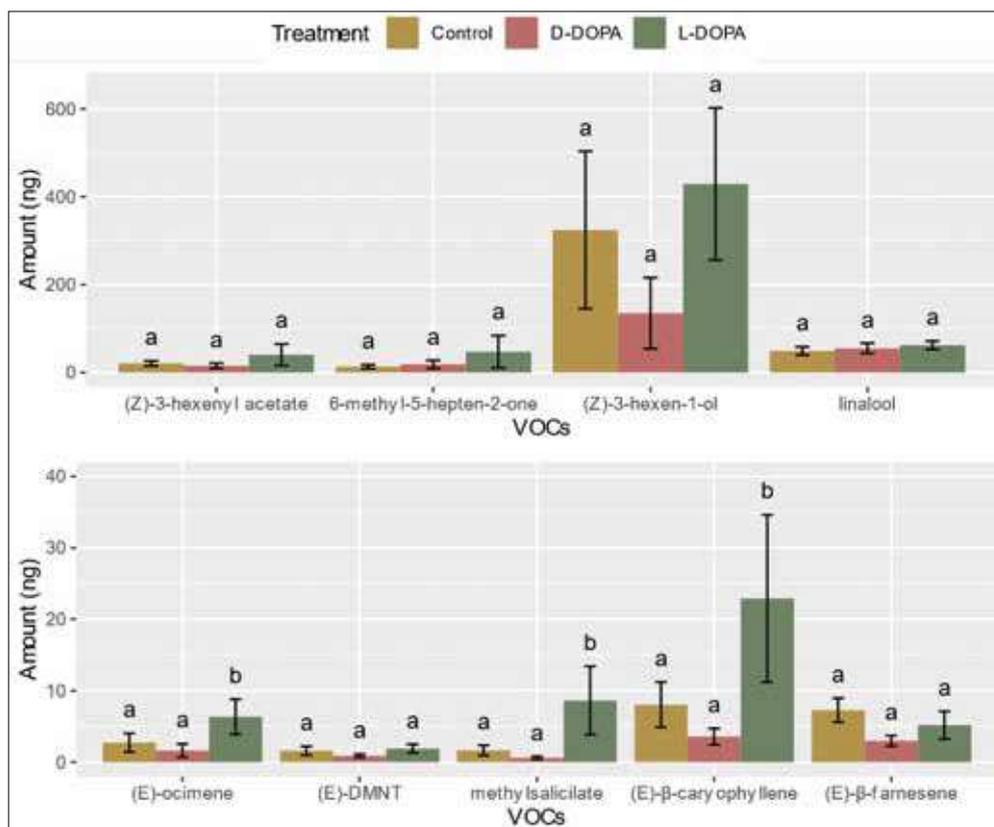


Fig. 7 - Differential effect of L-DOPA on the release of VOC by uninfested *V. faba* plants.

SVLM	Uninfested (n=8)	Infested by aphids (n=8)
	(µg±SE)	
Sulcatone	0.033±0.003	0.189±0.014
1-Octen-3-ol	0.145±0.034	0.258±0.045
Sulcatol	0.046±0.031	0.519±0.038

Fig. 8 - Relative quantities of SLVM released by *Vicia faba* plants.

BIOASSAY-GUIDED IDENTIFICATION OF LIPOPHILIC ELICITORS

From the hydroponic solution of aphid infested *Vicia faba* plants, three Small Lipophilic Volatile Compound were found to be released in significant higher quantities in respect to uninfested controls (Fig. 8): Sulcatone (KI 1346), 1-Octen-3-ol (KI 1449) and Sulcatol (KI 1465) (CASCONE *et al.*, 2023b).

The effect of these compounds on the attractiveness of uninfested broad bean plants towards *A. ervi* was always higher in respect to the control treatment (ethanol) and a synergistic effect of the combined application was recorded (Fig. 9).

In detail the SVLM (*R*)-1-Octen-3-ol (G test, of:  $\chi^2 =$

11.043,  $p = 0.001$ ; ls:  $\chi^2 = 7.132$ ,  $p = 0.008$ ) and (*R*)-Sulcatol (G test, of:  $\chi^2 = 35.72$ ,  $p < 0.001$ ; ls:  $\chi^2 = 27.217$ ,  $p < 0.001$ ) elicited a statistically significant higher response in terms of oriented flights (7 and 15 times more than ethanol control, respectively) and landings on source (9 and 27 times more than ethanol, respectively) by *A. ervi* in respect to the two (*S*)-enantiomers. The treatment with Sulcatone was statistically significant compared to the control only for the oriented flights (4 times more than ethanol) of the parasitoid (G test,  $\chi^2 = 5.154$ ,  $p = 0.023$ ). The racemic mixtures of Sulcatol a+b (G test, of:  $\chi^2 = 32.476$ ,  $p = 0$ ; ls:  $\chi^2 = 27.217$ ,  $p < 0.001$ ) and 1-Octen-3-ol d+e (G test, of:  $\chi^2 = 9.669$ ,  $p = 0.002$ ; ls:  $\chi^2 = 8.163$ ,  $p = 0.004$ ) elicited a statistically higher response in *A. ervi* compared with the control in terms of oriented flights (14 and 6 times more than ethanol, respectively) and landings (27 and 10 more than ethanol, respectively), but not different from the respective *R*-enantiomers (G test, of:  $\chi^2 = 0.095$ ,  $p = 0.758$ , ls:  $\chi^2 = 0$ ,  $p = 1$  / of:  $\chi^2 = 0.055$ ,  $p = 0.814$ , ls:  $\chi^2 = 0.039$ ,  $p$

$= 0.843$ ). Following the results with single compounds and racemic mixtures we tested the 3-compounds mixture comprising only the respective active (*R*)-enantiomers and Sulcatone. The mixture of (*R*)-1-Octen-3-ol, (*R*)-Sulcatol and Sulcatone caused an average of 5-fold significant increase in parasitoid oriented flight response compared to the single compounds (*i.e.* (*R*)-Sulcatol vs a+c+d, G test,  $\chi^2 = 37.64$   $p < 0.001$ ). Conversely, no synergistic effect of the 3-compound mixture on landings on source has been observed in respect to single compounds (*i.e.* G test, (*R*)-Sulcatol vs a+c+d:  $\chi^2 = 0.672$ ,  $p = 0.412$ ), but the value remained statistically higher in respect to ethanol (G test,  $\chi^2 = 35.054$ ,  $p < 0.001$ ).

A comparison of the proportion of the leaf VOCs

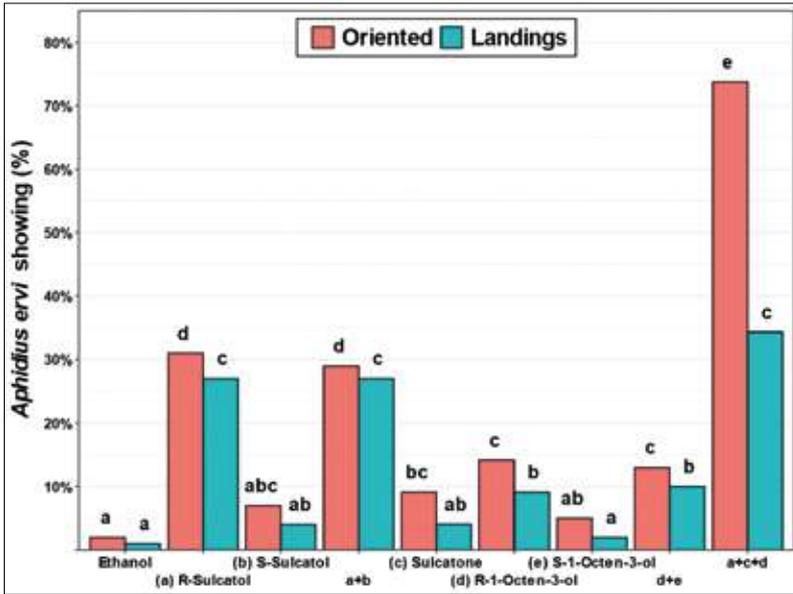


Fig. 9 - Foraging behaviour of *A. ervi* towards unfested *V. faba* plant treated with SLVM.

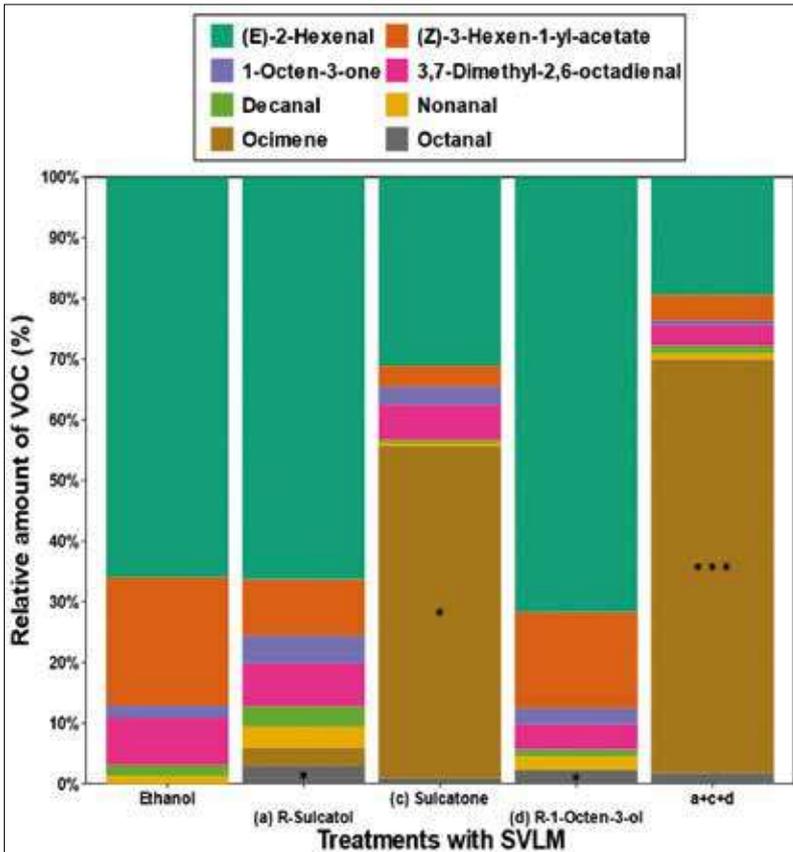


Fig. 10 - Relative release of VOC by *V. faba* plants treated with SLVM.

emitted by *V. faba* subjected to several treatments, with the proportion of VOCs emitted by relative control plants using Dirichlet regression (fig. 2), showed that (*R*)-Sulcatol increased the release of octanal ( $\beta = 2.145$ ,  $z = 2.34$ ,  $df = 33$ ,  $p = 0.019$ ), and Sulcatone treatment induced higher release of (*E*)-Ocimene ( $\beta = 2.405$ ,  $z = 2.447$ ,  $df = 33$ ,  $p = 0.014$ ) compared to the control. (*R*)-1-Octen-3-ol induce an increased emission of octanal ( $\beta = 2.03$ ,

$z = 2.192$ ,  $df = 33$ ,  $p = 0.028$ ), whereas the 3-compound mixture induced a higher release of (*E*)-ocimene ( $\beta = 3.292$ ,  $z = 3.358$ ,  $df = 33$ ,  $p = 0.001$ ) compared to treatments with single compounds (Fig. 10). These results clearly highlighted the role played by Sulcatone in triggering the release of a specific blend of VOCs, some of which are reported to be involved in the attraction of *A. ervi*. We refer in particular to the emission of (*E*)-Ocimene, a strong attractant for *A. ervi* (SASSO *et al.*, 2007; CASCONE *et al.*, 2015; TAKEMOTO and TAKABAYASHI, 2015), whose release is strictly correlated to the treatment with Sulcatone

SUMMARY AND FUTURE DIRECTIONS

The discovery of L-DOPA, a neurotransmitter precursor in animals, acting in the rhizosphere as a plant defensive pheromone supports the paradigm of divergent evolutionary outcomes for the activity of the same molecule, spanning the plant and animal kingdoms. Together with SLVM, this compound could represent a new frontier for the protection of agricultural systems less relying on pesticide input. In fact, elicitors of plant defence could be what pheromones have been in the late 90s. This hypothesis is supported by the high species-specificity that has been shown by the eliciting compounds identified so far.

Besides, among plant elicitors, those acting at root level could benefit of easier application, particularly if they are hydrophilic, hence compatible with vanguard agricultural systems (e.g. hydroponic).

Nonetheless, to achieve these goals, several methodological advances are required to sample root exudates in the field, also considering the role that soil microbiota plays in the degradation of these compounds. Besides, the cost of purified compounds is still prohibitive for an extensive application but the past experience with pheromones can be auspicious.

REFERENCES

BADRI D.V., VIVANCO J.M., 2009 - *Regulation and function of root exudates*. - Plant, Cell Environ., 32: 666-681.  
 BAIS H.P., WEIR T.L., PERRY L.G., GILROY S., VIVANCO J.M., 2006 - *The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms*. - Annu. Rev. Plant Biol., 57: 233-266.  
 BURBANO C., CUADRADO C., MUZQUIZ M., CUBERO J.I.,

- 1995 - *Variation of favism-inducing factors (vicine, convicine and L-DOPA) during pod development in Vicia faba L.* - Plant Foods for Human Nutrition, 47: 265-274.
- CASCONE P., IODICE L., MAFFEI M.E., BOSSI S., ARIMURA G.I., GUERRIERI E., 2015 - *Tobacco overexpressing  $\beta$ -ocimene induces direct and indirect responses against aphids in receiver tomato plants.* - J. Plant Physiol., 173: 28-32.
- CASCONE P., VUTS J., BIRKETT M. A., DEWHIRST S., RASMANN S., PICKETT J. A., GUERRIERI E., 2023a - *L-DOPA functions as a plant pheromone for belowground anti-herbivory communication.* - Ecology Letters, 26: 460-469.
- CASCONE P., VUTS J., BIRKETT M., RASMANN S., PICKETT J.A., GUERRIERI E., 2023b - *Small Volatile Lipophilic Molecules (SVLMs) induced belowground by aphid attack elicit a defensive response in neighbouring un-infested plants.* - Front. Plant Sci., 14: 1154587.
- ERB M., VEYRAT N., ROBERT C.A.M., XU H., FREY M., TON J. *et al.*, 2015 - *Indole is an essential herbivore-induced volatile priming signal in maize.* Nature Communications: 6.
- GUERRIERI E., POPPY G.M., POWELL W., RAO R., PENNACCHIO F., 2002 - *Plant-to-plant communication mediating in-flight orientation of *Aphidius ervi*.* - J. Chem. Ecol., 28: 1703-1715.
- HUANG T., JANDER G., DE VOS M., 2011 - *Non-protein amino acids in plant defense against insect herbivores: representative cases and opportunities for further functional analysis.* - Phytochemistry, 72: 1531-1537.
- JOHNSON S.N., RASMANN S., 2015 - *Root-Feeding Insects and Their Interactions with Organisms in the Rhizosphere.* - Annu. Rev. Entomol., 60: 517-535.
- KARBAN R., 2008 - *Plant behaviour and communication.* - Ecol. Lett., 11: 727-739.
- SASSO R., IODICE L., DIGILIO M. C., CARRETTA A., ARIATI L., GUERRIERI E., 2007 - *Host-locating response by the aphid parasitoid *Aphidius ervi* to tomato plant volatiles.* - J. Plant Interact., 2: 175-183.
- TAKEMOTO H., TAKABAYASHI J., 2015 - *Parasitic wasps *Aphidius ervi* are more attracted to a blend of host-induced plant volatiles than to the independent compounds.* - J. Chem. Ecol., 41: 801-807.
- VAN DAM N.M., BOUWMEESTER H.J., - 2016 - *Metabologics in the rhizosphere: Tapping into belowground chemical communication.* - Trends Plant Sci., 21: 256-265.

## PHEROMONES IN THE *NASONIA* GROUP: BEHAVIOUR AND BIOCHEMISTRY

JOACHIM RUTHER <sup>a</sup>

<sup>a</sup>University of Regensburg, Institute of Zoology, Universitätsstraße 31, 93053 Regensburg, Germany

Corresponding Author: E-mail: joachim.ruther@biologie.uni-regensburg.de

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Chemical Ecology in Insect parasitoids”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 17 febbraio 2023.

### *Pheromones in the Nasonia group: behaviour and biochemistry*

Sexual reproduction is a successful strategy found in the vast majority of animals on this planet, it results in offspring’s high genetic variation and a faster dispersal. Parasitic wasps of the genus *Nasonia* have proven to be an excellent insect model to study all aspects of pheromone communication. In this lecture, the current knowledge on the biosynthesis of male pheromones in *Nasonia* is summarized.

KEY WORDS: *Nasonia vitripennis*, male sex pheromone, de novo biosynthesis

### SYNTHESIS OF LECTURE

Sexual reproduction is a successful strategy found in the vast majority of animals on this planet. It results in offspring’s high genetic variation and a faster dispersal of beneficial as well as purging of deleterious mutations enabling faster reactions to the challenges of a changing environment (AZEVEDO *et al.*, 2006; HAMILTON *et al.*, 1990). However, sexual reproduction requires potential

partners to reliably find each other, which in many insects is enabled by chemical communication via sex pheromones (WYATT, 2014). Parasitic wasps of the genus *Nasonia* have proven to be an excellent insect model to study all aspects of pheromone communication (MAIR & RUTHER, 2019). The genus *Nasonia* consists of four species (*N. vitripennis*, *N. giraulti*, *N. longicornis* and *N. oneida*), with *N. vitripennis* occurring worldwide, while the occurrence of the other species is restricted to North

America. *N. giraulti* and *N. oneida* are sympatric with *N. vitripennis* in the east, while *N. longicornis* shares habitats with *N. vitripennis* in Western North America (MAIR & RUTHER, 2019). Mating between partners from different *Nasonia* species is possible, but Wolbachia-mediated cytoplasmic incompatibility prevents hybridisation in most species constellations (BORDENSTEIN & WERREN, 1998). Hence, species-specific mate finding is indispensable to avoid costly interspecific mating. Mate finding in *Nasonia* is mediated by male-derived sex pheromones which are highly attractive to virgin females (NIEHUIS *et al.*, 2013). After mating, however, females do no longer respond to the pheromone. In *N. vitripennis*, this behavioural switch is mediated by an oral male pheromone applied to the female’s antennae during courtship (RUTHER & HAMMERL, 2014) and subsequent dopamine release in the female’s brain (LENSCHOW *et al.*, 2018).

All *Nasonia* species use (4*R*,5*S*)-5-hydroxy-4-decanolide (RS) and 4-methylquinazoline (MQ) as pheromone

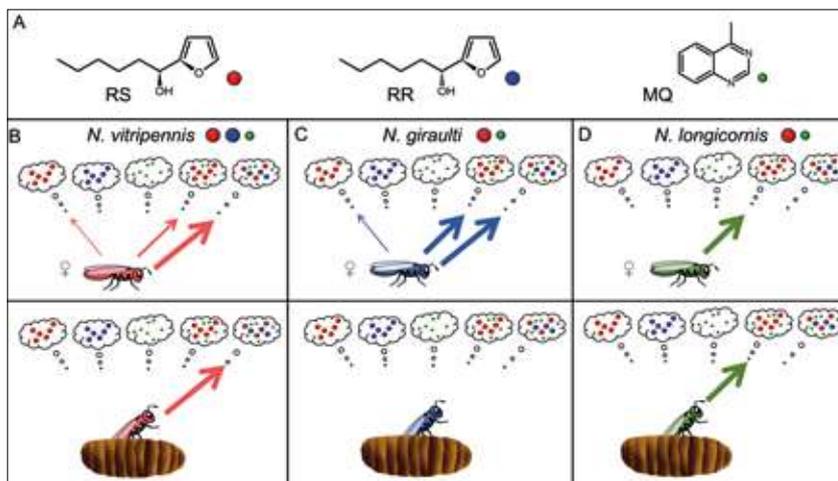


Fig. 1 - (A) Structures of the components of the male abdominal sex pheromones in the genus *Nasonia* (4*R*,5*S*)-5-hydroxy-4-decanolide (RS), (4*R*,5*R*)-5-hydroxy-4-decanolide (RR), and 4-methylquinazoline (MQ). (B–D) Scheme summarizing the female responses of the hitherto investigated species *Nasonia vitripennis* (NIEHUIS *et al.*, 2013; RUTHER *et al.*, 2014), *Nasonia giraulti* (NIEHUIS *et al.*, 2013; RUTHER *et al.*, 2014), and *Nasonia longicornis* (KURTANOVIC *et al.*, 2022) to the male sex pheromone components and combinations thereof. Pheromone composition of the different species is indicated by coloured dots near the species names. The upper panels show the response of 2-d-old virgin females excised from the hosts; the lower panels refer to females collected at the moment of emergence from the host. Reproduced from KURTANOVIC *et al.* (2022), *Frontiers in Ecology and Evolution* under the terms of the Creative Commons Attribution Licence (CC BY).

components (NIEHUIS *et al.*, 2013). These compounds are produced in the male rectal vesicle and applied to substrates by abdomen dipping behaviour (ABDEL-LATIEF *et al.*, 2008; STEINER & RUTHER, 2009). Only males on *N. vitripennis* produce an additional component, (4*R*,5*R*)-5-hydroxy-4-decanolide (RR), enabling species specificity of the chemical signal. *N. vitripennis* females prefer the conspecific three-component pheromone over the two-component blend of the other species, while *N. giraulti* females fail to discriminate the two blends (NIEHUIS *et al.*, 2013) (Fig. 1). However, this probably has no fitness consequences for *N. giraulti* females, because the vast majority of them mates already within the host (TRIENENS *et al.*, 2021). This makes a sex pheromone for long range attraction redundant given that mated females do not respond to the male pheromone anyway (RUTHER *et al.*, 2014).

Most females of *N. longicornis*, however, emerge as virgins from the host and therefore discriminate strongly against RR thus avoiding encounters with sympatric *N. vitripennis* males (KURTANOVIC *et al.*, 2022). The role of individual pheromone components in the sexual communication of the fourth species *N. oneida* is currently under investigation.

Stable isotope labelling studies revealed that the two lactones are derived from fatty acid metabolism (ABDEL-LATIEF *et al.*, 2008; BLAUL *et al.*, 2014). Recent studies (MULTERER *et al.*, 2022; PRAGER *et al.*, 2019; RUTHER *et al.*, 2021) also disproved the long-held assumption that, in the course of evolution, parasitic wasps have lost the ability to synthesise fatty acids and fat from carbohydrates (VISSER *et al.*, 2010). In fact, *N. vitripennis* females are well capable of replenishing diminishing fat reserves through de

Table 1. Outline of pheromone biosynthesis in *Nasonia vitripennis* and involved enzymes found in the pheromone gland of *N. vitripennis* males by a proteomics approach.

Biosynthetic step	Protein name	Reference
de novo biosynthesis of fatty acids from carbohydrates (lipogenesis)	<i>fatty acid synthase-like</i>	MULTERER <i>et al.</i> , 2022; PRAGER <i>et al.</i> , 2019; RUTHER <i>et al.</i> , 2021
	<i>fatty acid synthase</i>	
	<i>acetyl-CoA carboxylase</i>	
	<i>ATP-citrate synthase</i>	
desaturation	$\Delta 9$ -desaturase	SEMMELMANN <i>et al.</i> , 2019b
	$\Delta 12$ -desaturase <i>Nvit_D12a</i>	
epoxidation	<i>cytochrome P450?</i>	
epoxide hydrolysis	<i>epoxide hydrolase Nasvi-EH1</i>	ABDEL-LATIEF <i>et al.</i> , 2008
$\beta$ -oxidation	<i>3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase</i>	RUTHER <i>et al.</i> , 2020
	<i>very long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase</i>	
	<i>medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase</i>	
	<i>enoyl-CoA hydratase</i>	
	<i>3-ketoacyl-CoA thiolase</i>	
	<i>long-chain-fatty-acid-CoA ligase</i>	
	<i>carnitine O-palmitoyltransferase</i>	
<i>short-chain acyl-CoA dehydrogenase</i>		
epimerization	<i>SDRs NV10127, NV10128/NV10129</i>	NIEHUIS <i>et al.</i> , 2013; RUTHER <i>et al.</i> , 2016; SEMMELMANN <i>et al.</i> , 2019a

novo synthesis from carbohydrates and even incorporate de novo produced fat into eggs (MULTERER *et al.*, 2022). Biosynthesis of RS and RR in *Nasonia vitripennis* starts from stearic acid and involves the action of two  $\Delta^9$ - and  $\Delta^{12}$ -desaturases (Nvit\_D12a) (SEMMELMANN *et al.*, 2019b) converting stearic acid into linoleic acid. A putative and hitherto uncharacterised P450 enzyme epoxidizes LA at position 12/13 and the resulting epoxide is hydrolysed by the epoxide hydrolase NasviEH1 (ABDEL-LATIEF *et al.*, 2008). Finally ubiquitous beta-oxidation enzymes cause chain shortening by eight carbon atoms and the resulting dihydroxy-decanoic acid cyclises spontaneously to form RR (RUTHER *et al.*, 2020). RR, the pheromone component unique in *N. vitripennis*, is produced in this species from RS by epimerisation catalysed by three short-chain dehydrogenases/reductases (NIEHUIS *et al.*, 2013; RUTHER *et al.*, 2016). All enzymes necessary to catalyse the outlined biosynthetic steps have been detected in the pheromone gland of *N. vitripennis* males by a proteomics approach (RUTHER *et al.*, 2020) (Table 1). Pheromone biosynthesis in *N. vitripennis* is under control of the transcription factor doublesex (*dsx*), and males in which *dsx* had been knocked down by RNA interference failed to synthesize the sex pheromone and became unable to attract females from a distance (WANG *et al.*, 2022). It remains to be investigated, which of the genes involved in pheromone biosynthesis in *N. vitripennis* are controlled by *dsx*.

The closest relatives of *Nasonia* wasps are thought to be species of the genera *Trichomalopsis* and *Urolepis* forming together with *Nasonia* the so-called “*Nasonia* group” (BURKS, 2009). Comparative pheromone studies involving *T. sarcophagae* and *U. rufipes* revealed that *T. sarcophagae* uses the two-component blend known from *N. giraulti*, *N. longicornis*, and *N. oneida* (NIEHUIS *et al.*, 2013). Males of *U. rufipes*, however, use a compound from a completely different metabolic pathway, namely the mevalonate pathway. They release the terpenoid (2*S*,6*S*)-2,6-dimethyl-7-octene-1,6-diol to attract virgin females (MELNIK *et al.*, 2020; RUTHER *et al.*, 2019). Remarkably, biosynthesis occurs in the same gland like in the *Nasonia* species and the pheromone is used in a similar manner. Hence, novel pheromone phenotypes in parasitic wasps of the *Nasonia* group have evolved by enzymatic modification (epimerisation) of existing pheromone components as well as by a switch between two basic metabolic pathways.

#### REFERENCES

ABDEL-LATIEF M., GARBE L.A., KOCH M., RUTHER J, 2008 - *An epoxide hydrolase involved in the biosynthesis of an insect sex attractant and its use to localize the production site.* - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 105: 8914-8919.

AZEVEDO R.B.R., LOHAUS R., SRINIVASAN S., DANG K.K., BURCH C.L., 2006 - *Sexual reproduction selects for robustness and negative epistasis in artificial gene networks.* - Nature, 440: 87-90.

BLAUL B., STEINBAUER R., MERKL P., MERKL R., TSCHOCH-

NER H., RUTHER J., 2014 - *Oleic acid is a precursor of linoleic acid and the male sex pheromone in Nasonia vitripennis.* Insect Biochemistry and Molecular Biology, 51: 33-40.

BORDENSTEIN S.R., WERREN J.H., 1998 - *Effects of A and B Wolbachia and host genotype on interspecies cytoplasmic incompatibility in Nasonia.* - Genetics, 148: 1833-1844.

BURKS R.A., 2009 - *Phylogenetics of Pteromalidae and Eulophidae (Hymenoptera: Chalcidoidea) with a study of cranial bridges in Chalcidoidea*, Vol. Doctor of Philosophy: University of California Riverside, Riverside.

HAMILTON W.D., AXELROD R., TANESE R., 1990 - *Sexual reproduction as an adaptation to resist parasites (a review).* - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 87: 3566-3573.

KURTANOVIC A., HOFFERBERTH J., RUTHER J., 2022 - *Male sex pheromone in the parasitoid wasp Nasonia longicornis: Chemical and behavioral analyses.* - Frontiers in Ecology and Evolution, 10: 1076398.

LENSCHOW M., CORDEL M., POKORNY T., MAIR M.M., HOFFERBERTH J., RUTHER J., 2018 - *The post-mating switch in the pheromone response of Nasonia females is mediated by dopamine and can be reversed by appetitive learning.* - Frontiers in Behavioral Neuroscience, 12: 14.

MAIR M.M., RUTHER J., 2019 - *Chemical ecology of the parasitoid wasp genus Nasonia (Hymenoptera, Pteromalidae).* - Frontiers in Ecology and Evolution, 7: 184.

MELNIK K., GRIMM C., WITTBRODT J., RUTHER J., SCHULZ S., 2020 - *Enantioselective synthesis and determination of the absolute configuration of the male sex pheromone of the parasitoid wasp Urolepis rufipes.* - Organic & Biomolecular Chemistry, 18: 3463-3465.

MULTERER M.T., WENDLER M., RUTHER J., 2022 - *The biological significance of lipogenesis in Nasonia vitripennis.* - Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 289: 20220208.

NIEHUIS O., BÜLLESBACH J., GIBSON J.D., POTHMANN D., HANNER C., NAVDEEP M., JUDSON A.K., GADAU J., RUTHER J., SCHMITT T., 2013 - *Behavioural and genetic analyses of Nasonia shed light on the evolution of sex pheromones.* - Nature, 494: 345-348.

PRAGER L., BRUCKMANN A., RUTHER J., 2019 - *De novo biosynthesis of fatty acids from  $\alpha$ -D-glucose in parasitoid wasps of the Nasonia group.* - Insect Biochemistry and Molecular Biology, 115: 103256.

RUTHER J., BRUCKMANN A., HOFFERBERTH J., 2020 - *Pheromone biosynthesis in Nasonia: Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology* (ed. by G Blomquist & R Vogt) Academic Press, London, pp. 237-267.

RUTHER J., HAGSTRÖM Å.K., BRANDSTETTER B., HOFFERBERTH J., BRUCKMANN A., SEMMELMANN F., FINK M., LOWACK H., LABERER S., NIEHUIS O., DEUTZMANN R., LÖFSTEDT C., STERNER R., 2016 - *Epimerisation of chiral hydroxylactones by short-chain dehydrogenases/reductases accounts for sex pheromone evolution in*

- Nasonia. - Scientific Reports, 6: 34697.
- RUTHER J., HAMMERL T., 2014 - *An oral male courtship pheromone terminates the response of Nasonia vitripennis females to the male-produced sex attractant*. - Journal of Chemical Ecology, 40: 56-62.
- RUTHER J., MCCAW J., BÖCHER L., POTHMANN D., PUTZ I., 2014 - *Pheromone diversification and age-dependent behavioural plasticity decrease interspecific mating costs in Nasonia*. - PLoS ONE, 9: e89214.
- RUTHER J., PRAGER L., POKORNY T., 2021 - *Parasitic wasps do not lack lipogenesis*. - Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 288: 20210548.
- RUTHER J., WITTMAN T., GRIMM C., FEICHTNER F.S., FLEISCHMANN S., KIERMAIER J., KING B.H., KREMER W., KALBITZER H.R., SCHULZ S., 2019 - *Male sex pheromone of the parasitoid wasp Urolepis rufipes demonstrates biosynthetic switch between fatty acid and isoprenoid metabolism within the Nasonia group*. - Frontiers in Ecology and Evolution, 7: 26.
- SEMMELMANN F., HOFFERBERTH J., RUTHER J., STERNER R., 2019a - *Mapping key amino acid residues for the epimerase efficiency and stereospecificity of the sex pheromone biosynthetic short-chain dehydrogenases/reductases of Nasonia*. - Scientific Reports 9: 330.
- SEMMELMANN F., KABEYA N., MALCICKA M., BRUCKMANN A., BROSCWITZ B., STRAUB K., MERKL R., MONROIG O., STERNER R., RUTHER J., ELLERS J., 2019b. - *Functional characterisation of two  $\Delta 12$ -desaturases demonstrates targeted production of linoleic acid as pheromone precursor in Nasonia*. - Journal of Experimental Biology, 222: jeb.201038.
- STEINER S., RUTHER J., 2009 - *Mechanism and behavioral context of male sex pheromone release in Nasonia vitripennis*. - Journal of Chemical Ecology, 35: 416-421.
- TRIENENS M., GIESBERS M., PANNEBAKKER B.A., VAN DE ZANDE L., BEUKEBOOM L.W., 2021 - *A re-assessment of within-host mating behavior in the Nasonia species complex*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 169: 1081-1091.
- VISSER B., LE LANN C., DEN BLANKEN F.J., HARVEY J.A., VAN ALPHEN J.J.M., ELLERS J., 2010 - *Loss of lipid synthesis as an evolutionary consequence of a parasitic lifestyle*. - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 107: 8677-8682.
- WANG Y.D., SUN W.Z., FLEISCHMANN S., MILLAR J.G., RUTHER J., VERHULST E.C., 2022 - *Silencing Doublesex expression triggers three-level pheromonal feminization in Nasonia vitripennis males*. - Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 289: 20212002.
- WYATT T.D., 2014 - *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.

CHIMICA ECOLOGICA E BIOTREMOLOGIA DELLE INTERAZIONI  
TRA PIANTA-FITOFAGO-PARASSITOIDE A SUPPORTO DEI PROGETTI DI CONTROLLO  
BIOLOGICO (IL CASO STUDIO DI *DROSOPHILA SUZUKII* VS *GANASPIS BRASILIENSIS*)

GIANFRANCO ANFORA<sup>a</sup> - LORENZO FELLIN<sup>a</sup> - ALBERTO SADDI<sup>a</sup> - RACHELE NIERI<sup>a</sup>  
CLAUDIO IORIATTI<sup>b</sup> - VALERIO MAZZONI<sup>b</sup> - MARCO VALERIO ROSSI STACCONI<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Centro Agricoltura Alimenti Ambiente, Università di Trento, Via E. Mach 1, 38098 San Michele all'Adige – gianfranco.anfora@unitn.it

<sup>b</sup>Centro Ricerche e Innovazione, Fondazione Edmund Mach, Via E. Mach 1, 38098 San Michele all'Adige

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: “Chemical Ecology in Insect parasitoids”. Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 17 febbraio 2023.

*Chemical ecology and biotremology of plant-pest-parasitoid interactions to support biological control projects (the case study of *Drosophila suzukii* vs *Ganaspis brasiliensis*)*

The invasive pest *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) poses a severe threat to fruit crops globally, necessitating effective control measures. Classical biological control (CBC) employing the coevolved and specialized parasitoid *Ganaspis brasiliensis* (Ihering) (Hymenoptera: Figitidae) has emerged as a promising strategy for managing this pest. Our research focuses on elucidating the chemical ecology and biotremology of plant-pest-parasitoid interactions to enhance CBC efforts. Chemical analyses reveal specific volatile organic compounds emitted by infested fruits attract *G. brasiliensis*, aiding in host location. Furthermore, biotremology studies demonstrate that vibrations produced by *D. suzukii* larvae within fruits vary with larval age and infestation level, potentially serving as cues for parasitoid detection. These findings underscore the significance of comprehending multitrophic interactions to optimize CBC programs, contributing to sustainable pest management strategies and safeguarding fruit production worldwide. By integrating chemical ecology and biotremology, our research provides valuable insights for developing innovative and efficient biological control methods against *D. suzukii*, addressing critical challenges in agricultural pest management.

KEY WORDS: classical biological control, spotted wing drosophila, larval parasitoids, invasive alien species, risk assessment

INTRODUZIONE

Il moscerino asiatico dei piccoli frutti, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), attualmente rappresenta il fitofago più dannoso per numerose specie frutticole coltivate nelle aree recentemente invase, causando significative perdite economiche a livello globale (TAIT *et al.*, 2021). Il potenziale distruttivo di *D. suzukii* risulta elevato a causa della sua capacità di deporre le uova all'interno della frutta sana in fase di maturazione e prossima alla raccolta, penetrandone l'esocarpo con l'ovopositore particolarmente sclerificato (CINI *et al.*, 2012). Danni economici a carico di *D. suzukii* sono stati segnalati su drupacee (ciliegio, pesco, susino, albicocco), su piccoli frutti (mirtillo, lampone, mora, fragola), kiwi, cachi, fichi e vite (ASPLEN *et al.* 2015). A causa della sua complessa biologia ed ecologia la lotta è rivolta soprattutto a contrastare la presenza degli adulti e a proteggere il frutto in prossimità della raccolta. Nonostante i numerosi sforzi per sviluppare tecniche di controllo alternative, la difesa chimica costituisce ancora il principale strumento di contenimento, sebbene gli insetticidi impiegati non garantiscano un'efficacia completa (IORIATTI *et al.*, 2019; SHAWER, 2020). Le problematiche principali riguardano

l'attacco in prossimità dell'epoca di maturazione della frutta, le continue reinfestazioni dall'esterno dei frutteti, la durata del periodo di raccolta e la compresenza sul territorio di numerose colture e varietà ospiti. Tutti questi fattori limitano notevolmente le capacità di contenimento dei trattamenti chimici. Attualmente, quindi, l'approccio più promettente per l'implementazione di una strategia di lotta integrata che aumenti la sostenibilità e l'efficienza economica prevede l'importazione di parassitoidi larvali dalle regioni native del fitofago, Asia sud-orientale e orientale, data la mancanza di nemici naturali indigeni efficaci nelle aree invase (LEE *et al.*, 2019; TAIT *et al.*, 2021). Esplorazioni nelle aree di origine di *D. suzukii* alla ricerca dei parassitoidi coevoluti (DAANE *et al.*, 2016; GIORGINI *et al.*, 2019) e biosaggi in laboratori di quarantena sui parassitoidi raccolti (BIONDI *et al.*, 2021; DAANE *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020) hanno posto le basi per il controllo biologico classico (CBC) di *D. suzukii*, identificando *Ganaspis brasiliensis* (Ihering) (Hymenoptera: Figitidae) come il candidato più adatto per i programmi CBC. Studi di laboratorio e semicampo hanno dimostrato inoltre che un gruppo genetico specifico di *G. brasiliensis*, noto come G1 (GIORGINI *et al.*, 2019; NOMANO *et al.*, 2017), mostra la più alta specificità di ospite, attaccan-

do esclusivamente larve L1 e L2 all'interno dei frutti, facendo anche ipotizzare l'esistenza di specie criptiche (GIROD *et al.*, 2018; SEEHAUSEN *et al.*, 2020; SEEHAUSEN *et al.*, 2022).

Queste scoperte hanno portato alla preparazione e sottomissione di studi del rischio e successive autorizzazioni ai rilasci di *G. brasiliensis* G1 da parte delle autorità competenti in Italia (LISI *et al.*, 2022) e negli Stati Uniti (BEERS *et al.*, 2022). In Italia un partenariato volontario di ricercatori provenienti da undici regioni e province autonome ha istituito quindi un programma triennale di CBC. I rilasci iniziali nel nord Italia hanno dimostrato la capacità di *G. brasiliensis* di disperdersi, svernare e parassitizzare specificamente *D. suzukii* (FELLIN *et al.*, 2023), incoraggiando il proseguimento del progetto di CBC e l'integrazione di questo agente di controllo biologico nei programmi IPM attuali contro *D. suzukii*.

A fronte dell'importanza e delle ricadute dei progetti di CBC di *D. suzukii*, è apparso quindi cruciale approfondire gli studi sui segnali che regolano il comportamento di ricerca dell'ospite di *G. brasiliensis* G1, le cui conoscenze sono ancora frammentarie. La decifrazione dei rapporti multitrofici pianta-ospite-parassitoide è infatti importante per ottimizzare i programmi di lotta biologica classica in corso, caratterizzare le specie criptiche oggetto di studio e migliorarne le performance in allevamento e in campo.

Nel presente lavoro sono quindi riassunti alcuni risultati preliminari ottenuti dal gruppo di entomologi operante a San Michele all'Adige, composto da ricercatori dell'Università di Trento e della Fondazione Edmund Mach. Parte di queste ricerche sono incluse in più ampi progetti in corso che prevedono numerose collaborazioni nazionali e internazionali. Sperimentazioni sono condotte sia considerando aspetti di chimica ecologica, con l'obiettivo di verificare l'attività biologica di composti volatili emessi da frutti infestati da larve di *D. suzukii* nei confronti di *G. brasiliensis* G1, sia applicando tecniche di biotremologia per caratterizzare l'influenza delle vibrazioni emesse dalle larve dell'ospite in attività trofica nei frutti nei confronti di femmine ovideponenti del parassitoide.

#### CHIMICA ECOLOGICA

In questa parte dello studio, l'obiettivo è verificare se segnali chimici sono sfruttati dalle femmine di *G. brasiliensis* G1 per individuare le larve ospiti all'interno dei frutti infestati nello stadio adatto alla parassitizzazione (L1 ed L2). A tale scopo è stato utilizzato un paradigma modello costituito da un olfattometro a doppia scelta in cui sono stati messi a confronto rispetto a femmine ovideponenti G1 mirtilli sani e mirtilli infestati con larve di *D. suzukii* in diverse fasi di sviluppo, seguiti dalla raccolta e caratterizzazione dei composti organici volatili (VOCs) rilasciati dai substrati saggiati. I risultati hanno mostrato una chiara scelta dipendente dal tempo da parte delle femmine di G1 tra frutti infestati e sani in relazione allo sviluppo concomitante delle larve di *D. suzukii* e alla degradazione della frutta. L'attrazione significativa

verso i frutti infestati è stata registrata infatti durante le fasi iniziali dell'infestazione (corrispondente agli stadi L1 ed L2), seguita da una fase repellente coincidente con la degradazione dei frutti causata dalla crescita e dall'alimentazione delle larve. Tramite estrazione dei composti volatili utilizzando la tecnica del closed loop stripping analysis (CLSA) e successive analisi chimiche con gas cromatografo accoppiato a spettrometro di massa (GC-MS) è stato possibile appurare che l'attrattività dei frutti infestati da larve giovani di *D. suzukii* nei confronti di *G. brasiliensis* G1 è associata alla presenza di specifici VOCs indotti dall'ospite rilasciati dai mirtilli infestati (potenziali caïromoni). Al contrario, la repellenza dei frutti deteriorati che ospitavano larve di *D. suzukii* in fase più avanzata di sviluppo era associata alla emissione di composti tipici dei processi di fermentazione. Tali risultati confermano e delucidano le osservazioni precedenti circa l'elevata specificità di G1 legata alla sua capacità di parassitizzare esclusivamente larve giovani di *D. suzukii* in frutti ospiti ancora in fase di maturazione in pianta. La conoscenza dei composti volatili coinvolti nelle relazioni multitrofici tra piante, fitofagi e parassitoidi può essere utile per discriminare le specie criptiche e selezionare correttamente l'agente di controllo biologico. Inoltre, nel caso specifico, tali semiochimici potrebbero essere utilizzati per la manipolazione e il miglioramento delle performance di *G. brasiliensis* G1 in laboratorio (es. allevamento massale; ROSSI STACCONI *et al.*, 2022) e in campo.

#### BIOTREMOLOGIA

Le larve di *D. suzukii* che si muovono e nutrono all'interno della polpa dei frutti sono in grado di indurre vibrazioni, che potrebbero fungere da segnali di riconoscimento dell'ospite e attrazione a corto raggio da parte dei suoi predatori e parassitoidi (FELLIN *et al.*, 2024). Tali vibrazioni potrebbero anche essere considerate per sviluppare un metodo di rilevamento non invasivo e del tutto innovativo della presenza di *D. suzukii* in frutti freschi destinati al commercio. Abbiamo quindi utilizzato un vibrometro laser per rilevare e caratterizzare le vibrazioni accidentali prodotte dalle larve di *D. suzukii* all'interno di mirtilli freschi a cinque diversi tempi rispetto all'inizio dell'infestazione dei frutti (48, 96, 168, 216 e 264 ore) allo scopo di valutare se l'età delle larve (ore dopo l'esposizione) influenza lo spettro e l'ampiezza delle vibrazioni. Per valutare anche l'effetto del livello di infestazione, l'esperimento è stato ripetuto su mirtilli con un diverso numero di uova iniziali ed è stato osservato il numero di pupe e adulti sviluppati a fine ciclo. Le registrazioni da mirtilli infestati sono caratterizzate dalla presenza di una serie di impulsi a banda larga (intervallo di frequenza 0,1–2 kHz) senza un modello temporale regolare, in un intervallo di ampiezza compreso tra 12,1 e 946  $\mu\text{m/s}$  (velocità di oscillazione del substrato). Inoltre, l'analisi ha rivelato la possibilità di distinguere tra diverse età del fitofago e vari livelli di infestazione. L'analisi spettrale delle registrazioni ha rilevato che l'ampiezza delle vibrazioni aumenta gradualmente fino a 168–216

ore dopo l'infestazione, per poi diminuire fino alla comparsa dell'adulto, consentendo la determinazione degli stadi di sviluppo delle larve. Inoltre, le larve di *D. suzukii* hanno evidenziato uno sviluppo più rapido in mirtilli poco infestati rispetto a quelli molto infestati. Questa osservazione si è riflessa nelle registrazioni delle vibrazioni, poiché i mirtilli poco infestati hanno mostrato un picco di ampiezza in una fase più precoce rispetto a quelli molto infestati.

Da notare che le vibrazioni derivano dall'attività trofica e dai movimenti delle larve di *D. suzukii* all'interno dei frutti e che i valori di ampiezza e frequenza delle stesse sono potenzialmente percepibili dalla maggior parte degli insetti. Future ricerche con potenziali implicazioni pratiche nel campo della lotta biologica avranno l'obiettivo di verificare se tali vibrazioni, analogamente ad altri parassitoidi, siano utilizzate da *G. brasiliensis* G1 come ulteriori segnali a corto raggio per l'individuazione degli stadi dell'ospite suscettibili alla parassitizzazione. Inoltre, poiché attualmente la rilevazione delle larve di *D. suzukii* nella frutta è limitata a metodi distruttivi e le strategie di controllo post-raccolta dipendono pesantemente dall'uso di sostanze chimiche o dal freddo per inibire la schiusa delle uova e la crescita delle larve, il lavoro condotto può aprire la strada allo sviluppo di metodi di monitoraggio e controllo innovativi basati sull'interferenza con i segnali vibrazionali.

#### CONCLUSIONI

Le ricerche presentate indicano che lo sviluppo di programmi di lotta integrata e biologica sicuri ed efficienti può essere accelerato e supportato da un approccio sperimentale multimodale, che includa tra le altre discipline la chimica ecologica e la biotremologia (NIERI *et al.*, 2022), consentendo così di descrivere adeguatamente le relazioni multitrofiche tra pianta, fitofago e parassitoide. Riteniamo infatti che nei progetti di CBC in corso e futuri sia auspicabile considerare attentamente le complesse relazioni ecologiche dell'agente di biocontrollo durante la fase di valutazione del suo status tassonomico, della gamma di ospiti e delle probabilità di insediamento e diffusione (studio del rischio).

#### RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato parzialmente supportato dal progetto "Success of Specialist versus generalist parasitoid in Hampering the spread of an Invasive pest (SUSHI)", bando PRIN 2022, finanziato dal Ministero Italiano dell'Università e della Ricerca (MUR) (n°: 20227ZYCH3 CUP master B53D2301184 0006);

#### BIBLIOGRAFIA

ASPEN M.K., ANFORA G., BIONDI A., CHOI D.S., CHU D., DAANE K.M., GIBERT P., GUTIERREZ A.P., HOELMER K.A., HUTCHISON W.D., ISAACS R., JIANG Z., KÁRPÁTI Z., KIMURA M.T., PASCUAL M., PHILIPS C.R., PLANTAMP

- C., PONTI L., VÉTEK G., VOGT H., WALTON V.M., YU Y., ZAPPALÀ L., DESNEUX N., 2015 - *Invasion biology of spotted wing Drosophila (Drosophila suzukii): a global perspective and future priorities*. - J. Pest Sc., 88: 469-494.
- BEERS E.H., BEAL D., SMYTHEMAN P., ABRAM P.K., SCHMIDT-JEFFRIS R., MORETTI E., DAANE K.M., LOONEY C., LUE C.H., BUFFINGTON M., 2022 - *First records of adventive populations of the parasitoids Ganaspis brasiliensis and Leptopilina japonica in the United States*. - J. Hym. Res., 91: 11-25.
- BIONDI A., WANG X., DAANE K.M., 2021 - *Host preference of three Asian larval parasitoids to closely related Drosophila species: implications for biological control of Drosophila suzukii*. - J. Pest. Sci., 94: 273-283.
- CINI A., IORIATTI C., ANFORA G., 2012 - *A review of the invasion of Drosophila suzukii in Europe and a draft research agenda for Integrated Pest Management*. - Bull. Insectol., 65: 149-160.
- DAANE K.M., WANG X-G., BIONDI A., MILLER B., RIEDL H., SHEARER P.W., GUERRIERI E., GIORGINI M., BUFFINGTON M., VAN ACHTERBERG K., SONG Y., KANG T., YI H., JUNG C., LEE D.W., CHUNG B-K., HOELMER K.A., WALTON V.M., 2016 - *First exploration of parasitoids of Drosophila suzukii in South Korea as potential classical biological agents*. - J. Pest. Sci., 89: 823-835.
- DAANE K.M., WANG X., HOGG B.N., BIONDI A., 2021 - *Potential host ranges of three Asian larval parasitoids of Drosophila suzukii*. - J. Pest Sci., 94: 1171-1182.
- FELLIN L., GRASSI A., PUPPATO S., SADDI A., ANFORA G., IORIATTI C., ROSSI-STACCONI M.V., 2023 - *First report on classical biological control releases of the larval parasitoid Ganaspis brasiliensis against Drosophila suzukii in northern Italy*. - Biol. Control, 68: 1-12.
- FELLIN L., BERTAGNOLLI G., MAZZONI V., ANFORA G., AGOSTINELLI C., ROSSI STACCONI M.V., NIERI R., 2024 - *Detection and characterization of incidental vibrations from Drosophila suzukii in infested fruits*. - J. Pest Sci., DOI: 10.1007/s10340-023-01711-8
- GIORGINI M., WANG X.G., WANG Y., CHEN F.S., HOUARDY E., ZHANG H.M., ZONG-QI C., HONG-YIN C., LIU C-X., CASCONI P., FORMISANO G., CARVALHO G.A., BIONDI A., BUFFINGTON M., DAANE K.M., HOELMER K.A., GUERRIERI E., 2019 - *Exploration for native parasitoids of Drosophila suzukii in China reveals a diversity of parasitoid species and narrow host range of the dominant parasitoid*. - J. Pest Sci., 92: 509-522.
- GIROD P., BOROWIEC N., BUFFINGTON M., CHEN G., FANG Y., KIMURA M.T., PERIS-FELIPE F. J., RIS N., WU H., XIAO C., ZHANG J., AEBI A., HAYE T., KENIS M., 2018 - *The parasitoid complex of D. suzukii and other fruit feeding Drosophila species in Asia*. - Sci. Rep., 8: 1-8.
- IORIATTI C., ANFORA G., GRASSI A., PUPPATO S., ROSSI STACCONI M. V., 2019 - *Current status of the Drosophila suzukii control in Europe*. - Acta Hort., 1277: 387-396.

- LEE J. C., WANG X., DAANE K.M., HOELMER K.A., ISAACS R., SIAL A.A., WALTON V.M., 2019 - *Biological control of spotted-wing Drosophila (Diptera: Drosophilidae)—current and pending tactics.* - J. Integr. Pest Manag., 10: 13.
- LISI F., BIONDI A., CAVALLARO C., ZAPPALÀ L., CAMPO G., ROVERSI P. F., SABBATINI PEVERIERI G., GIOVANNINI L., TAVELLA L., TORTORICI F., BARDELLA S., CARLI C., BOSIO G., MORI N., TONINA L., ZANINI G., CARUSO S., VACCARI G., MASETTI A., BITTAU B., BARISELLI M., SCHMIDT S., FALAGIARDA M., BERTIGNONO L., BONFANTI R., GIORGINI M., GUERRIERI E., TROPIANO F.G., VERRASTRO V., BASER N., IBN AMOR A., ENDRIZZI S., TESSARI L., PUPPATO S., IORIATTI C., GRASSI A., ANFORA G., FELLIN L., ROSSI STACCONI M.V., 2022 - *Current status of Drosophila suzukii classical biological control in Italy.* - Acta Hort., 1354: 193–200.
- NIERI R., ANFORA G., MAZZONI V., ROSSI STACCONI M.V., 2022 - *Semiochemicals, semiophysicals and their integration for the development of innovative multi-modal systems for agricultural pests' monitoring and control.* – Entomol. Gen., 42: 167-183.
- NOMANO F.Y., KASUYA N., MATSUURA A., SUWITO A., MITSUI H., BUFFINGTON M.L., KIMURA M.T., 2017 - *Genetic differentiation of Ganaspis brasiliensis (Hymenoptera: Figitidae) from East and Southeast Asia.* - Appl. Entomol. Zool., 52: 429–437.
- ROSSI STACCONI M.V., WANG X., STOUT A., FELLIN L., DAANE K.M., BIONDI A., STAHL J.M., BUFFINGTON M.L., ANFORA G., HOELMER K.A., 2022 - *Methods for rearing the parasitoid Ganaspis brasiliensis, a promising biological control agent for the invasive Drosophila suzukii.* – J. Visual. Exp., 184: e63898
- SEEHAUSEN M.L., RIS N., DRISS L., RACCA A., GIROD P., WAROT S., BOROWIEC N., TOŠEVSKI I., KENIS M., 2020 - *Evidence for a cryptic parasitoid species reveals its suitability as a biological control agent.* - Sci. Rep., 10: 19096.
- SEEHAUSEN M.L., VALENTI R., FONTES J., MEIER M., MARAZZI C., MAZZI D., KENIS M., 2022 - *Large-arena field cage releases of a candidate classical biological control agent for spotted wing drosophila suggest low risk to non-target species.* - J. Pest. Sci., 95: 1057-1065.
- SHAWER R., 2020 - *Chemical Control of Drosophila suzukii.* In: Garcia, F.R.M. (eds) *Drosophila suzukii Management.* Springer, Cham., pp. 133-142.
- TAIT G., MERMER S., STOCKTON D., LEE J., AVOSANI S., ABRIEUX A., ANFORA G., BEERS E., BIONDI A., BURRACK H., CHA D., CHIU J.C., CHOI M.Y., CLOONAN K., CRAVA C.M., DAANE K.M., DALTON D.T., DIEPENBROCK L., FANNING P., GANJISAFFAR F., GÓMEZ M.I., GUT L., GRASSI A., HAMBY K., HOELMER K.A., IORIATTI C., ISAACS R., KLINK J., KRAFT L., LOEB G., ROSSI STACCONI M.V., NIERI R., PFAB F., PUPPATO S., RENDON D., RENKEMA J., RODRIGUEZ-SAONA C., ROGERS M., SASSU F., SCHÖNEBERG T., SCOTT M.J., SEAGRAVES M., SIAL A.A., VAN TIMMEREN S., WALLINGFORD A., WANG X.G., YEH D.A., ZALOM F.G., WALTON V.M., 2021 - *Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae): a decade of research towards a sustainable integrated pest management program.* - J. Econ. Entomol., 114: 1950-1974.
- WANG X., BIONDI A., DAANE K.M., 2020 - *Functional responses of three candidate asian larval parasitoids evaluated for classical biological control of Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae).* – J. Econ. Entomol., 113: 73–80.

## GUSTO E OLFATTO: UNA TEORIA UNIFICATRICE

ERNESTO MOLLO <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> *Istituto di Chimica Biomolecolare, Consiglio Nazionale delle Ricerche, 80078 Pozzuoli, Italia*

*E-mail: emollo@icb.cnr.it*

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Chemical Ecology in Insect parasitoids”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 17 febbraio 2023.

### *Taste and smell: a unifying chemosensory theory*

This lecture summarizes a position paper published in *The Quarterly Review of Biology* proposing unifying all chemosensory modalities into a single sense (MOLLO *et al.*, 2022). It provides evidence that the spatial, molecular, and anatomical features on which the differentiation between gustation (taste) and olfaction (smell) is constructed are not consistent with each other, and are troublesome even when individually considered. The differentiation is essentially based on invalid and/or anthropomorphic criteria, generating an unnatural categorization of chemosensory processes that hinders the development of a reasonable narrative on the evolution of chemosensory systems. This biased view of the chemosensory world also hampers our efforts for a better understanding of the complex and interconnected ways all living organisms get and share chemical information crucial to many different biological activities across diverse environmental conditions. The paper thus envisages a rupture with what emerges as one of the most deeply rooted confirmation biases in the scientific literature.

KEY WORDS: chemical senses, receptors, ligands, chemosensory systems, evolution of chemosensation, chemical ecology

La capacità di rilevare segnali chimici, che consente a tutti gli organismi viventi di ottenere e condividere informazioni cruciali per una varietà di attività biologiche, è tradizionalmente suddivisa in due modalità sensoriali: gusto e olfatto. Tuttavia, i criteri comunemente adottati per separare *a priori* i due sensi chimici sono contraddittori ed eccessivamente antropomorfi. Dal punto di vista “spaziale”, l’olfatto è tradizionalmente considerato un senso a distanza che aiuta nella navigazione e nell’orientamento in un mezzo fluido esterno (aria o acqua), permettendo di valutare distribuzioni di segnali chimici nel tempo e nello spazio. Al contrario, il gusto è considerato un senso di contatto che permette il rilevamento delle sostanze chimiche già entrate in bocca. Varie evidenze in letteratura chiariscono, tuttavia, che una tale differenziazione non si armonizza con la reale distribuzione dei segnali chimici nei diversi ambienti naturali (MOLLO *et al.*, 2014; MOLLO *et al.*, 2017; GIORDANO *et al.*, 2017). In realtà, gli organismi viventi sono esposti a molecole chemosensoriali che sono distribuite in modo differenziale nei diversi ambienti, contribuendo alla distribuzione eterogenea delle specie in una varietà di habitat (MOLLO *et al.*, 2022). Ma anche l’idea che il gusto e l’olfatto, essendo “sensi chimici”, debbano essere distinti sulla base delle strutture delle molecole che interagiscono con specifiche proteine chemosensoriali, non ha carattere universale. Essa è falsificata dall’esistenza in natura di composti che innescano contemporaneamente sensazioni olfattive, gustative e chemestetiche (MOLLO *et al.*, 2022). Ciò implica che i termini “odore” e “gusto”, essendo applicabili agli stessi oggetti chimici concreti, perdano di fatto il loro significato. Infine, c’è da considerare che la ragione principale per una differenziazione gusto-olfatto è strettamente antropomorfa: essa risiede nel fatto che gli

esseri umani impiegano due diversi organi per rilevare i segnali chimici che provengono dall’ambiente circostante: il naso e la lingua. In particolare, le papille gustative sulla lingua sono gli organi primari del gusto nell’uomo, mentre l’epitelio olfattivo nella parte posteriore della cavità nasale è responsabile per il rilevamento degli odori. Tali strutture anatomiche forniscono, rispettivamente, informazioni su oggetti distanti e su materiali già presenti in bocca, generando impulsi che viaggiano lungo nervi sensoriali, olfattivi e gustativi, fino al cervello, dove vengono elaborati dinamicamente e tradotti in comportamenti adattativi. Questa differenziazione antropomorfa tra i sensi chimici, tuttavia, non può essere estesa alla grande varietà di sistemi anatomici chemosensoriali nel regno animale, nonostante i meccanismi di trasduzione ed elaborazione del segnale non siano esclusivi della specie umana (MOLLO *et al.*, 2022). Essa non tiene conto, inoltre, che le complesse capacità umane di percepire e integrare informazioni sensoriali provenienti dall’ambiente, si sono affermate gradualmente in natura (MOLLO *et al.*, 2019). Paradossalmente, la differenziazione gusto-olfatto basata su criteri anatomico-fisiologici non si applica completamente anche alla stessa specie umana se si considera l’espressione ectopica di geni chemosensoriali in organi interni, e le capacità chemiotattiche sia degli spermatozoi che delle cellule del sistema immunitario. In realtà, una suddivisione del mondo chemiosensoriale in due sensi chimici (o quattro se si includono chemestesi e vomerolfatto) si oppone all’idea di una evoluzione graduale dei sistemi sensoriali a partire da forme di vita prive di complesse reti neurali, laddove analisi strutturali comparative sui recettori chemiosensoriali negli insetti, negli eucarioti unicellulari e nelle piante indicano una loro origine comune nell’ultimo antenato

eucariotico comune (BENTON 2015; BENTON *et al.*, 2020). Purtroppo, invece, tale rappresentazione dicotomica viene comunemente estesa a qualsiasi forma di vita senziente, dagli organismi unicellulari a quelli multicellulari, dagli organismi acquatici a quelli terrestri, a causa di un bias cognitivo che porta ad attribuire tratti umani ad entità biologiche non umane (MOLLO *et al.*, 2022). Ciò produce problemi teorici e pratici nel campo della ricerca sulla comunicazione chimica, portando a rappresentazioni imprecise della realtà. Nell'insieme, tali considerazioni hanno spinto a proporre una rottura con la tradizionale dicotomia gusto-olfatto, che emerge come uno dei bias antropomorfi più profondamente radicati nella letteratura scientifica (MOLLO *et al.*, 2022). Tale pregiudizio ostacola profondamente gli sforzi di ricerca per una migliore comprensione dell'evoluzione dei processi di comunicazione chimica, specialmente durante la transizione dalla vita acquatica a quella terrestre, ma anche nel passaggio dalla vita unicellulare alla multicellularità. Inoltre, l'abitudine intellettuale di differenziare le due modalità sensoriali ha favorito modelli di pensiero pregiudizievole nella classificazione dei geni e dei recettori sensoriali, nella nomenclatura morfologica e zoologica, e nella progettazione ed interpretazione degli esperimenti, favorendo pregiudizi di selezione nella scelta dei segnali chimici da includere negli studi.

Si propone quindi di unificare tutte le modalità chemosensoriali all'interno di un quadro teorico più complesso che si opponga alla nomenclatura attuale, considerando opportunamente il diversificato e interconnesso insieme di modalità di chemiosensazione che partono tutte da interazioni tra ligandi e recettori, due entità chimiche che ricorrono entrambe in un'immensa varietà strutturale in natura.

#### REFERENCES

- BENTON R., 2015 - *Multigene family evolution: perspectives from insect chemoreceptors*. - Trends in Ecology and Evolution, 30: 590–600. <https://doi.org/10.7554/eLife.62507>
- BENTON R., DESSIMOZ C., MOI D., 2020 - *A putative origin of the insect chemosensory receptor superfamily in the last common eukaryotic ancestor*. - eLife, 9: e62507. <https://doi.org/10.7554/eLife.62507>
- GIORDANO G., CARBONE M., CIAVATTA M.L., SILVANO E., GAVAGNIN M., GARSON M.J., CHENEY K.L., MUDIANTA I.W., RUSSO G.F., VILLANI G., MAGLIOZZI L., POLESE G., ZIDORN C., CUTIGNANO A., FONTANA A., GHISELIN M. T., MOLLO E., 2017 - *Volatile secondary metabolites as aposematic olfactory signals and defensive weapons in aquatic environments*. - Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 114: 3451–3456. <https://doi.org/10.1073/pnas.1614655114>
- MOLLO E., AMODEO P., GHISELIN M.T., 2019 - *Can intelligence gradually evolve in a shell?*. - Trends in Ecology and Evolution, 34: 689–690. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2019.04.014>
- MOLLO E., BOERO F., PEÑUELAS J., FONTANA A., GARSON M.J., ROUSSIS V., CERRANO C., POLESE G., CATTANEO A.M., MUDIANTA I.W., GENTA-JOUVE G., TAGLIALATELLA-SCAFATI O., APPENDINO G., AMODEO P., GHISELIN M.T., 2022 - *Taste and smell: A unifying chemosensory theory*. - The Quarterly Review of Biology, 97: 69–94. <https://doi.org/10.1086/720097>
- MOLLO E., FONTANA A., ROUSSIS V., POLESE G., AMODEO P., GHISELIN M.T., 2014. - *Sensing marine biomolecules: smell, taste, and the evolutionary transition from aquatic to terrestrial life*. - Frontiers in Chemistry, 2: 92. <https://doi.org/10.3389/fchem.2014.00092>
- MOLLO E., GARSON M.J., POLESE G., AMODEO P., GHISELIN M.T., 2017 - *Taste and smell in aquatic and terrestrial environments*. - Natural Product Reports, 34: 496–513. <https://doi.org/10.1039/C7NP00008A>

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE, 10 NOVEMBRE 2023

Tavola Rotonda su:

I CULICIDI VETTORI DI INFEZIONI DI INTERESSE MEDICO-VETERINARIO:  
DALLA BIOLOGIA MOLECOLARE ALLO SVILUPPO DI METODOLOGIE DI CONTROLLO

Coordinatori:

CLAUDIO BANDI e

SARA EPIS



## I CULICIDI VETTORI DI INFEZIONI DI INTERESSE MEDICO-VETERINARIO: DALLA BIOLOGIA MOLECOLARE ALLO SVILUPPO DI METODOLOGIE DI CONTROLLO

RICCARDO MOLTENI <sup>a</sup> - MIRIAM VADALÀ <sup>a</sup> - GIULIA MARIA CATTANEO <sup>a</sup> - GIORGIA BETTONI <sup>a</sup>  
SARA EPIS <sup>a</sup> - CLAUDIO BANDI <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> *Dipartimento di Bioscienze, Università degli Studi di Milano, Milano Italia*

\* *Corresponding Author* claudio.band@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Culicidae as vectors of infections of veterinary-medical interest: from molecular biology to the development of control methodologies*

I Culicidi sono ditteri ematofagi che possono fungere da vettori per molti agenti patogeni, specifici per l'uomo, o di carattere zoonotico. Le virosi trasmesse da questi artropodi, come la febbre dengue e la febbre del Nilo occidentale, insieme ad altre arbovirosi, costituiscono un importante problema di sanità pubblica. La globalizzazione, il cambiamento climatico e la frammentazione degli habitat stanno influenzando la distribuzione e l'abbondanza di zanzare vettrici, aumentando il rischio di trasmissione di arbovirosi. Per affrontare la crescente minaccia, è essenziale agire tramite un sistema di sorveglianza coordinato a livello internazionale, che possa guidare l'implementazione delle strategie di controllo dei vettori.

KEY WORDS: mosquitoes, arbovirolosis, globalization, global warming, control methods

### CULICIDI

I Culicidi, più comunemente noti come zanzare, sono insetti appartenenti all'ordine dei Ditteri. Nel mondo sono conosciute più di 3500 specie, raggruppate in tre sottofamiglie: Anophelinae, Culicinae e Toxorhynchitina (SEVERINI *et al.*, 2009). Le zanzare sono insetti olometaboli, ovvero a metamorfosi completa, e il loro ciclo vitale è composto da quattro stadi: uovo, larva, pupa e adulto, di cui i primi tre sono acquatici. La loro ecologia è quindi strettamente connessa alla presenza di raccolte d'acqua non corrente/stagnante e ad aree con clima caldo-umido che favoriscono il ciclo di sviluppo e la sopravvivenza degli adulti (ROMI *et al.*, 2012). Gli adulti sono artropodi esili e affusolati la cui lunghezza è nell'ordine del centimetro, che si caratterizzano per il loro apparato buccale pungente succhiante, sottoforma di lunga proboscide, formata da labbro superiore, mandibole, mascelle e ipofaringe. I maschi utilizzano la proboscide per nutrirsi di sostanze zuccherine di origine vegetale, presentando infatti mandibole e mascelle ridotte o assenti. Le femmine ematofaghe, invece, effettuano il pasto di sangue su ospiti vertebrati per la produzione e la maturazione delle uova (SEVERINI *et al.*, 2022). Gli ospiti vengono individuati per via chemiotropica, soprattutto grazie alle emissioni di anidride carbonica, o alla temperatura corporea (DUTTO, 2008). L'apparato buccale è poi utilizzato per effettuare la puntura, raggiungendo un vaso sanguigno da cui viene prelevato il sangue (SEVERINI *et al.*, 2022). I ritmi circadiani dei Culicidi sono caratterizzati da uno o due picchi di attività, nelle ore notturne per alcune specie di interesse per l'uomo, alternati a fasi di riposo. Le zanzare sono

tra gli insetti di maggior interesse medico-veterinario in quanto potenziali vettori di agenti eziologici come arbovirus, plasmodi e filarie (VERDONSCHOT e BESSE-LOTOTSKAYA, 2014). In Italia vengono segnalate poco più di 60 specie, così ripartite nei diversi generi: *Anopheles*, 15; *Aedes*, 28; *Coquillettidia*, 2; *Culex*, 12; *Culiseta* 6; *Orthopodomyia*, 1; *Uranotaenia*, 1 (SEVERINI *et al.*, 2022).

### ZOONOSI: LE ARBOVIROSI

Come definito nel 1951 dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), le zoonosi sono malattie e infezioni trasmesse tra vertebrati animali e umani (WHO, 1951). Le malattie zoonotiche possono essere trasmesse agli umani tramite un contatto diretto con un ospite vertebrato infetto o indirettamente tramite vettori biologici o meccanici (BHATT *et al.*, 2013; CHOMEL, 2009; GUBLER, 2007). Le malattie trasmesse da vettori costituiscono un importante problema di sanità pubblica: l'OMS stima che ogni anno siano responsabili di oltre un miliardo di infezioni nell'uomo, con un milione di morti, rappresentando circa il 17% dei casi totali di malattie infettive (WHO, 2023a). In particolare, fra le malattie trasmesse da vettori, degne di rilevanza sono le arbovirosi o *arthropod-borne viral diseases*, ossia infezioni virali trasmesse da artropodi, come zanzare, zecche e flebotomi, in cui la modalità di trasmissione avviene tramite la puntura da parte dell'artropode infetto verso un ospite vertebrato non infetto. Il ciclo di vita di questi virus a trasmissione vettoriale implica la sopravvivenza e la trasmissione tra due ospiti distinti (WU *et al.*, 2019). Gli arbovirus comprendono oltre 250 specie, a distribuzione ubiquitaria, di

questi si stima che oltre 100 virus identificati siano in grado di causare malattia nell'uomo (MINISTERO DELLA SALUTE, 2019). Il termine "arbovirus" è in realtà descrittivo e non indica alcuna specie, genere o famiglia. La maggior parte di questi agenti infettivi appartengono a diverse famiglie e generi, tra i quali Togaviridae (*Alphavirus*), Flaviridae (*Flavivirus*) e Bunyaviridae (*Bunyavirus* e *Phlebovirus*) (ICTV, 2024). Ogni anno, centinaia di milioni di casi d'infezione virale nell'uomo sono causati da virus trasmessi da zanzare (WHO, 2023a). Due specie, *Aedes aegypti* e *Aedes albopictus*, sono responsabili della trasmissione all'uomo di più del 5% delle malattie infettive trasmesse da zanzare (Fig. 1). Queste due specie sono vettori di oltre 22 arbovirus di importanza globale per la salute pubblica, tra cui i virus responsabili di malattie come dengue, chikungunya, zika, encefalite giapponese, febbre della Rift Valley, febbre gialla e febbre West Nile (MEDLOCK *et al.*, 2015; SCHAFFNER, MEDLOCK, BORTEL, 2013).



Fig. 1 - Fotografia in microscopia digitale di esemplare femmina di *Aedes albopictus* (foto I. Arnoldi)

#### ARBOVIROSI IN ITALIA: DENGUE E WEST NILE

In Italia, le arbovirosi possono essere sia di origine autoctona, fra cui si annovera la febbre da West Nile virus (WNV), l'infezione da virus usutu (USUV), l'infezione da virus Toscana (TOSV) e l'encefalite virale da zecche (TBEV); sia arbovirosi di importazione, come le infezioni causate dai virus chikungunya (CHIKV), dengue (DV) e zika (ZV). Lungo il territorio italiano gli artropodi vettori di arbovirosi sono rappresentati, tra gli aracnidi, da alcune "zecche dure" (famiglia Ixodidae)

e, tra gli insetti, da alcune specie di flebotomi (famiglia Psychodidae) e zanzare (famiglia Culicidae). Per quanto riguarda questi ultimi, la zanzara *Culex pipiens*, ubiquitaria in Italia e particolarmente presente durante il periodo estivo, è il principale vettore di WNV e USUV. La specie *A. albopictus*, conosciuta come "zanzara tigre" e introdotta in Italia nel 1990 dal Sud-Est asiatico, è vettore competente di DV e di CHIKV. Altre specie invasive e potenziali vettori di arbovirus, come *Aedes koreicus* e *Aedes japonicus*, sono state solo ultimamente introdotte in alcune aree del nostro paese (ISS, 2022a; MINISTERO DELLA SALUTE, 2019).

**West Nile Virus** - Il WNV è un virus a RNA della famiglia Flaviviridae isolato per la prima volta nel 1937 in Uganda nel distretto West Nile (SMITHBURN *et al.*, 1940). In Europa è stato segnalato a partire dal 1958 e tra i virus del genere *Flavivirus* è il più diffuso al mondo e presente in tutti i continenti. Gli uccelli selvatici, come le specie presenti in Italia *Pica pica*, *Corvus corone cornix*, *Garrulus glandarius*, rappresentano il principale serbatoio del virus. Tuttavia, in alcuni casi il virus può raggiungere accidentalmente altri ospiti, come cavallo, roditori, gatti e uomo. È trasmesso principalmente attraverso la puntura di zanzare ornitofile infette (più frequentemente del genere *Culex*), le quali acquisiscono il virus da uccelli infetti (MCLEAN *et al.*, 2001; ISS, 2023). La febbre West Nile si sviluppa in modo asintomatico nella maggior parte dei casi. Tuttavia, nelle categorie a rischio, come persone anziane, individui con disturbi immunitari e coloro che soffrono di patologie croniche come tumori, diabete, ipertensione, patologie renali o che sono stati sottoposti a trapianto, l'infezione da WNV può manifestarsi con sintomi neurologici, talvolta letali (ROSSI, ROSS e EVANS, 2010; ISS, 2022b). In Italia il primo focolaio di febbre West Nile risale all'estate del 1998 (AUTORINO *et al.*, 2002) con il riscontro di alcuni casi clinicamente accertati in cavalli presenti nell'area circostante la zona di Padule di Fucecchio, in Toscana. L'infezione è stata da allora segnalata ogni anno nell'uomo, negli animali e nei vettori, coinvolgendo anche nuovi territori dell'Italia settentrionale e centro-meridionale (DELBUE *et al.*, 2014). Complessivamente, dal 2008 sono 14 le Regioni italiane (Emilia-Romagna, Veneto, Lombardia, Sardegna, Sicilia, Friuli-Venezia Giulia, Piemonte, Molise, Toscana, Basilicata, Lazio, Puglia, Calabria, Liguria) in cui è stata rilevata la circolazione di WNV. Nel 2023, dall'inizio di maggio i casi di infezione da WNV segnalati in Italia sono stati 332 nell'uomo, di questi, 190 si sono manifestati nella forma neuro-invasiva, 71 casi asintomatici identificati in donatori di sangue e 1 caso asintomatico in Lombardia. Tra i casi confermati, sono stati notificati 27 decessi (6 Piemonte, 11 Lombardia, 1 Friuli-Venezia Giulia, 9 Emilia-Romagna) (ISS, 2023)

**Dengue** - Il virus responsabile della dengue è un virus a RNA della famiglia Flaviviridae, genere *Flavivirus*. La malattia virale dengue è causata da quattro differenti sierotipi (DEN-1, DEN-2, DEN-3 e DEN-4) ed è trasmessa agli

esseri umani dalle punture di zanzare infette del genere *Aedes*. Nell'emisfero occidentale il vettore principale è la zanzara *A. aegypti*, anche se si sono registrati casi trasmessi da *A. albopictus*. Il virus circola nel sangue della persona infetta per 2-7 giorni e in questo periodo la zanzara può prelevarlo e trasmetterlo ad altri individui. Non si ha contagio diretto tra esseri umani, anche se l'uomo è il principale ospite del virus (MINISTERO DELLA SALUTE, 2019). Secondo l'OMS circa metà della popolazione mondiale è oggi a rischio d'infezione da virus dengue, con una stima di 100-400 milioni di infezioni all'anno (WHO, 2023b). *A. albopictus* è ritenuta il vettore potenzialmente principale per questa tipologia di arbovirus. La prima segnalazione della presenza di questa zanzara in Italia risale al 1990. Attualmente è presente stabilmente in tutto il Paese, dalle pianure fino a quote collinari, soprattutto nei centri abitati, dove stagionalmente può raggiungere densità molto elevate. La dengue è particolarmente diffusa, durante e dopo la stagione delle piogge, in molte zone tropicali e subtropicali (Sud-Est Asiatico, Africa, Cina, India, Medio Oriente, America latina e centrale, Australia e diverse zone del Pacifico). Tuttavia, negli ultimi anni si è registrata un'espansione di febbre dengue anche verso i paesi dell'emisfero nord, in particolare in Europa, in associazione con l'incremento di spostamenti di merci e persone. Sebbene nella maggior parte dei casi l'infezione si presenti in forma asintomatica oppure come malattia febbrile, sono state descritte anche forme gravi, talora con esito fatale (RUCHE et al. 2010; MINISTERO DELLA SALUTE, 2023). Il sistema di sorveglianza nazionale ha registrato dall'1 gennaio al 4 dicembre 2023, 362 casi confermati di dengue, tra cui 280 casi importati e 82 casi autoctoni. Questi ultimi casi sono riferiti a quattro episodi di trasmissione non collegati tra loro in provincia di Lodi (41 casi confermati), in provincia di Latina (2 casi) e in provincia di Roma (38 casi con esposizioni in diverse parti della città metropolitana di Roma e 1 caso ad Anzio). Distintivi sono i casi considerati "autoctoni" emersi a Castiglione d'Adda in provincia di Lodi (CASSANITI et al., 2023; ISS, 2024).

#### LA GLOBALIZZAZIONE

Nell'ultimo secolo, il fenomeno della globalizzazione, i viaggi, il commercio, l'urbanizzazione e i cambiamenti climatici stanno avendo un impatto significativo sulla diffusione di malattie virali. Sono diversi i fattori legati a questi processi che contribuiscono tutt'oggi alla diffusione dei vettori e dei patogeni trasmessi. Alcune patologie, come la febbre dengue, la chikungunya e la febbre West Nile, stanno emergendo in paesi in cui erano precedentemente sconosciute (GEZAIRY, 2003).

#### *I viaggi e il commercio internazionale*

Nel corso della storia, l'apertura delle rotte di viaggio e commerciali è stata accompagnata dalla diffusione di malattie infettive, dalla ben nota peste nera diffusasi dal Sud-Est asiatico in Europa nel XIV secolo, passando alle pandemie di colera nel XIX e XX secolo, originatesi nel subcontinente indiano. Attualmente, gli oltre 700 milioni

di viaggiatori che si spostano ogni anno sul nostro pianeta hanno un rischio significativo di infettarsi e diventare veicolo di infezione, trasferendo agenti infettivi tra Paesi geograficamente distanti ma ormai temporalmente vicini (GEZAIRY, 2003). Oltre a ciò, le principali vie di diffusione dei vettori e delle relative malattie vettoriali virali emergenti sono anche da ritrovare nel trasporto accidentale degli stessi vettori tramite merci, come il commercio di copertoni usati (le zanzare depongono infatti le uova appena sopra il pelo dell'acqua ristagnante nelle gomme) e anche tramite le piante ornamentali che vengono trasportate in acqua, tra cui arbusti come il "lucky bamboo" (IBÁÑEZ-JUSTICIA et al., 2020; REITER P. 1998).

#### *Cambiamento climatico*

Si stima che le attività umane abbiano portato all'aumento della temperatura superficiale media globale di circa 1°C rispetto ai livelli preindustriali ed è probabile che si raggiunga un aumento di 1,5°C tra il 2030 e il 2052 (IPCC, 2018). Il riscaldamento globale gioca un ruolo fondamentale nella diffusione delle zanzare. La temperatura è un fattore che influenza moltissimo la progressione delle generazioni e la dimensione della popolazione di questi vettori. All'aumentare della temperatura, infatti, subiscono un'accelerazione non solo la riproduzione e il ciclo vitale, ma anche la frequenza dei pasti di sangue, con conseguente aumento della possibilità di trasmissione di agenti patogeni (BECKER, 2008). Inoltre, i cambiamenti delle temperature sono spesso accompagnati da mutamenti a livello di precipitazioni e umidità, altri importanti aspetti nella dinamica delle popolazioni delle zanzare. Sia in caso di siccità che di inondazioni questi vettori andranno incontro a un aumento di abbondanza e a una maggiore diffusione (KHEZZANI et al., 2023). SINGH e PUROHIT, nel 2014, hanno stimato uno spostamento latitudinale di circa 200 km per ogni grado Celsius di aumento della temperatura globale. Il riscaldamento climatico può ripercuotersi anche sul patogeno che può potenzialmente essere trasmesso dalla zanzara, aumentando la velocità di moltiplicazione o riducendone i tempi di incubazione (KHEZZANI et al., 2023). Infine, anche la popolazione ospite (i.e. uomo) può risentire degli effetti di questo aumento di temperatura andando incontro a un aumento della percentuale di persone che scendono al di sotto delle soglie immunitarie critiche che proteggono da infezioni e malattie (SWAMINATHAN et al., 2014).

#### *Frammentazione degli habitat*

Tra le cause del cambiamento climatico è annoverato il mutamento nell'uso del territorio, che a sua volta viene intensificato dal riscaldamento globale stesso. Questo circolo vizioso si riflette ulteriormente sull'idoneità ambientale per lo sviluppo dei vettori e dei patogeni. Inoltre, l'urbanizzazione e la frammentazione degli habitat creano non solo nuove aree disponibili alla crescita e allo sviluppo di popolazioni di zanzare, ma aumentano anche le opportunità di incontro tra vettori e ospiti (KHEZZANI et al., 2023). In uno studio del 2019, GAO e colleghi riportano che dal punto di vista biologico, la frammentazione

e l'irregolarità dell'habitat promuovono l'insorgenza di malattie e ne intensificano la persistenza. Una distribuzione proporzionale tra esseri umani e zanzare sembra ridurre al minimo il rischio di infezione.

#### BIBLIOGRAFIA

- AUTORINO, GIAN LUCA ET AL., 2002 - *West Nile virus Epidemic in Horses, Tuscany Region, Italy*. - *Emerging Infectious Diseases*, 8(12): 1372–78.
- BECKER N., 2008 - *Influence of climate change on mosquito development and mosquito-borne diseases in Europe*. - *Parasitol Res (Suppl 1)*, 103:S19–S28 DOI 10.1007/s00436-008-1210-2.
- BHATT S. ET AL., 2013 - *The Global Distribution and Burden of Dengue*. - *Nature*, 496(7446): 504–7.
- CASSANTI I., ET AL., 2023 - *Preliminary results on an autochthonous dengue outbreak in Lombardy Region, Italy, August 2023*. - *Eurosurveillance*, 28(37): 2300471.
- CHOMEL B.B., 2009 - *Zoonoses*. In *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, a c. di Moselio Schaechter. - Oxford: Academic Press, 820–29.
- CURRENT ICTV TAXONOMY RELEASE (ICTV), 2024 - <https://ictv.global/taxonomy>.
- DELBUE S. ET AL., 2014 - *Review of West Nile Virus Epidemiology in Italy and Report of a Case of West Nile Virus Encephalitis*. - *Journal of Neurovirology*, 20(5): 437–41.
- DUTTO M., 2008 - *Lineamenti di Entomologia Medica*. C. & G. Edizioni Medico Scientifiche.
- GAO D., VAN DEN DRIESSCHE P., COSNER C., 2019 - *Habitat fragmentation promotes malaria persistence*. - *Journal of Mathematical Biology*, 79:2255–2280 <https://doi.org/10.1007/s00285-019-01428-2>.
- GEZAIRY H.A., 2003 - *Travel epidemiology: WHO perspective*. - *International Journal of Antimicrobial Agents*, 21(2): 86–88.
- GUBLER D.J., 2007 - *The Continuing Spread of West Nile Virus in the Western Hemisphere*. - *Clinical Infectious Diseases*, 45(8): 1039–46.
- IBÁÑEZ-JUSTICIA A. ET AL., 2020 - *Detection of Exotic Mosquito Species (Diptera: Culicidae) at International Airports in Europe*. - *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(10): 3450.
- INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC), 2018 - *Summary for Policymakers*. In: *Global Warming of 1.5°C. An IPCC Special Report on the impacts of global warming of 1.5°C above pre-industrial levels and related global greenhouse gas emission pathways, in the context of strengthening the global response to the threat of climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty*. Cambridge University Press, Cambridge, UK and New York, NY, USA, pp. 3–24. <https://doi.org/10.1017/9781009157940.001>.
- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (ISS), 2022a - *Epicentro - l'epidemiologia per la sanità pubblica*. - <https://www.epicentro.iss.it/arbovirosi/>.
- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (ISS), 2022b - *Epicentro - l'epidemiologia per la sanità pubblica*. - <https://www.epicentro.iss.it/westnile/>.
- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (ISS), 2023 - *Bollettino N.18 del 9/11/ 2023, Risultati nazionali*. - [https://www.epicentro.iss.it/westnile/bollettino/Bollettino\\_WND\\_2023\\_18.pdf](https://www.epicentro.iss.it/westnile/bollettino/Bollettino_WND_2023_18.pdf).
- ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ (ISS), 2024 - *Bollettino dell'11/1/2024*. - <https://www.epicentro.iss.it/arbovirosi/aggiornamenti>.
- KHEZZANI B., BAYMAKOVA M., KHECHEKHOUCHE E.A., TSACHEV I., 2023 - *Global warming and mosquito-borne diseases in Africa: a narrative review*. - *Pan African Medical Journal*, 44(70). 10.11604/pamj.2023.44.70.37318.
- MCLEAN R.G. ET AL., 2001 - *West Nile Virus Transmission and Ecology in Birds*. - *Annals of the New York Academy of Sciences*, 951: 54–57.
- MEDLOCK J.M. ET AL., 2015 - *An Entomological Review of Invasive Mosquitoes in Europe*. - *Bulletin of Entomological Research*, 105(6): 637–63.
- MINISTERO DELLA SALUTE, 2019 - *Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle arbovirosi (PNA) 2020-2025*. - [https://www.salute.gov.it/imgs/C\\_17\\_pubblicazioni\\_2947\\_allegato.pdf](https://www.salute.gov.it/imgs/C_17_pubblicazioni_2947_allegato.pdf).
- MINISTERO DELLA SALUTE, 2023 - *Portale del ministero della Salute - Malattie infettive*. - <https://www.salute.gov.it/portale/malattieInfettive>.
- REITER P., 1998 - *Aedes albopictus and the world trade in used tires, 1988-1995: the shape of things to come?* - *J Am Mosq Control Assoc.*,14(1):83-94. PMID: 9599329.
- ROMI R., KHOURY C., BIANCHI R., SEVERINI F. (ED.), 2012 - *Artropodi di interesse sanitario in Italia e in Europa*. Roma: Istituto Superiore di Sanità. Rapporti ISTISAN 12/41.
- ROSSI S.L., ROSS T.M., EVANS J.D., 2010 - *WEST NILE VIRUS*. - *Clinics in Laboratory Medicine*, 30(1): 47–65.
- RUCHE G. LA ET AL., 2010 - *First Two Autochthonous Dengue Virus Infections in Metropolitan France, September 2010*. - *Eurosurveillance*, 15(39): 19676.
- SCHAFFNER F., MEDLOCK J.M., VAN BORTEL W., 2013 - *Public Health Significance of Invasive Mosquitoes in Europe*. - *Clinical Microbiology and Infection*, 19(8): 685–92.
- SEVERINI F., TOMA L., DI LUCA M., ROMI R., 2009 - *Le zanzare italiane: generalità e identificazione degli adulti (Diptera, Culicidae)*. - *Fragmenta entomologica*, Roma, 41 (2): 213-372.
- SEVERINI F., TOMA L., DI LUCA M., 2022 - *Zanzare in Italia: raccolta, identificazione e conservazione delle specie più comuni*. Roma: Istituto Superiore di Sanità. Rapporti ISTISAN 22/3.
- SINGH A., PUROHIT B.M., 2014 - *Public health impacts of global warming and climate change*. - *Peace Review*, 26(1), 112-120.
- SMITHBURN K.C., HUGHES T.P., BURKE A.W., PAUL J.H., 1940. - *A Neurotropic Virus Isolated from the Blood of a Native of Uganda*. - *American Journal of Tropical Medicine*, 20: 471–72.

- SWAMINATHAN A., LUCAS R. M., HARLEY D., MCMICHAEL A.J., 2014. - *Will Global Climate Change Alter Fundamental Human Immune Reactivity: Implications for Child Health*. *Children*, 1, 403-423; doi:10.3390/children1030403.
- VERDONSCHOT P.F.M., BESSE-LOTOTSKAYA A.A., 2014 - *Flight distance of mosquitoes (Culicidae): A meta-data analysis to support the management of barrier zones around rewetted and newly constructed wetlands*. - *Limnologica*, 45: 69-79.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2023a - *Disease outbreak news - Dengue global situation*. - <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2023b - *Fact sheet - Dengue and severe dengue*. - <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>.
- WU P., XI Y., PENGHUA W., GONG C., 2019 - *Arbovirus Lifecycle in Mosquito: Acquisition, Propagation and Transmission*. - *Expert Reviews in Molecular Medicine*, 21: e1.



## DROSOPHILA, TOOLKIT PER LA RICERCA BIOMEDICA E BIOTECNOLOGICA

MIRIAM FORMICA <sup>a</sup> - THOMAS VACCARI <sup>a</sup>

<sup>a</sup> *Dipartimento di Bioscienze, Università degli studi di Milano, Via Celoria 26, 20133, Milano*

Corresponding Author: thomas.vaccari@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Drosophila, a toolkit for biomedicine and biotechnology*

Glioblastoma (GBM), a highly aggressive and incurable tumor, often stems from constitutive activation of the epidermal growth factor receptor (EGFR) and phosphoinositide 3-kinase (PI3K). To understand the role of autophagy in glioma pathogenesis *in vivo*, we utilized an established *Drosophila melanogaster* model of glioma based on overexpression in larval glial cells of an active human EGFR and the PI3K homolog Pi3K92E/Dp110. Such glia exhibits hyperplastic cell growth and high cellular levels of a key component of the lysosomal-autophagic compartment, ref(2)P (refractory to Sigma P), the *Drosophila* homolog of SQSTM1/p62. However, autophagic cargo degradation appears inhibited. Surprisingly, depletion via RNA interference of vacuolar H<sup>+</sup>-ATPase (V-ATPase) subunits, of Pdk1, or of the TORC1 complex component raptor prevents overgrowth and normalizes ref(2)P levels. Additionally, depletion of the V-ATPase subunit VhaPPA1-1 reduces AKT and mTOR-dependent signaling and restores autophagic degradation. Consistent with fly experiments, patient neurospheres with high expression of the V-ATPase G1 subunit show autophagy inhibition. Overall, our data suggest that autophagy is suppressed during glioma tumorigenesis due to excessive anabolic oncogenic signaling and that V-ATPase and mTORC1 components acting on lysosomes could represent therapeutic targets against GBM.

KEY WORDS: *Drosophila melanogaster*, genetica, metabolismo dei nutrienti, glioma

### INTRODUZIONE

*Drosophila melanogaster*, comunemente nota come moscerino della frutta, è un organismo modello cruciale nella ricerca biomedica. La sua breve durata di vita, facile manipolazione genetica, e la condivisione di molti processi biologici con i mammiferi ne fanno un sistema sperimentale altamente pratico e rilevante per la salute umana.

*Drosophila* è stata fondamentale nella comprensione di processi biologici determinanti come lo sviluppo embrionale o del sistema nervoso. Inoltre, il moscerino della frutta è ampiamente utilizzato per lo studio delle malattie rare o neurodegenerative, come la malattia di Alzheimer e il morbo di Parkinson. I modelli di *Drosophila* possono riprodurre fedelmente molte caratteristiche delle malattie umane, fornendo così *insight* preziosi per lo sviluppo di terapie e farmaci.

*Drosophila* ha assunto un ruolo centrale anche nella modellizzazione genetica dei tumori, offrendo un sistema sperimentale efficiente per comprendere i meccanismi molecolari coinvolti nella carcinogenesi. I modelli di *Drosophila* sono stati particolarmente utili nello studio dei geni coinvolti nella formazione dei tumori, nella regolazione della crescita cellulare e perfino nella metastasi. Ciò ha indubbiamente accelerato la comprensione dei processi regolati da potenziali oncogeni e soppressori tumorali e ha contribuito a identificare vie di segnalazione cruciali coinvolte nella progressione tumorale.

Molti degli studi in *Drosophila* si sono avvalsi di ap-

procci di genetica diretta, nei quali tramite mutagenesi vengono isolati mutanti in geni che controllano i processi biologici oggetto dell'osservazione. Tali approcci hanno portato alla comprensione del funzionamento di geni come il proto oncogene Notch, che sono mutati in diversi tumori e malattie genetiche rare. Altri esempi includono i geni soppressori tumorali che costituiscono la via di segnalazione di Hippo che limita la crescita di tessuti e organi. Approcci di genetica inversa invece tendono inattivare o sovraesprimere geni frequentemente mutati nelle malattie umane. Tale ricreazione della genetica dei pazienti rende il sistema un valido avatar per esplorare i processi patogenici *in vivo*.

I gliomi sono un gruppo di tumori cerebrali rari con prognosi e decorso variabile. Tra i gliomi, il glioblastoma (GBM) ha esiti particolarmente infausti e limitatissime opzioni terapeutiche. Un modello di sviluppo dei gliomi in *Drosophila* è stato descritto da READ *et al* 2013. Tale modello prevede la co-espressione ectopica nelle cellule gliali della larva di una forma oncogenica del recettore del fattore di crescita epidermico (EGFR) umano e della fosfoinositide 3-chinasi (PI3K). L'espressione ectopica è regolata da RepoGal4, un attivatore trascrizionale esclusivamente espresso nelle cellule gliali, che vengono marcate anche dall'espressione di GFP regolata dallo stesso elemento. In animali coesprimenti EGFR e PI3K è stato osservato lo sviluppo massiccio di tessuto GFP positivo che rappresenta l'eccesso di crescita cellulare. Tale crescita eccessiva mima il processo di gliomagenesi e porta alla formazione

di larve dotate di complessi cefalici molto ingrossati che soccombono prima di trasformarsi in pupe.

Nonostante le segnalazioni di EGFR e PI3K funzionino a monte di sistemi che regolano i sistemi di nutrimento delle cellule, come i gliomi regolino l'utilizzo di nutrienti per la loro crescita non è del tutto noto. In particolare, non è chiaro il ruolo dell'autofagia, il processo cellulare catabolico che ricicla porzioni del citoplasma, veicolandone i componenti al lisosoma, dove, grazie alla degradazione, la cellula recupera nutrienti per nuovi processi anabolici.

In uno studio recente (FORMICA *et al.*, 2021), abbiamo utilizzato *Drosophila melanogaster* come modello *in vivo* per definire il ruolo dell'autofagia durante la gliomagenesi. I nostri dati indicano che l'autofagia è repressa sia nell'animale che nelle neurosfere derivate da pazienti GBM e che i componenti della via AKT-mTOR, così come il complesso della H<sup>+</sup>-ATPasi di tipo vacuolare (V-ATPasi) sono probabilmente fattori limitanti per la crescita e l'inibizione dell'autofagia.

LA CRESCITA DEL GLIOMA DIPENDE  
DALLA SEGNALEZIONE AL LISOSOMA

Per determinare se la via di segnalazione di TORC1, operante al lisosoma, è richiesta per la gliomagenesi in *Drosophila* abbiamo depletato nelle cellule gliali sovraespressanti EGFR e PI3K il gene *raptor* che codifica per un componente necessario per la funzionalità di TORC1. Abbiamo anche depletato *Pdk1* che codifica per un trasduttore che opera a valle di EGFR e PI3K, ma a monte di AKT, una chinasi che a sua volta attiva TORC1. Entrambe le delezioni in condizioni di controllo non impattano lo sviluppo delle larve, indicando che la deplezione riduce solo parzialmente l'espressione genica. In contrasto a ciò,

*l* e *VhaPPAI-1*, tre geni che codificano per componenti della V-ATPasi, riduce la gliomagenesi *in vivo* senza che le stesse delezioni blocchino la crescita delle cellule gliali in animali di controllo. In aggiunta a ciò, troviamo che laddove l'attivazione di AKT è fortemente aumentata nei complessi cefalici di larve sovraespressanti EGFR e PI3K, questa è parzialmente ridotta dalla deplezione di *VhaPPAI-1*. Questi dati suggeriscono che la crescita eccessiva delle cellule gliali in condizioni genetiche che mimano la gliomagenesi dipende da una forte attivazione lisosomale di AKT, mTOR e V-ATPase in senso anabolico. Tali fattori appaiono particolarmente limitanti perchè la loro riduzione a livelli che non impattano cellule gliali normali, ne limitano la crescita in condizioni di gliomagenesi.

L'AUTOFAGIA È BLOCCATA NELLE CELLULE CHE SVILUPPANO  
IL GLIOMA E PUÒ ESSERE RIATTIVATA RIDUCENDO  
L'ESPRESSIONE DI GENI DELLA V-ATPASI

Per comprendere il ruolo dell'autofagia nella gliomagenesi abbiamo valutato la quantità di foci cellulari di ref(2)P (refrattario a Sigma P), l'omologo in *Drosophila* di SQSTM1/p62. I foci di ref(2)P rappresentano i componenti cellulari che verranno degradati dalla via autofagica-lisosomale. L'analisi a immunofluorescenza delle cellule gliali GFP positive dei complessi cefalici delle larve di *Drosophila* ha mostrato che le cellule sovraespressanti EGFR e PI3K contengono molta accumulazione di ref(2)P. Anche in condizioni di alto flusso autofagico, se la degradazione lisosomale funziona correttamente è improbabile che ref(2)P si accumuli. Quindi è possibile che in condizioni di segnalazione in senso fortemente anabolico, le cellule del glioma inattivino la via autofagica. Ciò in realtà è atteso perchè in condizioni normali la via anabolica

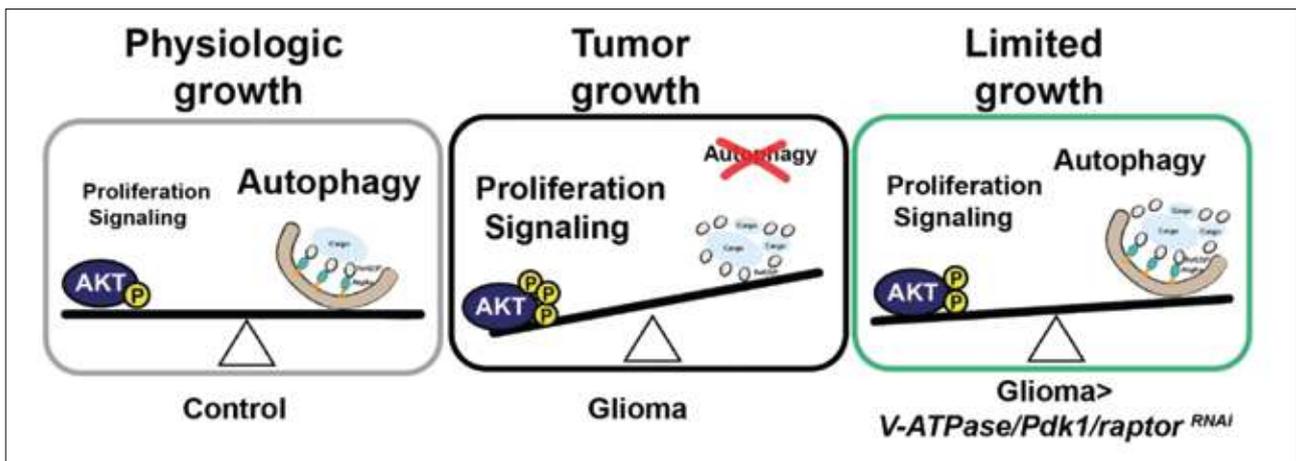


Fig. 1 - Un modello di alterazione metabolica dei nutrienti cellulari durante la gliomagenesi *in vivo* in *Drosophila melanogaster*.

a seguito della coespressione di EGFR e PI3K e in condizioni di deplezione di *raptor* o di *Pdk1*, osserviamo che la crescita eccessiva dei complessi cefalici larvali viene quasi interamente recuperata, portando alla formazione di pupe che riescono a completare la metamorfosi. In modo simile, abbiamo osservato che la deplezione di *Vha14-1*, *Vha16-*

di mTOR e quella autofagica sono alternative (SETTEMBRE *et al.*, 2012). Sorprendentemente le cellule sovraespressanti EGFR e PI3K in cui *VhaPPAI-1* è stato depletato non mostrano però l'accumulo di ref(2)P come nel caso delle cellule gliali di controllo. In un esperimento di microscopia elettronica su neurosfere in coltura derivate da cellule di

pazienti affetti da GBM, abbiamo anche osservato che in sfere con alti livelli di espressione della subunità G1 della V-ATPasi, il flusso autofagico è bloccato mentre in neurosfere che esprimono poca V-ATPasi G1 il flusso autofagico è presente. In una serie di studi precedenti abbiamo descritto i due tipi di neurosfere e dimostrato che quelle alto-esprimenti derivano da pazienti affetti da GBM con un decorso più infausto di pazienti con bassi livelli di V-ATPasi G1 (DI CRISTOFORI *et al.*, 2015; TERRASI *et al.*, 2019; BERTOLINI *et al.*, 2019). Queste evidenze sperimentali suggeriscono che nei gliomi la via autofagica sia bloccata dalla segnalazione anabolica e che la riduzione dell'anabolismo controllato dalla V-ATPasi riattivi la via catabolica lisosomale.

#### CONCLUSIONI

Questo studio ci ha permesso di elaborare un modello per la funzione lisosomale e della V-ATPasi nello sviluppo gliomi larvali in *Drosophila* (Fig. 1). L'equilibrio fisiologico tra i processi anabolici e catabolici che governano la normale crescita cellulare (*physiologic growth*) viene fortemente compromesso nei gliomi a causa della segnalazione oncogenica di EGFR e PI3K che portano a una forte attivazione di AKT e dei processi anabolici associati a mTOR e al lisosoma. In queste condizioni, durante la gliomagenesi, la crescita è favorita mentre il catabolismo, che potrebbe agire come soppressore tumorale, è inibito (*tumor growth*). La deplezione di *VhaP-PA1-1*, *Pdk1* o *raptor* ripristina l'equilibrio che controlla il metabolismo dei nutrienti, riattivando l'autofagia e di-

minuendo la crescita del tumore (*limited growth*). Tali osservazioni, se confermate nei pazienti GBM potrebbero portare all'uso di farmaci che bloccino mTOR e/o che attivino la via autofagica.

#### REFERENCES

- BERTOLINI I., TERRASI A., MARTELLI C., ET AL., 2019 - *A GBM-like V-ATPase signature directs cell-cell tumor signaling and reprogramming via large oncosomes.* – *EbioMedicine*, 41: 225-235.
- DI CRISTOFORI A., FERRERO S., BERTOLINI I., ET AL., 2015 - *The vacuolar H<sup>+</sup> ATPase is a novel therapeutic target for glioblastoma.* - *Oncotarget*, 6(19):17514–17531.
- FORMICA M., STORACI A.M., BERTOLINI I. ET AL., 2019 - *V-ATPase controls tumor growth and autophagy in a Drosophila model of gliomagenesis.* – *Autophagy*, 17:12: 4442-4452,
- READ R.D., CAVENEE W.K., FURNARI F.B., ET AL., 2009 - *A Drosophila model for EGFR-Ras and PI3K-dependent human glioma.* - *PLoS Genet.*, 5(2). e1000374
- SETTEMBRE C., ZONCU R., MEDINA D.L., ET AL., 2012 - *A lysosome-to-nucleus signalling mechanism senses and regulates the lysosome via mTOR and TFEB.* - *Embo J.*, 31(5):1095–1108.
- TERRASI A., BERTOLINI I., MARTELLI C., ET AL., 2019 - *Specific V-ATPase expression sub-classifies IDHwt lower-grade gliomas and impacts glioma growth in vivo.* – *EbioMedicine*, 41: 214–244.



## DA COSA DIPENDE IL SUCCESSO INVASIVO DI *Aedes albopictus*?

AYDA KHORRAMNEJAD<sup>a</sup> - MARIANGELA BONIZZONI<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Biologia e Biotecnologie, Università di Pavia, Pavia, Italia

\*Corresponding Author, mariangela.bonizzoni@unipv.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Investigating the invasive success of Aedes albopictus*

Understanding phenotypic traits, their intraspecific variation, and their genetic basis are a major goal of evolutionary studies. For invasive species of public health significance, such as the arboviral vector *Aedes albopictus*, these studies are essential to understand the potential for expansion, to implement new vector control strategies, such as those based on mass production of genetically or biologically manipulated mosquitoes, and to design mathematical models of mosquito populations or control programs.

KEY WORDS: invasion, arboviral vectors, *Aedes*

#### INTRODUZIONE ALLA TEMATICA

La comprensione dei tratti fenotipici, della loro variazione intraspecifica e della loro base genetica sono tra i principali obiettivi degli studi evolutivi, tradizionalmente perseguiti utilizzando organismi modello come *Drosophila melanogaster* (STERN and ORGOGOZO, 2008; FONSECA *et al.*, 2013). La fitness di *Dr. melanogaster* è ben compresa e, in diversi casi, sono state identificate le basi genetiche della variazione fenotipica dei tratti di fitness (POOL e AQUADRO, 2007). Negli organismi non modello, questo tipo di studi è limitato (SHAPIRO *et al.*, 2017). La zanzara tigre asiatica *Aedes albopictus* è un esempio di organismo per il quale la comprensione della variazione

origine. Negli ultimi 40-50 anni, questa specie ha conquistato tutti i continenti, a parte l'Antartide, dal Sud-Est asiatico e dalle vecchie isole colonizzate dell'Oceano Indiano e del Pacifico (BONIZZONI *et al.*, 2013). Questa rapida diffusione è stata sostenuta dalla propensione delle zanzare *Ae. albopictus* a riprodursi in contenitori costruiti dall'uomo e dalla capacità di svernare attraverso la diapausa fotoperiodica (ARMBRUSTER, 2016). Le popolazioni di *Ae. albopictus* differiscono per la loro capacità di diapausa e la comprensione delle basi molecolari di questo fenotipo dovrebbe aiutare a sfidare le potenzialità di adattamento delle zanzare a nuovi ambienti (ARMBRUSTER, 2016). Oltre a una prospettiva ecologica, lo studio dei tratti di fitness di *Ae. albopictus* è rilevante anche

perché questa specie è un vettore di numerosi arbovirus, tra cui i virus dengue, zika e chikungunya. L'incidenza e l'impatto sulla salute umana di questi virus trasmessi da artropodi (arbovirus) sono aumentati negli ultimi 30 anni, soprattutto in seguito alla dispersione dei loro vettori (BENELLI e MEHLHORN, 2016). Ad esempio, sono stati rilevati casi di trasmissione autoctona di dengue nella Francia meridionale e in Croazia, mentre l'Italia è stata colpita da due focolai di chikungunya e uno di dengue dopo l'insediamento di popolazioni di *Ae. albopictus* in tutte le regioni del bacino del Mediterraneo nei primi anni 2000 (ROSSI *et al.*, 2023). L'importanza di quantificare i tratti di fitness delle zanzare, come la longevità degli adulti, per prevedere le epidemie di malattie trasmesse dalle zanzare e organizzare programmi di controllo

efficaci è stata osservata fin dalla formulazione originale della teoria della trasmissione di agenti patogeni trasmessi dalle zanzare da parte di Ross e Macdonald più di un secolo fa (MACDONALD, 1956). Tuttavia, nonostante i progressi nella modellazione matematica delle malattie tra-

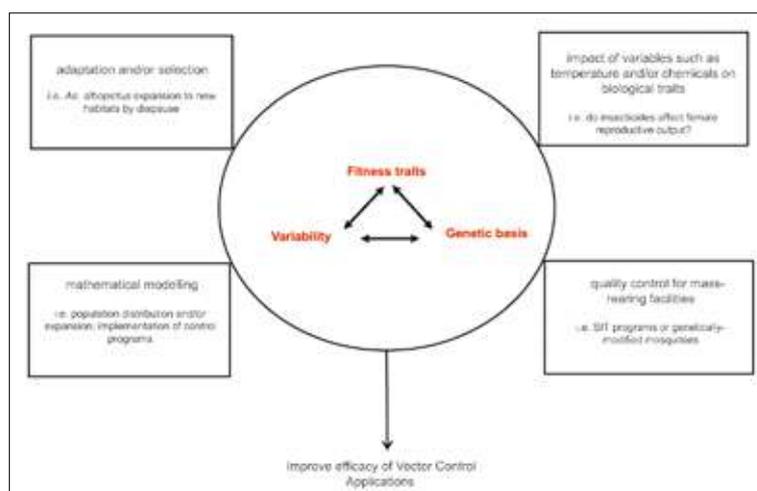


Fig. 1 - Importanza dello studio dei tratti di fitness in *Aedes albopictus*

fenotipica nei tratti di fitness e delle componenti genetiche di questi tratti ha motivazioni sia biologiche che applicative (Fig. 1). *Aedes albopictus* è classificata come una delle 100 specie più invasive al mondo a causa della sua aggressiva e rapida dispersione fuori dall'areale di

smesse dalle zanzare verso l'inclusione di parametri di eterogeneità (ad esempio, tasso di puntura variabile delle zanzare, variazione spaziale e temporale nella distribuzione delle zanzare) e di adattamento locale, i modellatori si trovano spesso ad affrontare incertezze dovute alla scarsità di dati biologici con cui valutare le prestazioni dei loro modelli (ROBERT *et al.*, 2012). Pertanto, una comprensione più approfondita dei tratti di fitness di *Ae. albopictus*, della loro variabilità tra le popolazioni e della loro regolazione genetica aiuterebbe la progettazione di modelli matematici, che sono spesso richiesti dai responsabili politici prima di allocare le risorse per i programmi di controllo dei vettori.

METODOLOGIE

*Ceppi di zanzare e dichiarazione etica*

In questo studio sono stati utilizzati cinque ceppi di *Ae. albopictus*: Foshan (Fo), Rimini (Ri), La Reunion (LaR), Tapachula (Ta) e Crema (Cr). Fo è il ceppo di riferimento per il genoma: il suo DNA è stato utilizzato per ricavare l'attuale assemblaggio del genoma (PALATINI *et al.*, 2020). Fo è stato creato negli anni '80 da zanzare raccolte a Foshan (Cina). Il ceppo Ri, chiamato anche Fellini, è stato creato nel 2004 a partire da 500 uova raccolte in un ambiente urbano intorno alla città di Rimini (DRITSOU *et al.*, 2015). I ceppi Cr, Ta e LaR sono stati costituiti a partire da uova raccolte nell'estate-autunno del 2016 rispettivamente a Crema (Italia), Tapachula (Messico) e St. Pierre (Isola di La Reunion). I parametri di fitness di questi tre ceppi sono stati misurati nelle prime otto generazioni in laboratorio.

Le zanzare dei ceppi sopraindicati sono state allevate in parallelo a un'umidità relativa del 70-80%, a 28°C e con un fotoperiodo luce-buio di 12-12 ore. Le larve sono alimentate con un mangime per pesci finemente macinato (Tetramin, Tetra Werke, Germania). Per le femmine che

si nutrono di sangue viene utilizzato un apparato di alimentazione a membrana e sangue di montone disponibile in commercio. Non sono necessari permessi specifici per eseguire esperimenti di laboratorio sulle zanzare ai sensi della direttiva 2010/63/UE del Parlamento europeo e del Consiglio sulla protezione degli animali utilizzati a fini scientifici.

*Valutazione della fitness all'interno di ciascun ceppo*

Sono stati quantificati i seguenti parametri: tempo di sviluppo da larva a pupa, vitalità larvale, apertura alare degli adulti, longevità degli adulti e fecondità (numero di uova deposte per femmina) e fertilità (percentuale di uova schiuse per femmina). Ogni parametro di fitness è stato analizzato contemporaneamente per tutti i ceppi seguendo procedure standard e costanti, per massimizzare la fiducia che le differenze nei tratti di fitness non derivino dalle condizioni ambientali o dalla manipolazione.

RISULTATI

Complessivamente, il tempo medio di sviluppo da larva a pupa è stato di 6,738 giorni  $\pm$  0,793. Lo sviluppo delle zanzare Fo e Ri è stato generalmente ritardato di un giorno rispetto a quello delle zanzare dei tre ceppi di recente derivazione; le differenze sono risultate statisticamente significative tra le zanzare Fo e Cr (H=4,48, p=0,0034) e tra Ri e le zanzare Ta (H=6,48, p=0,011) e Cr (H=7,406, p=0,0065). La vitalità larvale era  $>$  0,9 in tutti i ceppi e gli adulti emergenti mostravano una percentuale significativamente più alta di maschi o femmine nei ceppi Fo e Ta, rispettivamente (Tab. 1). L'apertura alare media era di 1,924 $\pm$ 0,274 mm per i maschi e di 2,441 $\pm$ 0,254 per le femmine. Le zanzare Fo e Ri hanno mostrato rispettivamente l'apertura alare più piccola e più grande tra tutti i ceppi analizzati. In tutti i ceppi, le femmine erano significativamente più grandi dei maschi (Tab. 1). Le differen-

Tabella 1 - Riepilogo dei parametri analizzati. Per ogni parametro si riporta la media con la loro relativa deviazione standard.

Parametri fitness	Ceppi di riferimento		Ceppi di recente colonizzazione		
	Foshan	Rimini	La Reunion	Tapachula	Crema
Fecondità (1)	4.26 $\pm$ 14.06 (30,19-63)	31.04 $\pm$ 9.33 (30,11-50)	38.73 $\pm$ 17.53 (30, 1-81)	58.26 $\pm$ 21.41 (30, 9-100)	56.93 $\pm$ 24.33 (50, 7-115)
Fertilità (2)	38.51% (2-42)	38.55% (1-35)	29.17% (0-52)	29.40% (1-44)	31.49% (0-42)
sviluppo larva-pupae (giorni) (3)	7.15 $\pm$ 0.34 (10)	7.08 $\pm$ 0.17 (10)	6.96 $\pm$ 0.23 (10)	6.19 $\pm$ 0.24 (10)	6.29 $\pm$ 0.79 (10)
Sopravvivenza larvale	0.976 $\pm$ 0.020	0.928 $\pm$ 0.037	0.928 $\pm$ 0.042	0.958 $\pm$ 0.037	0.948 $\pm$ 0.010
Sopravvivenza Femmine (giorni)	52.98 $\pm$ 2.67	55.24 $\pm$ 2.57	50.56 $\pm$ 2.43	46.62 $\pm$ 2.65	38.16 $\pm$ 3.08
Sopravvivenza maschi (giorni)	39.40 $\pm$ 2.14	47.04 $\pm$ 2.30	51.32 $\pm$ 3.07	49.02 $\pm$ 2.42	38.16 $\pm$ 3.08
Dimensione ali femmine (mm)	2.074 $\pm$ 0.066	2.784 $\pm$ 0.084	2.542 $\pm$ 0.070	2.294 $\pm$ 0.109	2.512 $\pm$ 0.075
Dimensione ali maschi (mm)	1.547 $\pm$ 0.074	2.264 $\pm$ 0.063	2.066 $\pm$ 0.069	1.680 $\pm$ 0.073	2.054 $\pm$ 0.054

(1) Media +/- deviazione standard, in parentesi sono il numero di femmine usate, ed i numeri minimo e massimo di uova deposte.  
 (2) Media +/- deviazione standard, in parentesi i numeri minimo e massimo di larve schiuse.  
 (3) Numero di repliche utilizzato

ze nell'apertura alare erano statisticamente significative anche tra i ceppi, con l'eccezione delle zanzare dei ceppi LaR e Cr. In tutti i ceppi, le femmine hanno avuto una vita media più lunga (50,0996 giorni  $\pm$  1,1356) rispetto ai maschi (45,0197 giorni  $\pm$  1,2095). Le curve di sopravvivenza delle femmine hanno mostrato che la maggior parte delle zanzare ha iniziato a morire dopo 40 giorni, mentre le curve di sopravvivenza dei maschi hanno mostrato una mortalità più graduale nel tempo. Differenze significative tra i sessi sono state osservate nei due ceppi a lungo adattamento, Foshan e Rimini, e nel ceppo LaR. Le curve di sopravvivenza delle femmine del ceppo di Rimini erano statisticamente significative rispetto a quelle di tutti i ceppi di recente derivazione, con le femmine di Rimini che avevano un tempo medio di sopravvivenza più lungo. Il numero medio di uova deposto da femmina singola per ceppo è  $46.13 \pm 11.56$  considerando globalmente i 5 ceppi. La media di uova deposte per femmina singola è più alta in Crema e Tapachula. Il ceppo Rimini invece presenta la media più bassa. Tuttavia, la percentuale di fertilità non è diversa tra i ceppi.

#### CONCLUSIONI

I risultati ottenuti mostrano che mentre alcuni parametri, come la sopravvivenza larvale e la fertilità, non differiscono tra i ceppi, altri parametri hanno mostrato differenze. Tali differenze non seguono un'unica tendenza, ma rivelano un quadro articolato che rispecchia la complessità biologica della fitness. I cinque ceppi studiati hanno un'origine geografica diversa e tempi diversi di colonizzazione. Per esempio, Foshan e Rimini sono ceppi di riferimento, da lungo tempo (>15 anni) adattati a condizioni di laboratorio, mentre Tapachula, Crema e La Reunion sono stati recentemente derivati da uova catturare in natura. L'analisi dei dati di fitness mostra che non c'è un ceppo che performa meglio di altri in tutti i parametri studiati, ma differenze significative sono distribuite in diversi parametri e ceppi. Da notare sono il tempo di sviluppo dallo stadio larvale a quello pupale, la longevità delle femmine e la fecondità. Anche se la differenza non è statisticamente significativa, il tempo di sviluppo dallo stadio larvale a quello pupale dei ceppi di riferimento è più lungo di circa un giorno rispetto a quello delle zanzare dei ceppi di recente colonizzazione. Statisticamente significativa risulta la differenza tra la sopravvivenza delle femmine nei ceppi di riferimento rispetto ai ceppi di recente colonizzazione (one-tailed t test=3,09 con  $p<0.05$ ), con le femmine di Rimini e Foshan che vivono una media di 54,11 giorni rispetto ai 47,64 giorni delle femmine dei ceppi La Reunion, Tapachula e Crema. Verrebbe da speculare che queste differenze sono legate al tempo di colonizzazione in laboratorio. Le condizioni di laboratorio sono più controllate e meno ostili rispetto agli ambienti naturali. Altra differenza significativa riguarda il numero delle uova deposte da ciascuna femmina (fecondità) che è statisticamente diverso in comparazioni che riguardano due ceppi di recente colonizzazione (Crema e Tapachula) e sia Rimini sia La Reunion. I ceppi Crema e Tapachula

depongono un numero di uova statisticamente superiore a quello deposto dagli altri ceppi sopra citati, suggerendo che la capacità riproduttiva correla con la capacità invasiva di *Ae. albopictus*.

#### BIBLIOGRAFIA

- ARMBRUSTER P.A., 2016.- *Photoperiodic Diapause and the Establishment of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) in North America*. - J. Med. Entomology, 53: 1013-1023.
- BENELLI G., MEHLHORN H., 2016- *Declining malaria, rising of Dengue and Zika virus; insights for mosquito control*. - Parasitol. Res., 115: 1474-1754.
- BONIZZONI M., GASPERI G., CHEN X., JAMES A.A., 2013 - *The invasive mosquito species Aedes albopictus: current knowledge and future perspectives*. - Trends Parasitol., 29:460-8.
- BONO J.M., MATZKIN L.M., CASTREZANA S., MARKOW T.A., 2008 - *Molecular evolution and population genetics of tw0 Drosophila mettleri cytochrome P450 genes involved in host plant utilization*. - Mol. Ecol. 17:3211-21.
- DRISSOU V., TOPALIS P., WINDBICHLER N., SIMONI A., HALL A., ET AL., 2015 - *A draft genome sequence of an invasive mosquito: an Italian Aedes albopictus*. - Pathog. Glob. Health., 109: 207-20.
- FONSECA N.A., MORALES-HOJAS R., REIS M., ROCHA H., VIEIRA C.P., NOLTE V., SCHLÖTTERER C., VIEIRA J., 2013 - *Drosophila americana as a model species for comparative studies on the molecular basis of phenotypic variation*. - Genome Biol. Evol., 5: 661-79.
- MACDONALD G., 1956 - *Theory of the eradication of malaria*. - Bull. World Health Organ., 15: 369-387.
- PALATINI U., MASRI R.A., COSME L.V., KOREN S., THIBAUD-NISSEN F., ET AL., 2020 - *Improved reference genome of the arboviral vector Aedes albopictus*. - Genome Biol., 21: 215.
- POOL J.E., AQUADRO C.F., 2007 - *The genetic basis of adaptive pigmentation variation in Drosophila melanogaster*. - Mol. Ecol., 16: 2844-2851.
- ROBERT M.A., LEGROS M., FACCHINELLI L., VALERIO L., RAMSEY J.M., SCOTT T.W., GOULD F., LLOYD A.L., 2012 - *Mathematical models as aids for design and development of experiments: the case of transgenic mosquitoes*. - J. Med. Entomol., 49: 1177-88.
- ROSSI B., BARRECA F., BENVENUTO D., BRACCIALARGHE N., CAMPOGIANI L., ET AL., 2023 - *Human Arboviral Infections in Italy: Past, Current, and Future Challenges*. - Viruses, 15: 368.
- SHAPIRO L.L.M., WHITEHEAD S.A., THOMAS M.B., 2017 - *Quantifying the effects of temperature on mosquito and parasite traits that determine the transmission potential of human malaria*. - Plos Biology, 15: e2003489.
- STERN D.L., ORGOGOZO V., 2008 - *The loci of evolution: how predictable is genetic evolution?* - Evolution, 62: 2155-77.



## RICOSTRUZIONE ULTRASTRUTTURALE DELL'APPARATO PUNGITORE NELLE ZANZARE E MECCANISMI BIO-MOLECOLARI DEL PASTO EMATICO

GIOVANNI NARO <sup>a</sup> - GIUSEPPE RABBITO <sup>a</sup> - PAOLO GABRIELI <sup>a\*</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Bioscienze, via Celoria 26, Università degli studi di Milano, Milano

\*Corresponding Author: paolo.gabrieli@unimi.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo". Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Ultrastructural reconstruction of the biting apparatus in mosquitoes and bio-molecular mechanisms of blood feeding*

The evolutionary success of insects is due to their extraordinary morphological variability, with highly specialized mouthparts reflecting the dietary needs of each species. This diversity allows insects to occupy different ecological niches. In the case of mosquitoes, the proboscis plays a key role in the blood meal. During metamorphosis, larvae develop in water with chewing mouthparts, while adults have a biting-sucking proboscis to feed on nectar and blood. Mosquitoes can transmit pathogens during blood feeding, making the study of the morphology and function of the mouthparts crucial for the development of control strategies.

X-ray microcomputed tomography is a useful tool for studying the anatomy of the mouthparts of mosquitoes. This technique allows the visualization of the internal tissues and the three-dimensional reconstruction of the structures, providing detailed information on the development of the mouthparts.

To understand how the blood meal works, the knowledge of the structure of the proboscis is not sufficient, but we need to comprehend the role of the substances injected by the insect during the process. Mosquito saliva, a complex mixture of proteins, plays a crucial role in facilitating blood feeding. Biomolecular interactions during feeding include modulation of the host immune system and facilitation of blood vessel localization.

Specifically, a salivary protein called LIPS-2 from the tiger mosquito *Aedes albopictus* affects blood feeding behavior. Inhibition of this protein showed a slowdown in the skin perforation process, highlighting its role in enhancing the efficacy of the blood meal. The interaction of LIPS-2 with the labrum, a part of the mouthparts, morphologically modifies this structure. This modification is mediated by the interaction of LIPS-2 with a cuticular protein (Cp19).

Understanding the process of stylet development and the molecular interactions between salivary proteins and the cuticle can provide further insight into the biochemical and physiological mechanisms involved in mosquito blood feeding.

KEY WORDS: Mosquito, X-ray tomography, saliva, blood feeding

### L'APPARATO BOCCALE DEGLI INSETTI VETTORI

L'eccezionale variabilità morfologica degli insetti rappresenta la chiave del loro straordinario successo evolutivo, che ha permesso loro di colonizzare e adattarsi a moltissimi ambienti e risorse alimentari. Tale diversità è particolarmente evidente negli apparati boccali, strutture altamente specializzate che riflettono le esigenze alimentari caratteristiche di ogni insetto. A titolo di esempio, gli insetti masticatori, come gli ortotteri, possiedono mandibole robuste adatte per cibarsi di materiale vegetale, mentre insetti pungenti e succhianti, come le zanzare, sviluppano durante la metamorfosi proboscidi lunghe e sottili per perforare tessuti e nutrirsi di liquidi. La diversità degli apparati boccali ha consentito loro di sfruttare nicchie ecologiche diverse, consentendo la coesistenza di numerose specie nello stesso ambiente (SCORTECCI, 1960).

Inoltre, all'interno della stessa specie, gli organismi

possono occupare habitat diversi durante il loro sviluppo, sfruttando conseguentemente risorse trofiche differenti. Questo fenomeno è particolarmente evidente negli insetti olometaboli. Per esempio, nei Lepidotteri, durante la fase larvale, l'insetto sfrutta l'apparato boccale masticatore per alimentarsi di materiale vegetale. Nell'età adulta, dopo la metamorfosi, l'insetto è in grado di volare nell'ambiente e si nutre di nettare mediante la spiritromba. Questa strategia evolutiva minimizza la competizione diretta tra gli individui della stessa specie, consentendo loro di sfruttare ambienti e risorse trofiche differenti durante le diverse fasi di sviluppo (SCORTECCI, 1960).

L'analisi dell'apparato boccale risulta quindi fondamentale nello studio della biologia degli insetti, soprattutto quando questi sono vettori di malattie. Ad esempio, insetti come le zanzare utilizzano il loro apparato boccale per nutrirsi di sangue, trasmettendo così patogeni e parassiti agli ospiti. Di conseguenza, la comprensione della morfologia e della funzione dell'apparato boccale di tali

insetti è anche essenziale per sviluppare strategie di controllo mirate e prevenire la diffusione di zoonosi (FOSTER e WALKER, 2019; MULLER e DURDEN, 2019).

#### CULICIDAE: PROBOSCIDAE E RUOLO VETTORIALE

Appartenenti alla famiglia Culicidae, le zanzare costituiscono un ampio gruppo di insetti ematofagi che conta circa 3600 specie. Le zanzare sono insetti olometaboli, il che significa che la larva si sviluppa in adulto attraverso un processo di metamorfosi completa. Inoltre, nel caso di questi insetti, l'ambiente che viene occupato dalla larva è diverso da quello dell'adulto. La larva si sviluppa solitamente in acqua, alimentandosi di particolato di origine vegetale o animale grazie all'apparato boccale masticatore. L'adulto invece è glicifago, ossia si nutre di nettare e altri fluidi zuccherini mediante l'apparato boccale di tipo pungente-succhiante. La femmina di molte specie di zanzara effettua il pasto di sangue per permettere lo sviluppo delle uova. A questo proposito, l'apparato boccale delle femmine è generalmente più sviluppato di quello dei maschi (SCORTECCI, 1960; FOSTER e WALKER, 2019; MULLER e DURDEN, 2019).

L'apparato boccale pungente-succhiante delle zanzare adulte è rappresentato dalla proboscide. Questa è costituita dal labium che raccoglie sei stiletti, ovvero due mandibole, due mascelle, l'ipofaringe e il labrum. Gli stiletti sono costituiti da materiale cuticolare e per la maggior parte non contengono cellule. Durante la metamorfosi tutte le componenti devono essere sintetizzate nuovamente (CHAPMAN *et al.*, 2013). A differenza di altri insetti come gli afidi, il labium delle zanzare non viene inserito durante l'alimentazione, ma piuttosto, dato che all'estremità presenta due lobi ricchi di terminazioni sensoriali, viene piegato all'indietro e guida gli stiletti nella cute. Durante il pasto di sangue gli stiletti mascellari e mandibolari penetrano nella cute dell'ospite. Successivamente la saliva viene secreta attraverso l'ipofaringe, e, una volta create le condizioni necessarie, il sangue viene assorbito attraverso il canale alimentare presente all'interno del labrum (SCORTECCI, 1960; FOSTER e WALKER, 2019; MULLER e DURDEN, 2019).

Durante il pasto di sangue, diversi agenti infettivi possono essere trasmessi all'ospite attraverso la saliva, dando origine a zoonosi. Le zanzare sono in grado di trasmettere diversi arbovirus (come zika, chikungunya e dengue), nematodi (filarie) e protozoi (*Plasmodium*). Il successo dell'infezione dipende in gran parte dalla saliva, la cui azione, oltre a facilitare il pasto di sangue, crea le condizioni necessarie per favorire la trasmissione di patogeni e parassiti. Oltre alla loro notevole versatilità come vettori, le zanzare, essendo diffuse a livello globale, costituiscono il gruppo di insetti di maggiore rilevanza in ambito medico-sanitario (FOSTER e WALKER, 2019; MULLER e DURDEN, 2019).

#### STUDIARE L'ANATOMIA DELLA PROBOSCIDAE CON LA MICROTOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA A RAGGI X

Le dimensioni dell'apparato boccale delle zanzare impongono l'utilizzo di strumenti per poter osservare

le strutture col dovuto ingrandimento e definizione. Per poter osservare lo sviluppo delle strutture all'interno del corpo dell'insetto, diventa utile utilizzare approcci differenti da tecniche classiche di microscopia. A questo proposito, l'utilizzo della microtomografia computerizzata a raggi X permette l'osservazione dei tessuti interni, fornendo dati per la successiva ricostruzione 3D delle strutture (HALL e MARTÍN-VEGA, 2019). Il principio di questa tecnica è la rilevazione dell'assorbimento differente che i diversi tessuti hanno per i raggi X. Il campione viene esposto alla radiazione e ne viene rilevato l'assorbimento con strumenti quali gli scintillatori, creando un'immagine bidimensionale. L'esposizione e la rilevazione ripetuta mentre il campione ruota, permette l'acquisizione di numerose immagini da angoli diversi, le quali possono essere utilizzate da opportuni software per ricostruire un'immagine tridimensionale (BAIRD e TAYLOR, 2017). Per ottenere immagini ad alta risoluzione, è possibile utilizzare la radiazione prodotta da un sincrotrone. Questa struttura accelera degli elettroni in modo da far emettere raggi X, i quali possono essere deviati e utilizzati da strumentazioni per la rilevazione tomografica. L'utilizzo della radiazione da sincrotrone ha i vantaggi di fornire un fascio monocromatico, grazie a opportuni filtri, parallelo e ad alta intensità. Queste caratteristiche permettono di ottenere tomografie ad alta definizione (MIZUTANI e SUZUKI, 2012).

L'utilizzo della microtomografia a raggi X si è dimostrata in diversi casi utile per lo studio del funzionamento dell'apparato boccale delle zanzare. Uno studio del 2012, per esempio, ha permesso di visualizzare tridimensionalmente il sistema di muscoli che permettono l'aspirazione del sangue in *Aedes togoi* (Theobald, 1907). È stato possibile visualizzarne la disposizione nel capo e la capacità volumetrica delle camere di pompaggio del sangue (KIM *et al.*, 2012). Con lo stesso approccio è stata studiata la differenza di queste strutture tra le specie *Ae. togoi* e *Anopheles sinensis* (Wiedemann, 1828), evidenziando differenze morfologiche importanti tra queste due specie (HA *et al.*, 2015).

La sostituzione dell'apparato boccale nelle zanzare avviene a ogni muta, ma in particolare tra il passaggio da larva ad adulto si assiste a un cambiamento completo della tipologia di apparato. Questa trasformazione avviene grazie alla presenza di cellule in grado di secernere e modellare le nuove strutture in ogni processo dello sviluppo. La microtomografia a raggi X offre l'opportunità di seguire le fasi dello sviluppo dell'apparato boccale. La sintesi delle nuove strutture avviene tra una muta e l'altra al di sotto della cuticola, per cui l'utilizzo della tomografia permette di osservarne la loro disposizione spaziale senza danneggiare i campioni. L'osservazione a diversi di campioni presi a tempi successivi permette di seguire lo sviluppo delle strutture e comprenderne la genesi (WIPFLER *et al.*, 2016).

Con questi presupposti, è stato svolto uno studio sulla struttura della proboscide della zanzara tigre (*Aedes albopictus*, Skuse 1894) (Fig. 1). Si è osservato lo sviluppo della proboscide durante lo stadio di pupa. In questa fase,

l'insetto non si alimenta e non ha un apparato boccale funzionante, ma presenta le componenti della proboscide in via di formazione, localizzate ventralmente sul cefalotorace (BECKER *et al.*, 2020). La microtomografia a raggi X è stata eseguita allo SLS Synchrotron Radiation Facility del Paul Scherrer Institute (Villingen PSI, Svizzera), utilizzando la *beamline* TOMCAT, specializzata in questo tipo di analisi. Sono state analizzate pupe a diverse ore dalla metamorfosi, in particolare dopo 0, 1, 2, 3, 4, 5,

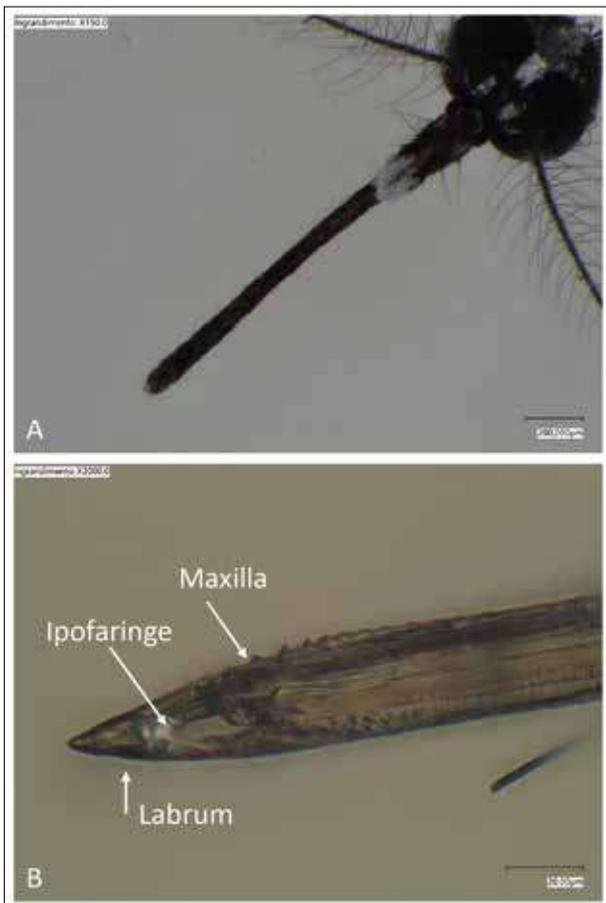


Fig. 1 - La proboscide di *Aedes albopictus* (immagini da microscopio digitale Keyence VHX-7000, Osaka, Japan).

- A. Testa e proboscide di *Ae. albopictus*. Lo stiletto è nascosto dal labium, la struttura che termina con due labella dalla funzione tattile e chemorecettiva.
- B. Stiletto di *Ae. albopictus* dopo la rimozione della proboscide. Si può notare il labrum, che forma il canale alimentare, le strutture seghettate delle maxillae e la punta dell'ipofaringe che porta il canale salivare. Le mandibole non sono visibili in questa immagine in quanto coperte dalle maxillae e dall'ipofaringe. Si noti che lo stiletto viene visualizzato dalla sua porzione ventrale.

6, 7, 8, 20, 30, 40 e 47 ore, in modo da seguirne completamente lo sviluppo. Si è potuto osservare che lo sviluppo delle componenti boccali adulte inizia durante lo stadio L4, in prossimità della muta a pupa. Le strutture germinali sono infatti già presenti e involuti nella testa della larva, per poi estrudersi durante lo sviluppo pupale. Tramite la tomografia, è possibile riconoscere già nella larva

le strutture che daranno origine alle strutture del labium e del labrum. Il primo si localizza sotto la placca del mento, mentre il secondo si origina sotto la cuticola della parete anteriore dorsale. Le gemme delle mascelle e delle mandibole prendono forma dall'epidermide alla base delle strutture larvali. L'ipofaringe, invece, non è stata osservata all'inizio dello sviluppo della pupa, ma inizia a modellarsi dopo 20 ore, probabilmente a partire dal labium. Le osservazioni in tomografia hanno permesso di evidenziare la formazione di sacche cuticolari che servono da *scaffold* per la sintesi degli stiletti. Questi *scaffold* vengono rivestiti da un monostrato di cellule epiteliali nelle prime 5 ore dalla formazione della pupa. Successivamente, lo strato di cellule si restringe, originando una struttura tubolare chitinosa, ben distinguibile entro le 7 ore. Da questa struttura si origineranno le appendici dell'apparato boccale, con il collasso e appiattimento della struttura tubolare, a 20 ore per mandibole e mascelle e a 40 ore per labium e labrum. Lo sviluppo dei palpi mascellari segue lo stesso processo, in sacche cuticolari separati, assumendo la forma definitiva entro 20 ore. Alla conclusione del processo le cellule che hanno sintetizzato gli stiletti regrediscono fino a scomparire, con la sola permanenza dei neuroni lungo il labrum, i quali hanno funzione sensoriale. L'osservazione in tomografia dello sviluppo della proboscide ha permesso di confermare l'origine delle regioni germinali dei componenti degli stiletti, evidenziando inoltre come le cellule interagiscano con la cuticola, sintetizzando i nuovi elementi, per poi scomparire.

#### RUOLO DELLA SALIVA NEL PASTO DI SANGUE DELLE ZANZARE

Per comprendere il funzionamento del pasto del sangue non basta conoscere la struttura della proboscide, ma anche le sostanze iniettate dall'insetto durante il processo. La saliva delle zanzare è una miscela complessa di proteine che consente loro di effettuare il pasto di sangue su ospiti vertebrati. Le proteine salivari consentono alla zanzara di contrastare diversi processi fisiologici dell'ospite, come la vasocostrizione e l'emostasi. Nonostante si possano riconoscere proteine dalla funzione comune, la composizione molecolare della saliva varia tra le diverse specie di zanzara (GUERRERO *et al.*, 2020). Inoltre, l'espressione dei geni coinvolti nella produzione di queste proteine è spesso associata al raggiungimento della maturità sessuale dell'organismo, come dimostrato in *Aedes aegypti* (KING *et al.*, 2011).

La presenza delle ghiandole salivari si è dimostrata cruciale nel ridurre il tempo che le zanzare impiegano nel perforare la cute dell'ospite e nell'inserire gli stiletti (*intra*dermal *probing*), rispetto agli organismi a cui sono state rimosse (YAMAMOTO *et al.*, 2016). Inoltre, è stato dimostrato che l'azione anticoagulante e immunomodulatoria della saliva favorisca indirettamente la rilevazione dei vasi sanguigni al di sotto della pelle. A titolo di esempio, l'apirasi presente nella saliva idrolizza ATP e ADP. L'ATP normalmente induce vasocostrizione e aggregazione delle piastrine. Pertanto l'apirasi non solo

impedisce la coagulazione agevolando la localizzazione dei capillari, ma suggerisce anche la possibilità che la saliva favorisca la formazione di ematomi attorno ai vasi sanguigni. Tale processo potrebbe agevolare la localizzazione dei vasi, poiché la formazione di un ematoma nel tessuto sondato aumenterebbe al suo interno il volume di sangue, rendendo quest'ultimo più facile da individuare (RIBERIO *et al.*, 1984). Oltre a ciò, la risposta allergica a specifici allergeni presenti nella saliva potrebbe stimolare la degranolazione dei mastociti che risiedono nella cute dell'ospite, provocando vasodilatazione (CONWAY *et al.*, 2021). D'altro canto, alcune proteine salivari potrebbero interagire direttamente con l'apparato boccale della zanzara, rendendo più efficace l'individuazione dei vasi sanguigni (ARNOLDI *et al.*, 2022).

Come già accennato in precedenza, nel momento in cui la saliva delle zanzare modula il sistema immunitario dell'ospite per facilitare l'assorbimento di sangue, promuove allo stesso tempo la replicazione e la trasmissione di patogeni e parassiti. Pertanto, una migliore comprensione della composizione della saliva e delle interazioni molecolari che si verificano durante il pasto di sangue non solo arricchirebbe le nostre conoscenze riguardo la biologia dell'insetto, ma potrebbe fornire informazioni cruciali sulla competenza vettoriale e per la progettazione di strategie di controllo efficaci per questo vettore (ARNOLDI *et al.*, 2022).

#### INTERAZIONI BIOMOLECOLARI NEL PASTO DI SANGUE

L'osservazione del ruolo della saliva nel successo del pasto di sangue della femmina di zanzara ha portato a interrogarsi se fosse possibile individuare dei fattori, presenti nella saliva, che abbiano un effetto diretto sulla zanzara e che modulino il comportamento durante il pasto ematico (ARNOLDI *et al.*, 2022). La zanzara modello utilizzata è stata *Ae. albopictus*. Grazie a precedenti analisi di trascrittomiche, è stato possibile individuare delle proteine candidate tra quelle espresse dalle ghiandole salivari (ARCA *et al.*, 2007). Cercando una proteina che corrispondesse a criteri quali l'espressione durante la maturità sessuale, la somiglianza con proteine individuate in *Aedes aegypti*, l'esclusione di fattori già noti per il ruolo nella coagulazione del sangue, lo studio ha trovato un buon candidato in una proteina del gruppo 34-k, presente solo nella sottofamiglia dei Culicinae. La proteina è stata denominata quindi LIPS-2, *Labrum Interaction Protein of the Saliva-2*.

Per verificare l'effettivo coinvolgimento di LIPS-2 durante il pasto di sangue, sono stati eseguiti esperimenti volti a verificare il comportamento delle zanzare in assenza della sua espressione. Usando la tecnica del RNA *interference*, è stato iniettato in femmine adulte RNA sintetico, generando zanzare knock-down per LIPS-2. Queste zanzare impiegano più tempo nell'attuare l'*intra-dermal probing* rispetto al controllo, mentre non si ha un aumento del tempo utilizzato per ingerire sangue. Applicando LIPS-2 ricombinante alla proboscide di femmine non trattate, si osserva che l'apparato boccale attua dei

movimenti tipici dell'*intra-dermal probing*, in particolare muovendo il labrum e le mascelle e aumentando la salivazione. Appare evidente come LIPS-2 abbia un ruolo nel controllare la fase iniziale del pasto di sangue.

Una volta chiarito l'effetto di LIPS-2 sull'efficacia del pasto di sangue, si è cercato di capire il meccanismo di interazione con gli stiletti. Per fare ciò, è stato eseguito un esperimento di interazione con LIPS-2 ricombinante legata a GFP, per visualizzare eventuali siti di legame con elementi della proboscide. Si è così notato che LIPS-2 interagisce a livello della estremità del labrum. Inoltre, la struttura del labrum subisce delle modificazioni morfologiche interagendo con la proteina: le "creste a V" presenti sulla punta del labrum aumentano di profondità se trattate con LIPS-2. Il labrum, dunque, non è semplicemente un pezzo rigido cuticolare, ma è in grado di modificarsi interagendo con la saliva durante il pasto di sangue. Nel labrum sono presenti inoltre cellule nervose sensoriali, che potrebbero percepire LIPS-2 e attivare i comportamenti e i cambiamenti osservati.

Per comprendere appieno il meccanismo di azione di LIPS-2, si è cercato di individuare l'eventuale recettore presente sulla cuticola, in grado di interagire con la proteina salivare. Si è individuata una proteina cuticolare, Cp19, localizzata sulla punta del labrum, in corrispondenza dei siti dove è localizzata LIPS-2. Studiando l'espressione di Cp19 durante lo sviluppo, si nota come essa raggiunge un picco intorno alle 24 ore dalla metamorfosi in pupa, per poi scomparire. L'espressione corrisponderebbe quindi al periodo in cui si sviluppano gli stiletti.

Comprendere il processo di sviluppo degli stiletti può aiutare quindi a comprendere i processi biochimici che accadono durante il pasto di sangue delle zanzare.

#### RIASSUNTO

Il successo evolutivo degli insetti è attribuibile alla loro straordinaria variabilità morfologica, con gli apparati boccali altamente specializzati che riflettono le esigenze alimentari di ciascuna specie. Questa diversità consente agli insetti di occupare diverse nicchie ecologiche. Nel caso delle zanzare la proboscide svolge un ruolo chiave nel pasto di sangue. Durante la metamorfosi, le larve si sviluppano in acqua con un apparato boccale masticatore, mentre gli adulti hanno una proboscide pungente-succhiante per nutrirsi di nettare e sangue. Le zanzare possono trasmettere patogeni durante il pasto di sangue, rendendo cruciale lo studio della morfologia e della funzione dell'apparato boccale per lo sviluppo di strategie di controllo.

La microtomografia computerizzata a raggi X è uno strumento utile per studiare l'anatomia dell'apparato boccale delle zanzare. Questa tecnica consente la visualizzazione dei tessuti interni e la ricostruzione tridimensionale delle strutture, fornendo informazioni dettagliate sullo sviluppo dell'apparato boccale.

Per comprendere il funzionamento del pasto del sangue non basta conoscere la struttura della proboscide, ma anche le sostanze iniettate dall'insetto durante il

processo. La saliva delle zanzare, una miscela complessa di proteine, svolge un ruolo cruciale nel facilitare il pasto di sangue. Le interazioni biomolecolari durante il pasto includono la modulazione del sistema immunitario dell'ospite e la facilitazione della localizzazione dei vasi sanguigni.

In modo specifico, una proteina salivare chiamata LIPS-2 della zanzara tigre *Aedes albopictus* influisce sul comportamento durante il pasto di sangue. L'inibizione di questa proteina ha mostrato un rallentamento nel processo di perforazione della cute, evidenziando il suo ruolo nell'efficacia del pasto di sangue. L'interazione di LIPS-2 con il labrum, una parte dell'apparato boccale, modifica morfologicamente questa struttura. Questa modificazione è mediata dall'interazione di LIPS-2 con una proteina cuticolare (Cp19).

Comprendere il processo di sviluppo degli stiletti e le interazioni molecolari tra proteine salivari e cuticola può fornire ulteriori informazioni sui meccanismi biochimici e fisiologici coinvolti nel pasto di sangue delle zanzare.

#### BIBLIOGRAFIA

- ARCÀ B., LOMBARDO F., FRANCISCETTI I.M.B., PHAM V.M., MESTRES-SIMON M., ANDERSEN J.F., RIBEIRO J.M.C., 2007 - *An insight into the sialome of the adult female mosquito Aedes albopictus*. - *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 37: 107–127. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2006.10.007>
- ARNOLDI I., MANCINI G., FUMAGALLI M., GASTALDI D., D'ANDREA L., BANDI C., DI VENERE M., IADAROLA P., FORNERIS F., GABRIELI P., 2022 - *A salivary factor binds a cuticular protein and modulates biting by inducing morphological changes in the mosquito labrum*. - *Current Biology*, 32: 3493-3504.e11. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2022.06.049>
- BAIRD E., TAYLO G., 2017 - *X-ray micro computed-tomography*. - *Current Biology*, 27: R289–R291. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.01.066>
- BECKER N., PETRIĆ D., ZGOMBA M., BOASE C., MADON M.B., DAHL C., KAISER A., 2020 - *Mosquitoes: Identification, Ecology and Control, Fascinating Life Sciences*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11623-1>
- CHAPMAN R.F., SIMPSON S.J., DOUGLAS A.E., 2013 - *The insects: structure and function*, Fifth edition. ed. Cambridge University Press, New York.
- CONWAY M.J., 2021 - *Type I hypersensitivity promotes Aedes aegypti blood feeding*. - *Sci. Rep.*, 11: 14891. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94416-w>
- FOSTER A.W., WALKER D.E., 2019 - *Mosquitoes (Culicidae)*. 15:261-325; in: *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)* a cura di Muller G.R. e Durden L.A. Editore: Academic Press, Elsevier
- GUERRERO D., CANTAERT T., MISSE D., 2020 - *Aedes mosquito salivary components and their effect on the immune response to arboviruses*. - *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 10: 407. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00407>
- HA Y.-R., LEE S.-C., SEO S.-J., RYU J., LEE D.-K., LEE S.-J., 2015 - *Comparison of the functional features of the pump organs of Anopheles sinensis and Aedes togoi*. - *Sci. Rep.*, 5: 15148. <https://doi.org/10.1038/srep15148>
- HALL M.J.R., MARTÍN-VEGA D., 2019 - *Visualization of insect metamorphosis*. - *Phil. Trans. R. Soc. B*, 374: 20190071. <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0071>
- KIM B.H., SEO E.S., LIM J.H., LEE S.J., 2012 - *Synchrotron X-ray microscopic computed tomography of the pump system of a female mosquito*. - *Microscopy Res & Technique*, 75: 1051–1058. <https://doi.org/10.1002/jemt.22030>
- KING J.G., VERNICK K.D., HILLYER J.F., 2011 - *Members of the salivary gland surface protein (SGS) family are major immunogenic components of mosquito saliva*. - *J. Biol. Chem.*, 286: 40824–40834. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.280552>
- MIZUTANI R., SUZUKI Y., 2012 - *X-ray microtomography in biology*. - *Micron*, 43: 104–115. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2011.10.002>
- MULLER G., DURDEN L., 2019 - *Flies (Diptera)*, 11:171-190. In: *Medical and Veterinary Entomology (Third Edition)* a cura di Mullen G.R. e Durden L.A. Editore: Academic Press, Elsevier
- RIBERIO J.M.C., ROSSIGNOL P.A., SPIELMAN A., 1984 - *Role of Mosquito Saliva in Blood Vessel Location*. - *Journal of Experimental Biology*, 108(1):1-7. <https://doi.org/10.1242/jeb.108.1.1>
- SCORTECCI G., 1960 - *Insetti. Come sono. Dove vivono. Come vivono*. Editore: labor
- WIPFLER B., POHL H., YAVORSKAYA M.I., BEUTEL R.G., 2016 - *A review of methods for analysing insect structures — the role of morphology in the age of phylogenomics*. - *Current Opinion in Insect Science*, 18: 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.09.004>
- YAMAMOTO D.S., SUMITANI M., KASASHIMA K., SEZUTSU H., MATSUOKA H., 2016 - *Inhibition of malaria infection in transgenic anopheline mosquitoes lacking salivary gland cells*. - *PLoS Pathog.*, 12: e1005872. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005872>



## LA DETERMINAZIONE DEL SESSO IN NEMATOCERI VETTORI: STATO DELL'ARTE E PROSPETTIVE DI STUDIO

MARIANNA VARONE <sup>a</sup> - FRANCESCA LUCIBELLI <sup>a</sup> - PAOLA DI LILLO <sup>a</sup> - MARCO SALVEMINI <sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Napoli Federico II

\*Corresponding Author: marco.salvemini@unina.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo" - Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Sex determination in Nematoceran vector species: state of the art and study perspectives*

The insect sex determination pathway is governed by a regulatory cascade activated by primary signals, mainly of genetic nature, which are extremely variable among species. This genetic pathway in Nematoceran Dipterans, although still poorly characterized, exhibits conservation of genes at the bottom of the regulatory cascade, but substantial differences in the upstream primary signals. The study of sex determination in these insects can be useful for the development and application of innovative control strategies, representing valid tools to combat vector species uncontrolled spread, which poses a serious risk to public health.

KEY WORDS: Sex determination, mosquitoes, sandflies, vector control

### INTRODUZIONE

#### *Gli insetti come vettori di malattie*

Nella complessa interazione tra uomo, animali e ambiente, gli artropodi ricoprono un ruolo significativo nella trasmissione di patogeni che possono influenzare la salute umana e animale. Numerose specie appartenenti al Phylum Arthropoda manifestano la capacità di fungere da veicolo per agenti patogeni quali parassiti, virus o batteri. Nell'ambito di tale interazione, quando un organismo agevola attivamente la trasmissione di agenti patogeni da un ospite a un altro, si colloca nella categoria di "vettore". Gli artropodi vettori svolgono un ruolo cruciale nella trasmissione di malattie a umani e animali, mediante meccanismi come il trasferimento meccanico di patogeni e la trasmissione biologica durante il pasto di sangue. L'aumento del rischio di trasmissione è correlato alla continua espansione geografica degli artropodi vettori (PERVEEN *et al.*, 2023). La maggior parte delle specie di vettori artropodi appartiene alla classe degli Insetti, ordine dei Ditteri. Tra queste fatta eccezione per le mosche ematofaghe delle famiglie Glossinidae del genere *Glossina* e quelle delle famiglie Tabanidae, entrambe appartenenti al sottordine Brachycera, la maggior parte delle specie di interesse sanitario appartiene al sottordine Nematocera che annovera zanzare, flebotomi, ceratopogonidi ematofagi e simuliidi.

Le zanzare, appartenenti alla famiglia delle Culicidae, sono considerate i più importanti tra i ditteri ematofagi, responsabili di causare centinaia di migliaia di morti in tutto il mondo ogni anno (McCARTHY, 2014). Gli adulti di entrambi i sessi si alimentano con fluidi zuccherini di origine vegetale; tuttavia, le zanzare di sesso femminile compiono un pasto di sangue, atto attraverso il quale possono veicolare svariati tipi di virus (PAUPY *et al.*, 2009).

Tra le zanzare, i principali generi associati alla trasmissione di malattie includono *Anopheles*, responsabili della trasmissione del parassita *Plasmodium*, agente eziologico della malaria umana; *Aedes*, vettore di malattie virali quali il *flavivirus* della febbre gialla, il virus della dengue, il virus zika e l'*alphavirus*; e *Culex*, principalmente coinvolto nella trasmissione del virus *West Nile*.

I flebotomi o pappataci, appartenenti alla famiglia dei Psychodidae, sono ditteri ectoparassiti ematofagi di rilevante interesse sanitario. Agiscono come vettori di agenti patogeni, tra cui i protozoi del genere *Leishmania*, i batteri del genere *Bartonella* e differenti *Arbovirus* (MAROLI *et al.*, 2013). Le femmine, necessitando di un pasto di sangue per la maturazione delle uova, si nutrono di una vasta gamma di mammiferi, compreso l'uomo.

I Culicoidi, appartenenti alla famiglia Ceratopogonidae, sono un gruppo di insetti ematofagi noti comunemente come moscerini pungenti. La loro importanza è derivata dalla loro capacità di agire come vettori di oltre 50 *Arbovirus* e di vari agenti patogeni, tra cui protozoi e vermi filariali. In particolare, un significativo patogeno virale trasmesso biologicamente dai Culicoidi è il virus *Oropouche* (OROV), responsabile di una malattia febbrile nell'uomo (MELLOR *et al.*, 2000).

I simuliidi, appartenenti alla famiglia Simuliidae, sono comunemente conosciuti come moscerini neri e costituiscono una famiglia di ditteri ematofagi, responsabili della trasmissione a uccelli e mammiferi di patogeni tra cui il nematode *Onchocerca volvulus* agente eziologico dell'oncocercosi o cecità fluviale (ADLER *et al.*, 2019).

#### *Meccanismi di determinazione del sesso negli insetti*

La determinazione del sesso negli insetti suscita curiosità e ispira la ricerca, essendo uno dei primi meccanismi

differenziativi nello sviluppo individuale, influenzando morfologia, fisiologia e comportamento sessuale. Si utilizza il termine “determinazione del sesso” per indicare le istruzioni iniziali che consentono all’embrione di differenziarsi in senso maschile o femminile. I geni alla base di questo programma presentano un’interazione strutturata in modo gerarchico a “cascata” (SÁNCHEZ, 2008).

tutto lo sviluppo; 2) il pre-mRNA del gene *transformer* (*tra*), determinandone uno *splicing* femmina-specifico che porta alla traduzione di una proteina TRA funzionale solo in femmine. La proteina TRA funzionale, insieme al prodotto del gene autosomico *transformer-2* (*tra-2*, espresso in entrambi i sessi), forma un complesso che dirige lo *splicing* femmina-specifico dei geni *dsx* e *fru*. Le

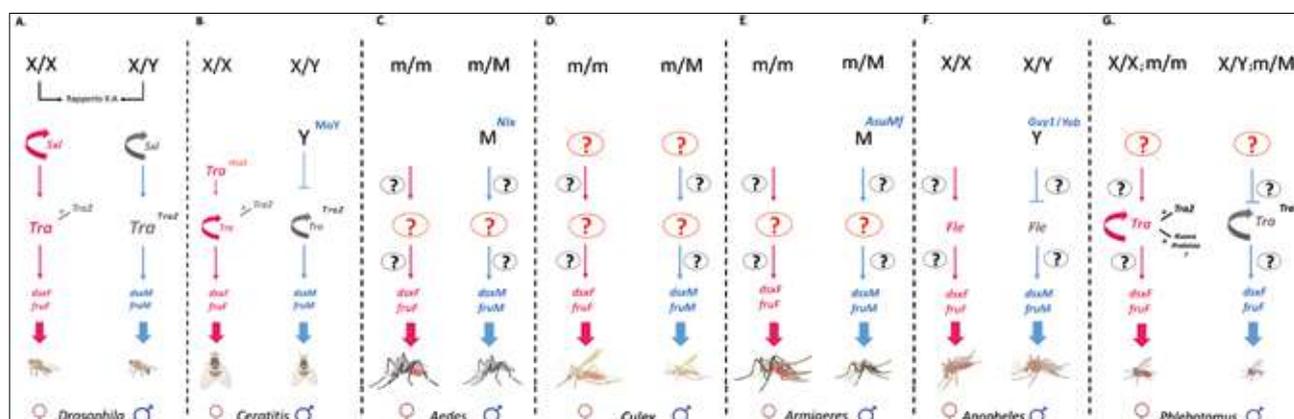


Fig. 1 - Analisi comparativa dei meccanismi di determinazione del sesso. A) *D. melanogaster*; B) *C. capitata*; C) Genere *Aedes*; D) Genere *Culex*; E) Genere *Armigeres*; F) Genere *Anopheles*; G) Genere *Phlebotomus*.

I componenti chiave della cascata di determinazione del sesso sono: un segnale primario, un prodotto materno, un gene chiave e uno o più geni terminali in grado di attuare un doppio *switch*. In questo modello conservato il segnale primario e i geni chiave evolvono rapidamente e risultano diversificati nelle varie famiglie di insetti, mentre i geni terminali sono altamente conservati (GRAHAM *et al.*, 2003). In particolare, il segnale primario può essere classificato in tre categorie: 1) zigotico, 2) materno o 3) ambientale. Questo segnale attiva una cascata di eventi molecolari che portano tutti a uno stesso *output* estremamente conservato: lo *splicing* sesso-specifico dei geni *doublesex* (*dsx*) e *fruitless* (*fru*), geni caratterizzati dal doppio *switch*. Essi codificano per fattori di trascrizione responsabili di attivare il corretto programma di sviluppo sessuale dell’individuo (SÁNCHEZ, 2008).

Nella specie modello *Drosophila melanogaster* sono presenti due cromosomi sessuali XY eteromorfici nei maschi e due copie del cromosoma X nelle femmine. Il segnale primario per la determinazione del sesso in tale specie è costituito dal rapporto tra il numero dei cromosomi X e gli assetti autosomi (A). Quando il rapporto X:A=1 si ottiene sviluppo femminile, quando X:A=0.5 si determina sviluppo maschile. La duplice copia del cromosoma X garantisce il funzionamento di fattori trascrizionali X-linked Signaling Elements (XSE) che attivano la trascrizione del gene, definito *master regulator*, *Sex-lethal* (*Sxl*) dal suo promotore zigotico. La proteina funzionale SXL è un fattore di *splicing* contenente due domini del tipo RRM (RNA Recognition Motif), in grado di riconoscere e regolare due bersagli chiave: 1) il pre-mRNA tardivo di *Sxl* stesso, determinando l’espressione di una proteina SXL tardiva funzionale e femmina-specifica, che continua a mantenere il *feedback* positivo durante

proteine TRA/TRA-2 riconoscono sui pre-mRNA di tali geni ripetizioni di una sequenza regolativa, detta “TRA/TRA-2 binding site”, guidando lo *splicing* femmina-specifico dei pre-mRNA dei geni *dsx<sup>F</sup>* e *fru<sup>F</sup>*. In embrioni XY, l’assenza della proteina funzionale SXL determina la mancata maturazione della proteina TRA funzionale e la conseguente assenza del complesso TRA/TRA-2, generando le isoforme maschio-specifiche *dsx<sup>M</sup>* e *fru<sup>M</sup>* (CLOUGH *et al.*, 2014) (Fig. 1A).

L’analisi della determinazione del sesso in numerose specie di ditteri e in altre specie di insetti appartenenti a differenti ordini ha evidenziato una conservazione solo parziale della cascata di determinazione del sesso osservata in *Drosophila*. In molte specie di mosche *non-Drosophilidae*, il segnale primario della determinazione del sesso è costituito da un fattore M dominante presente sul cromosoma Y. È questo il caso della mosca *Ceratitis capitata*, appartenente alla famiglia Tephritidae, per la quale il fattore M responsabile della mascolinizzazione è costituito dal locus Y-linked *Male-on-the-Y* (*MoY*) (MECCARIELLO *et al.*, 2019). In tale specie il gene chiave per lo sviluppo femminile non è più *Sxl*, come in *Drosophila*, ma il gene *transformer*, che assume un ruolo fondamentale nel *pathway*. In *C. capitata* il gene *tra* è in grado di attivare un meccanismo di auto-regolazione positiva, in maniera analoga a quanto osservato per *Sxl* in *Drosophila*, che consente il mantenimento del *pathway* in senso femminile. Negli embrioni XX, il trascritto materno del gene *tra* codifica una proteina TRA materna che, interagendo con la proteina TRA-2, permette lo *splicing* femmina-specifico dei pre-mRNA zigotici di *tra* riconoscendo copie multiple della sequenza TRA/TRA-2 binding site sul pre-mRNA di *tra*. Di conseguenza, viene sintetizzata la proteina

TRA zigotica che induce uno *splicing* in senso femminile del trascritto *tra* stesso, innescando un loop autoregolativo positivo. A valle, la formazione del complesso TRA/TRA-2, determina lo *splicing* femmina-specifico dei geni *dsx* e *fru* riconoscendo le TRA/TRA-2 *binding site* presenti su tali geni. In embrioni XY, la proteina MOY inibisce il legame del complesso TRA/TRA-2 con i siti di *binding* sul pre-mRNA zigotico di *tra*, con un meccanismo ancora non noto, determinando uno *splicing* maschio-specifico che genera un trascritto codificante per una proteina TRA tronca e inattiva. La mancanza del complesso TRA/TRA-2 in embrioni di sesso maschile induce lo *splicing* predefinito in senso maschile dei trascritti dei geni a valle *dsx* e *fru* (PANE *et al.*, 2002; SALVEMINI *et al.*, 2009) (Fig. 1B).

Lo studio della determinazione del sesso in numerose altre specie di Ditteri appartenenti ai generi *Bactrocera*, *Musca*, *Glossina*, ma anche in altre specie appartenenti a ordini diversi quali Imenotteri (*Apis mellifera*, *Nasonia vitripennis*) e Coleotteri (*Tribolium castaneum*) ha permesso di evidenziare una sostanziale conservazione del modulo regolativo scoperto in *C. capitata* costituito da *tra* → *dsx+fru*, con un gene *tra* in grado di rispondere al segnale primario e di mantenere memoria del corretto stato di attivazione nei due sessi (LAGOS *et al.*, 2007; BURGHARDT *et al.*, 2005; HEDIGER *et al.*, 2010; GEMPE *et al.*, 2009; GEUVERINK *et al.*, 2017; SHUKLA *et al.*, 2012).

#### DETERMINAZIONE DEL SESSO IN INSETTI NEMATOCERI VETTORI

##### Famiglia Culicidae - sottofamiglia Culicinae

La sottofamiglia Culicinae comprende insetti comunemente noti come zanzare che includono i generi *Aedes*, *Armigeres* e *Culex*. Il cariotipo di tali specie non mostra cromosomi sessuali, ma presenta cromosomi omomorfici sessuali indistinguibili citologicamente, considerati una forma ancestrale dei cromosomi sessuali delle zanzare (TOUPS e HAHN, 2010).

Nel genere *Aedes*, nelle specie *Ae. aegypti* e *Ae. albopictus*, è stato identificato un segnale primario per la determinazione del sesso maschile, noto come *Nix* (HALL *et al.*, 2015; GOMULSKI *et al.*, 2018). La proteina NIX è una RNA-binding protein, caratterizzata da tre motivi di legame all'RNA del tipo RMM. L'inattivazione di *Nix* porta alla femminizzazione dei maschi, con lo sviluppo di caratteristiche morfologiche femminili e inducendone lo *splicing* femmina-specifico dei geni a valle *dsx* e *fru*. Questi risultati dimostrano che il gene *Nix* è sia necessario che sufficiente per avviare il processo di differenziazione maschile sia in *Ae. aegypti* che in *Ae. albopictus* (ARYAN *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020) (Fig. 1C).

Recentemente è stato identificato un ulteriore fattore M nella zanzara della specie *Armigeres subalbatus* (LIU *et al.*, 2023), il gene *AsuMf*, codificante per una proteina con domini RMM ma differente rispetto alle proteine NIX. La presenza anche nel genere *Culex* di un fattore M (GILCHRIST e HALDANE, 1947) suggerisce la conservazione di un segnale primario, ancora non identificato, in grado di indurre la differenziazione del sesso maschile

nelle zanzare Culicinae e la cui eliminazione determina la variazione nello *splicing* sesso-specifico dei geni *dsx* e *fru* (Fig. 1C-D-E).

Gli interruttori finali della cascata di determinazione del sesso delle zanzare Culicinae sono *dsx* e *fru*. Essi conservano, come nella maggior parte dei ditteri, una regolazione sesso-specifica con conseguente presenza di trascritti femminili e maschili.

In generale, negli insetti olometaboli la regolazione dello *splicing* femmina-specifico dei geni *dsx* e *fru* è mediata dal complesso TRA/TRA-2, che risulta piuttosto conservato (BOPP *et al.*, 2014). Tuttavia, un gene codificante per la proteina TRA non è stato ancora identificato in nessuna specie di zanzara, sebbene siano stati rilevati potenziali TRA/TRA-2 *binding site* nei geni *dsx* e *fru* di *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* e *Cx. quinquefasciatus*, analoghi a quelli presenti in *Drosophila* ma con una ridotta conservazione di sequenza, indicando un possibile coinvolgimento di fattori TRA-2 e TRA-like in tali specie (PRICE *et al.*, 2015; SALVEMINI *et al.*, 2013; SCALI *et al.*, 2005; JIN *et al.*, 2020; SALVEMINI *et al.*, 201; LIU *et al.*, 2023).

##### Famiglia Culicidae - sottofamiglia Anofelinae

La sottofamiglia delle Anofelinae include le zanzare del genere *Anopheles* che presentano cariotipo caratterizzato dalla presenza di cromosomi sessuali, XX nelle femmine e X e Y nei maschi (FRACCARO *et al.*, 1977).

Nelle specie *An. stephensi* e *An. gambiae* sul cromosoma Y sono presenti due diversi geni che costituiscono il segnale primario di determinazione del sesso maschile: il gene *Guy1* e *Yob* (CRISCIONE *et al.*, 2013; KRZYWINSKA *et al.*, 2016). Tali geni sono coinvolti anche nella regolazione della compensazione del dosaggio attraverso l'induzione dell'ipertrascrizione dei geni X-linked nei maschi (QI *et al.*, 2019).

Come per le zanzare del genere *Aedes*, nel genere *Anopheles* non risulta identificato un omologo del gene *tra*, tuttavia è stato recentemente identificato un gene che codifica per una proteina, FEMALELESS (FLE), che condivide il motivo RRM di riconoscimento dell'RNA con le proteine TRA-2 di altri insetti. FLE agisce come effettore intermedio nella cascata genica di determinazione del sesso, sia modulando lo *splicing* femmina-specifico di *dsx* e *fru* sia come regolatore della compensazione del dosaggio nelle femmine (KRZYWINSKA *et al.*, 2021). L'assenza del complesso TRA/TRA-2, suggerisce che la proteina FLE può da sola regolare lo *splicing* femmina-specifico dei geni *dsx* e *fru*.

Nei maschi XY, invece, la presenza del fattore M costituito dal gene *Yob* impedisce il corretto funzionamento della proteina FLE, mediante un meccanismo ancora non caratterizzato, che porta allo *splicing* maschio-specifico dei geni *dsx* e *fru* (KRZYWINSKA *et al.*, 2021) (Fig. 1F).

##### Famiglia Psychodidae - sottofamiglia Phlebotominae

I flebotomi sono secondi solo alle zanzare come vettori di agenti patogeni. Nella maggior parte delle specie di flebotomi caratterizzati sono presenti cromosomi sessuali omomorfici. Fanno eccezione alcune specie come

*Phlebotomus perniciosus*, *Lutzomyia shannoni* e *Lutzomyia longipalpis* s.l. che presentano cromosomi sessuali eteromorfici (VIGODER *et al.*, 2021).

I geni coinvolti nella determinazione del sesso dei flebotomi sono stati recentemente identificati mediante un approccio di trascrittoma comparativa (PETRELLA *et al.*, 2019) che ha permesso di evidenziare una sostanziale conservazione della cascata regolativa. A differenza di quanto osservato per le zanzare, in alcune specie di flebotomi del genere *Phlebotomus* il gene *tra* è presente e mostra una conservazione della sua regolazione per *splicing* alternativo sesso-specifico. Gli ortologhi del gene *tra* sono stati identificati solo nel genere *Phlebotomus* ma non in *Lutzomyia*, suggerendo che il gene *tra* potrebbe essere stato perso in seguito alla separazione evolutiva tra questi due generi. Tutti i geni *tra* identificati nel genere *Phlebotomus* codificano per una proteina TRA caratterizzata dalla mancanza del dominio presumibilmente coinvolto nell'auto-regolazione del gene. Questa diversa struttura della proteina TRA suggerisce l'evoluzione di un nuovo dominio che possa svolgere il ruolo autoregolativo o la presenza di una nuova proteina che agisce contestualmente a TRA-2. Tuttavia, l'elevata conservazione delle TRA/TRA-2 *binding sites*, presenti nel gene *tra* della specie *P. perniciosus*, suggeriscono che il meccanismo di autoregolazione di *tra* potrebbe essere conservato anche nei flebotomi.

Nella parte terminale del pathway i geni *dsx* e *fru* sono stati identificati nelle specie *P. perniciosus*, *P. papatasi*, *L. longipalpis*, conservando la regolazione per *splicing* alternativo sesso-specifico e la presenza di TRA/TRA-2 *binding site* altamente conservate suggerisce che lo *splicing* è guidato anche in queste specie dalla formazione di questo complesso (PETRELLA *et al.*, 2019) (Fig. 1G).

#### CONCLUSIONI

Lo studio della determinazione del sesso negli insetti vettori Nematoceri rivela una maggiore complessità e variabilità rispetto a quanto osservato in altri ditteri.

In particolare, nella sottofamiglia Culicinae è nota la presenza di un locus M contenente il segnale primario della determinazione del sesso maschile. Resta ignota la natura molecolare del regolatore intermedio, posto tra tale segnale primario e geni effettori a valle, responsabile dello *splicing* alternativo sesso-specifico dei geni *dsx* e *fru*. Un tale regolatore intermedio è stato identificato nella sottofamiglia Anophelinae, il gene *fle*, di cui il meccanismo di azione non è ancora noto. Per contro, nella sottofamiglia Phlebotominae, dove è stata evidenziata la conservazione di un gene *tra* come elemento chiave per lo sviluppo sessuale femminile, l'identificazione di un segnale primario resta una domanda aperta che necessita di ulteriori indagini. Studi futuri saranno necessari per incrementare le conoscenze sulla cascata genica della determinazione del sesso sia in altre specie di zanzare, flebotomi e altri Nematoceri vettori, come ad esempio Culicoides e Simuliidi, per i quali a oggi non si dispone di nessuna informazione.

Rispondere alle diverse questioni aperte sui meccanismi di determinazione del sesso descritti in questo ar-

ticolo rappresenta una importante sfida da affrontare nei prossimi anni. Tale studio potrebbe contribuire anche a migliorare i sistemi di controllo di insetti Nematoceri vettori, riducendo il loro impatto sulla salute pubblica.

Le principali strategie di controllo ecosostenibile adoperate nei confronti di insetti vettori sono la tecnica dell'insetto sterile e la tecnica dell'insetto incompatibile. Attualmente questi approcci sono impiegati per il controllo di diverse specie di zanzare ma ancora non ottimizzati per il controllo dei pappataci o altri Nematoceri vettori.

Per l'applicazione di tali tecnologie è estremamente importante l'utilizzo di individui del solo sesso maschile, incapaci di pungere e di trasmettere quindi patologie. Tuttavia, le strategie correnti di sessaggio/eliminazione degli individui di sesso femminile sono generalmente di tipo meccanico e caratterizzate da prolungata durata, costi elevati e non garantiscono un'efficacia del 100% (BIEDLER *et al.*, 2016). Lo studio dei geni per la determinazione del sesso potrebbe consentire di identificare target genici per lo sviluppo di ceppi di insetti ottimizzati per produrre solo progenie maschile, utilizzabili in programmi di controllo. Allo stesso tempo, questi geni potrebbero essere impiegati per ideare strategie di controllo basate su tecniche di *gene drive*, da esaminare in test pilota in campo per il controllo di popolazioni naturali di insetti vettori.

#### REFERENZE

- ADLER P.H., MCCREADIE J.W., 2019 – *Black flies (Simuliidae)*. – Medical and veterinary entomology. Academic Press, 2019. 237-259.
- ARYAN A., ANDERSON M.A., BIEDLER J.K., QI Y., OVERCASH J.M., NAUMENKO A.N., SHARAKHOVA M.V., MAO C., ADELMAN Z.N., TU Z., 2020 – *Nix alone is sufficient to convert female Aedes aegypti into fertile males and myo-sex is needed for male flight*. – Proceedings of the National Academy of Sciences, 117(30): 17702-17709.
- BOPP D., SACCONI G., BEYE M., 2014 – *Sex Determination in Insects: Variations on a Common Theme*. – Sex Dev., 8: 20–28.
- BURGHARDT G., HEDIGER M., SIEGENTHALER C., MOSER M., DÜBENDORFER A., BOPP D., 2005 – *The transformer2 gene in Musca domestica is required for selecting and maintaining the female pathway of development*. – Development genes and evolution, 215: 165-176.
- CLOUGH E., JIMENEZ E., KIM Y.A., WHITWORTH C., NEVILLE M.C., HEMPEL L.U., PAVLOU H.J., CHEN Z.X., STURGILL D., DALE R.K., SMITH H.E., PRZYTYCKA T.M., GOODWIN S.F., VAN DOREN M., OLIVER B., 2014 – *Sex- and tissue-specific functions of Drosophila doublesex transcription factor target genes*. – Dev. Cell, 31(6): 761-73.
- CRISCIONE F., QI Y., SAUNDERS R., HALL B., TU Z., 2013 – *A unique Y gene in the Asian malaria mosquito Anopheles stephensi encodes a small lysine-rich protein and is transcribed at the onset of embryonic development*. – Insect Mol. Biol., 22(4): 433-41.
- FRACCARO M., TIEPOLO L., LAUDANI U., MARCHI A.,

- JAYAKAR S.D., 1977 – *Y chromosome controls mating behaviour on Anopheles mosquitoes*. – Nature, 265(5592): 326-328.
- GEMPE T., HASSELMANN M., SCHIÖTT M., HAUSE G., OTTE M., BEYE M., 2009 – *Sex determination in honeybees: two separate mechanisms induce and maintain the female pathway*. – PLoS biology, 7(10), e1000222.21-230.
- GEUVERINK E., RENSINK A.H., RONDEEL I., BEUKEBOOM L.W., VAN DE ZANDE L., VERHULST E.C., 2017 – *Maternal provision of transformer-2 is required for female development and embryo viability in the wasp Nasonia vitripennis*. – Insect Biochemistry and Molecular Biology, 90: 23-33.
- GILCHRIST B.M., HALDANE J.B.S., 1947 – *Sex linkage and sex determination in a mosquito, Culex molestus*. – Hereditas, 33: 175-190.
- GOMULSKI L.M., MARICONTI M., DI COSIMO A., SCOLARI F., MANNI M., SAVINI G., MALACRIDA A.R., GASPERI G., 2018 – *The Nix locus on the male-specific homologue of chromosome 1 in Aedes albopictus is a strong candidate for a male-determining factor*. – Parasit. Vectors., 24;11(Suppl 2): 647.
- GRAHAM P., PENN J.K., SCHEDL P., 2003 – *Masters change, slaves remain*. – Bioessays, 25: 1-4.
- HALL A.B., BASU S., JIANG X., QI Y., TIMOSHEVSKIY V.A., BIEDLER J.K., SHARAKHOVA M.V., ELAHI R., ANDERSON M.A., CHEN X.G., SHARAKHOV I.V., ADELMAN Z.N., TU Z., 2015 – *A male-determining factor in the mosquito Aedes aegypti*. – Science, 348(6240): 1268-1270.
- HEDIGER M., HENGGELER C., MEIER N., PEREZ R., SACCONI G., BOPP D., 2010 – *Molecular characterization of the key switch F provides a basis for understanding the rapid divergence of the sex-determining pathway in the housefly*. – Genetics, 184(1):155-70.
- JIN B., ZHAO Y., DONG Y., LIU P., SUN Y., LI X., ZHANG X., CHEN X.G., GU J., 2020 – *Alternative splicing patterns of doublesex reveal a missing link between Nix and doublesex in the sex determination cascade of Aedes albopictus*. – Insect Sci., 28(6):1601-1620.
- KRZYWINSKA E., FERRETTI L., LI J., LI J.C., CHEN C.H., KRZYWINSKI J., 2021 – *Femaleless Controls Sex Determination and Dosage Compensation Pathways in Females of Anopheles Mosquitoes*. – Curr. Biol., 31(5):1084-1091.e4.
- LAGOS D., KOUKIDOU M., SAVAKIS C., KOMITOPOULOU K., 2007 – *The transformer gene in Bactrocera oleae: the genetic switch that determines its sex fate*. – Insect molecular biology, 16(2), 2.
- LIU P., JIN B., LI X., ZHAO Y., GU J., BIEDLER J.K., TU Z.J., CHEN X.G., 2020 – *Nix is a male-determining factor in the Asian tiger mosquito Aedes albopictus*. – Insect Biochem. Mol. Biol., 118:103311.
- LIU P., YANG W., KONG L., ZHAO S., XIE Z., ZHAO Y., WU Y., GUO Y., XIE Y., LIU T., JIN B., GU J., TU Z.J., JAMES A.A., CHEN X.G., 2023 – *A DBHS family member regulates male determination in the filariasis vector Armigeres subalbatus*. – Nat. Commun. 14: 2292.
- MAROLI M., FELICIANGELI M.D., BICHAUD L., CHARREL R.N., GRADONI L., 2013 – *Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern*. – Medical and veterinary entomology, 27(2): 123-147.
- MCCARTHY N., 2014 – *The World's Deadliest Animals* – [www.statista.com/chart/2203/the-worlds-deadliest-animals/](http://www.statista.com/chart/2203/the-worlds-deadliest-animals/)
- MECCARIELLO A., SALVEMINI M., PRIMO P., HALL B., KOSKINIOTI P., DALÍKOVÁ M., GRAVINA A., GUCCIARDINO M.A., FORLENZA F., GREGORIOU M.E., IPPOLITO D., MONTI S.M., PETRELLA V., PERROTTA M.M., SCHMEING S., RUGGIERO A., SCOLARI F., GIORDANO E., TSOUMANI K.T., MAREC F., WINDBICHLER N., ARUNKUMAR K.P., BOURTZIS K., MATHIOPOULOS K.D., RAGOUSIS J., VITAGLIANO L., TU Z., PAPATHANOS P.A., ROBINSON M.D., SACCONI G., 2019 – *Maleness-on-the-Y (MoY) orchestrates male sex determination in major agricultural fruit fly pests*. – Science, 27;365(6460): 1457-1460.
- MELLOR P.S., BOORMAN J., BAYLIS M., 2000 – *Culicoides biting midges: their role as arbovirus vectors*. – Annual review of entomology, 45(1): 307-340.
- PANE A., SALVEMINI M., BOVI P.D., POLITO C., SACCONI G., 2002 – *The transformer gene in Ceratitis capitata provides a genetic basis for selecting and remembering the sexual fate*. – Development, 129(15): 3715-25.
- PAUPY C., DELATTE H., BAGNY L., CORBEL V., FONTENILLE D., 2009 – *Aedes albopictus, an arbovirus vector: from the darkness to the light*. – Microbes and infection, 11(14-15): 1177-1185.
- PERVEEN N., MUHAMMAD K., MUZAFFAR S.B., ZAHEER T., MUNAWAR N., GAJIC B., SPARAGANO O.A., KISHORE U., WILLINGHAM A.L., 2023 – *Host-pathogen interaction in arthropod vectors: Lessons from viral infections*. – Front. Immunol., 14: 1061899.
- PETRELLA V., ACETO S., COLONNA V., SACCONI G., SANGES R., POLANSKA N., VOLF P., GRADONI L., BONGIORNO G., SALVEMINI M., 2019 – *Identification of sex determination genes and their evolution in Phlebotominae sand flies (Diptera, Nematocera)*. – BMC Genomics, 20(1): 522.
- PRICE D.C., EGIZI A., FONSECA D.M., 2015 – *Characterization of the doublesex gene within the Culex pipiens complex suggests regulatory plasticity at the base of the mosquito sex determination cascade*. – BMC Evol. Biol., 15: 108.
- QI Y., WU Y., SAUNDERS R., CHEN X.G., MAO C., BIEDLER J.K., TU Z.J., 2019 – *Guy1, a Y-linked embryonic signal, regulates dosage compensation in Anopheles stephensi by increasing X gene expression*. – Elife, 8: e43570.
- SALVEMINI M., D'AMATO R., PETRELLA V., ACETO S., NIMMO D., NEIRA M., ALPHEY L., POLITO L.C., SACCONI G., 2013 – *The orthologue of the fruitfly sex behaviour gene fruitless in the mosquito Aedes aegypti: evolution of genomic organisation and alternative splicing*. – PLoS One, 8(2): e48554.
- SALVEMINI M., MAURO U., LOMBARDO F., MILANO A., ZAZ-

- ZARO V., ARCA B., POLITO L.C., SACCONI G., 2011–  
*Genomic organization and splicing evolution of the doublesex gene, a Drosophila regulator of sexual differentiation, in the dengue and yellow fever mosquito Aedes aegypti.* – *Bmc. Evolutionary Biology*, 11.
- SALVEMINI M., ROBERTSON M., ARONSON B. ATKINSON P., POLITO L.C., SACCONI G., 2009 – *Ceratitis Capitata Transformer-2 Gene Is Required to Establish and Maintain the Autoregulation of Cctra, the Master Gene for Female Sex Determination.* – *Int. J. Dev. Biol.*, 53: 109–120.
- SCALI C., CATTERUCCIA F., LI Q., CRISANTI A., 2005 – *Identification of sex-specific transcripts of the Anopheles gambiae doublesex gene.* – *J. Exp. Biol.*, 208(Pt 19): 3701-3709.
- SÁNCHEZ L., 2008 – *Sex-determining mechanisms in insects.* – *Int. J. Dev. Biol.*, 52(7): 837-56.
- SHUKLA J.N., PALLI S.R., 2012 – *Sex determination in beetles: production of all male progeny by parental RNAi knockdown of transformer.* – *Scientific reports*, 2(1): 602.
- TOUPS M.A., HAHN M.W., 2010 – *Retrogenes reveal the direction of sex-chromosome evolution in mosquitoes.* – *Genetics*, 186(2): 763-766.
- VIGODER F.M., ARARIPE L.O., CARVALHO A.B., 2021 – *Identification of the sex chromosome system in a sand fly species, Lutzomyia longipalpis sl.* – *G3*, 11(8), jkab217.

## LA RESISTENZA AGLI INSETTICIDI PIRETROIDI IN CULICIDI VETTORI DI PATOGENI UMANI E ZONOTICI IN ITALIA

VERENA PICHLER<sup>a</sup> - BENIAMINO CAPUTO<sup>a</sup> - ALESSANDRA DELLA TORRE<sup>a\*</sup>

<sup>a</sup> *Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Università SAPIENZA, Roma, Italia.*

\*Corresponding Author: [alessandra.dellatorre@uniroma1.it](mailto:alessandra.dellatorre@uniroma1.it)

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: "I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo" - Seduta pubblica dell'Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Pyrethroid resistance on Culicidae vectors of human and zoonotic pathogens in Italy*

We here report the results obtained in the last few years by the Medical Entomology group in Sapienza University (Rome, Italy) by studying resistance to pyrethroid insecticides in the two main mosquito vectors of arboviral diseases (i.e. Dengue, West Nile) in Italy and Europe, *Culex pipiens* and *Aedes albopictus*, respectively. Results highlight worrisome levels of phenotypic resistance in several populations across Italy and provide first evidence on its genetic and metabolic mechanisms. Overall, results draw attention to the need for an evidence-based implementation of mosquito nuisance control taking insecticide resistance management into consideration to maintain or restore the efficacy of the nowadays only chemical weapon available to stop arbovirus transmission in Europe.

KEY WORDS: mosquito control, insecticide resistance, *Aedes albopictus*, *Culex pipiens*

### INTRODUZIONE ALLA TEMATICA

Le malattie trasmesse da Culicidi provocano oltre 700.000 morti all'anno soprattutto in regioni tropicali. Tuttavia, in Italia la specie autoctona *Culex pipiens* è responsabile ogni anno di numerosi casi di trasmissione umana del virus del West Nile, mentre la specie invasiva *Aedes albopictus* ha causato negli ultimi anni la circolazione di nuovi arbovirus emergenti di origine tropicale, come il dengue e il chikungunya. Entrambe le specie di zanzare sono anche causa di importante fastidio a causa della loro attività di puntura notturna e diurna.

In accordo con le linee guida dell'European Center for Disease Control (ECDC), il Ministero della Sanità italiano raccomanda la gestione dei focolai larvali e l'impiego di larvicidi per il controllo della densità di zanzare, del fastidio a esse associato e del rischio di trasmissione di patogeni (Piano Nazionale di prevenzione, sorveglianza e risposta alle Arbovirosi, PNA 2020-2025). Interventi contro le zanzare adulte mediante irrorazione di piretroidi – l'unica classe di insetticidi autorizzata per il controllo delle zanzare adulte nell'UE (Direttiva UE 528/2012) – sono consigliati solo in caso di notifica di un caso infetto e/o trasmissione autoctona di arbovirus. Tuttavia, l'uso incontrollato/calendarizzato e spesso scorretto dei piretroidi per ridurre il fastidio associato alle zanzare e di altri insetti nocivi crea le condizioni per lo sviluppo e la diffusione di fenomeni di resistenza. I due principali meccanismi di resistenza nei Culicidi sono: i) metabolica (MR) - ovvero cambiamenti nei sistemi enzimatici degli insetti che portano a rapida disintossicazione o sequestro di insetticidi – e ii) genetica con alterazioni amminoacidiche a livello del canale del sodio voltaggio dipendente (VSSC, il bersaglio dei piretroidi)

(*target site resistance*, TSR). In particolare, mutazioni non sinonime nel gene del VSSC (note come mutazioni *knock-down* o *kdr*) possono ostacolare il legame dei piretroidi e interferire con la cinetica del canale riducendo la suscettibilità della zanzara ai piretroidi (HEMINGWAY & RANSON, 2000). Entrambi questi meccanismi sono molto studiati in zanzare del genere *Anopheles* vettori di malaria o nel principale vettore di arbovirus tropicale *Aedes aegypti*, ma molto meno in specie vettrici non tropicali. Il gruppo di ricerca di Entomologia Medica dell'Università Sapienza di Roma da anni studia i meccanismi e la diffusione della resistenza agli insetticidi in Italia e in Europa. Di seguito vengono riportati i risultati ottenuti sulle due specie di Culicidi più diffuse in aree urbane in Italia e di maggiore importanza sanitaria.

### RISULTATI - CULEX PIPIENS

#### *Resistenza fenotipica*

Risultati di biosaggi eseguiti presso gli insettari della Sapienza seguendo il protocollo standard dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2016) hanno evidenziato alti livelli di resistenza fenotipica alla permetrina (dosaggio, 0,75%) in popolazioni di zanzare adulte raccolte nel 2016-2017 a Ferrara (mortalità <16%), Anzio (m=54%) e Bari (m=27%), e alla deltametrina nella popolazione di Bari (m=63%). Ridotta suscettibilità (mortalità <98%) alla permetrina è stata rilevata in quasi tutte le altre popolazioni (PICHLER *et al.*, 2022a).

#### *Target-site resistance*

PICHLER *et al.* (2022a) hanno rivelato una chiara associazione tra il fenotipo resistente e la presenza di alleli *kdr*

in posizione 1014 del VSSC. Il sequenziamento dell'intero gene *vssc* in 82 esemplari raccolti in Italia e Grecia ha consentito di identificare 659 varianti di cui alcune producono mutazioni in 5 posizioni aminoacidiche rilevanti (o potenzialmente tali) nel determinare resistenza. In dettaglio: i) sono stati riscontrati i 3 alleli nel locus 1014 – già descritti nella specie: l'allele 1014F è stato trovato in tutte le popolazioni campionate con una frequenza allelica variabile dal 25 -87%, mentre l'allele 1014C è stato trovato solo in Grecia (freq =50%) e 1014S è stato trovato in un unico esemplare eterozigote del Nord Italia; ii) la mutazione F1534L, è stata rilevata in tutte le popolazioni italiane analizzate con una frequenza complessiva dell'8%; iii) mutazioni nelle posizioni 253, 918 e 1879 associate a resistenza in altre specie di zanzare/insetti sono state rilevate a frequenze <5% , con la mutazione M918T rilevata per la prima volta nelle zanzare. Questi risultati descrivono un quadro preoccupante di elevata e diffusa resistenza genetica in Italia e forniscono dati per indagini future sull'impatto delle nuove mutazioni e sulla loro possibile sinergia (PICHLER *et al.*, In preparation).

#### Resistenza metabolica

Sono in corso esperimenti di trascrittomica per identificare enzimi che mostrino espressione differenziale in zanzare non esposte, resistenti e sensibili ai piretroidi.

#### RISULTATI - Aedes albopictus

#### Resistenza fenotipica

Risultati di biosaggi eseguiti presso gli insettari della Sapienza seguendo il protocollo standard dell'Organizzazione Mondiale della Sanità su 12 popolazioni adulte raccolte nel 2017 di Piemonte, Veneto, Emilia Romagna, Lazio e Calabria, hanno evidenziato piena sensibilità alla deltametrina (concentrazione=0,05%) e diversi livelli di resistenza fenotipica alla permetrina (0,75%) e/o  $\alpha$ -cipermetrina (0,05%) in tutta Italia, con i livelli più alti nelle province di Ferrara e Roma (Roma e Anzio) dove si è verificata l'epidemia di chikungunya del 2017 (PICHLER *et al.*, 2018; 2019).

#### Target-site resistance

La genotipizzazione parziale del gene *vssc* nei campioni risultati resistenti nei biosaggi ha rivelato una diffusa distribuzione della mutazione V1016G e ha confermato la sua associazione con la resistenza fenotipica ai piretroidi già dimostrata attraverso l'esposizione di colonie di laboratorio omozigoti a diverse classi di piretroidi (KASAI *et al.*, 2019). Abbiamo sviluppato un saggio PCR (AS-PCR) per genotipizzare la mutazione V1016G e lo abbiamo utilizzato per analizzare popolazioni del Trentino, Veneto, Emilia Romagna, Toscana, and Lazio. I risultati hanno evidenziato frequenze dell'allele 1016G >5% in quasi tutte e le popolazioni con l'esclusione di quella del Trentino, con picchi di 20–45% nelle popolazioni turistiche costiere dove i trattamenti piretroidi sono ampiamente implementati e calendarizzati per ridurre il fastidio (PICHLER *et al.*, 2021). In uno studio simile condotto su popolazioni raccolte in 69

siti di campionamento in 19 paesi europei, l'allele 1016G è stata identificata in 12 popolazioni di nove paesi (con frequenze alleliche comprese tra 1 e 8%), per lo più distribuiti in due cluster geografici. Il cluster occidentale comprende popolazioni costiere del Mediterraneo dall'Italia, Francia e Malta, nonché singoli siti di Spagna e Svizzera. Il cluster orientale comprende popolazioni su entrambi le sponde del Mar Nero in Bulgaria, Turchia e Georgia, nonché una in Romania (PICHLER *et al.*, 2022b).

#### Resistenza metabolica

Come per *Cx pipiens*, sono in corso esperimenti di trascrittomica per identificare enzimi che mostrino espressione differenziale in zanzare non esposte, resistenti e sensibili ai piretroidi.

#### CONCLUSIONI

Nel complesso, i risultati ottenuti rivelano l'esistenza di estesi fenomeni di resistenza ai piretroidi nelle popolazioni italiane di *Cx pipiens* e di *Ae. albopictus* e rappresentano un campanello d'allarme, sollecitando un maggiore monitoraggio e una maggiore gestione di un fenomeno che rischia di neutralizzare l'unico mezzo oggi disponibile per contrastare e fermare le epidemie di arbovirus.

#### BIBLIOGRAFIA

- HEMINGWAY J., RANSON H., 2000 - *Insecticide resistance in insect vectors of human disease*. - Annual Review of Entomology, 45: 371–391.
- KASAI S.; CAPUTO B.; TSUNODA T.; CUONG T.C.; MAEKAWA Y.; LAM-PHUA S.G.; PICHLER V.; ITOKAWA K.; MUROTA K.; KOMAGATA O.; ET AL., 2019 - *First detection of a Vssc allele V1016G conferring a high level of insecticide resistance in Aedes albopictus collected from Europe (Italy) and Asia (Vietnam), 2016: A new emerging threat to controlling arboviral diseases*. - Eurosurveillance, 24: 1–12.
- PICHLER V., BELLINI R., VERONESI R., ARNOLDI D., RIZZOLI A., LIA R.P., ET AL., 2018 - *First evidence of resistance to pyrethroid insecticides in Italian Aedes albopictus populations after 26 years since invasion*. - Pest Management Science, 74: 1319–1327.
- PICHLER V., MALANDRUCCOLO C., SERINI C., BELLINI R., SEVERINI F., TOMA L., DI LUCA M., MONTARSI F., BALLARDINI M., MANICA M., PETRARCA V., VONTAS J., KASAI S., DELLA TORRE A., CAPUTO B., 2019 - *Phenotypic and genotypic pyrethroid resistance of Aedes albopictus, with focus on the 2017 chikungunya outbreak in Italy*. - Pest Management Science, 5 (10): 2642-2651.
- PICHLER V., MANCINI E., MICOCCI M., CALZETTA M., ARNOLDI D., RIZZOLI A., LENCIONI V., PAOLI F., BELLINI R., VERONESI R., ET AL., 2021 - *A Novel Allele Specific Polymerase Chain Reaction (AS-PCR) Assay to Detect the V1016G Knockdown Resistance Mutation Confirms Its Widespread Presence in Aedes albopictus Populations from Italy*. - Insects, 12: 79.
- PICHLER V., GIAMMARIOLI C., BELLINI R., VERONESI R.,

- ARNOLDI D., RIZZOLI A.P., LIA R., OTRANTO D., BAL-  
LARDINI M., COBRE P., SERINI P., DELLA TORRE A., CAPU-  
TO B., 2022a - *First evidence of pyrethroid resistance  
in Italian populations of West Nile virus vector Culex  
pipiens*. - *Medical & Veterinary Entomology*, 12573.
- PICHLER V., CAPUTO B., VALADAS V., MICOCCHI M., HORVATH  
C., VIRGILLITO ., AIM-COST NETWORK MEMBERS, AR-  
BOMONITOR PROJECT MEMBERS, SCHAFFNER F, PINTO J.,  
DELLA TORRE A., 2022b - *Geographic distribution of  
the v1016g knockdown resistance mutation in Aedes  
albopictus: a warning bell for Europe*. - *Parasite &  
Vectors*, 15(1): 280.
- WHO (WORLD HEALTH ORGANIZATION), 2016 - *Test pro-  
cedures for insecticide resistance monitoring in ma-  
laria vector mosquitoes*. - World Health Organisation  
Technical Report Series, p. 22.



## SIMBIOSI E CONTROLLO DEI DITTERI VETTORI E DELLE MALATTIE TRASMESSE

ALESSIA CAPPELLI - GUIDO FAVIA

*Scuola di Bioscienze e Medicina Veterinaria, Università di Camerino.*

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda: “I Culicidi vettori di infezioni di interesse medico-veterinario: dalla biologia molecolare allo sviluppo di metodologie di controllo” - Seduta pubblica dell’Accademia, Firenze 10 novembre 2023.

### *Symbiosis and control of Dipteran vectors and transmitted diseases*

It is well known that the symbiotic relationships that insects have established with different microorganisms have played a key role in their evolutionary success. Bacterial symbiosis is also prevalent in insects that are efficient vectors of pathogens, and numerous studies have attempted to decipher the basic mechanisms of host-symbiont relationships and develop ways to control vector-borne diseases. “Symbiotic control,” a new multifaceted approach that uses symbiotic microorganisms to control insect pests or reduce vector competence, seems particularly promising. Three of these currently cutting-edge approaches are: (1) the elimination of microbial symbionts required by the insect host; (2) the manipulation of symbionts that can express anti-pathogen molecules within the host; and (3) the introduction of endogenous microbes into insect populations, able to influence the lifespan and the vectorial capacity of new hosts.

KEY WORDS: symbiosis, insect vector, mosquito

### INTRODUZIONE ALLA TEMATICA

Alcune delle malattie infettive più devastanti, come la malaria, la dengue, la febbre gialla e la filariosi, sono trasmesse dalle zanzare e causano un drammatico carico sanitario per le persone che vivono in regioni endemiche del mondo. Le zanzare, come tutti gli insetti, rappresentano un esempio di grande successo evolutivo, come testimoniano il gran numero di specie descritte (circa 3500) e la loro ampia distribuzione in tutto il mondo, a eccezione dell’Antartide, segno della loro grande capacità adattarsi a tipi di habitat molto diversi. Tra i fattori che contribuiscono in modo significativo a questa grande adattabilità, il microbiota delle zanzare può svolgere un ruolo fondamentale. Sebbene i primi studi sul microbiota associato ad alcune specie di zanzare risalgano a pochi decenni fa (HERTIG and WOLBACH, 1924; YEN and BARR 1971), e sebbene i batteri, come alcune siero-varietà di *Bacillus thuringiensis*, siano stati proposti nel controllo biologico delle malattie trasmesse dalle zanzare (MBD) (LACEY, 2007), solo di recente la ricerca sulla “simbiosi nelle zanzare” è stata ampliata, con l’obiettivo di sviluppare strategie innovative di controllo del MBD attraverso il controllo simbiotico (SC), un approccio multiforme che utilizza microrganismi simbiotici per controllare gli insetti nocivi o ridurre la competenza dei vettori.

### I BATTERI SIMBIONTI DEGLI INSETTI

Il rapporto “antico” e stretto tra batteri simbiotici e alcuni insetti ospiti è testimoniato da alcuni elementi biologici particolarmente caratterizzanti come l’organizzazione strutturale in batteriomi. Un batterioma è, per l’appunto, un organo specializzato che ospita batteri endosimbiotici. I batteriomi contengono a propria volta cellule specializzate dette batteriociti.

Altro aspetto riguarda la riduzione della dimensione

del genoma del simbiote. Le analisi sui genomi dei simbioti batterici mostrano che la riduzione del genoma è un processo continuo, che risulta in un *continuum* di dimensioni, con il genoma più piccolo attualmente conosciuto a 112 kilobasi. I geni che vengono persi riguardano tutte le categorie funzionali, ma i geni fondamentali per i processi informativi centrali, compresi i geni che codificano per le proteine ribosomiali, vengono per lo più conservati, mentre i geni alla base della produzione dei componenti dell’involucro cellulare sono particolarmente impoveriti. Pertanto, queste entità mantengono proprietà simili a cellule ma dipendono fortemente dal co-adattamento agli ospiti, che, a loro volta, si evolvono continuamente per supportare i simbioti da cui dipendono.

### CONTROLLO SIMBIOTICO DI ZANZARE VETTRICI

Come anticipato, il controllo simbiotico degli insetti nocivi e dei vettori di malattie è stato sviluppato attraverso tre approcci principali:

1. la distruzione dei simbioti microbici richiesta da insetti nocivi/vettori di malattie;
2. la manipolazione di simbioti che possono esprimere molecole anti-patogeno all’interno dell’ospite;
3. l’introduzione di microbi endogeni che colpiscono durata di vita e capacità vettoriale dei nuovi ospiti nelle popolazioni di insetti.

Nelle zanzare, il secondo e il terzo approccio sono stati recentemente esaminati in studi mirati a valutare il loro potenziale utilizzo nel controllo dell’MBD.

### MANIPOLAZIONE DEI SIMBIONTI PER ESPRIMERE MOLECOLE ANTIPATOGENE ALL’INTERNO DELLA ZANZARA-OSPITE

La paratransgenesi mira a eliminare gli agenti patogeni dalle popolazioni del vettore ospite attraverso la transge-

nesi di un simbiote del vettore. Pertanto, per sviluppare un approccio paratransgenico efficiente per il controllo della MBD, devono essere identificati microrganismi simbiotici adatti con caratteristiche specifiche e ben definite.

Un potenziale candidato per l'uso nella paratransgenesi delle zanzare è l'alfa-proteobatterio *Asaia*, che ha suscitato notevole interesse a causa della sua peculiare relazione con le zanzare. Questa peculiarità è legata a diversi elementi: innanzitutto *Asaia* si localizza nell'intestino, nelle ghiandole salivari e negli organi riproduttivi delle zanzare di entrambi i sessi (FAVIA *et al.*, 2007). In secondo luogo, *Asaia* si trova in tutti gli stadi di sviluppo di tutti i vettori della malaria testati, nonché in *Aedes aegypti*, il principale vettore della febbre gialla, con una prevalenza molto elevata all'interno di diverse popolazioni (spesso raggiungendo il 100%) dove è il batterio dominante (CROTTI *et al.*, 2009; DIAZ *et al.*, 2021). *Asaia* è facilmente coltivabile al di fuori dell'ospite in terreni privi di cellule ed è stata geneticamente trasformata per esprimere proteine transgeniche. Recentemente, *Asaia* è stato utilizzato per esprimere condizionalmente la proteina anti-plasmodiale denominata "scorpina" al momento dell'effettuazione del pasto di sangue da parte della zanzara (SHANE *et al.*, 2018). *Asaia* utilizza diverse vie di trasmissione all'interno e tra le popolazioni; infatti, può essere trasmessa verticalmente alla progenie per vie materne, paterne e transstadiali e trasmessa orizzontalmente tra individui mediante accoppiamento e co-alimentazione (FAVIA *et al.*, 2007; DAMIANI *et al.*, 2008; DAMIANI *et al.*, 2010).

La trasmissione verticale potrebbe consentire di introdurre con successo batteri modificati nelle popolazioni di zanzare sul campo. Poiché una zanzara gravida depone circa 80-100 uova (Life cycle: the mosquito <https://www.cdc.gov/dengue/resources/factSheets/MosquitoLifecycleFINAL.pdf>), di cui circa il 50% si sviluppa in femmine adulte, si potrebbe prevedere un aumento significativo del numero di zanzare portatrici di *Asaia*, con una rapida diffusione del batterio tra i membri di una popolazione.

#### INTRODUZIONE DI MICROBI ENDOGENI CHE INFLUENZANO LA DURATA DELLA VITA E LA CAPACITÀ VETTORIALE DEI NUOVI OSPITI NELLE POPOLAZIONI DI INSETTI

La dengue è riemersa come una grave sfida per la salute pubblica. Negli ultimi tempi sono stati fatti diversi tentativi promettenti per controllare la malattia con scarso successo. Un metodo innovativo di controllo biologico della dengue è l'uso del batterio *Wolbachia*. Ceppi selezionati di *Wolbachia* sono stati introdotti nell'*Aedes aegypti* per prevenire la trasmissione del virus dengue da parte del vettore (FRENTIU *et al.*, 2014; UTARINI *et al.*, 2021). *Wolbachia* previene la trasmissione della dengue bloccando direttamente il virus o diminuendo la durata del vettore. Il meccanismo attraverso il quale provoca questi effetti non è chiaramente compreso. La principale preoccupazione di questa tecnica è l'emergere di un nuovo sierotipo del virus dengue che potrebbe eludere la protezione offerta da *Wolbachia*. La tecnica è rispettosa dell'ambiente e promettente per il controllo di altre

malattie trasmesse da vettori. In diversi studi condotti principalmente in Asia, è stato dimostrato che l'introduzione di un ceppo di *Wolbachia* (chiamato wMel) nelle popolazioni di *Ae. aegypti* è stata efficace nel ridurre l'incidenza della dengue sintomatica e ha comportato un minor numero di ricoveri per dengue tra i partecipanti a questi trials (PINTO *et al.*, 2021; VELEZ *et al.*, 2023).

#### COSA C'È DI NUOVO?

Il controllo della malaria richiede lo sviluppo di un'ampia gamma di strategie complementari. Recentemente, sono state descritte le proprietà di un batterio simbiotico presente in natura, non geneticamente modificato, *Delftia tsuruhatensis* TC1, che è stato isolato da zanzare incapaci di sostenere lo sviluppo dei parassiti *Plasmodium falciparum* (HUANG *et al.*, 2023). *D. tsuruhatensis* TC1 inibisce le prime fasi dello sviluppo del *Plasmodium* e la successiva trasmissione da parte della zanzara *Anopheles* attraverso la secrezione di una piccola molecola inibitrice. È stato identificato che questo inibitore è la molecola idrofobica armane. Si è inoltre scoperto che, al contatto con le zanzare, l'armane penetra nella cuticola, inibendo lo sviluppo del *Plasmodium*. *D. tsuruhatensis* TC1 popola stabilmente l'intestino della zanzara, non impone un costo di fitness alla zanzara e inibisce lo sviluppo del *Plasmodium* per la vita della zanzara. Gli studi sul campo condotti in Burkina Faso e la modellizzazione hanno dimostrato che *D. tsuruhatensis* TC1 ha il potenziale per integrare il controllo della trasmissione della malaria mirato alle zanzare.

#### CONCLUSIONI

Gli approcci basati sul controllo simbiotico devono affrontare le preoccupazioni normative ed etiche sollevate dagli specialisti e dalle popolazioni locali negli ultimi anni.

Nonostante queste preoccupazioni, il controllo simbiotico delle zanzare offre diverse caratteristiche favorevoli rispetto ad altri metodi di controllo. In primo luogo, la manipolazione genetica dei simbiotici è molto più semplice e veloce della manipolazione genetica delle zanzare, e i simbiotici trasformati sono molto più facili da introdurre nelle popolazioni di zanzare rispetto ai transgeni. In secondo luogo, l'uso di simbiotici trasformati supera le barriere genetiche delle popolazioni di zanzare riproduttivamente isolate che spesso si trovano in aree ad alta trasmissione della malaria e che quindi rappresentano un grande ostacolo alla diffusione dei transgeni delle zanzare. In terzo luogo, i microrganismi possono essere prodotti in gran parte a basso costo, anche in alcuni paesi in via di sviluppo, e la possibile inattivazione dei transgeni batterici sul campo non costituisce una delle maggiori preoccupazioni a causa della logistica più semplice per l'introduzione dei batteri appena trasformati.

Infine, per quanto riguarda i requisiti normativi ed etici, le normative già esistenti sul rilascio di batteri modificati nell'ambiente rappresentano un punto di partenza sufficiente per formulare linee guida più specifiche per le applicazioni sul campo delle zanzare simbiotici.

RIASSUNTO

È risaputo che le relazioni simbiotiche che gli insetti hanno stabilito con diversi microrganismi hanno avuto un ruolo chiave nel loro successo evolutivo. La simbiosi batterica è prevalente anche negli insetti che sono efficienti vettori di patogeni e numerosi studi hanno cercato di decifrare i meccanismi di base delle relazioni ospite-simbionte e di sviluppare modi per controllare le malattie trasmesse da vettori. Il “controllo simbiotico”, un nuovo approccio multiforme che utilizza microrganismi simbiotici per controllare gli insetti nocivi o ridurre la competenza dei vettori, sembra particolarmente promettente. Tre di questi approcci attualmente all'avanguardia sono:

1. l'eliminazione dei simbionti microbici richiesti dall'insetto ospite;
2. la manipolazione di simbionti che possono esprimere molecole anti-patogeno all'interno dell'ospite;
3. l'introduzione di microbi endogeni che influenzano la durata della vita e la capacità di vettore dei nuovi ospiti nelle popolazioni di insetti.

BIBLIOGRAFIA

- CROTTI E., DAMIANI C., PAJORO M., GONELLA E., RIZZI A., RICCI I., NEGRI I., SCUPPA P., ROSSI P., BALLARINI P., RADDADI N., MARZORATI M., SACCHI L., CLEMENTI E., GENCHI M., MANDRIOLI M., BANDI C., FAVIA G., ALMA A., DAFFONCHIO D., 2009 - *Asaia, a versatile acetic acid bacterial symbiont, capable of cross-colonizing insects of phylogenetically distant genera and orders.* - *Environmental Microbiology*, 11(12): 3252-64.
- DAMIANI C., RICCI I., CROTTI E., ROSSI P., RIZZI A., SCUPPA P., ESPOSITO F., BANDI C., DAFFONCHIO D., FAVIA G., 2008 - *Paternal transmission of symbiotic bacteria in malaria vectors.* - *Current Biology*, 18(23): R1087-8.
- DAMIANI C., RICCI I., CROTTI E., ROSSI P., RIZZI A., SCUPPA P., CAPONE A., ULISSI U., EPIS S., GENCHI M., SAGNON N., FAYE I., KANG A., CHOUAIA B., WHITEHORN C., MOUSSA G.W., MANDRIOLI M., ESPOSITO F., SACCHI L., BANDI C., DAFFONCHIO D., FAVIA G., 2010 - *Mosquito-bacteria symbiosis: the case of Anopheles gambiae and Asaia.* - *Microbial Ecology*, 60(3): 644-654.
- DÍAZ S., CAMARGO C., AVILA F.W., 2021. *Characterization of the reproductive tract bacterial microbiota of virgin, mated, and blood-fed Aedes aegypti and Aedes albopictus females.* - *Parasite & Vectors*, 14(1):592.
- FAVIA G., RICCI I., DAMIANI C., RADDADI N., CROTTI E., MARZORATI M., RIZZI A., URSO R., BRUSETTI L., BORIN S., MORA D., SCUPPA P., PASQUALINI L., CLEMENTI E., GENCHI M., CORONA S., NEGRI I., GRANDI G., ALMA A., KRAMER L., ESPOSITO F., BANDI C., SACCHI L., DAFFONCHIO D., 2007 - *Bacteria of the genus Asaia stably associate with Anopheles stephensi, an Asian malarial mosquito vector.* - *Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)*, 104: 9047-9051.
- FRENTIU F.D., ZAKIR T., WALKER T., POPOVICI J., PYKE A.T., VAN DEN HURK A., MCGRAW E.A., O'NEILL S.L., 2014 - *Limited dengue virus replication in field-collected Aedes aegypti mosquitoes infected with Wolbachia.* - *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 8(2): e2688.
- HERTIG M., WOLBACH S.B., 1924 - *Studies on Rickettsia-like microorganisms in insects.* - *The Journal of Medical Research*, 44: 329-374.
- HUANG W., RODRIGUES J., BILGO E., TORMO J.R., CHALLENGER J.D., DE COZAR-GALLARDO C., PÉREZ-VICTORIA I., REYES F., CASTAÑEDA-CASADO P., GNAMBANI E.J., HIEN D.F.S., KONKOBOM M., URONES B., COPPENS I., MENDOZA-LOSANA A., BALLELL L., DIABATE A., CHURCHER T.S., JACOBS-LORENA M., 2023 - *Delftia tsuruhatensis TCI symbiont suppresses malaria transmission by anopheline mosquitoes.* - *Science*, 381(6657): 533-540.
- LACEY L.A., 2007 - *Bacillus thuringiensis serovariety israelensis and Bacillus sphaericus for mosquito control.* - *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23: 133-163.
- PINTO S.B., RIBACK T.I.S., SYLVESTRE G., COSTA G., PEIXOTO J., DIAS F.B.S., TANAMAS S.K., SIMMONS C.P., DUFALTY S.M., RYAN P.A., O'NEILL S.L., MUZZI F.C., KUTCHER S., MONTGOMERY J., GREEN B.R., SMITHYMAN R., EPPINGHAUS A., SARACENI V., DUROVNI B., ANDERS K.L., MOREIRA L.A., 2021 - *Effectiveness of Wolbachia-infected mosquito deployments in reducing the incidence of dengue and other Aedes-borne diseases in Niterói, Brazil: A quasi-experimental study.* - *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 5(7): e0009556.
- SHANE J.L., GROGAN C.L., CWALINA C., LAMPE D.J., 2018 - *Blood meal-induced inhibition of vector-borne disease by transgenic microbiota.* - *Nature Communications*, 9(1): 4127.
- YEN J.H., BARR A.R., 1971 - *New hypothesis of the cause of cytoplasmic incompatibility in Culex pipiens.* - *Nature*, 232: 657-658.
- UTARINI A., INDRIANI C., AHMAD R.A., TANTOWIJOYO W., ARGUNI E., ANSARI M.R., SUPRIYATI E., WARDANA D.S., MEITIKA Y., ERNESIA I., NURHAYATI I., PRABOWO E., ANDARI B., GREEN B.R., HODGSON L., CUTCHER Z., RANCÈS E., RYAN P.A., O'NEILL S.L., DUFALTY S.M., TANAMAS S.K., JEWELL N.P., ANDERS K.L., SIMMONS C.P. AWED STUDY GROUP., 2021 - *Efficacy of Wolbachia-Infected Mosquito Deployments for the Control of Dengue.* - *The New England Journal of Medicine*, 384(23): 2177-2186.
- VELEZ I.D., TANAMAS S.K., ARBELAEZ M.P., KUTCHER S.C., DUQUE S.L., URIBE A., ZULUAGA L., MARTÍNEZ L., PATIÑO A.C., BARAJAS J., MUÑOZ E., MEJIA TORRES M.C., URIBE S., PORRAS S., ALMANZA R., PULIDO H., O'NEILL S.L., SANTACRUZ-SANMARTIN E., GONZALEZ S., RYAN P.A., DENTON J.A., JEWELL N.P., DUFALTY S.M., SIMMONS C.P., ANDERS K.L., 2023 - *Reduced dengue incidence following city-wide wMel Wolbachia mosquito releases throughout three Colombian cities: Interrupted time series analysis and a prospective case-control study.* - *PLOS Neglected Tropical Diseases* 17(11): e0011713. [www.cdc.gov/dengue/resources/factsheets/mosquitoflifecyclefinal.pdf](http://www.cdc.gov/dengue/resources/factsheets/mosquitoflifecyclefinal.pdf)

## NORME REDAZIONALI

I testi devono essere spediti per posta elettronica al Coordinatore della Redazione "Atti Accademia Entomologia" c/o CREA-DC, Centro di Ricerca per la Difesa e la Certificazione all'indirizzo mail:

rob.nannelli@gmail.com

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

Il testo deve essere fornito in formato Word con l'estensione .doc oppure .docx (molto gradito anche il file salvato in formato PDF); il testo 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 indica-

ti: (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 e le relative didascalie devono essere indicate in cifre arabe (es. Fig. 1); devono essere fornite in formato JPG o TIFF. Per i grafici è preferito il formato PDF, 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; le fotografie in JPG devono essere di buona qualità e dimensione tale da essere ridotte.