



Accademia Nazionale Italiana di Entomologia



Società Entomologica Italiana

Università degli Studi di Sassari



XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia

Orosei (Sardegna), 9 - 14 giugno 2014


**Riassunti delle
comunicazioni orali**

Sono qui raccolti i riassunti delle comunicazioni orali presentate in occasione del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia.

La responsabilità dei testi e delle figure rimane totalmente a carico degli autori, che sono qui riprodotti senza alcuna rilevante modifica editoriale.

E-book curato da R. Mannu con la supervisione del Comitato Organizzatore.

Versione on-line
Sassari, maggio 2014

Edizioni ISE-CNR 
Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, Consiglio Nazionale delle Ricerche
Traversa la Crucca 3, 07100 SASSARI (Italia)

ISBN: 978-88-97934-04-2

Nessuna parte del presente volume
può essere riprodotta senza il permesso scritto degli autori.



Riassunti delle comunicazioni orali (in ordine di esposizione)

INDICE

Lunedì 9 giugno

Per una storia dell'entomologia in Sardegna

G. Delrio, R.A. Pantaleoni

Pag. 10

Integrated pest and disease management: un percorso interdisciplinare fra ricerca e applicazione

P. Cravedi, F. Faretra

12

The art of manipulation: from host-parasitoid to plant-insect interactions

D. Giron, E. Huguet

14

Martedì 10 giugno

Specialization of a generalist pest species

R. Medina

15

The evolution of herbivory in insects: new insights from genomics

N.K. Whiteman

16

Molecular responses in wheat to aphid infestation: a proteomics based approach

A.M.R. Gatehouse

17

Studio delle interazioni semiochimiche in ambiente multi-trofico

R. Moujahed, G. Salerno, F. Frati, A. Cusumano, E. Peri, E. Conti, S. Colazza

18

Effetto di *Trichoderma* spp. sulla modulazione della difesa diretta ed indiretta in pomodoro

M.C. Digilio, D. Mezioud, P. Cascone, L. Iodice, M. Ruocco, M. Lorito, F. Scala, E. Guerrieri, F. Pennacchio

20

Effetto della mosca olearia (*Bactrocera oleae*) sul profilo trascrittomico e metabolomico dell'olivo (*Olea europaea*)

F. Grasso, M. Coppola, A. Paduano, A.P. Garonna, F. Carbone, G. Corrado, G. Perrotta, R. Sacchi, R. Rao

22

Dinamica di popolazione di *Tuta absoluta* in un comprensorio orticolo della Sardegna

S. Deliperi, A. Cocco, G. Delrio

24

Analisi della variabilità genetica tramite fAFLP all'interno di popolazioni di <i>Aphis gossypii</i> (Rhynchota, Aphididae) provenienti da agrumeti siciliani G.E.M. Cocuzza, S. Di Silvestro, V. Cavalieri, A. Russo	Pag. 26
Studi ecologici sugli Aleirodidi viventi sulla flora erbacea in Sicilia e sui loro parassitoidi D. Guastella, V. Cavalieri, P.A. Pedata, L.S. Tajebe, C. Rapisarda	28
Risposte comportamentali di <i>Leiodes cinnamomea</i> Panzer a composti volatili di <i>Tuber spp</i> P. Di Santo, S. Vitagliano, G.S. Germinara, G. Anfora, S. Carlin, G. Rotundo, B. Paura, A. De Cristofaro	30
Macrolepidotteri notturni nelle aree protette: indicatori ecologici dei potenziali impatti del mais transgenico? A. Masetti, G. Burgio, M. Marini, S. Ghesini, S. Magagnoli, F. Baldacchino, R.A. Magarelli, U. Neri, M. Lener, V. Rastelli, G. Staiano, S. Arpaia	32
Gli antagonisti indigeni del cinipide del castagno in Toscana T. Panzavolta, F. Croci, M. Bracalini, R. Tiberi	34
Studio della dinamica spazio-temporale dei tripidi fitofagi e dei loro antagonisti naturali su colture ornamentali protette A. Boaria, A. Pozzebon, C. Duso	36
Do mountains function as islands? New insights from the spatiotemporal dynamics of endemic insects T. Assmann	38
Gli spermatozoi giganti degli Zoraptera e modalità di trasferimento delle spermatofore R. Dallai	39
<i>Drosophila suzukii</i> non utilizza il cis-vaccenil acetato come feromone di aggregazione, diversamente da altre specie del genere <i>Drosophila</i> G. Anfora, T. Dekker, S. Mansourian, S. Revadi, S. Ramasamy, S. Lebreton, P. Becher, O. Rota-Stabelli, S. Angeli	41
Sviluppo embrionale in <i>Drosophila suzukii</i> Matsumura (Diptera: Drosophilidae) S. Landi, E. Gargani, F. Paoli, S. Simoni, P.F. Roversi	43
Caratterizzazione della funzione immunitaria del gene <i>102</i> di <i>Spodoptera littoralis</i>, mediante la tecnica dell'RNA interference Di Lelio, P. Varricchio, G. Di Prisco, A. Marinelli, V. Lasco, S. Caccia, M. Casartelli, B. Giordana, R. Rao, S. Gigliotti, F. Pennacchio	45
Analisi funzionale di un gene di <i>Drosophila melanogaster</i> coinvolto nella risposta immunitaria di incapsulamento V. Lasco, S. Andone, F. Pennacchio, S. Gigliotti	47
Caratterizzazione degli emociti e di alcune risposte immunitarie innate in <i>Pterostichus melas italicus</i> Dejean, 1828 (Coleoptera, Carabidae) Giglio, P. Brandmayr, T. Pasqua, T. Angelone, P.G. Giulianini	49
L'ultrastruttura dello spermatozoo e la spermiogenesi di <i>Matsucoccus feytaudi</i> Ducasse (Insecta-Coccoidea Matsucoccidae) F. Paoli, P.F. Roversi, R. Dallai	51

Analisi del profilo di espressione delle Odorant-Binding Proteins (OBPs) nell'afide <i>Acyrtosiphon pisum</i> F. De Biasio, D. Bruno, A. Grimaldi, T. Congiu, G. Grossi, A.R. Santandrea, L. Palazzo, S. Laurino, R. Salvia, C. Labella, P. Falabella	Pag. 53
L'omologo della famiglia delle endoribonucleasi di tipo U mutato nei Lepidotteri, perde la sua attività enzimatica per produrre fibre amiloidi M. Pascale, S. Laurino, R. Salvia, G. Grossi, A. Grimaldi, G. Tettamanti, H. Vogel, P. Falabella	55
Invasioni silenziose e controllo biologico U. Bernardo, M. Gebiola, L. Gualtieri, A.G. Nappo, F. Nugnes, R. Sasso, S. Vicidomini, G. Viggiani	57
La risposta degli insetti e delle loro comunità al cambiamento climatico: chi ci perde e chi ci guadagna P. Brandmayr, A. Casale, P. Marcia, A. Mazzei, M. Gobbi, A. Vigna Taglianti, S. Scalercio, R. Pizzolotto	59
Contributo dei modelli di dinamica di popolazione nell'analisi del rischio posto dalle specie invasive G. Gilioli, S. Pasquali	61
Il progetto LIFE "MIPP": monitoraggio di insetti di interesse comunitario e <i>Citizen science</i> Cini, A. Campanaro, G. Antonini, M. Bardiani, G.M. Carpaneto, S. Hardersen, M. Maura, E. Maurizi, F. Mosconi, M. Panella, G. Sabbatini, E. Solano, P. Audisio, M. Bologna, A. Bottacci, P.F. Roversi, F. Mason	63
Utilità del DNA barcode nell'identificazione tassonomica degli afidi del genere <i>Anuraphis</i> (Hemiptera, Aphidoidea) G.E.M. Cocuzza, V. Cavalieri, D. Guastella, S. Barbagallo	65
DNA barcoding dei Chrysomelidae della regione mediterranea: una risorsa per la tassonomia e la conservazione della biodiversità M. Montagna, D. Sassi, V. Mereghetti, G. Lozzia	67
Un approccio sperimentale all'individuazione di coleotteri xilofagi invasivi in aree ad alto rischio di introduzione D. Rassati, E. Petrucco Toffolo, A. Battisti, L. Marini, M. Faccoli	69
Il popolamento a coleotteri coprofagi (Coleoptera: Scarabaeoidea) delle isole vulcaniche circumsiciliane e la dispersione antropocora M. Tonelli, R. Agoglitta, H. Dawson, M. Zunino	71
Le comunità di Psychidae come bioindicatori in ambienti forestali montani della Calabria (Lepidoptera) S. Scalercio, E. Fezza, T. Bonacci	73
Relazione tra struttura genetica e clima nella zona di contatto tra due linee filogenetiche di processionaria del pino M. Simonato, M. Elmokhefi, G. Chakali, C. Burban, C. Kerdelhué, A. Battisti	75

Mercoledì 11 giugno

Artropodi ematofagi in casa: quanti sono e loro interazione con la salute umana M. Maroli	Pag. 77
Biologia, ecologia e distribuzione di <i>Aedes koreicus</i> (Diptera: Culicidae), una nuova specie invasiva per l'Italia F. Montarsi, S. Ciocchetta, S. Martini, A. Drago, S. Carlin, S. Cazzin, F. Russo, G. Capelli	79
Sorveglianza entomologica per West Nile Disease in Sardegna nel 2013 C. Foxi, G. Puggioni, S. Rolesu, S. Cappai, G. Meloni, G. Vento, R. Rossi, A.M. Rocchigiana, G. Savini, M. Goffredo, G. Satta	81
Indagine sulla fauna culicidica nel porto di Civitavecchia L. Toma, F. Severini, M. Di Luca, D. Boccolini, V. Laghezza-Masci, G. Buzzi, A. Pautasso, A.M. Fausto, R. Romi	83
Distribuzione delle forme biologiche di <i>Culex pipiens</i> (Diptera: Culicidae) in Italia M. Di Luca, L. Toma, D. Boccolini, F. Severini, G. Bongiorno, F. Montarsi, G. Capelli, D. Arnoldi, A. Rizzoli, G. Mancini, M.A. Caffero, R. Romi	85
<i>Culicoides</i> (Diptera: Ceratopogonidae) vettori del virus della Bluetongue in Sardegna C. Foxi, G. Delrio, G. Falchi, M.G. Marche, L. Ruiu	87
Sui vettori di leishmaniosi (Diptera, Psychodidae) nell'area urbana di Catania (Sicilia, Italia) O. Lisi, V. D'Urso, V. Vaccaluzzo, G. Bongiorno, C. Khoury, F. Severini, M. Gramiccia, L. Gradoni, M. Maroli	89
Infestazione da <i>Dermanyssus gallinae</i> nell'uomo in contesti urbani: sintesi dei casi osservati negli anni 2001-2013 dall'Istituto Zooprofilattico di Puglia e Basilicata D. Galante, G. Mancini, D.A. Raele, M.A. Caffero	91
Specie alloctone di interesse forense ed identificazione molecolare: le specie del genere <i>Chrysomya</i> (Diptera: Calliphoridae) S. Bortolini, L. Maistrello, S. Vanin	93
Implicazioni molecolari dell'interferenza causata dai conidi aeriferi di <i>Beauveria bassiana</i> sull'ovideposizione di <i>Ceratitis capitata</i> L. Ruiu, M.G. Marche, M.E. Mura, G. Falchi	95
<i>Xylella fastidiosa</i> in Italy: an emerging agricultural problem associated with xylem-sap sucking insects R.P.P. Almeida, D. Bosco, F. Porcelli	97
Processamento proteolitico di tossine Vip3A di <i>Bacillus thuringiensis</i> in due specie di <i>Spodoptera</i> (Lepidoptera: Noctuidae) S. Caccia, M. Chakroun, K. Vinokurov, J. Ferré	99
Comunità batterica specifica associata al Coleottero troglobio <i>Cansiliella servadeii</i> (Coleoptera, Leptodirini) M.G. Paoletti, L. Mazzon, I. Martinez-Sañudo, M. Simonato, A. Squartini	101

Analisi del comportamento sociale e riproduttivo dei maschi sterili di <i>Rhynchophorus ferrugineus</i>: implicazioni per il controllo biologico con agenti entomopatogeni G. Mazza, V. Francardi, A.F. Inghilesi, G. Stasolla, C. Benvenuti, A. Cini, G.P. Barzanti, A. Cito, S. Arnone, M. Cristofaro, S. Musmeci, R. Sasso, M. Camerota, R. Cervo, P.F. Roversi	Pag. 103
Dinamica di popolazione, indice di immigrazione e infettività di <i>Cacopsylla melanoneura</i> in Valsugana R. Tedeschi, M. Baldessari, V. Mazzoni, F. Trona, G. Angeli	105
Il microbiota associato alle specie del gruppo <i>Cryptocephalus marginellus</i> (Chrysomelidae): determinanti ecologici nell'interazione mutualistica insetti-batteri M. Montagna, J. Gómez-Zurita, A. Giorgi, V. Merighetti, C. Bandi, G. Lozzia	107
Effetto della conservazione a breve termine, a diverse temperature, sulla vitalità delle uova e lo sviluppo <i>in vitro</i> del parassitoide <i>Exorista larvarum</i> (L.) (Diptera Tachinidae) M.L. Dindo, E. Marchetti, L. Stangolini, L. Depalo	109
Interazioni interspecifiche tra due parassitoidi oofagi della cimice verde in condizioni di campo e semi-campo E. Peri, A. Cusumano, V. Amodeo, E. Wajnberg, S. Colazza	111
Effetto dei funghi entomopatogeni sul sistema insetto ospite-endoparassitoide "<i>Trialeurodes vaporariorum</i>-<i>Encarsia formosa</i>" M. Oreste, E. Tarasco	113
Comportamento predatorio di <i>Macrolophus pygmaeus</i> nei confronti di <i>Acyrtosiphon pisum</i>: influenza dell'età della preda e interazioni intraspecifiche nel predatore J. Duran Prieto, V. Trotta, P. Fanti, D. Battaglia	115
Aspetti del gregarismo di <i>Bracon nigricans</i> parassitoide di <i>Tuta absoluta</i>. Biondi, N. Desneux, M. Naselli, A. Di Mauro, G. Tropea Garzia, G. Siscaro, L. Zappalà	117
Efficacia dei due enantiomeri del limonene nel controllo di <i>Tribolium confusum</i> DuVal. O. Campolo, A. Malacrino, F. Laudani, V. Palmeri	119
Attività fumigante di tre composti volatili di origine vegetale verso gli adulti di <i>Lasioderma serricorne</i> (F.) (Coleoptera, Anobiidae) e di <i>Ephestia kuehniella</i> (Zeller) (Lepidoptera, Phycitidae) G.S. Germinara, R. Albanese, A. De Cristofaro, A. Di Palma, G. Rotundo	121
Attività di repellenza di packaging funzionali nei confronti di insetti infestanti le derrate alimentari P. Suma, I. Calandra, A. Russo, G. Muratore, F. Licciardello	123
Trattamenti in atmosfera a base di biossido di carbonio per il controllo degli infestanti le derrate alimentari La Pergola, S. Bella, P. Ranno, A. Russo, P. Suma	125
Impiego dell'Ozono per il contenimento di <i>Drosophila suzukii</i> Matsumura e <i>Drosophila melanogaster</i> Meigen nei fruttai e nei locali di appassimento delle uve N. Mori, L. Bonetti, L. Tonina, P. Dall'Ara, P. Tirello, R. Ferrarini	127

Giovedì 12 giugno

L'induzione di resistenza a patogeni e fitofagi: stato dell'arte a 50 anni dalla scoperta F. Faoro	Pag. 129
Una medicina amara: alcaloidi del nettare e un caso di automedicazione nei bombi D. Baracchi, M. Brown, L. Chittka	130
Capacità delle api di riconoscere foraggiatrici estranee alla colonia con il profilo cuticolare alterato dalla <i>Varroa</i> R. Cervo, F. Cappa, C. Bruschini, S. Meconcelli, I. Protti, G. Pieraccini, S. Turillazzi	132
Impatto di insetticidi neonicotinoidi sul sistema immunitario e sullo stato di salute delle api G. Di Prisco, V. Cavaliere, D. Annoscia, P. Varricchio, E. Caprio, F. Nazzi, G. Gargiulo, F. Pennacchio	134
Nutrizione e salute delle api: evidenze e meccanismi F. Nazzi, D. Annoscia, R. Bortolomeazzi, E. Caprio, G. Di Prisco, R. Ferrara, M. Margiotta, A. Quirici, P. Varricchio, V. Zanni, F. Pennacchio	136
Aggiornamenti sulla classificazione morfometrica intraspecifica di popolazioni di <i>Apis mellifera</i> della Sardegna Floris, A. Satta, L. Ruiu, S. Fuchs	138
Rapporto fra qualità del polline, uso del territorio e salute delle api, nell'ambito del Progetto BEENET F. Sgolastra, M. Lodesani, L. Bortolotti, A. Gallina, R. Colombo, M.T. Renzi, S. Draghetti, S. Tosi, P. Medrzycki, M. Boi, G. Serra, M.A. Bozza, F. Mutinelli, C. Porrini	140
Plasticità cronobiologica in <i>Apis mellifera</i> e organizzazione del pathway molecolare tra orologio biologico centrale e periferico S. Ben Attia, G. Mazzeo, C. Rapisarda	142
La natura dei dati entomologici di campo e implicazioni per le analisi statistiche S. Arpaia, F. Baldacchino, P.W. Goedhart, M. Kos, J.J.A. van Loon, H. van der Voet	144
Il contributo di entomologi italiani nel programma di eradicazione di <i>Lobesia botrana</i> dalla California Lucchi, B. Bagnoli, C. Ioriatti	146
Effetti di insetticidi microbiologici e a base di estratti vegetali sulle tignole della vite Duso, M. Lorenzon, A. Pozzebon, D. Fornasiero, P. Tirello, B. Costa, M. Benanchi, S. Simoni, E. Gargani, S. Guidi, F. Tarchi, B. Bagnoli	148
I nuovi alleati informatici nella gestione delle emergenze fitosanitarie: SIMFito e SIMFito Lab R. Griffò, C. De Michele, L. Marotta, A. Staiano, F. Nugnes	150
Risultati di cinque anni di esperienze sul controllo biologico di <i>Tuta absoluta</i> M. Nannini, F. Atzori, G. Murgia, R. Pesci, F. Sanna	152
Resistenze "target-site" in popolazioni italiane dell'afide verde del pesco (<i>Myzus persicae</i>) M. Panini, M. Anaclerio, V. Puggioni, E. Mazzoni	154

FruitFlyNet: un sistema georeferenziato per il monitoraggio e la lotta ai Ditteri Tefritidi Sciarretta, M.R. Tabilio, I. Marwan, M.A. Miranda, D. Nestel, V. Alchantis, Y. Cohen, C. Athanassiou, N. Papadopoulos, T. Tsiligiridis	Pag. 156
Attività insetticida e caratterizzazione molecolare di un isolato di <i>Bacillus thuringiensis</i> efficace su larve di <i>Ceratitis capitata</i> (Wied.) L. Ruiu, G. Falchi, I. Floris, M.G. Marche, M.E. Mura, A. Satta	158
Prove di controllo biologico dei parassiti delle castagne per mezzo di nematodi entomopatogeni Leone, M. Clausi, M.T. Vinciguerra, E. Tarasco	160
Voltinismo e comportamento riproduttivo di <i>Tomicus destruens</i> in Sardegna Lentini, M. Coinu, P. Luciano	162
Applicazione del laser scanner terrestre per la valutazione della condizione delle chiome in <i>Quercus suber</i> L. G. Pellizzaro, R. Ferrara, A. Ventura, A. Arca, P. Masia, C.S: Cossu, M. Verdinelli	164
<i>Thyreophagus corticalis</i>: vettore di isolati ipovirulenti di <i>Cryphonectria parasitica</i> in castagneti italiani S. Simoni, R. Nannelli, P.F. Roversi, T. Turchetti, M. Bouneb	166
Prima segnalazione europea di <i>Pityophthorus juglandis</i> (Coleoptera: Scolytinae) e del patogeno associato <i>Geosmithia morbida</i> (Ascomycota: Hypocreales) M. Faccoli, L. Montecchio	168
Analisi delle dinamiche di metapopolazioni di <i>Lymantria dispar</i> L. in Sardegna Bodini, G. Gilioli, R. Mannu, P. Luciano	170

Per una storia dell'entomologia in Sardegna

G. Delrio¹, R.A. Pantaleoni²

Dipartimento di Agraria, Università degli Studi, Sassari, Italia

¹gdelrio@uniss.it; ²pantaleo@uniss.it

Le testimonianze storiche riguardanti gli Insetti in Sardegna affondano le proprie radici in epoche particolarmente remote, basti ricordare il mito di Aristeo e dell'allevamento delle api e i bronzetti nuragici a forma di insetto.

I primi studi organici di entomologia vanno fatti però risalire alla seconda metà del XVIII secolo e sono promossi dal governo sabauda con la riforma delle due Università sarde nel 1764-65, realizzata anche con un robusto reclutamento di validi studiosi provenienti prevalentemente dal Piemonte. La figura predominante di questo periodo fu il gesuita Francesco Cetti, professore di geometria e fisica a Sassari, che produsse una "Storia naturale di Sardegna", primo trattato sul tema per l'Isola, che purtroppo si interruppe proprio durante la stesura della quarta ed ultima parte dedicata agli invertebrati. L'esplorazione entomologica dell'Isola fu a lungo esclusiva di pochi studiosi piemontesi, come il conte A. Ferrero della Marmora e i professori di zoologia A. Bonelli, che nel 1826 descrisse 6 specie di lepidotteri diurni, e G. Gené, al quale si devono due fondamentali memorie pubblicate nel 1836 e nel 1839 interamente dedicate agli insetti della regione: "De quibusdam insectis Sardiniae novis aut minus cognitis". Gené non riuscì a portare a termine la stesura della Fauna della Sardegna, che intendeva pubblicare, ma la sua opera verrà continuata dall'allievo V. Ghiliani, che si occuperà dei Lepidotteri dell'isola, e da numerosi altri entomologi europei che studieranno il materiale accumulato nel Museo di Torino.

Ad una esplorazione di origine prettamente piemontese ne succedette, soprattutto dopo il 1860, una più variegata. Molti entomologi cominciarono a calpestare il suolo sardo procurandosi materiali abbondanti e soprattutto di estremo interesse scientifico; essi provenivano prevalentemente dall'Italia settentrionale (Baudi, Targioni-Tozzetti, Bargagli, Ferrari) ma non mancavano gli stranieri.

La più approfondita esplorazione entomologica della Sardegna nel XIX secolo è stata però portata a termine negli anni 1881-1885 da A. Costa, che ha raccolto e classificato 2.822 specie di insetti, più di un terzo di quelle presenti nell'Isola. Altri importanti naturalisti che hanno lungamente esplorato la Sardegna dalla fine dell'ottocento ai primi del novecento sono il coleotterologo sardo U. Lostia di Santa Sofia e il tedesco A. Krausse, che ha soggiornato lungamente nell'Isola (1906-1914) dedicando alla fauna entomologica sarda circa 140 pubblicazioni.

Nel 1883 è stata segnalata la presenza della fillossera, che ha scatenato uno dei più gravi disastri produttivi dell'agricoltura sarda. Nell'Isola si aveva buona memoria dei disastri scatenati dagli insetti, anche se spesso nel momento in cui questi avvenivano non se ne conoscevano esattamente le cause. La pesante cappa della malaria e le ricorrenti pullulazioni di cavallette ne erano i più gravi esempi. L'arrivo di fitofagi invasivi ed esotici giungeva però in un contesto economico mondiale in cui l'agricoltura si stava trasformando da attività di sussistenza ad elemento economico di mercato. Seguendo le tendenze globali anche sull'Isola iniziò una nuova fase di studi entomologici prettamente applicati.

Le infestazioni acridiche (*Dociostaurus maroccanus*) interessavano periodicamente vastissime estensioni di terreno mettendo a grave rischio le produzioni agricole dell'isola. Durante la prima metà del novecento furono organizzate diverse campagne di lotta alle cavallette sotto la direzione di G. Paoli, A. Melis e F. Boselli, che culminarono in quella del 1946 in cui furono impiegate più di 1,5 milioni di giornate lavorative e utilizzati lanciapiamme, apparecchi nebbiogeni, 16.000 q di arsenito di sodio ed altri insetticidi e 15.000 q di monocloridrina solforica. Nel 1946 sono stati introdotti in Sardegna da G. Paoli e F. Boselli tre specie di insetti oofagi delle cavallette, fra cui *Mylabris variabilis*, che si è acclimatato e che ha probabilmente svolto un ruolo decisivo nella scomparsa delle infestazioni acridiche.

La malaria ha per lungo tempo falciato le popolazioni della Sardegna. Gli studi su questa malattia hanno nell'isola una radicata tradizione, ma il più importante malariologo è stato C. Fermi, professore di Igiene a Sassari, dal 1898 al 1935, propugnatore del metodo della piccola bonifica, consistente nella lotta chimica alle larve di *Anopheles* e nell'eliminazione del loro habitat. Fermi condusse in Sardegna diversi esperimenti di smalarizzazione mediante la lotta ai vettori che dimostrarono l'efficacia del metodo e schedò tutti i focolai anofelici della Sardegna. I suoi studi servirono di base per la campagna di lotta antianofelica del 1946-1950, condotta dalla Rockefeller Foundation, che con l'impiego di mezzi imponenti e la distribuzione di 11 milioni di litri di DDT portò all'eradicazione della malaria.

Le querce dell'Isola vengono defogliate da alcune specie di lepidotteri (*Lymantria dispar*) che compromettono lo stato fitosanitario dei boschi e causano gravi danni alla produzione di sughero. L'entomofauna della quercia da sughero è stata studiata per oltre un trentennio (1963-1996) da R. Prota, professore di Entomologia agraria a Sassari, e ha consentito di elaborare fondate ipotesi sui fattori che determinano l'abbondanza delle popolazioni e le fluttuazioni periodiche dei lepidotteri defogliatori. La lotta chimica, che è stata in passato effettuata con trattamenti aerei con DDT su estese superfici, è ora sostituita dall'impiego di insetticidi microbiologici a base di *Bacillus thuringiensis*.

A partire dal 2000 la Sardegna è stata interessata da diverse epidemie di Bluetongue, che hanno causato la morte di oltre 600.000 pecore. Il virus della Bluetongue è trasmesso da alcuni vettori appartenenti a Ceratopogonidi del genere *Culicoides*. La lotta alla malattia è stata finora affrontata con vaccinazioni massali, ma gli studi sulla biologia dei *Culicoides* stanno aprendo la strada anche alla lotta antilarvale contro i vettori.

Integrated Pest and Disease Management: un percorso interdisciplinare tra ricerca e applicazione

P. Cravedi¹, F. Faretra²

¹ *Università Cattolica del Sacro Cuore, Istituto di Entomologia e Patologia vegetale, Piacenza 29122, E-mail: piero.cravedi@unicatt.it*

² *Università di Bari Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Bari 70126, E-mail: francesco.faretra@agr.uniba.it*

Introduzione

In Europa l'attenzione alla razionalizzazione della protezione delle colture risale alla fine degli anni '60 per poi crescere di importanza negli anni '70 sotto l'egida dell'OILB. Parallelamente all'accumularsi di conoscenze e delle loro applicazioni su larga scala si è verificato l'adeguamento della legislazione del settore (autorizzazione dell'impiego dei prodotti fitosanitari, residui ammessi, revisione dei prodotti già autorizzati e altro).

Evoluzione della normativa fitosanitaria

Una nuova evoluzione è in corso con l'applicazione della Direttiva 2009/128/CE sull'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari. La recente approvazione del Piano d'Azione Nazionale (PAN; Anonimo, 2014) rende, infatti, obbligatoria la protezione integrata e impone una abilitazione per la consulenza tecnica, la vendita, l'acquisto e utilizzo di prodotti fitosanitari e la taratura delle irroratrici (Brunelli, 2010). Nel lungo dibattito che ha portato alla Direttiva il mondo scientifico è stato coinvolto solo marginalmente. Purtroppo, da tempo si assiste al progressivo aumento di importanza degli aspetti normativi e burocratici non accompagnato da idonei approfondimenti in ricerca e sperimentazione sulla protezione delle colture.

Le applicazioni

Importanti applicazioni della protezione integrata su larga scala sono, comunque, una realtà già da diversi anni in Italia, anche se con ampie differenze in diversi contesti colturali (Arzone *et al.*, 2007). Inoltre, sussistono marcate differenze territoriali nella esistenza di adeguate strutture di assistenza tecnica. E' poi da evidenziare la difficoltà a comunicare correttamente al consumatore il significato della produzione o protezione integrata non è stata superata, compromettendo la valorizzazione commerciale delle produzioni. Tuttavia, la protezione integrata in Italia ha una grande tradizione ben documentata dai Disciplinari Regionali che sono redatti in accordo con linee guida nazionali, da una apposita norma UNI e dal sistema di qualità nazionale di produzione integrata.

Le ricerche a supporto

L'analisi della produzione scientifica e tecnica nell'ambito della protezione integrata sia da fitofagi che patogeni è stata effettuata da Albajes (2010). Alcune tematiche di ricerca evidenziate hanno oramai una lunga tradizione, ma altre si sono imposte di recente. Tra le prime si citano: i metodi di campionamento, la definizione di soglie economiche, l'individuazione dei momenti critici di intervento, la resistenza e tolleranza delle piante ospiti, la lotta biologica, la bio-etologia e l'epidemiologia quantitativa, i modelli previsionali e altri sistemi di supporto alle decisioni. Più recentemente, sono avanzate le applicazioni biotecnologiche con diverse finalità e si stanno affacciando le potenzialità applicative delle nanotecnologie.

Conclusioni

La crescente importanza della sostenibilità dei processi di produzione agricola evidenzia le rilevanti differenze di esperienze applicative nelle diverse Regioni italiane e richiederebbe adeguamenti a

situazioni fitosanitarie in continuo cambiamento. La situazione attuale soffre, invece, per un insufficiente supporto ai vari aspetti della ricerca, della formazione e dell'assistenza tecnica.

Bibliografia

Albajes R., 2010 – Integrated pest management: an entomologist's perspective. *Journal of Plant Pathology*, 2010, 92 (4, Supplement): S4.27-S4.34.

Anonimo, 2014 - Piano d'Azione Nazionale.

http://www.gazzettaufficiale.it/atto/serie_generale/caricaDettaglioAtto/originario?atto.dataPubblicazioneGazzetta=2014-02-12&atto.codiceRedazionale=14A00732&elenco30giorni=true).

Arzone A., Barbagallo S., Cravedi P., 2007 – Aggiornamento del panorama entomologico in agrosistemi. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*. Anno LV, 2007: 41-44.

Brunelli A., 2010 – A new background in the protection of plants from biotic pathogens. *Journal of Plant Pathology*, 2010, 92 (4, Supplement): S4.47.

The art of manipulation: from host-parasitoid to plant-insect interactions

E. Huguet¹, D. Giron²

¹*Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR 7261 CNRS / Université François-Rabelais de Tours, 37200 Tours, France, E-mail: elisabeth.huguet@univ-tours.fr;* ²*Institut de Recherche sur la Biologie de l'Insecte, UMR 7261 CNRS / Université François-Rabelais de Tours, 37200 Tours, France, E-mail: david.giron@univ-tours.fr;*

Introduzione

Many hymenopteran insects are endoparasitoids that develop at the expense of arthropod hosts and have a free adult life. They inject their eggs within the body of insect hosts where the larvae develop. Eggs and wasp larvae then have to face the host immune defences and to do so, they have evolved a variety of strategies based on the injection of factors produced in their ovaries or venom gland during wasp oviposition. Other parasitic insects are gall-forming species that develop on various plant tissues by inducing complex and species-specific structures that do not normally exist in plants. Surprisingly little is known on the factors produced by gall inducers, except that they might combine maternal secretions initiating gall-formation and egg/larval products ensuring the next steps of its formation. Gall-inducing insects have long been known to alter the plant morphology and physiology for their own benefits, but more recently, leaf-miners have also been shown to produce molecules that are used as modulating factors of the host physiology. This allows them to modify the plant to meet their nutritional needs.

Materiali e metodi

Based on these 3 examples of host manipulation, we will highlight some of the most significant results we obtained in the last few years. Data have been obtained through a combination of proteome, transcriptome and genome analyses as well as a chemical ecology approach.

Risultati e discussione

Results obtained allowed us to characterize key aspects of the host physiological reconfiguration, key effectors produced by the insects and the unsuspected role of viral or bacterial symbiotic partners.

Conclusioni

Studying strategies used by insects to manipulate the physiology of their host (either plants or insects) and the ways that plants/insects defend themselves against the strategy has the potential to create an interdisciplinary approach to the field of plant biotic stress. This has the potential to bring together scientists studying plants, insects and microbes with important applications in agriculture and food security.

Specialization of a generalist pest species

R.F. Medina

Texas A&M University, Department of Entomology, College Station, TX 77843, USA. E-mail: rfmedina@ag.tamu.edu

Generalist herbivorous insects are characterized by their ability to feed on several host-plant species. However, recent studies are revealing that several insect species thought to be generalists, consist in fact of a collection of specialized populations. Specialized associations with their host-plants can reduce gene flow between insect populations associated with different host-plant species. Host-plants may function as differentially selective environments that could drive insect populations to develop distinct genotypes. This phenomenon is a special case of ecological speciation commonly referred to as host-associated differentiation (HAD). Herein we report the existence of a host-associated lineage of the cotton fleahopper, *Pseudatomoscelis seriatus* (Hemiptera: Miridae) feeding on a native wild host (*Monarda punctata* L.) in the USA. Further examination of genome-wide genetic variation revealed a geographic pattern of HAD. It has been suggested that symbiotic bacteria within insect herbivores may play a role in HAD by allowing their insect hosts to use different plant species. To test this hypothesis, bacterial diversity was characterized in the cotton fleahopper associated with horsemint and cotton through metagenomic analyses using 454 sequencing. Overall, bacterial diversity associated with the cotton fleahopper differed on cotton and horsemint. Interestingly, the facultative bacterium *Wolbachia* was absent in all populations studied except for one population in Texas. Further, phylogenetic analysis of *Wolbachia* sequences in this Texas population indicated the presence of two strains: a cotton-associated and a horsemint-associated strain.

The evolution of herbivory in insects: new insights from genomics

N.K. Whiteman

The University of Arizona, Department of Ecology and Evolutionary Biology, Tucson, AZ 85721, USA. E-mail: whiteman@email.arizona.edu

Herbivory is among the most successful life history strategies among metazoans. On one hand, herbivorous insect species account for one quarter of all named species of life on Earth. On the other hand, despite the success of herbivorous taxa, herbivory itself has evolved in less than one-third of extant insect orders. This paradox—that extraordinary diversification follows once herbivory evolves, yet herbivory itself evolves rarely—is an outstanding mystery in evolutionary biology. To gain insight into this paradox, the goal of my research program is to understand the genomic basis of herbivory as a complex trait.

Convergent behavioral, morphological and physiological traits abound across unrelated herbivorous insect lineages. The leaf-mining larvae of species within the Coleoptera, Diptera, Lepidoptera and Hymenoptera are good examples of convergently evolved phenotypes. We are determining if these convergently evolved phenotypes are driven by by convergently evolved genotypes. As a starting point, we have focused on the recent evolution of leaf-mining and stem-mining in two drosophilid fly clades. Although most drosophilid species feed on microbes living on rotting plant substrates, several herbivorous species develop obligately within the living vegetative tissues of vascular plants. In one of these lineages, three leaf-mining species in the genus *Scaptomyza*, we discovered targeted loss and gain of function mutations in canonical genes whose products encode chemoreceptors important in host-finding and enzymes important in detoxifying highly inducible plant defense compounds. These genotypes are correlated with loss and gain of function phenotypes. Time-calibrated phylogenies have pinpointed when these potentially important evolutionary events arose. Population genomics is being used to quantify genome-wide patterns of polymorphism and divergence within the leaf-mining *Scaptomyza*. This allows testing of the hypothesis that oligophagy, the most common feeding strategy for herbivorous insects, leads to the maintenance of genome-wide variation *sensu* H. Levene and T. Dobzhansky. We are applying similar approaches to other herbivorous drosophilid species, including fern-mining *Scaptodrosophila* species. This is allowing identification of convergently evolved amino acid substitutions in proteins that have been independently derived during the evolution of herbivory. We are working to apply this approach across the Diptera, where herbivory has evolved more times than in any other order. We are also including the genomes of leaf-mining and stem-mining species across the Diptera, including agromyzids, anthomyiids, cecidomyiids, ephydriids, scathophagids, syrphids, and tipulids. Eventually, our goal is to broaden the scope to include leaf-miners and stem-miners from within the Holometabola.

Molecular responses in wheat to aphid infestation: A proteomics based approach

A.M.R. Gatehouse

University of Newcastle, School of Biology, Newcastle Institute for Research on Environment, Ridley Building, Newcastle upon Tyne, NE1 7RU, UK. E-mail: A.M.R.Gatehouse@newcastle.ac.uk

Plants use both constitutive and inducible defence systems to protect themselves against attack from pests/pathogens. Aphids are major pests of cereal crops, acting as virus vectors as well as causing direct damage. The present study seeks to identify defence genes/gene products for a directed strategy in wheat breeding programmes.

Both local and systemic responses of wheat (*Triticum aestivum*) to infestation by the grain aphid (*Sitobion avenae*) were investigated in 'Claire'. Following 2D electrophoresis, approximately 70% of the differentially expressed protein spots were identified by peptide mass fingerprinting revealing that the majority of proteins altered by aphid infestation were involved in metabolic processes and photosynthesis, with other gene ontological classes including: signal transduction; stress and defence; redox processes; regulatory processes; hormone responses. Responses to aphid attack were broadly similar to basal nonspecific defence and stress responses in wheat, with little evidence of insect specific defence mechanisms. However, screening of selected diploid wheat accessions (*Triticum monococcum*), representing more ancestral wheat lines, identified one accession (Acc20PGR#1755) with enhanced resistance to *S. avenae*.

Proteomic analyses demonstrated that these diploid lines behaved differently to the hexaploid line and importantly, the resistant diploid wheat accession behaved differently to the susceptible diploid wheat accession (Acc5PGR#1735) following aphid infestation. Antioxidants and stress response proteins were present only in the resistant line and only following aphid feeding. These antioxidants and stress response proteins were absent in the susceptible line.

The results suggest that the resistant diploid line may provide a valuable resource in breeding wheat for resistance to aphids.

Studio delle interazioni semiochimiche in ambiente multi-trofico

R. Moujahed¹, G. Salerno², F. Frati², C. Antonino¹, E. Peri¹, E. Conti², S. Colazza¹

¹ Università degli Studi di Palermo, Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, 90128 Palermo, Italia, E-mail: rihem.moujahed@unipa.it; cusumanoantonino@tiscali.it; ezio.peri@unipa.it; stefano.colazza@unipa.it

² Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali - Università degli Studi di Perugia. E-mail: gianandrea.salerno@unipg.it; francesca.frati@unipg.it; conti.eric@unipg.it.

Introduzione

Nel corso della loro evoluzione, le piante hanno sviluppato difese, costitutive e indotte, per proteggersi dagli attacchi di insetti fitofagi, in modo diretto (tricomi, spine, metaboliti tossici) e/o in modo indiretto, producendo sinomoni che attraggono i nemici naturali degli organismi fitofagi (Schoonhoven *et al.* 2005).

Le ricerche sulle interazioni semiochimiche sono state spesso condotte in sistemi tri-trofici caratterizzati da una pianta, un insetto ospite un suo parassitoide. Tuttavia in natura le piante sono soggette a stress biotici multipli dovuti a più specie di insetti fitofagi che attaccano alcune la parte epigea altre quella ipogea. Recentemente è stato dimostrato che queste interazioni multi-trofiche possono influenzare le difese indirette delle piante con conseguenti ripercussioni nei confronti dei parassitoidi (Rasmann e Turlings 2007; Soler *et al.*, 2007; De Boer *et al.*, 2008, Erb *et al.* 2010, Zhang *et al.*, 200, 2013)

Il modello

Le piante di *Vicia faba* L. sottoposte a stress da ovideposizione e nutrizione da parte di *Nezara viridula* (L.) sono in grado di rilasciare sinomoni volatili indotti che attraggono il parassitoide oofago *Trissolcus basalis* (Wollaston) (Colazza *et al.*, 2004a,b). In campo le piante di *V. faba* sono anche attaccate da alcune specie del genere *Sitona* i cui adulti causano tipiche erosioni fogliari semicircolari e le cui larve causano danni alle radici. Nelle regioni mediterranee, l'attacco simultaneo di *N. viridula* e *Sitona* sp. su *V. faba* è comune e si verifica soprattutto durante la formazione dei semi e lo sviluppo del baccello.

Al fine di approfondire le conoscenze delle difese indirette in condizioni multi-trofiche si è studiato il processo di localizzazione dell'ospite da parte di *T. basalis* in olfattometro in condizioni di stress trofico multiplo allo scopo di verificare se *T. basalis* è in grado di localizzare ovature di *N. viridula* quando le piante sono infestate anche da *Sitona* sp. In particolare è stata testata la risposta dei parassitoidi ai volatili emessi dalle piante di *V. faba* sottoposte ai seguenti trattamenti: 1) piante attaccate da *N. viridula*; 2) piante attaccate da *Sitona* sp.; 3) piante danneggiate meccanicamente simulando il danno di *Sitona* sp.; 4) piante sottoposte a danno da *N. viridula* + danno meccanico; 5) piante sottoposte a danno da *N. viridula* + *Sitona* sp.; 6) piante sane.

Risultati e discussioni

I biosaggi mostrano che la capacità di *T. basalis* di discriminare i volatili emessi da piante attaccate è influenzata negativamente dalla presenza simultanea dei due fitofagi. In particolare, *T. basalis* non è in grado di discriminare tra i volatili emessi da piante attaccate simultaneamente da *N. viridula* + *Sitona* sp. e quelli emessi dalle piante sane. I nostri risultati sono supportati da altri studi condotti in ambiente multi-trofico, i quali indicano come il terzo livello trofico sia spesso influenzato negativamente dalla presenza contemporanea di più fitofagi (Zhang *et al.*, 2009, 2013).

Bibliografia

- Colazza S., Fucarino A., Peri E., Salerno G., Conti E. and Bin F.(2004a). Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids. *The Journal of Experimental Biology* 207, 47-53.
- Colazza S., Mcelfresh J.S. and Millar J.G. (2004b). Identification of volatile synomones , induced by *Nezara viridula* feeding and oviposition on Bean spp:That attract the egg parasitoid *Trissolcus basalis*. *Journal of Chemical Ecology*,30:945-964.
- De Boer J.G., Hordijk C.A. Posthumus M.A. and Dicke M. (2008). Prey and non-prey arthropods sharing a host plant: effects on induced volatile emission and predator attraction. *Journal of Chemical Ecology*, 34:281–290.
- Erb M., Foresti N. and Turlings T. C.J. (2010). A tritrophic signal that attracts parasitoids to host-damaged plants withstands disruption by non-host herbivores. *BMC Plant Biology*, 10:247 .
- Rasmann S. and Turlings T.C.J. (2007). Simultaneous feeding by aboveground and belowground herbivores attenuates plant-mediated attraction of their respective natural enemies. *Oikos*, 10: 926-936.
- Schoonhoven L.M., Van Loon J.J.A. and Dicke M. (2005). *Insect-plant biology*. Oxford University Press.
- Soler R. Harvey J. A., Kamp A.F.D., Vet L. E. M., Van der Putten W.H., Van Dam N.M., Stuefer J.F., Gols R., Hordijk C.A and Bezemer T.M. (2007). Root herbivores influence the behaviour of an aboveground parasitoid through changes in plant-volatile signals. *Oikos* 116: 367-376.
- Zhang P.J., Broekgaarden C., Zheng S.J., Snoeren T.A.L., van Loon J.J.A., Gols R. and Dicke M. (2013) . Jasmonate and ethylene signaling mediate whitefly-induced interference with indirect plant defense in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytologist*, 197, 1291-1299.
- Zhang P.J., Zheng S.J., van Loon J.J.A.0, Boland W., David A., Mumm R. and Dicke M. (2009). Whiteflies interfere with indirect plant defense against spider mites in Lima bean. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106: 21202–21207.

Effetto di *Trichoderma* spp. sulla modulazione della difesa diretta ed indiretta in pomodoro

M.C. Digilio¹, D. Mezioud¹, P. Cascone², L. Iodice², M. Ruocco², M. Lorito², F. Scala¹, E. Guerrieri², F. Pennacchio²

¹ Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Agraria, 80055 Portici, Italia, E-mail: digilio@unina.it

² CNR - Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, 80055 Portici, Italia, E-mail: guerrieri@ipp.cnr.it

Introduzione

I microrganismi del suolo che vivono in simbiosi con le radici delle piante possono avere un ruolo benefico, sia promuovendo la crescita vegetale, sia inducendo una risposta sistemica di difesa (ISR) attiva contro gli stress biotici. A tali effetti vanno aggiunti quelli direttamente imputabili ai metaboliti prodotti da questi simbionti, il cui studio è ancora agli inizi. Tra i più diffusi commercialmente vi sono i PGPF (plant growth - promoting fungi) appartenenti al genere *Trichoderma*, di cui sono noti anche gli effetti benefici in termini di controllo di importanti fitopatie. Recentemente, è stata dimostrata un'ulteriore attività di questi simbionti radicali. La loro presenza sembra, infatti, alterare il comportamento e lo sviluppo degli insetti fitofagi e dei loro nemici naturali (Akutse *et al.*, 2013; Battaglia *et al.*, 2013). Tuttavia, non è chiaro se e quanto l'effetto finale in termini di difesa dagli insetti sia specie- o ceppospecifico.

Materiali e metodi

Sono stati messi a confronto 3 ceppi di 3 specie diverse di *Trichoderma* applicati su pomodoro San Marzano nano attraverso la confettatura del seme (Battaglia *et al.*, 2013). È stato, quindi, valutato l'effetto di protezione dagli afidi sia diretta, attraverso la misurazione di parametri dello sviluppo di *Macrosiphum euphorbiae*, sia indiretta, attraverso la valutazione della capacità della pianta di attrarre il parassitoide *Aphidius ervi*. I funghi selezionati per lo studio sono *T. harzianum* T22, uno dei ceppi più diffusi a livello commerciale, il promettente ceppo P1 di *T. atroviride* ed infine il ceppo MK1 di *T. longibrachiatum*. Per i ceppi di *Trichoderma* T22 e P1, è stato inoltre valutato l'effetto di trattamenti in copertura (oltre alla confettatura del seme), attraverso applicazioni in fertirrigazione di una sospensione di spore di 10⁷/ml sull'attrazione verso *A. ervi*.

Risultati e discussione

Il ceppo T22 in interazione con pomodoro ha manifestato un forte impatto negativo sulla fertilità degli afidi, dimezzandola, ed ha diminuito significativamente anche la sopravvivenza. La valutazione degli effetti dei simbionti radicali sulla difesa indiretta ha evidenziato che il ceppo più attivo è P1, la cui presenza ha determinato un significativo aumento dell'attrattività del pomodoro nei confronti di *A. ervi*, soprattutto in assenza di infestazione afidica. I meccanismi che possono spiegare l'attività osservata sono diversi: è noto, infatti, che l'invasione dei tessuti radicali da parte del fungo simbionte elicitava nella pianta una risposta di difesa sistemica e induce la produzione di composti ad attività antibiotica. Per esempio, è stata dimostrata l'attivazione del percorso metabolico dell'acido salicilico in piante di pomodoro trattate con T22 (Tucci *et al.*, 2011). Nello studio di queste complesse interazioni non possono però essere trascurati i diversi metaboliti prodotti dai ceppi di *Trichoderma*, dei quali è nota l'attività antibiotica (Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991), e che potrebbero alterare in modo diretto e/o indiretto il comportamento, lo sviluppo e la riproduzione degli insetti, anche attraverso una modulazione del metabolismo della pianta. Studi precedenti condotti dal nostro gruppo, utilizzando l'interazione tra pomodoro ed il ceppo MK1 di *T. longibrachiatum*, hanno evidenziato come la promozione dello sviluppo del pomodoro, oltre ad essere associata all'aumento di fertilità degli afidi, causa una maggiore

produzione da parte della piante di specifici composti volatili, che sono in grado di attrarre maggiormente i nemici naturali (Battaglia *et al.*, 2013).

Conclusioni

Tali risultati suggeriscono che è possibile selezionare ceppi di PGPF in grado di modulare positivamente i meccanismi difensivi contro gli afidi, sia direttamente, sia indirettamente attraverso l'attrazione di nemici naturali, sfruttando contemporaneamente gli effetti benefici già conosciuti in termini di protezione contro i patogeni e di promozione della crescita e delle rese agronomiche.

Bibliografia

- Akutse K.S., Naniania N.K., Fiaboe K.K.M., Ekesi S., 2013 - Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the lifehistory parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). *Fungal Ecology* 6: 293-301.
- Battaglia D., Bossi S., Cascone P., Digilio M.C., Duran Prieto J., Fanti P., Guerrieri E., Iodice L., Lingua G., Lorito M., Maffei M.E., Massa N., Ruocco M., Sasso R., Trotta V., 2013 - Tomato below ground–above ground interactions: *Trichoderma longibrachiatum* affects the performance of *Macrosiphum euphorbiae* and its natural antagonists. *MPMI* 26:1249-1256.
- Ghisalberti E.L. & Sivasithamparam K., 1991 - Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology & Biochemistry* 23: 1011-1020.
- Tucci M., Ruocco M., De Masi L., De Palma M., Lorito M., 2011 - The beneficial effect of *Trichoderma* spp. on tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology* 12 (4): 341-354 DOI: 10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x

Effetto della mosca olearia (*Bactrocera oleae*) sul profilo trascrittomico e metabolomico dell'olivo (*Olea europaea*)

F. Grasso¹, M. Coppola¹, A. Paduano¹, A.P. Garonna¹, F. Carbone², G. Corrado¹,
G. Perrotta², R. Sacchi¹, R. Rao¹

¹ Dipartimento di Agraria, Università di Napoli "Federico II", Via Università 100, 80055 Portici (NA)

² ENEA - Centro Ricerche Trisaia - S.S. 106 Ionica, km 419+500 - 75026 Rotondella (MT)

Introduzione

Un aspetto fondamentale dell'ecologia dell'olivo è rappresentato dall'interazione con il suo nemico chiave, *Bactrocera oleae*. La mosca dell'olivo, infatti, determina ingenti perdite quantitative e qualitative di drupe che, a seconda delle condizioni ambientali, si possono tradurre in pesanti perdite del settore olivicolo-oleario. In accordo con quanto avviene in altre specie vegetali (Engelberth et al., 2013; Kant et al., 2004), l'attacco della mosca olearia attiva una cascata di geni, determinando l'alterazione del profilo trascrittomico delle drupe (Corrado et al., 2012). Allo stesso modo, il profilo dei composti volatili (VOC) emessi dalle piante viene rimodulato a seguito dell'attacco di insetti dannosi per attivare i meccanismi di difesa indiretta (Sasso et al., 2007). Poiché alcuni di questi VOC sono anche annoverati fra quelli che caratterizzano la qualità e la tipicità degli oli extravergini di oliva, è possibile ipotizzare che la mosca olearia possa avere un effetto positivo sul profilo sensoriale degli oli (Sacchi et al., 2010). Dati gli studi sul priming (Frost et al., 2008), inoltre, è possibile ipotizzare che la sola presenza della mosca nell'oliveto possa modulare la produzione di tali composti. Lo studio dell'interazione fra mosca olearia e olivo è stato qui approfondito mediante l'esame dei profili trascrittomici e metabolomici di varietà campane di olivo.

Materiali e metodi

L'analisi trascrittomica è stata condotta con tecnologia CombiMatrix 90K su RNA di drupe sane e punte delle varietà 'Ortice' (suscettibile alla mosca) e 'Ruveia' (tollerante alla mosca). L'annotazione funzionale è stata condotta con il software Sma3s. L'esame dei VOC è stato condotto su drupe delle varietà 'Minucciola' (tollerante alla mosca) e 'Ortice' (suscettibile alla mosca) raccolte in due stadi di maturazione nei loro ambienti di origine in campi trattati e non trattati contro la mosca dell'olivo. I composti volatili sono stati estratti dai campioni mediante SPME (Solid Phase Micro Extraction) per 24 ore e analizzati con sistema di gas cromatografia accoppiata alla spettrometria di massa (GC/MS).

Risultati e discussione

Lo studio dei VOC emessi dalle drupe ha rivelato profili diversi per le due varietà. I risultati ottenuti sono stati elaborati mediante l'analisi comparativa delle aree percentuali dei picchi dei cromatogrammi ottenuti dalle olive prelevate nei campi trattati, caratterizzati da un minore attacco di mosca, e da quelli non trattati, caratterizzati da un maggiore indice di attacco. Si è così evidenziato che il profilo dei VOC di entrambe le varietà, pur mantenendo una composizione simile, varia sia in termini qualitativi (soprattutto per quel che riguarda i composti terpenici) sia in termini semi-quantitativi nelle tesi trattate rispetto a quelle non trattate. Dato che il piano sperimentale è stato disegnato in modo da minimizzare l'effetto di altri fattori, è possibile pensare che questa evidenza sia stata prodotta dalla differente pressione della popolazione di mosca negli oliveti trattati e non trattati. Infine, se è vero che il controllo della popolazione di mosca dell'olivo salvaguarda la produzione delle olive, sembrerebbe anche determinare una variazione dei VOC emessi dalle olive e con essa il profilo sensoriale dei corrispondenti oli extra vergini di oliva.

L'impatto di *Bactrocera oleae* sul trascrittoma della varietà 'Ortice' è risultato più basso rispetto a quello su 'Ruveia': sono state identificate 52 EST differenzialmente espresse nella prima e 2452 nella seconda ($FC > 2$; $p < 0,05$ Student's T-test). La PCA (Principal Component Analysis) delle EST differenzialmente espresse con $FC > 1$ e $p < 0,05$ (Student's t- test) mostra che i trascrittomi delle olive sane delle due varietà risultano più simili fra loro rispetto a quelli delle drupe danneggiate dalla mosca. Il trascrittoma delle olive danneggiate di 'Ruveia' si distingue dagli altri, anche rispetto a quello delle olive danneggiate di 'Ortice'. Tale evidenza è in accordo con la supposta tolleranza della varietà 'Ruveia' alla mosca dell'olivo.

Conclusioni

I risultati di questo studio hanno prodotto un avanzamento delle conoscenze dei meccanismi molecolari dell'interazione fra olivo e mosca olearia e fornito evidenze di interesse biotecnologico applicativo nel settore olivicolo-oleario.

Bibliografia

- Corrado G., Alagna F., Rocco M., Renzone G., Varricchio P., Coppola V., Coppola M., Garonna A., Baldoni L., Scaloni A., Rao R., 2012 - Molecular interactions between the olive and the fruit fly *Bactrocera oleae*. BMC plant biology, 12(1), 86.
- Engelberth J., Contreras C. F., Dalvi C., Li T., Engelberth M., 2013 - Early Transcriptome Analyses of Z-3-Hexenol-Treated Zea mays Revealed Distinct Transcriptional Networks and Anti-Herbivore Defense Potential of Green Leaf Volatiles. PloS one, 8(10), e77465.
- Frost C. J., Mescher M. C., Carlson J. E., De Moraes C. M., 2008 - Plant defense priming against herbivores: getting ready for a different battle. Plant Physiology, 146(3), 818-824.
- Kant M. R., Ament K., Sabelis M. W., Haring M. A., Schuurink R. C., 2004 - Differential timing of spider mite-induced direct and indirect defenses in tomato plants. Plant Physiology, 135(1), 483-495.
- Sacchi R., Parisini C., Paduano A., Della Medaglia D., Savarese M., Ambrosino M.L., 2010 - Relationship between sensory profile and volatile compounds: identification of sensory typicality in PDO Italian olive oils. Proceedings of the 11th European Symposium on Statistical Methods for the Food Industry, Benevento (Italy) 23-26 February 2010, ISBN n. 88-901015-8-X, pp M. 65-72.
- Sasso R., Iodice L., Diglilio M.C., Carretta A., Ariati L., Guerrieri E., 2007 - Host-locating response by the aphid parasitoid *Aphidius ervi* to tomato plant volatiles. Journal of Plant Interactions. 2(3): 175-183.

Dinamica di popolazione di *Tuta absoluta* in un comprensorio orticolo della Sardegna

S. Deliperi, A. Cocco, G. Delrio

Università di Sassari, Dipartimento di Agraria, 07100 Sassari, Italia, E-mail: salvatoredeliperi@alice.it

Introduzione

Lo studio della dinamica di popolazione della tignola del pomodoro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae), riveste una grande importanza per l'impostazione di efficaci tecniche di lotta (Sannino e Espinosa, 2010). In pieno campo, la grande disponibilità di piante ospiti nei comprensori orticoli può permettere all'insetto di alimentarsi e sopravvivere nei periodi più freddi dell'anno su piante ospiti secondarie (patata primaticcia e *Solanum nigrum*) in assenza del pomodoro che rappresenta l'ospite primario (Delrio *et al.*, 2012).

Materiali e metodi

La dinamica di popolazione di *T. absoluta* è stata studiata in pieno campo da dicembre 2010 ad agosto 2012 in due aziende orticole della Sardegna nord-occidentale (Sorso, Sassari), che avvicendavano pomodoro, coltivato in primavera-estate, e patata, coltivata in inverno e primavera-estate. Nelle aziende era diffusa anche la Solanacea infestante *S. nigrum*. Nel corso delle osservazioni sono stati anche rilevati i valori di temperatura con l'ausilio di un data-logger.

Le popolazioni di maschi sono state monitorate con tre trappole a feromone e le infestazioni con campionamenti fogliari. Le foglie delle tre Solanacee sono state esaminate al binocolare per contare il numero di uova deposte, di mine e dei diversi stadi larvali rilevati con la misurazione della capsula cefalica. Le larve parassitizzate sono state isolate per l'identificazione dei parassitoidi ed è stata stimata la mortalità larvale.

Risultati e discussione

I maschi del fitofago sono stati rilevati in pieno campo durante tutto l'anno, con catture basse nei mesi invernali e massimi (oltre 1000 maschi/trappola/settimana) in estate (Fig. 1-A). Le catture sono aumentate in maggio, quando la temperatura media giornaliera ha superato i 10 °C, ed hanno poi seguito un andamento simile a quello delle temperature medie registrate in campo.

Le infestazioni sulla patata sono state sempre molto basse ed hanno raggiunto valori massimi di 0,30 mine/foglia composta nel ciclo colturale invernale e di 0,26 mine/foglia in quello estivo (con livelli massimi di infestazione attiva di 0,13 e 0,16 larve vive/foglia, rispettivamente nei due cicli) (Fig. 1-B). Nel pomodoro sono state rilevate infestazioni elevate, superiori a 5,5 mine/foglia composta nell'estate del 2011 e a 3,8 mine/foglia nel 2012 (con la più alta infestazione attiva rilevata in agosto e pari a 0,8 larve/foglia) (Fig. 1-C). L'attacco sulle bacche alla raccolta è stato mediamente del 48% nel 2011 e del 27% nel 2012. Su *S. nigrum* l'infestazione è stata molto bassa e variabile da 0,005 larve/foglia in estate a 0,04 in inverno.

Sulla base della deposizione delle uova e della struttura per età delle larve è stato possibile stimare che l'insetto ovidepone sulla patata invernale da ottobre fino a marzo, completando due generazioni, mentre sul pomodoro compie 3-4 generazioni dal trapianto (fine aprile) fino alla raccolta (luglio-agosto). Sul pomodoro è stato osservato un tasso di mortalità massimo del 30% causato da quattro specie di parassitoidi, il Braconide *Bracon* sp. e gli Eulofidi *Pnigalio* sp, *Necremnus* sp. e *Neochrysocharis formosa* (Westwood), con massima presenza di quest'ultima specie.

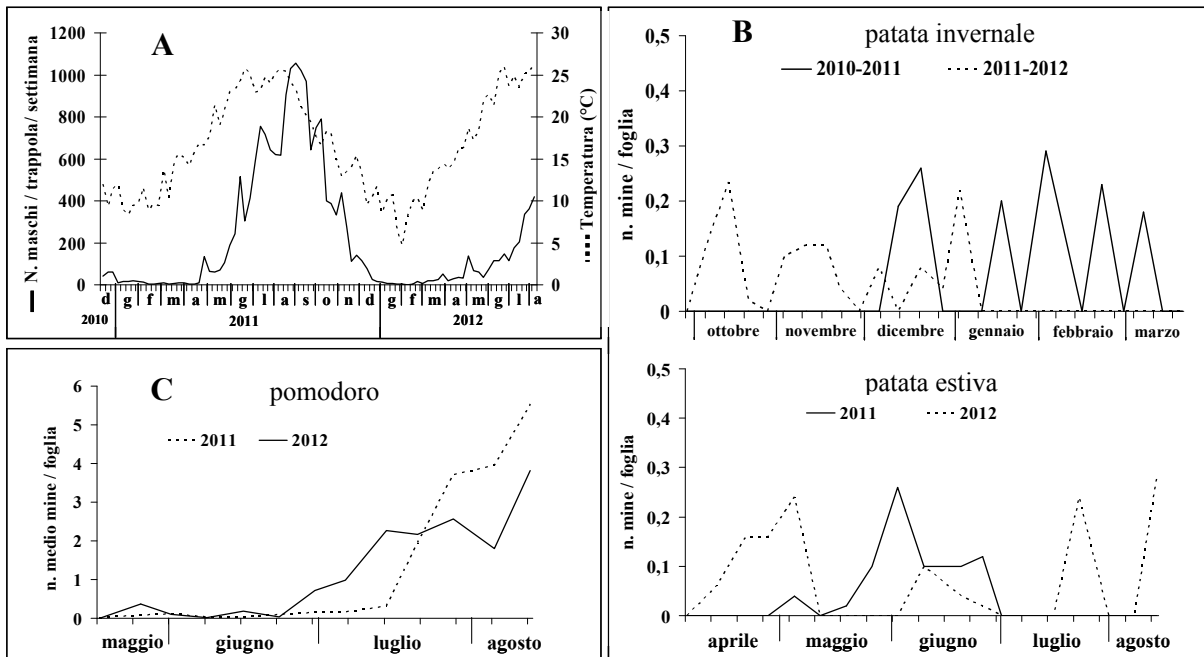


Figura 1. Catture di maschi di *Tuta absoluta* e temperature medie (A), infestazione su patata invernale ed estiva (B) e su pomodoro (C) in due anni di coltivazione in un comprensorio orticolo della Sardegna nord-occidentale.

Conclusioni

Le osservazioni in pieno campo hanno evidenziato che *T. absoluta* può compiere nella Sardegna settentrionale 5-6 generazioni all'anno, di cui 2 su patata invernale e *S. nigrum* e 3-4 su pomodoro coltivato in estate. *S. nigrum* e patata sono ospiti secondari di *T. absoluta*, poiché nel periodo primaverile-estivo sono stati osservati livelli di infestazione notevolmente inferiori rispetto al pomodoro. Gli individui che attaccano massicciamente il pomodoro utilizzano questi ospiti secondari per svernare, seppure a basse densità. Nei comprensori orticoli dovrebbero pertanto essere evitate le successioni colturali fra patata e pomodoro e inoltre essere eliminate le infestanti che ospitano il fitofago. In questo modo si potrebbe ridurre il livello della popolazione che nella primavera-estate può determinare gravi danni al pomodoro in pieno campo che, in Sardegna, è coltivato da aprile a settembre.

Bibliografia

- Delrio G., Cocco A., Deliperi S., 2012. Prospettive e limiti dell'impiego di feromoni sessuali per la lotta contro la tignola del pomodoro. Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia. LX: 103-109.
- Sannino L., Espinosa B., 2010. *Tuta absoluta*. Guida alla conoscenza e recenti acquisizioni per una corretta difesa. L'Informatore Agrario, Verona, Supplemento 1 al n. 46: 1-113.

Analisi della variabilità genetica tramite fAFLP all'interno di popolazioni di *Aphis gossypii* (Rhynchota, Aphididae) provenienti da agrumeti siciliani

G.E.M. Cocuzza¹, S. Di Silvestro², V. Cavalieri¹, A. Russo¹

¹ Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95123 Catania - e-mail: cocuzza@unict.it

² C.R.A. – Centro di Ricerca per l'Agrumicoltura e le Colture Mediterranee, Corso Savoia 190, 95024 (Acireale) – e-mail: silvia.disilvestro@entecra.it

Introduzione

Aphis gossypii Glover è il vettore più efficiente in Italia nella trasmissione del *Citrus Tristeza Virus* (CTV), agente responsabile della malattia della “tristezza degli agrumi”. *A. gossypii* è una specie ampiamente polifaga, riportata su oltre 600 piante ospiti (Holman, 2009). Le popolazioni di quest'afide si rinvencono normalmente su agrumi, oltre che su numerose altre piante coltivate e spontanee.

In Sicilia, la diffusione della malattia nei vari comprensori agrumicoli non è avvenuta in maniera uniforme. In alcuni casi l'epidemia ha evidenziato elevata velocità, infettando la quasi totalità delle piante in pochissimi anni. In altri casi, la presenza del virus è stata limitata e circoscritta e talvolta del tutto assente. Il ruolo di *A. gossypii* nella diffusione è stato decisivo e la costante presenza dell'afide negli agrumeti ha suggerito che le sue diverse popolazioni possano avere influenzato le modalità con cui si è diffuso il virus. L'ipotesi su cui si è lavorato è che l'elevata polifagia possa essere conseguenza della presenza, all'interno di questo *taxon*, di differenti biotipi morfologicamente indistinguibili. Questi biotipi potrebbero, al pari di quanto avviene in altre specie (es. l'aleirode *Bemisia tabaci*), differire nell'efficienza di trasmissione del virus della tristezza. Peraltro, alcuni lavori hanno già segnalato la possibile esistenza di biotipi differenti (Satar *et al.*, 2012), con una diversa capacità di trasmissione di virus (Yokomi *et al.*, 2004). Il lavoro ha avuto lo scopo di verificare il grado di affinità genetica tra i vari campioni raccolti su agrumi e su diverse piante ospiti.

Materiali e metodi

L'esperimento è stato condotto utilizzando la tecnica fAFLP (fluorescent amplification fragment length polymorphism), messa a punto per distinguere gli eventuali biotipi presenti. I campioni di *A. gossypii* sono stati raccolti in venti differenti località (Sicilia, Calabria, Veneto e USA) per un totale di 26 popolazioni, delle quali 13 collezionate su agrumi e 13 su altre piante coltivate, ornamentali o spontanee. *A. chloris* Koch raccolto su *Hypericum hircinum* è stato utilizzato come outgroup. L'analisi è stata condotta su un totale di 83 esemplari. Il DNA è stato estratto da ogni singolo individuo con il DNeasy® Blood & Tissue Kit (Quiagen). Il protocollo è stato definito sottoponendo i campioni a screening impiegando 3 coppie di primer (il forward di ogni coppia è stato marcato con il fluoroforo Cy5). I frammenti amplificati tramite PCR sono stati separati in elettroforesi capillare e i profili ottenuti sono stati convertiti in matrici. L'indagine statistica è stata eseguita tramite *cluster analysis* (DARwin5 V.5.0.158) e sviluppata graficamente con il metodo Neighbour-joining.

Risultati e discussione

I risultati dell'analisi hanno permesso di discriminare vari cluster che raggruppano le diverse popolazioni di *A. gossypii* (fig. 1). Nei cluster B e C sono presenti tutti gli esemplari raccolti su agrumi e su piante infestate dall'afide che comunque vegetavano nell'area agrumetata. In questo caso, l'analisi ha evidenziato un'elevata omogeneità genetica tra le varie popolazioni. La variabilità genetica degli esemplari raggruppati nel cluster A è risultata maggiore, e questo potrebbe indicare l'esistenza di più biotipi adattatisi alle varie piante ospiti.

Conclusioni

Quanto osservato con la presente ricerca sembra indicare l'effettiva esistenza di diversi biotipi che, sebbene non discriminabili morfologicamente, manifestano un certo grado di differenza molecolare. Quest'ultima non giustifica evidentemente una distinzione a livello di specie, quanto invece come biotipi, ovvero popolazioni il cui adattamento ad una determinata pianta ospite ne ha delineato peculiari caratteristiche biologiche che le distinguono l'una dall'altra.

Bibliografia

- Holman J., 2009 - Host plant catalog of aphids: Palaearctic Region. Springer, Berlin.
 Yokomi R., Joost J., Backus E., 2004 – Preliminary evaluation of two biotypes of *Aphis gossypii* on the transmission of citrus tristeza virus. IOCV Conference, 136 p.
 Satar S., Krestling U., Yokomi R., 2012 – Presence of two host races of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) collected in Turkey. *Annals of Applied Biology*, 162: 41-49.

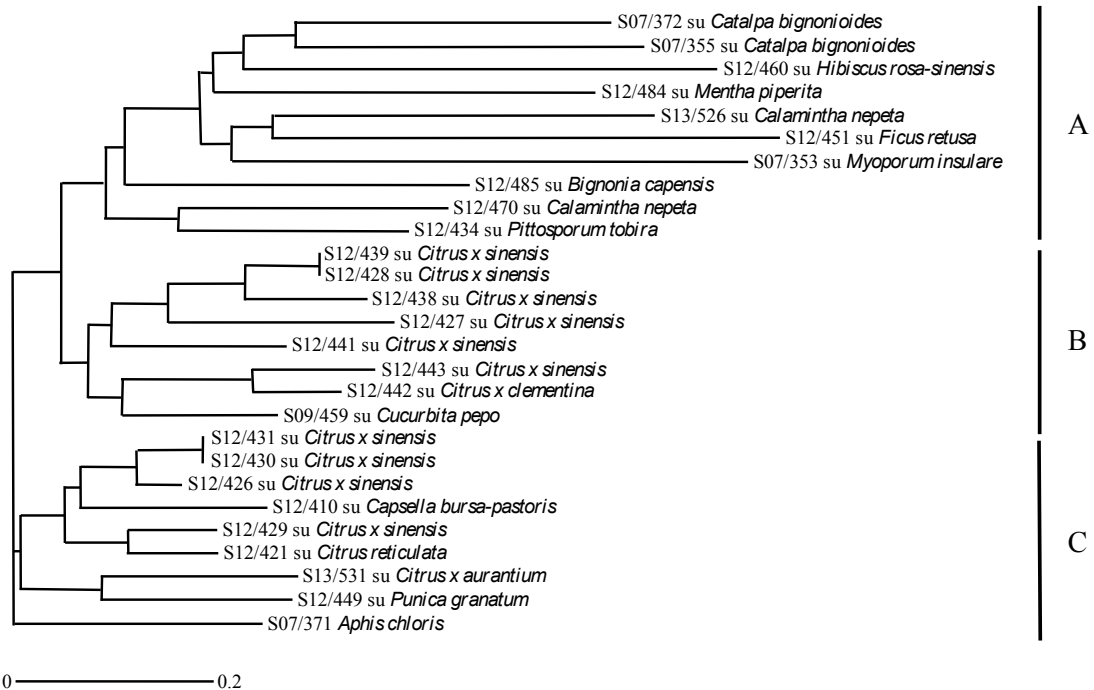


Fig. 1.

Studi ecologici sugli Aleirodidi viventi sulla flora erbacea in Sicilia e sui loro parassitoidi

D. Guastella¹, V. Cavalieri¹, P.A. Pedata², L.S. Tajebe¹, Rapisarda Carmelo¹

¹ Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Sezione Entomologia Applicata, Università degli Studi, via Santa Sofia n. 100, 95123 Catania (Italia)

² CNR, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante, UOS di Portici, via Università n. 133, 80055 Portici, NA (Italia)

Introduzione

Gli Aleirodidi costituiscono un gruppo entomatico di rilevante interesse applicato, per i danni sia diretti che indiretti da essi causati a varie colture in tutto il mondo (specialmente nelle regioni tropicali e subtropicali) (Campbell *et al.*, 1994). Negli ambienti mediterranei, la dannosità di questi insetti si è molto incrementata nel corso degli ultimi decenni, per via soprattutto dell'introduzione accidentale di numerose specie o biotipi di origine esotica (Martin *et al.*, 2000). Allo stato attuale, un problema critico è rappresentato dalla mancanza d'informazioni attendibili circa la loro distribuzione spaziale e dei loro nemici naturali, elementi che sarebbero di rilevante importanza per l'applicazione di adeguate misure fitosanitarie e la cui acquisizione (oltre a quella d'importanti informazioni ecologiche sulle relazioni specie/biotipo e habitat) è oggi agevolata da nuovi strumenti, quali i sistemi geografici di posizione (GPS) e i sistemi d'informazione geografica (GIS) (Moral García, 2006).

Nel presente studio, è stata esaminata la distribuzione spaziale degli Aleirodidi e dei loro parassitoidi sulla vegetazione erbacea in tutto il territorio siciliano, determinando le relazioni tra fattori ambientali e l'abbondanza degli insetti sopra menzionati.

Materiali e metodi

Le indagini sono state svolte nel 2011-2012, campionando esclusivamente su piante erbacee e separatamente in diversi ambienti, sia coltivati (differenziando fra aree ad agricoltura convenzionale e biologica) che naturali. Il territorio siciliano investigato è stato suddiviso in celle di 20 Km x 20 Km, per un totale di sessantadue quadranti. Le indagini tassonomiche sugli Aleirodidi e sui loro parassitoidi sono state realizzate sia con metodi morfologici classici che, ove necessario, con metodi molecolari, tramite lo studio del gene mitocondriale codificante per la sub unità I della Citocromo Ossidasi (COI), in modo da discriminare possibili specie criptiche. Rilievi ecologici hanno inoltre mirato all'individuazione delle piante ospiti, alla caratterizzazione degli ambienti di rinvenimento e alla valutazione delle componenti altimetriche. I dati sono stati accumulati in un database e analizzati tramite tecniche geo-statistiche. Tutte le analisi sono state eseguite con l'utilizzo di DIVA-GIS 7.5 e Maxent (Hijmans *et al.*, 2001).

Risultati e discussione

I rilievi hanno consentito l'individuazione di 9 specie di Aleirodidi: *Aleurolobus marlatti* (Quaintance) (0,7% dei campioni), *Aleurothrixus floccosus* (Maskell) (6,5%), *Aleyrodes elevatus* Silvestri (11%), *Aleyrodes proletella* (Linnaeus) (12,5%), *Bemisia afer* (Priesner & Hosny) (8%), *Bemisia tabaci* (Gennadius) (33%), *Dialeurodes citri* (Ashmead) (2%), *Trialeurodes lauri* (Signoret) (1,3%) e *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (25%). Nel complesso specifico *B. tabaci*, sulla base delle analisi della mtCOI, sono state identificate tre specie criptiche: specie putativa "Mediterranean" (= biotipo Q) (67%), specie putativa "Middle East-Asia Minor 1" (= biotipo B) (30%) e specie putativa "Italy" (= biotipo T) (3%); quest'ultima è stata trovata soprattutto in aree naturali o montane. Sulle citate 9 (potenziali 11) specie di Aleirodidi sono state intercettate 8 specie di parassitoidi, incluse in 4 generi e 3 famiglie: *Encarsia formosa* Gahan, *E. inaron* (Walker), *E. lutea* (Masi), *E. pergandiella* Howard, *E. tricolor* Förster, *Cales noacki*

Howard, *Eretmocerus mundus* Mercet, *Signiphora townsendi* Ashmead. La percentuale di ciascuna specie raccolta varia tra le diverse aree investigate. Il genere predominante è rappresentato da *Encarsia* (62%), seguito da *Eretmocerus* (28%). *Cales* (8%) è stato raccolto solo su *A. floccosus*. L'unico iper-parassitoide, *S. townsendi*, è stato ritrovato solo di rado (2%). Due specie di Aleirodidi, *B. tabaci* e *T. vaporariorum*, hanno evidenziato zone di aggregazione in aree coltivate lungo le coste orientali e meridionali dell'isola. La loro abbondanza è comunque risultata inferiore in aree naturali, caratterizzate da maggiore biodiversità floristica ed entomologica. Per tali due specie, considerando 19 variabili bioclimatiche, sono stati sviluppati dei modelli sulla potenziale distribuzione spaziale, che hanno messo in evidenza aree con alta probabilità (> 0,60) di loro presenza (benché nessun ritrovamento delle specie fosse disponibile) e aree potenzialmente sensibili. Le due specie putative di *B. tabaci*, "Mediterranean" e "Middle East-Asia Minor 1", risultano maggiormente attese lungo le aree costiere, e progressivamente di meno nell'entroterra dell'isola. La specie putativa "Italy", invece, è risultata assente (o estremamente rara) in zone a bassa quota (inferiori a circa 500 m s.l.m.), anche in presenza delle piante ospiti [soprattutto *Euphorbia characias* L., *Ancanthus mollis* L. e, per la prima volta, *Lycopersicon esculentum* (L.)], raggiungendo i livelli più alti di presenza in ambienti naturali tra 600 e 1000 m s.l.m., colonizzando soprattutto *E. characias* e *A. mollis*. Il modello sviluppato per questa specie corrisponde con quanto osservato in campo, mostrandone una distribuzione ristretta ad aree naturali collino-montuose.

Conclusioni

La ricerca qui presentata documenta la distribuzione spaziale degli Aleirodidi che colonizzano piante erbacee e dei loro parassitoidi in Sicilia. Riteniamo che l'utilizzo di tecniche quali GIS, GPS e geostatistica combinate con altre tecniche tradizionali applicate all'entomologia, forniscano un'analisi più precisa e veloce negli studi di carattere biologico/ecologico di tali insetti. Tale combinazione, potrà essere sicuramente di aiuto nella progettazione e gestione dei programmi di lotta integrata, in particolare su scala regionale, fornendo anche un modo rapido e innovativo di analizzarne e comunicarne i risultati su base continua.

Bibliografia

- Campbell B.C., Steffen-Campbell J.D., Gill R.J., 1994 - Evolutionary origin of whiteflies (Hemiptera: Sternorrhyncha: Aleyrodidae) inferred from 18S rDNA sequences. *Insect Molecular Biology* 3(2): 73-88.
- Martin J.H., Mifsud D., Rapisarda C., 2000 - The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin. *Bulletin of Entomological Research* 90 (5): 407-448.
- Moral Garcia F.J., 2006 - Analysis of the Spatio-temporal Distribution of *Helicoverpa armigera* Hb. in a Tomato Field using a Stochastic Approach. *Biosystems Engineering* 93 (3): 253-259.
- Hijmans R.J., Guarino L., Cruz M., Rojas E., 2001 - Computer tools for spatial analysis of plant genetic resources data: 1. DIVA-GIS. *Plant Genetic Resources Newsletter*: 15-19.

Risposte comportamentali di *Leiodes cinnamomea* Panzer a composti volatili di *Tuber* spp.

P. Di Santo¹, S. Vitagliano¹, G.S. Germinara², G. Anfora³, S. Carlin³, G. Rotundo¹,
B. Paura¹, A. De Cristofaro¹

¹ Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, Università del Molise, Via De Sanctis snc, 86100, Campobasso, E-mail: patrick.disanto@unimol.it, decrist@unimol.it;

² Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, Università degli Studi di Foggia, Via Napoli 25, 71122 Foggia;

³ Fondazione Edmund Mach, CRI-CTT, Via E. Mach 1, 38010, San Michele all'Adige (TN).

Introduzione

Leiodes cinnamomea Panzer (Coleoptera, Leiodidae) è un insetto micofago in grado di danneggiare severamente i corpi fruttiferi di diverse specie di tartufo (*Tuber* spp.), tra cui una di quelle economicamente più importanti, il tartufo nero pregiato (*Tuber melanosporum* Vittadini). Le larve, estremamente più dannose degli adulti, distruggono completamente i carpofori con la loro attività trofica (Arzone, 1970).

Data l'insufficienza di informazioni riguardanti le interazioni tra il micofago e i tartufi, lo scopo del presente lavoro, che rappresenta anche la prima segnalazione dell'insetto in Molise (Gildone, Cb), è stato quello di studiare il ruolo biologico dei composti organici volatili (VOCs) emessi dai carpofori di *Tuber* spp. su femmine accoppiate di *L. cinnamomea*.

I VOCs sono stati estratti da corpi fruttiferi maturi di diverse specie di tartufo, tra cui l'ospite preferito dal micofago, *T. melanosporum*. Tali estratti sono stati utilizzati come stimoli in studi elettrofisiologici e comportamentali; quelli maggiormente attivi sono stati sottoposti a caratterizzazione chimica, al fine di identificare i composti chiave del profilo odoroso delle diverse specie di *Tuber*.

Materiali e metodi

Le estrazioni dei VOCs sono state condotte su carpofori [*Tuber aestivum* Vittadini, *T. borchii* Vittadini, *T. brumale* Vittadini, *T. magnatum* Pico, *T. melanosporum*, *T. mesentericum* Vittadini, *T. aestivum* Vittadini f. *uncinatum* (Chatin) Fischer] provenienti dalle regioni Molise, Abruzzo e Marche. I tartufi (30 g) sono stati esposti (72 h) ad un flusso d'aria costante (125±5 SCCM, cm³ standard/minuto), umidificato e purificato. Gli odori sono stati adsorbiti su cartuccia di carbone attivo ed eluiti con esano (5 ml).

La risposta elettrofisiologica di femmine accoppiate (n=10) di *L. cinnamomea* (da tartufaie di *T. melanosporum* delle province di Ancona e Pescara) agli estratti (10 µl) è stata valutata mediante elettroantennografia (EAG), come dettagliatamente descritto in precedenti lavori (es. De Cristofaro *et al.*, 2004; Schmidt *et al.*, 2007). I dati sono stati sottoposti ad analisi della varianza (ANOVA) e le medie comparate mediante test di Tukey (P=0,05).

La risposta comportamentale è stata valutata con un biosaggio a caduta a due scelte (Germinara *et al.*, 2008), simile a quello descritto da Phillips *et al.* (1993), in cui l'arena era costituita da un contenitore d'acciaio (Ø=32,0 cm; h=7,0 cm) con due fori (Ø=3,0 cm) diametralmente opposti. Gli stimoli o il controllo (esano) sono stati adsorbiti su carta da filtro (1,0 x 2,0 cm) e sospesi al centro di ciascun foro, sotto il quale era collocata una beuta di vetro (500 ml) per la raccolta degli insetti attratti. Femmine (usate una sola volta; n=10; N=4) di *L. cinnamomea*, private di alimento per 24 ore, sono state rilasciate nell'arena e osservate per 50 minuti. Tutti gli estratti sono stati saggiati (20 µl) a 3 concentrazioni (0,01 - 1,0 µg/µl; tal quale), quelli più attivi (*T. borchii*, *T. mesentericum*, *T. melanosporum*) a 6 (0,01 - 0,1 - 1,0 - 10 - 100 µg/µl; tal quale). I dati sono stati analizzati mediante test *t* di Student (P=0,05).

Gli estratti sono stati esaminati mediante GC-MS. L'identità dei composti volatili è stata determinata per comparazione con composti sintetici e, in assenza di standard, con apposito database (Wiley Mass Spectral). I composti sono stati quantificati (%) confrontando l'area dei loro picchi. Sono state calcolate, infine, le curve dose-risposta EAG (De Cristofaro *et al.*, 2004) delle femmine accoppiate (n=10) a 5 dosi (10 µl di soluzione contenenti 0,01 - 0,1 - 1,0 - 10 - 100 µg/µl di composto) delle sostanze presenti in quantità maggiori e più frequenti, nonché ad un aroma sintetico commerciale di tartufo.

Risultati e discussione

Le risposte EAG significativamente più elevate (test di Tukey; P=0,05) sono state indotte dagli estratti di *T. melanosporum* (1,76±0,62 mV) e *T. mesentericum* (1,7±0,28 mV). Nei biosaggi comportamentali, le femmine sono state orientate verso la sorgente di emissione, in numero significativamente maggiore (test *t* di Student; P=0,05) rispetto al controllo, dagli estratti dei carpofori di *T. borchii* (x=77±5%; da 0,1 µg/µl a 100 µg/µl), *T. mesentericum* (73±3%; da 0,01 µg/µl a 10 µg/µl) e *T. melanosporum* (75±2%; estratto tal quale).

L'analisi GC-MS degli estratti maggiormente attivi (*T. mesentericum*, *T. melanosporum* e *T. borchii*) ha evidenziato la presenza costante, in quantità prevalente, di 16 sostanze; alla dose più elevata, quelle percepite in modo significativamente maggiore (test di Tukey; P=0,05) dalle antenne delle femmine accoppiate sono risultate 3-metil-2-butanone (1,55±0,93 mV), 2,3-butandione (1,35±0,74 mV), metildisulfide (1,33±0,42 mV), 2-metil-1-propanolo (1,12±0,48 mV) ed esanale (1,10±0,57 mV).

Conclusioni

Le sostanze volatili emesse dai carpofori di *Tuber* spp. rivestono un ruolo fondamentale nell'orientamento di *L. cinnamomea*, agendo da importanti mediatori chimici, soprattutto per le femmine accoppiate alla ricerca di un adeguato sito di ovideposizione. Particolarmente attivi sono stati gli estratti di *T. mesentericum*, *T. melanosporum* e *T. borchii*. La scelta del carpoforo adatto, infatti, è cruciale sia per la sopravvivenza dello stato larvale che per localizzare un microhabitat che garantisca protezione adeguata e substrato nutritivo abbondante all'adulto. Sono in corso ulteriori indagini atte a valutare la risposta di *L. cinnamomea* ai singoli composti, per un loro potenziale uso nel monitoraggio o nel controllo (es. lotta attratticida, disorientamento delle femmine ovideponenti) del micofago.

Bibliografia

- Arzone A., 1970 - Reperti ecologici ed etologici di *Leiodes cinnamomea* Panzer vivente su *Tuber melanosporum* Vittadini (Coleoptera Staphylinoidea). Annali Facoltà di Scienze Agrarie, Università degli Studi di Torino, 5: 317-357.
- De Cristofaro A., Ioriatti C., Pasqualini E., Anfora G., Germinara G. S., Villa M., Rotundo G., 2004 - Electrophysiological responses of *Cydia pomonella* to codlemone and pear ester ethyl (*E,Z*)-2,4-decadienoate: peripheral interactions in their perception and evidences for cells responding to both compounds. Bull. Insectology, 57(2): 137-144.
- Germinara G. S., De Cristofaro A., Rotundo G., 2008 - Behavioral responses of adult *Sitophilus granarius* to individual cereal volatiles. J. Chem. Ecol., 34: 523-529.
- Phillips T. W., Jiang X.-L., Burkholder W. E., Phillips J. K., Tran, H. Q., 1993 - Behavioral responses to food volatiles by two species of stored-product Coleoptera, *Sitophilus oryzae* (Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Tenebrionidae). J. Chem. Ecol., 19: 723-734.
- Schmidt S., Anfora G., Ioriatti C., Germinara G. S., Rotundo G., De Cristofaro A., 2007 - Biological activity of ethyl (*E,Z*)-2,4-decadienoate on different tortricid species: electrophysiological responses and field tests. Environ. Entomol., 36(5): 1025-1031.

Macrolepidotteri notturni nelle aree protette: indicatori ecologici dei potenziali impatti del mais transgenico?

A. Masetti^{1*}, G. Burgio¹, M. Marini², S. Ghesini², S. Magagnoli¹, F. Baldacchino³, R.A. Magarelli³, U. Neri⁴, M. Lener⁵, V. Rastelli⁵, G. Staiano⁵, S. Arpaia³

¹ Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Agrarie, 40127 Bologna, Italia

² Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche e Ambientali, 40139 Bologna, Italia

³ ENEA, Centro Ricerche Trisaia, 75026 Rotondella (MT), Italia

⁴ CRA-RPS, 00184 Roma, Italia

⁵ Istituto Superiore per la Protezione e la Ricerca Ambientale, 00144 Roma, Italia

* Corresponding author, E-mail: antonio.masetti@unibo.it

Introduzione

In Italia, molte aree protette sono state istituite all'interno di comprensori agricoli e i campi coltivati sono spesso a ridosso delle aree naturali vere e proprie. L'eventuale coltivazione di mais geneticamente modificato (GM) per l'espressione delle tossine Cry derivanti dal batterio *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner potrebbe avere ricadute negative sugli organismi presenti in questi ambienti, entrando in conflitto con gli obiettivi stessi di protezione.

Nelle varietà GM i transgeni sono espressi spesso anche nel polline e, poiché il mais è pianta anemogama, una delle possibili vie di esposizione degli organismi non bersaglio alle tossine è legata al trasporto del polline da parte del vento e alla sua deposizione nelle aree naturali limitrofe ai campi coltivati. In un ipotetico scenario di coltivazione di piante GM in Italia, le larve di Lepidotteri presenti nei bordi dei campi durante la fioritura del mais potrebbero ingerire accidentalmente il polline Bt depositatosi sulle piante di cui si cibano. Poiché la gran parte delle varietà transgeniche commerciali esprime tossine specifiche proprio per specie dannose appartenenti all'ordine dei Lepidotteri, il rischio di ricadute negative sulla Lepidotterofauna deve essere considerato.

La gran parte degli studi su questi argomenti è focalizzata sulle farfalle diurne, mentre per le falene sono stati pubblicati pochissimi lavori, basati su analisi di liste faunistiche preesistenti. Questo studio ha lo scopo di caratterizzare le specie di macrolepidotteri notturni presenti in tre aree protette del territorio italiano nel periodo di fioritura del mais e quindi potenzialmente esposte al contatto con il polline. Il valore dei macrolepidotteri notturni quali bioindicatori ecologici per evidenziare eventuali perturbazioni sull'ambiente ascrivibili all'ipotetica coltivazione di varietà di mais Bt è valutato e discusso.

Materiali e metodi

Le ricerche sono state condotte nel biennio 2010-2011 in tre Siti di Interesse Comunitario (SIC) di Nord (Biotopi e Ripristini Ambientali di Bentivoglio, San Pietro in Casale, Malalbergo e Baricella - SIC IT4050024, Bologna), Centro (Macchia di Sant'Angelo Romano - SIC IT6030015, Roma) e Sud Italia (Costa Ionica-Foce Bradano - SIC IT9220090, Matera). In tutti i SIC, le aree agricole occupano una frazione rilevante della superficie totale e la coltivazione del mais è piuttosto comune.

Data l'estensione e la frammentazione del SIC in provincia di Bologna, in quest'area protetta sono state allestite due stazioni di campionamento, una sola stazione è stata invece collocata in ciascuno degli altri due SIC. In ogni stazione di campionamento è stata installata una trappola automatica (modello Pennsylvania) attivata ininterrottamente nelle ore notturne nei mesi di giugno e luglio di entrambi gli anni. Come fonte luminosa è stata usata una lampada Philips ML da 160 W. Le trappole sono state controllate ogni 3-4 giorni per tutto il periodo di campionamento. Gli esemplari

raccolti, appartenenti al gruppo artificiale dei macrolepidotteri, sono stati identificati fino al rango di specie.

Lo studio è stato condotto e finanziato nell'ambito del progetto Life+ MAN-GMP-ITA (*Validation of risk management tools for genetically modified plants in protected and sensitive areas in Italy*).

Risultati e discussione

Complessivamente sono stati raccolti 11.446 esemplari appartenenti a 203 specie e nove famiglie (Tab. 1). Oltre l'80% degli individui è rappresentato da sole 22 specie caratterizzate da abbondanza relativa superiore allo 0,5%. Tra queste, data la diffusione delle piante nutrici in prossimità dei campi e la possibilità di campionare molti individui, *Athetis pallustris* (Hübner), *Acontia trabealis* (Scopoli) e *Tyta luctuosa* (Denis & Schiffermuller) sembrano le più idonee come indicatori ecologici di eventuali impatti del mais Bt.

Nei SIC sono state rinvenute anche alcune specie protette o considerate vulnerabili come *Proserpinus proserpina* (Pallas), in Allegato IV della Direttiva 92/43 EEC, *Gastropacha quercifolia* (L.), *Arctia villica* (L.) e *Pachypasa otus* (Drury). Queste specie rare sono state campionate solo sporadicamente e in numeri insufficienti per correlare le catture a variabili ambientali. Tuttavia, dato l'elevato valore conservazionistico e culturale-estetico (*flagship species*), queste falene sono da tenere in considerazione come rappresentanti della biodiversità delle aree protette.

Tabella 1. Ricchezza di specie e abbondanza di individui delle famiglie di macrolepidotteri.

Famiglia	n° specie	n° individui
Noctuidae	120	8125
Geometridae	30	1724
Arctidae	16	941
Sphingidae	10	88
Notodontidae	9	170
Lasiocampidae	6	42
Drepanidae	5	18
Cossidae	4	309
Lymantriidae	3	29

Conclusioni

Oltre a soddisfare i criteri di possibile esposizione e suscettibilità alle tossine Cry, i macrolepidotteri notturni mostrano diverse caratteristiche che li rendono idonei come bioindicatori: a) elevata ricchezza di specie e abbondanza di individui in svariati ambienti; b) conoscenze tassonomiche e bio-ecologiche in genere più dettagliate rispetto alla gran parte degli altri gruppi di Artropodi; c) metodo di campionamento standardizzabile che consente di raccogliere un gran numero di esemplari in buono stato di conservazione. Per queste ragioni, il campionamento con trappole luminose dei macrolepidotteri notturni potrebbe essere incluso nei programmi per il monitoraggio degli impatti derivanti dalla coltivazione di mais Bt, o anche di altri input agricoli, sulle biocenosi.

Gli antagonisti indigeni del cinipide del castagno in Toscana

T. Panzavolta, F. Croci, M. Bracalini, R. Tiberi

Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agroalimentari e dell’Ambiente. Università degli Studi di Firenze.

Introduzione

Si riferiscono i risultati di una indagine pluriennale svolta in tre castagneti della Toscana per accertare la presenza e valutare l’efficacia di antagonisti indigeni legati ai cinipidi delle querce nei confronti del galligeno asiatico del castagno *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae).

Per contenere la diffusione di questo insetto esotico il metodo che sembra essere più efficace è la lotta biologica con il suo principale antagonista, *Torymus sinensis* Kamijo, proveniente dallo stesso paese di origine (Murakami *et al.*, 2001; Moriya *et al.*, 2003). In Toscana il programma di lotta biologica è stato avviato nel 2010 e non è stato tuttora completato. Lo scopo di questo studio è identificare i parassitoidi indigeni adattatisi al cinipide in aree della Toscana in cui *T. sinensis* non era arrivato all’epoca dei primi campionamenti. Sembra, infatti, opportuno considerare in modo più approfondito il ruolo degli entomofagi indigeni, visto che sempre più numerose sono le segnalazioni di specie di parassitoidi nativi, legati ai cinipidi delle querce, ritrovati nelle galle del cinipide del castagno (Speranza *et al.*, 2009; Benvegnù, 2011; Guerrieri *et al.*, 2011; Santi and Maini, 2011; Pollini, 2012; Quacchia *et al.*, 2013). Inoltre è importante anche avere a disposizione delle informazioni preliminari da poter utilizzare nei prossimi anni per meglio comprendere i cambiamenti verificatisi come conseguenza della lotta biologica e le relazioni innescaresi tra cinipide del castagno, antagonista esotico e antagonisti indigeni.

Materiali e metodi

Le indagini sono iniziate nel 2009 in un ambiente castanicolo della Lunigiana: Castelpoggio (MS), dove nel 2008 è stata per la prima volta segnalata ufficialmente la presenza in Toscana del cinipide del castagno. Nel 2010 queste stesse osservazioni sono state svolte in due castagneti del comprensorio di Marradi (FI) e nel 2013 in due castagneti del comprensorio della Garfagnana (LU). In tutte le località sono state prelevate galle del cinipide del castagno e in Garfagnana anche galle dei cinipidi delle querce. Al completamento degli sfarfallamenti le galle sono state sezionate al binoculare per conteggiare il numero di celle per galla ed osservare il loro contenuto.

Risultati e discussione

Dalle galle del cinipide del castagno sono sfarfallati individui di 10 diverse specie di parassitoidi, afferenti a 5 famiglie di calcidoidei, noti come parassitoidi dei galligeni delle querce: 1) Torymidae – *Megastigmus dorsalis* (Fabricius), *Torymus auratus* (Müller), *Torymus flavipes* (Walker); 2) Eurytomidae – *Eurytoma brunniventris* Ratzeburg; 3) Pteromalidae – *Mesopolobus fasciiventris* Westwood, *Mesopolobus tarsatus* (Nees), *Mesopolobus tibialis* (Westwood); 4) Eupelmidae – *Eupelmus annulatus* (Nees), *Eupelmus urozonus* Dalman; 5) Ormyridae – *Ormyrus* spp. Sei specie sono state ottenute dalle galle di *D. kuriphilus* raccolte a Castelpoggio. Tra le specie presenti a Marradi (6 in totale) *T. flavipes*, parassitoide di numerosi galligeni delle querce, è risultata la più abbondante. *M. tibialis*, è la seconda specie per abbondanza, si tratta di un parassitoide che si sviluppa a carico di numerosi galligeni legati a diverse specie vegetali. È stata registrata anche la presenza di specie note come iperparassitoidi, come ad esempio *E. urozonus*. La percentuale di parassitizzazione in uno dei castagneti di Marradi, 16 individui per 100 galle, è incoraggiante se confrontata con quelle registrate in numerose località italiane, che, in genere, non superano i 2-3 individui sfarfallati per 100 galle (Quacchia *et al.*, 2013). In Garfagnana numerose specie di parassitoidi sono state ottenute dalle galle prelevate sulle querce; di queste soltanto tre, rappresentate da pochi individui, sono sfarfallate dalle galle del cinipide del castagno.

Conclusioni

Questi primi risultati mettono innanzitutto in evidenza la capacità degli antagonisti indigeni di localizzare e parassitizzare gli individui di *D. kuriphilus* all'interno delle galle. Ben 10 differenti specie di parassitoidi dei cinipidi delle querce hanno dimostrato un pronto adattamento al nuovo ospite di origine asiatica. Nei castagneti in cui si sono svolte le prove, infatti, il cinipide era stato segnalato 1 o 2 anni prima rispetto alla data dei campionamenti. Inoltre, il nostro studio fornisce utili informazioni sul complesso dei parassitoidi indigeni adattatisi a *D. kuriphilus* prima dell'introduzione di *T. sinensis*.

Bibliografia

- Benvegnù I., 2011 - Indagini sul cinipide del castagno (*Dryocosmus kuriphilus*) nell'Italia nord-orientale. 55 pp., Tesi di laurea, Università di Padova, Dipartimento di Agronomia ambientale e Produzioni vegetali.
- Guerrieri E., Bernardo U., Iodice L., Gebiola M., 2011 - Identificazione morfo-bio-molecolare ed interazioni trofiche degli antagonisti autoctoni di *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu in Campania: metodologia e risultati preliminari. Atti Acc. Naz. It. Entomol. 58: 115-120.
- Moriya S., Shiga M., Adachi I., 2003 - Classical biological control of the chestnut gall wasp in Japan, pp. 407-415. In: Proceedings of the 1st international symposium on biological control of arthropods (Van Driesche R. G., Ed.), Honolulu, 14-18 January 2002. United States Department of Agriculture, Forest Service, Washington, USA.
- Murakami Y., Toda S., Gyoutoku Y., 2001 - Colonization of imported *Torymus* (*Syntomaspis*) *sinensis* Kamijo (Hymenoptera: Torymidae) parasitic on the chestnut gall wasp (*Dryocosmus kuriphilus*) (Hymenoptera: Cynipidae). 7. Success in the eighteenth year after release in Kumamoto (Japan). Kyushu Plant Prot. Res. 47: 132-134.
- Pollini A., 2012 - Situazione degli antagonisti indigeni di *Dryocosmus kuriphilus* in castagneti dell'Emilia-Romagna, pp. 76-78. In: Atti del convegno stato dell'arte nella difesa delle avversità del castagno (*Castanea sativa* Mill.), (Bellini E., Ed.), Marradi (Florence), 9 September 2011. Centro di Studio e Documentazione sul Castagno, Marradi (Florence), Italia.
- Quacchia A., Ferracini C., Nicholls J. A., Piazza E., Saladini M. A., Tota F., Melika G., Alma A., 2013 - Chalcid parasitoid community associated with the invading pest *Dryocosmus kuriphilus* in north-western Italy. Insect Conserv. Diver. 6: 114-123.
- Santi F., Maini S., 2011 - New association between *Dryocosmus kuriphilus* and *Torymus flavipes* in chestnut trees in the Bologna area (Italy): first results. B. Insectol. 64: 275-278.
- Speranza S., Stacchiotti M., Paparatti B., 2009 - Endemic parasitoids of *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Hymenoptera: Cynipidae) in Central Italy. Acta Hort. 844: 421-424.

Studio della dinamica spazio-temporale dei tripidi fitofagi e dei loro antagonisti naturali su colture ornamentali protette

A. Boaria, A. Pozzebon, C. Duso

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, 35020 Legnaro (Padova), Italia, E-mail: alberto.pozzebon@unipd.it; carlo.duso@unipd.it;

Introduzione

Frankliniella occidentalis Pergande e *Thrips tabaci* Lindeman sono i principali tripidi dannosi alle colture ornamentali protette. Le due specie svolgono un'intensa attività trofica a carico di organi vegetativi e riproduttivi e possono trasmettere virus (Lewis, 1997; Tommasini e Maini, 1995). Il loro controllo è reso difficile dal comportamento criptico e dall'esistenza di ceppi resistenti agli insetticidi (Lewis, 1997). La diffusione dei ceppi resistenti ha determinato un interesse crescente nei confronti dei mezzi e delle tecniche di lotta biologica (Pilkington et al., 2010). La vegetazione spontanea può ospitare focolai di tripidi fitofagi ma anche popolazioni di importanti antagonisti naturali di queste specie. La possibilità che gli entomofagi colonizzino le serre esercitando un ruolo significativo nel controllo dei tripidi è stata dimostrata per alcune colture orticole (Tavella et al., 1996; Bosco et al., 2008); tale fenomeno è poco considerato in relazione alle colture ornamentali. In tale contesto, il controllo delle condizioni climatiche è ottenuto mediante varie tecnologie e la riduzione delle aperture di aereazione. Questo approccio riduce i possibili scambi di artropodi tra l'ambiente esterno e l'ambiente interno con conseguenze da valutare.

La dinamica spazio-temporale dei tripidi fitofagi e di alcuni loro antagonisti è stata studiata in un'azienda florovivaistica in cui erano ospitati scenari di coltivazione caratterizzati da un diverso livello di interazione con l'ambiente esterno: da serra "chiusa" a vivaio in pien'aria.

Materiali e metodi

L'indagine è stata condotta dal 2011 al 2013 in un complesso di serre situato in provincia di Treviso. La distribuzione spaziale e temporale dei tripidi fitofagi e dei loro antagonisti naturali è stata studiata in quattro scenari di coltivazione: 1) serra chiusa sui quattro lati confinante con una siepe (H1) su un lato; 2) serra con aperture laterali su un lato contiguo ad una siepe (H2); 3) serra con aperture laterali su tre lati, di cui uno contiguo ad una siepe (H3) e i rimanenti a piante da frutto; 4) vivaio in pien'aria confinante con una siepe (H4). In tutti i casi sono presenti vie di comunicazione con le aree logistiche e di servizio dell'azienda. Tutte le serre possono essere areate mediante aperture poste sul tetto; le aperture laterali sono schermate con reti anti-lepidottero. Sono stati effettuati trattamenti insetticidi con una cadenza di 15-20 giorni. La presenza dei tripidi fitofagi e dei loro antagonisti naturali è stata monitorata nel biennio 2012-2013 (aprile-ottobre) mediante trappole cromotropiche gialle e blu. I dati sono stati elaborati mediante la procedura "Spatial analysis by Distance IndicEs" (SADIE) al fine di misurare il livello di "aggregazione" nella distribuzione degli artropodi osservati (Perry et al., 1999). In un'ulteriore analisi è stato misurato il grado di "associazione" (similitudine) (Perry e Dixon, 2002) tra le distribuzioni di una specie, osservate in tempi diversi, o tra le distribuzioni di due specie. Sono state disegnate delle mappe di distribuzione locale interpolando, con il metodo del kriging, i valori degli indici di aggregazione locale ottenuti con SADIE.

Risultati e discussione

La presenza di *F. occidentalis* è stata osservata soprattutto all'interno delle serre. La sua distribuzione è risultata spesso aggregata nelle serre prive di aperture laterali e in prossimità delle vie di comunicazione con aree logistiche e di servizio dell'azienda. In generale, la diffusione del tripide all'interno delle serre è apparsa influenzata più dalla contiguità con altre strutture aziendali

che dalla vegetazione esterna. La sua distribuzione nel vivaio in pien'aria è risultata meno aggregata che all'interno delle serre. La distribuzione di *T. tabaci* è risultata aggregata sia all'interno sia all'esterno delle serre. I dati suggeriscono che il tripide sfrutti varie vie nella colonizzazione delle strutture di coltivazione compreso il colmo delle serre, aperto d'estate per favorire la ventilazione. Le aree di aggregazione dei tripidi predatori (*Aeolothrips* spp.) sono state riscontrate soprattutto all'esterno delle serre, all'interno della serra aperta su tre lati e nel vivaio. Una tendenza simile è stata osservata per gli Antocoridi del genere *Orius*, particolarmente diffusi nel vivaio in pien'aria. Le associazioni tra i tripidi fitofagi e i loro predatori sono state relativamente frequenti nella serra aperta su tre lati e nel vivaio. Esse hanno coinvolto soprattutto *T. tabaci*, i tripidi predatori e gli Antocoridi. La vegetazione esterna alle serre si conferma un sito da cui i predatori possono diffondersi nelle aree coltivate ma la loro penetrazione all'interno delle serre è significativa solo in presenza di ampie aperture.

Ringraziamenti

Si ringraziano le Professoressa Rita Marullo e Luciana Tavella per l'identificazione di alcune specie afferenti ai Tisanotteri e agli Eterotteri. Si ringrazia l'azienda "Gruppo Padana Ortofloricoltura dei F.lli Gazzola" per l'ospitalità e la collaborazione. La presente ricerca è stata finanziata dal REG. (CE) N. 1698/05 – P.S.R. della Regione Veneto Misura 124 «Cooperazione per lo sviluppo di nuovi prodotti, processi e tecnologie nel settore agricolo» progetto "PROBIOSER".

Bibliografia

- Perry, J.N., Winder, L., Holland, J.M., Alston, R.D., 1999 - Red-blue plots for detecting clusters in count data. *Ecol. Lett.* 2: 106–113.
- Perry, J.N., Dixon, P., 2002 - A new method to measure spatial association for ecological count data. *Ecoscience* 9: 133–141.
- Tavella, L., Alma, A., Conti, A. and Arzone, A., 1996 - Evaluation of the effectiveness of *Orius* spp. in controlling *Frankliniella occidentalis*. *Acta Hort.* 431: 499–506.
- Bosco, L., Giacometto, E., Tavella, L., 2008 - Colonization and predation of thrips (Thysanoptera: Thripidae) by *Orius* spp. (Heteroptera: Anthocoridae) in sweet pepper greenhouses in Northwest Italy. *Biological Control*. 44: 331-340.
- Tommasini, M.G., Maini, S., 1995 - *Frankliniella occidentalis* and other thrips harmful to vegetable and ornamental crops in Europe. In: *Biological control of thrips pests*, eds. Loomans, van Lenteren, Tommasini, Maini, and Riudavets: 1-42.
- Lewis, T., 1997 - *Thrips as Crop Pests*. CAB International, Wallingford, UK.
- Pilkington, L.J., Messelink, G., van Lenteren, J.C., Le Mottee, K., 2010 - "Protected Biological Control" - Biological pest management in the greenhouse industry. *Biological Control* 52: 216-220.

Do mountains function as islands? New insights from the spatiotemporal dynamics of endemic insects

T. Assmann¹, P. Dieker^{1,2}, C. Drees^{1,3}, K. Homburg¹, A. Schuldt¹

¹*Institute of Ecology, University of Lüneburg, Scharnhorststr. 1, 21332 Lüneburg, Germany*

²*present address: Institute of Landscape Ecology, University of Münster, D-48149 Münster, Germany*

³*present address: Biocentre Grindel and Zoological Museum, University of Hamburg, Martin-Luther-King-Platz 3, 20146 Hamburg, Germany*

Climate is frequently discussed as the main determinant for the distribution range of taxa, especially of widespread species. Many biogeographic studies revealed a spatiotemporal scenario which depends on the changing climate: During the glacial periods the distribution ranges were restricted to refugia on the South European peninsulas. During the interglacials and after the last glacial period the species expanded from their refugial areas northwards. These historical dynamics can result in gradients of genetic variability. In many species the southern (rear or low-latitude) edge of the distribution range exhibits higher genetic variability than the northern (leading or high-latitude) edge. The higher adaptive potential of genetically variable populations – in combination with the observed poleward and uphill shifts – plays an important role in ongoing discussions of global change biology.

Restricted-range species which show in general a low dispersal power are the majority in the some insect taxa. Since the discovery of the “massifs de refuge” most authors postulated a long-term continuity for many mountain habitats, e.g. during the last glacial period and postglacial times, when the restricted-range species can move up and down in the given massifs to live under suitable environmental conditions. Following this scenario populations from refugia should exhibit higher genetic diversity than the (few) populations north of them. – Current findings from our phylogeographic approaches (DNA sequences, climate niche models) show that range-restricted ground beetle species can show strong differentiation patterns, also north of the postulated refugia (so-called cryptic refugia). Moreover these patterns of genetic differentiation differ from those of species diversity and contradict the assumption of an exclusive survival during the glacial periods in “massifs de refuge”. Our field studies on potential uphill shifts of ground beetle and burnet moth species show some deviations from postulated movements under current climate warming. These results demonstrate that spatiotemporal dynamics of endemic species are much more complex than previously assumed. Nonetheless our results give some clear implications for the preservation of endemic biodiversity in mountains under global change conditions.

Gli spermatozoi giganti degli Zoraptera e modalità di trasferimento delle spermatofore

R. Dallai

Università di Siena, Dipartimento di Scienze della Vita, 53100 Siena, Italia, E-mail. dallai@unisi.it

Introduzione

Gli Zoraptera sono un piccolo ordine di insetti polineotteri poco noto, morfologicamente di aspetto uniforme, con distribuzione pantropicale. Scoperto da Silvestri (1913) circa un secolo fa, comprende 39 specie viventi, tutte incluse nel genere *Zorotypus*, e 9 specie fossili, la più antica delle quali databile del primo Cretaceo (Mashimo, 2014). Negli ultimi anni, grazie alla collaborazione di tre gruppi di ricerca: Siena (Italia), Tsukuba (Giappone) e Jena (Germania), l'ordine ha ricevuto nuova attenzione, in particolare per quanto riguarda la organizzazione dell'apparato riproduttore maschile e femminile ed il comportamento riproduttivo (Dallai *et al.*, 2011; 2012; 2013; 2014). Dagli studi effettuati fino ad oggi sul sistema genitale di *Zorotypus caudelli* (Asia), *Z. magnicaudelli* (Asia), *Z. huxleyi* (Ecuador), *Z. weidneri* (Brasile), *Z. impolitus* (Asia), *Z. hubbardi* (U.S.A.), sono stati identificati due modelli di apparato riproduttore. Le prime quattro specie hanno un apparato maschile provvisto di testicoli relativamente grandi, lunghi deferenti, senza vescicole seminali, ghiandole accessorie strutturalmente identiche ed un corto canale eiaculatore. I maschi delle prime due specie, inoltre, presentano un struttura particolare nell'apparato genitale, il *flagello*, utilizzato per rimuovere gli spermatozoi di precedenti accoppiamenti (Matsumura *et al.*, 2014). La spermateca della femmina presenta un ricettacolo apicale piccolo.

Le due specie *Z. hubbardi* e *Z. impolitus*, al contrario delle specie precedentemente menzionate, hanno testicoli più piccoli, grandi vescicole seminali, tre o quattro ghiandole accessorie di diversa struttura, ed un lungo canale eiaculatore. La femmina di queste specie presenta una spermateca con ricettacolo apicale molto sviluppato.

Materiali e Metodi

Il materiale utilizzato per la ricerca è stato preparato secondo le normali procedure per le osservazioni in microscopia elettronica. Per il comportamento riproduttivo, coppie di adulti delle due specie, *Z. magnicaudelli* e *Z. impolitus*, sono state registrate più volte con una camera digitale allestita su un microscopio binoculare, per ininterrotti periodi di 8 ore.

Risultati e Discussione

Gli spermatozoi di *Z. caudelli*, *Z. magnicaudelli*, *Z. huxleyi* e *Z. weidneri* condividono lo stesso modello di spermatozoo, allungato, con acrosoma bi-stratificato, nucleo cilindrico e flagello provvisto di due derivati mitocondriali e tre piccoli corpi accessori e due cisterne allungate poste lateralmente all'assonema. Quest'ultimo, di tipo 9+9+2, presenta i doppietti microtubulari numero 1 e 6 con subtubuli A e B dissociati. Nella regione terminale dell'assonema i doppietti modificano il loro aspetto. *Z. hubbardi* e *Z. impolitus*, al contrario, hanno spermatozoi giganti sia per lunghezza (3mm) che per la dimensione delle diverse componenti del flagello. Il rapporto: diametro dell'assonema/larghezza del flagello, che nelle specie sopra ricordate, è di circa 1/2.5, come nella norma, in queste specie diventa uguale a 1:10-13, a causa delle grandi dimensioni dei due derivati mitocondriali e dei corpi accessori. In queste due ultime specie, inoltre, non si osservano le anomalie a carico dei doppietti microtubulari e della fine dell'assonema, così come non vi sono le due cisterne laterali all'assonema.

L'apparato genitale femminile delle quattro specie menzionate presenta un ricettacolo seminale della spermateca di 100 µm di diametro, mentre nelle altre due specie questo ricettacolo è molto sviluppato, circa 700 µm di diametro.

I dati evidenziati dimostrano che le specie dell'ordine hanno realizzato una coevoluzione delle strutture genitali maschili e femminili, con la dimensione della spermateca evolutasi in conseguenza del gigantismo degli spermatozoi (Minder *et al.*, 2005). Tale coevoluzione è il risultato della selezione sessuale e della modalità riproduttiva delle specie.

L'analisi del comportamento peculiare di *Z. impositus*, con il trasferimento esterno di piccole spermatofore, è in netto contrasto con quanto era finora noto per le altre specie dell'ordine. Come accade in genere negli insetti, infatti, il maschio si pone posteriormente alla femmina e dopo aver inserito il proprio organo copulatore, assume una posizione supina. In *Z. impositus*, caso unico fra gli Pterygota, il maschio trasferisce sull'estremità dell'addome della femmina una piccola spermatofora (100 µm di diametro), contenente un singolo spermatozoo, e ripete questo comportamento numerose volte (22 volte in 8 ore di osservazione). La femmina recupera le spermatofore con il proprio apparato boccale per inseminarsi.

Conclusioni

Considerando la distribuzione geografica delle specie esaminate, e' molto probabile che i due modelli di spermatozoo descritti si siano differenziati prima della frammentazione dei continenti, avvenuta nel pre-Cretaceo. La presenza di spermatozoi giganti in *Z. hubbardi* e *Z. impositus* e di ricettacoli seminali molto grandi, rappresenta un chiaro esempio di coevoluzione degli apparati genitali maschili e femminili (Higginson *et al.*, 2012).

Bibliografia

- Dallai, R., Gottardo, M., Mercati, D., Machida, R., Mashimo, Y., Matsumura, Y., Beutel, R.G., 2014-Giant spermatozoa and a huge spermatheca: a case of coevolution of male and female reproductive organs in the ground louse *Zorotypus impositus* (Insecta,Zoraptera). *Arthropod Structure and Development*, 43: 135-151.
- Dallai, R., Gottardo, M.,Mercati, D., Machida, R., Mashimo, Y., Matsumura, Y., Beutel, R.G., 2013- Divergent mating patterns and a unique mode of external sperm transfer in Zoraptera: an enigmatic group of pterygote insects. *Naturwissenschaften*, 100:581-594.
- Dallai, R., Mercati, D., Gottardo, M.,Dossey, A.T., Machida, R.Mashimo, Y., Beutel,R.G., 2012-The male and female reproductive systems of *Zorotypus hubbardi* Caudell,1918 (Zoraptera).*Arthropod Structure and Development*, 41: 337-359.
- Dallai, R., Mercati, D.,Gottardo, M., Machida, R., Mashimo, Y., Beutel, R.G., 2011-The male reproductive system of *Zorotypus caudelli* Karny (Zoraptera): Sperm structure and spermiogenesis. *Arthropod Structure and Development*, 40: 531-547.
- Mashimo, Y., Matsumura, Y., Machida, R., Dallai, R., Gottardo, M., Yoshizawa, K., Friedrich,F., Beutel, R.G., 2014- 100 years Zoraptera –a phantom in insect evolution and the history of its investigation. *Insect Systematics and Evolution*.(in stampa).
- Matsumura, Y., Yoshizawa, K., Machida, R., Mashimo,Y., Dallai, R., Gottardo, M., Kleinteich, T., Michels, J., Gorb, S.N., Beutel, R.G., 2014- Two intromitting organs in *Zorotypus caudelli* (Insecta,Zoraptera): the paradoxal coexistence of an extremily long tube and a large spermatophore. *Biological Journal of the Linnean Society*. (in stampa).
- Minder, A. M., Hosken, D.J., Ward, P.I., 2005-Co-evolution of male and female reproductive characters across the Scathophagidae (Diptera). *Journal of Evolutionary Biology*, 18: 60-89.

***Drosophila suzukii* non utilizza il cis-vaccenil acetato come feromone di aggregazione, diversamente da altre specie del genere *Drosophila*.**

G. Anfora¹, T. Dekker², S. Mansourian², S. Revadi^{1,2}, S. Ramasamy¹, S. Lebreton², P. Becher², O. Rota-Stabelli¹, S. Angeli³

¹ *Chemical Ecology Group, Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige (TN), Italy;*

² *Unit of Chemical Ecology, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden;*

³ *Faculty of Science and Technology, Free University of Bozen-Bolzano, Bolzano, Italy, email: sergio.angeli@unibz.it (autore corrispondente).*

Introduzione

Drosophila suzukii (Diptera: Drosophilidae) è una specie esotica originaria del sud-est asiatico, descritta inizialmente in Giappone. Nel 1980 compare per la prima volta al di fuori del habitat naturale presso le isole Hawaii e nel 2008 viene trovata contemporaneamente in California, Spagna ed Italia. Negli ultimi anni la specie si è rapidamente diffusa in molti Stati europei, spingendosi ad ovest fino in Portogallo, a nord in Inghilterra ed ad est in Slovenia, Croazia e Ungheria (Vitagliano *et al.*, 2013). Anche in America la specie ha conquistato tutta la costa occidentale ed orientale spingendosi fino in Canada e raggiungendo il Costa Rica, l'Ecuador e recentemente il Brasile meridionale (Deprá *et al.*, 2014). In base alle informazioni sulla distribuzione, biologia ed impatto economico, si ritiene che *D. suzukii* possa espandersi ulteriormente, diventando uno dei più temibili insetti per le colture agrarie. Si stima che i danni potenziali causati dall'insetto raggiungano valori del 50% per mora e lampone, del 40% per mirtillo, del 33% per ciliegia e del 20% per fragola. In Italia, uno studio approfondito per la sola provincia di Trento ha registrato un danno di € 3.000.000, riferibile a circa 400 ha di coltivazioni di piccoli frutti nel 2011 (Cini *et al.*, 2012).

In genere le specie del genere *Drosophila* diffuse nei nostri ambienti non sono particolarmente dannose alle colture agrarie, attaccando frutta in avanzato stato di maturazione e nutrendosi del materiale organico che si sviluppa durante le prime fasi di fermentazione. Tuttavia, *D. suzukii* riesce a colonizzare ed a svilupparsi su frutti integri deponendo le uova all'interno dell'epicarpo, in prossimità dell'invasatura e comunque già prima della raccolta. I danni maggiori si riscontrano perciò su frutta con epicarpo sottile, come fragola, mora, lampone, mirtillo, ciliegia, kiwi, alcune varietà di uva (ad es. schiava gentile), pesca ed altre drupacee. Le varietà più attaccate sono quelle a maturazione tardiva, in conseguenza dell'elevata densità di popolazione che *D. suzukii* raggiunge nel corso della stagione estiva.

La femmina di *D. suzukii* possiede un ovopositore particolarmente robusto, provvisto di una struttura dentellata atta ad incidere. Questo particolare adattamento morfologico, presente solo in altre due specie asiatiche (*D. subpulchrella*, *D. pulchrella*) e parzialmente in *D. biarmipes*, ha permesso alla specie di occupare una nuova nicchia ecologica. In questo studio presentiamo i risultati finali di un'estesa ricerca che riguardano la produzione, l'emissione e la percezione del cis-vaccenil acetato (cVA), un composto feromonale con molteplici funzioni, quali l'aggregazione e la marcatura di femmine accoppiate in molti drosofilidi. Abbiamo documentato, per la prima volta, che i maschi di *D. suzukii* sorprendentemente non producono cVA, avendo un bulbo eiaculatore particolarmente ridotto. Per contro, gli adulti di *D. suzukii* percepiscono ugualmente il cVA, attraverso particolari recettori olfattivi e strutture glomerulari che abbiamo identificato e che divergono rispetto ad altri drosofilidi. Infine dal punto di vista comportamentale il cVA non ha in *D. suzukii* una funzione aggregante. Riteniamo che la diversa funzione del cVA in *D. suzukii* possa contribuire ad una maggiore separazione della nicchia ecologica occupata dalla specie.

Materiali e metodi

D. suzukii è stata allevata in due distinte colture da individui raccolti in Trentino Alto-Adige e da uno stock fornito dalla Washington State University (USA). Per gli studi comparativi si sono

allevate anche *D. biarmipes* e *D. subpulchrella* da stock provenienti dagli USA. Tutte le specie sono state allevate in un laboratorio di quarantena su substrato artificiale. Le analisi chimiche sui composti feromonalmente sono state fatte in GC-MS, previa estrazione degli idrocarburi cuticolari in esano (100 µl per individuo). Ciascun composto è stato caratterizzato in base allo spettro di massa, indice di ritenzione e in comparazione con gli idrocarburi cuticolari descritti in *D. melanogaster*. Le prove di single sensillum recording sono state eseguite registrando da antenne di individui precedentemente immobilizzati. La ricostruzione spaziale dei lobi antennali e dei volumi dei vari glomeruli è stata fatta partendo da immagini ottenute da microscopio confocale attraverso analisi in vivo. Le ricerche bioinformatiche e di filogenesi sono state eseguite con TBlastN determinando i geni ortologi ai recettori olfattivi in *D. suzukii*. Sono state condotte prove comportamentali per determinare la frequenza di copula nel caso di: (i) maschi trattati con cVA, (ii) maschi non trattati con cVA, comparando *D. suzukii* e *D. melanogaster*. La dimensione del bulbo eiaculatore di *D. suzukii* e *D. melanogaster* è stato misurato.

Risultati e discussione

Le prove gas cromatografiche effettuate sugli estratti cuticolari di *D. suzukii*, non hanno permesso di ritrovare il cVA, diversamente dagli estratti di *D. melanogaster*. Inoltre non sono stati identificati altri composti unici di maschi o femmine. Anche nelle specie *D. biarmipes* e *D. subpulchrella* non è stato possibile ritrovare il cVA. Il bulbo eiaculatore di *D. suzukii* ha un volume estremamente contenuto, pari ad una riduzione di circa l'85% rispetto a quello di *D. melanogaster*. Allo stesso modo il glomerulo olfattivo, responsabile della percezione del cVA, il DA1, è risultato estremamente minuto in entrambe i sessi di *D. suzukii*. La presenza di cVA (artificialmente aggiunto) sui maschi di *D. suzukii* ha significativamente ridotto la frequenza di accoppiamento, diversamente da quanto riscontrato in *D. melanogaster*. I nostri risultati supportano l'ipotesi che il cVA abbia assunto un ruolo nuovo in *D. suzukii*, passando da una funzione aggregante già dimostrata in *D. melanogaster* ad una di repulsione in *D. suzukii*. Questo fatto potrebbe aver contribuito all'isolamento genetico della specie, che peraltro potrebbe utilizzare il dimorfismo sessuale per il riconoscimento fra i sessi, essendo i maschi provvisti di due vistose macchie scure nella parte distale delle ali.

Bibliografia

- 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. of Insectol., 65, 149-160.
- Deprá M., Poppe J. L., Schmitz H. J., De Toni D. C., Valente V. L. S., 2014 - The first records of the invasive species *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) from the South American continent. Journal of Pest Science, in press
- Vitagliano S., Grassi A., Anfora G., Angeli S., 2013 - Ecology and management of the exotic *Drosophila suzukii*. Italus Hortus 20 (3), 3-17.

Sviluppo embrionale in *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae)

S. Landi, E. Gargani, F. Paoli, S. Simoni, P.F. Roversi

Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia (CRA-ABP), Firenze 50125, Italia. E-mail: silvia.landi@entecra.it

Introduzione

Drosophila suzukii (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), specie aliena recentemente introdotta in Italia, ha causato ingenti danni alla frutticoltura mediterranea (Calabria *et al.*, 2010). Le femmine fecondate depongono le uova all'interno dei frutti in via di maturazione e le larve si nutrono della polpa portando al rapido disfacimento dei frutti. Il controllo è reso difficoltoso dall'elevata polifagia, dalla brevità del ciclo biologico e dalla necessità di effettuare i trattamenti in prossimità della raccolta (Gargani *et al.*, 2013). La lotta biologica con la tecnica del maschio sterile (SIT) è attualmente oggetto di studio e per questo scopo sono state create linee sterili di *D. suzukii* (Schetelig e Handler, 2013). In tale contesto la crioconservazione delle uova mediante vitrificazione potrebbe fornire un idoneo ausilio nell'ottimizzazione della produzione massale del dittero. Un elemento critico di tale tecnica è rappresentato dall'individuazione degli stadi di sviluppo da trattare; l'impiego dei crioprotettivi può determinare danni letali sia nei primi stadi di sviluppo con organi non ancora formati che successivamente per difficoltà a penetrare la cuticola (Rajamohan e Leopold, 2007). Questo contributo riporta uno studio dell'embriogenesi del fitofago, basato su marker morfologici facilmente identificabili in vivo e con particolare riferimento ai tempi di sviluppo.

Materiali e metodi

La disponibilità di una popolazione di studio mantenuta in condizioni di sicurezza in cella climatizzata a 25°C, UR 75%, fotoperiodo 12:12 presso il CRA-ABP di Firenze, ha permesso di disporre di materiale biologico per effettuare le indagini sullo sviluppo embrionale. Le uova vive, trattate con Halocarbon Oil 27 (Sigma) per rendere il corion trasparente, sono state osservate ad intervalli di 30 minuti allo stereo microscopio durante l'intero sviluppo embrionale (Wieschaus e Nüsslein-Volhard 1986). I diversi stadi embrionali sono stati fotografati trattando le uova in accordo con il metodo riportato da Havelka *et al.* (2007). I dati acquisiti sono stati comparati con quanto già noto in letteratura su *Drosophila melanogaster* (Weishaas & Nüsslein-Volhard 1986; Hartenstein, 1993).

Risultati e discussione

I marker morfologici di *D. suzukii* individuati per la definizione dei 17 stadi dello sviluppo embrionale sono risultati essere simili a quanto riportato in *D. melanogaster*. Particolare attenzione è stata posta all'osservazione degli stadi 14 e 15 (chiusura dorsale) che corrispondono a quelli considerati migliori per la crioconservazione (Steponkus *et al.*, 1990; Mazur *et al.*, 1992) (Fig. 1). L'embriogenesi di *D. suzukii* si completa in circa 23-25 ore a 25°C. Tali risultati sono in contrasto con quanto riportato da Kanzawa (1939) per il quale lo sviluppo embrionale di *D. suzukii* si completava in sole 13 ore alla medesima temperatura. Viceversa i tempi di sviluppo registrati sono comparabili con quelli di *D. melanogaster* che completa l'embriogenesi in 21 ore (Hartenstein, 1993). Le fasi di blastula, gastrula, allungamento della banda germinativa, accorciamento della banda germinativa, chiusura dorsale e differenziazione sono raggiunti rispettivamente dopo 4.00, 4.20, 11.40, 15.00 e 23.00 ore. In particolare, si evidenzia che i tempi più lunghi di *D. suzukii* rispetto a *D. melanogaster* sono da imputare alle fasi di blastula e di differenziazione. Si evidenzia peraltro che il 25.6% delle uova è risultata deposta in stadi di sviluppo avanzati a causa della ritenzione delle uova negli ovidutti.

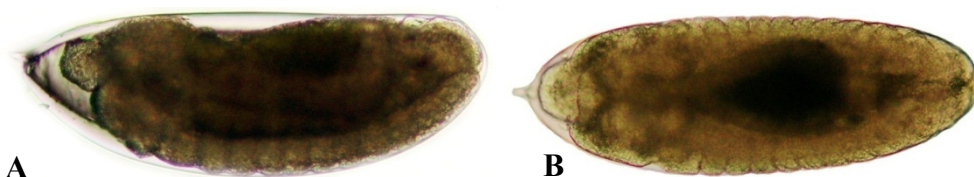


Figura 1. Chiusura dorsale. A, stadio 14; B, stadio 15.

Conclusioni

La fase di chiusura dorsale (stadi 14-15), considerata la più idonea per l'applicazione del protocollo di crioconservazione, viene raggiunta a 25°C dopo 14-15 ore dalla deposizione. Dopo tale intervallo di tempo circa il 50% delle uova sono allo stadio 14 e l'altro 50% allo stadio 15. Questo risultato rappresenta un primo passo per l'applicazione di tecniche di crioconservazione volte allo stoccaggio di un elevato numero di uova di *D. suzukii* che potranno essere utilizzate sia per un'eventuale strategia di difesa mediante SIT che per ulteriori scopi di ricerca applicata.

Bibliografia

- Calabria G., Máca J., Bächli, G., Serra L., Pascual M., 2012. First records of the potential pest species *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Europe. *J. Appl. Entomol.* 136: 139-147.
- Gargani E., Tarchi F., Frosinini R., Mazza G., Simoni S., 2013. Notes on *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera Drosophilidae): field survey in Tuscany and laboratory evaluation of organic products. *Redia* XCVI: 85-90.
- Kanzawa T., 1939. Studies on the fruit flies, Yamanashikenritsu Noji-shikenjo Gyomu-nenpo pp. 49 *Rev Appl Entomol* 29: 622 [Abstract].
- Hartenstein V., 1993. Atlas of *Drosophila* Development. Published by Cold Spring Harbor Laboratory Press, Bethesda (MD), <http://www.sdbonline.org/sites/fly/atlas/00atlas.htm>
- Havelka J., Landa V. Jr., Landa V., 2007. Embryogenesis of *Aphidoletes aphidimyza* (Diptera: Cecidomyiidae): morphological markers for stinging of living embryos. *Eur J Entomol* 104: 81-87.
- Mazur P., Cole K.W., Hall J.W., Schreuders P.D., Mahowald A.P., 1992. Cryobiological Preservation of *Drosophila* Embryos. *Science* 258: 1932-1935.
- Rajamohad, A., Leopold R.A., 2007. Cryopreservation of Mexican fruit flies by vitrification: stage selection and avoidance of thermal stress. *Cryobiology* 54: 44-54.
- Schetelig M.F. Handler A.M., 2013. Germline transformation of spotted wing drosophilid, *Drosophila suzukii*, with a piggyback transposon vector, *Genetica* 141: 189-193.
- Steponkus P.L., Myers S.P., Lynch D.V., Gardner L., Bronshteyn V., Leibo S.P., Rall W.F., Pitt R.E., Lin T.T., MacIntyre R.J., 1990. Cryopreservation of *Drosophila melanogaster* embryos. *Nature* 345: 170-172.
- Wieschaus E., Nüsslein-Volhard C., 1986. Looking at embryos. In *Drosophila a practical approach*, Ed Roberts DB Oxford University Press, GB pp. 179-214.

Caratterizzazione della funzione immunitaria del gene *102* di *Spodoptera littoralis*, mediante la tecnica dell'RNA interference.

I. Di Lelio¹, P. Varricchio¹, G. Di Prisco¹, A. Marinelli¹, V. Lasco^{1,2,3}, S. Caccia¹, M. Casartelli⁴, B. Giordana⁴, R. Rao¹, S. Gigliotti^{2,3}, F. Pennacchio¹

¹ Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Agraria, 80055 Portici, Italia. E-mail: ilaria.dilelio@unina.it, paola.varricchio@unina.it, gennaro.diprisco@unina.it, adry.marinelli@gmail.com, silvia.caccia@unina.it, rosa.rao@unina.it, f.pennacchio@unina.it;

² CNR, Istituto di Genetica e Biofisica "A. Buzzati Traverso", 80131 Napoli, Italia;

³ CNR, Istituto di Bioscienze e Biorisorse, 80131 Napoli, Italia. E-mail:

valentina.lasco@ibbr.cnr.it, silvia.gigliotti@ibbr.cnr.it;

⁴ Università di Milano, Dipartimento di Bioscienze, 20133 Milano, Italia. E-mail:

morena.casartelli@unimi.it, barbara.giordana@unimi.it;

Introduzione

Recentemente abbiamo identificato in *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) una proteina (P102) implicata nell'assemblaggio di fibre amiloidi presenti, in associazione con la melanina, nelle capsule che gli emociti formano intorno ai corpi estranei.

In questo lavoro riportiamo l'identificazione di un cDNA codificante per una proteina con un elevato livello di identità di sequenza con la P102 in un'altra specie di lepidottero notturno di notevole importanza economica, *Spodoptera littoralis* (Boisduval). Per la caratterizzazione funzionale di questa proteina e per stabilire il suo coinvolgimento nella modulazione della risposta immunitaria abbiamo silenziato attraverso la tecnica dell'RNA interference (RNAi) il suo gene codificante. Questo approccio sperimentale ci ha permesso di raccogliere prove dirette sul ruolo funzionale di questo gene nella risposta immunitaria dell'insetto e di porre le basi per il futuro sviluppo di nuove tecnologie di controllo del lepidottero basate sull'uso di RNAi.

Materiali e metodi

Gli esperimenti sono stati condotti su larve di *S. littoralis* allevate singolarmente su dieta artificiale. Il dsRNA 102 *Sl* (o dsRNA GFP nei controlli) è stato iniettato nella cavità emocelica e nella cavità orale di larve di *S. littoralis* al primo giorno della V età. A 12 h dal trattamento una parte delle larve è stata analizzata per verificare il silenziamento genico attraverso qRT-PCR, un'altra parte è stata sottoposta a saggi di incapsulamento *in vivo* (iniettando nella cavità emocelica sfere cromatografiche riconosciute come oggetti estranei) al fine di valutare l'effetto fenotipico del silenziamento del gene *102 Sl*. Molecole di dsRNA marcate fluorescenza con un fluorocromo sono state utilizzate per studiare l'internalizzazione del dsRNA nell'intestino larvale. Tutti i dati ottenuti sono stati analizzati utilizzando il software Prism, v 292 5.0c (software GraphPad, San Diego, California, USA).

Risultati e discussione

Il cDNA *102 Sl* codifica per una proteina predetta di 349 aa (P102*Sl*), con un peptide segnale putativo di 16 aa, che mostra un'identità di sequenza con la P102 di *H. virescens* del 92,8% (Falabella et al., 2012). Questa proteina ne appartiene alla famiglia di proteine XendoU, i cui membri presentano siti di legame per l'RNA ed attività idrolitica (Laneve et al., 2008).

Il profilo di espressione nei diversi tessuti dell'ospite, valutato mediante analisi qRT-PCR, ha indicato che il gene *102 Sl* è altamente trascritto negli emociti delle larve di *S. littoralis*, dove la P102 (circa 40 kDa) è localizzata in ampie cisterne del citoplasma, similmente a quanto riportato per P102 di *H. virescens* (Falabella et al., 2012).

Le larve a cui è stato somministrato oralmente il dsRNA hanno mostrato un'incapacità, dose-dipendente, di incapsulare e melanizzare corpi estranei iniettati nell'emolinfa. Parallelamente,

esperimenti di qRT-PCR hanno evidenziato una significativa sottoespressione del gene *102Sl*, sia prima che dopo lo stimolo immunitario, a tutti i dosaggi considerati.

Abbiamo, inoltre, dimostrato che il dsRNA viene internalizzato nelle cellule epiteliali dell'intestino medio larvale, dove un primo segnale di silenziamento viene generato, per poi raggiungere gli emociti, dove i livelli del trascritto del gene *102Sl* sono significativamente ridotti.

Conclusioni

La P102 Sl ha un ruolo chiave nel controllo della risposta immunitaria. I risultati ottenuti dalla somministrazione orale del dsRNA 102 Sl in *S. littoralis* offrono importanti spunti per l'utilizzo di molecole di dsRNA per mettere a punto nuove strategie di controllo basate sull'esaltazione dell'efficacia di agenti di controllo biologico.

Bibliografia

- Falabella, P., Riviello, L., Pascale, M., Di Lelio, I., Tettamanti, G., Grimaldi, A., Iannone, C., Monti, M., Pucci, P., Tamburro, A.M., de Eguileor, M., Gigliotti, S., Pennacchio, F., 2012 - Functional amyloids in insect immune response. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 42, 203–211.
- Laneve, P., Gioia, U., Ragno, R., Altieri, F., Di Franco, C., Santini, T., Arceci, M., Bozzoni, I., Caffarelli, E., 2008 - The tumor marker human placental protein is an endoribonuclease. *J. Biol. Chem.* 283, 34712–34719.

Analisi funzionale di un gene di *Drosophila melanogaster* coinvolto nella risposta immunitaria di incapsulamento

V. Lasco¹, S. Andone¹, F. Pennacchio², S. Gigliotti¹

¹CNR, Istituto di Bioscienze e Biorisorse, 80131 Napoli, Italia, E-mail: valentina.lasco@ibbr.cnr.it, silvia.andone@ibbr.cnr.it, silvia.gigliotti@ibbr.cnr.it;

²Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Agraria, 80055 Portici, Italia, E-mail: f.pennacchio@unina.it

Introduzione

La risposta immunitaria di incapsulamento è una reazione di difesa di vitale importanza per gli insetti (Salt, 1970). Attraverso di essa uova o larve di parassitoidi, parassiti fungini, protozoi, nematodi e finanche particelle inerti vengono sequestrate all'interno di capsule formate da strati multipli di cellule immunitarie dette emociti. Si tratta di un fenomeno complesso ed articolato, in cui entrano in gioco processi di riconoscimento, attivazione, differenziamento, interazione cellulare di cui si conosce molto poco (Wang et al., 2014). Alla formazione della capsula immunitaria è inoltre generalmente associata la sintesi di melanina, deposta in maniera localizzata mediante meccanismi molecolari ancora quasi del tutto inesplorati (Cerenius et al., 2008).

Nel nostro laboratorio abbiamo recentemente identificato una proteina (P102), coinvolta nei processi di incapsulamento melanotico in due diverse specie di Lepidotteri (Falabella et al., 2012; Di Lelio et al., 2014). Sequenze potenzialmente codificanti per proteine con vario grado di omologia con la proteina P102 esistono anche nel genoma di insetti appartenenti ad altri ordini. In questo lavoro riportiamo la caratterizzazione funzionale di una di queste sequenze (*102 Dm*), presente in *Drosophila melanogaster*, attraverso lo studio del suo profilo di espressione e l'isolamento e l'analisi fenotipica di individui mutanti. I dati raccolti ci hanno permesso di dimostrare che questo gene è un ortologo del gene *102* dei Lepidotteri, in quanto produce una proteina secreta dagli emociti, necessaria per la corretta formazione delle capsule immunitarie.

Materiali e metodi

I ceppi di *Drosophila melanogaster* sono stati allevati su dieta a base di farina di mais, lievito e zucchero, ad una temperatura di 25 °C con un ciclo luce/buio di 12 ore. Il profilo di espressione del gene *102 Dm* è stato definito mediante esperimenti di ibridazione *in situ* su embrioni e tessuti larvali, utilizzando sonde ad RNA marcate con digossigenina. Analisi di western blot su estratti proteici ed immunofluorescenza indiretta su emociti larvali sono state eseguite utilizzando un anticorpo policlonale generato contro una proteina di fusione prodotta in batteri. Mutanti per delezione sono stati ottenuti mediante mobilizzazione di un elemento trasponibile P inserito nel 5' UTR del gene *102 Dm*. La sopravvivenza ad infezioni batteriche è stata monitorata in individui adulti, per un arco temporale di 10 giorni, in seguito a puntura intraemocelica con microaghi immersi in sospensioni concentrate di *Micrococcus luteus* o *Escherichia coli*. L'attività fenolossidasi è stata misurata registrando l'OD a 490 nm, in campioni di emolinfa larvale (55 µg di proteine totali) addizionati con 10 mM DOPA in un volume finale di 50 µl. I saggi di incapsulamento sono stati eseguiti esponendo gruppi di 30 larve ad una femmina del parassitoide *Leptopilina boulardi*, ceppo avirulento G486, per 4 ore, e verificando mediante dissezione, dopo 48 ore, la presenza e la morfologia delle capsule immunitarie.

Risultati e discussione

Il gene *102 Dm* codifica per una proteina predetta di 592 aa, con un putativo peptide segnale di 24 aa, che mostra un'identità di sequenza del 38% ed una similarità del 59% con la P102 di *Heliothis virescens*.

Il profilo di espressione spazio-temporale di questo gene durante lo sviluppo è piuttosto complesso e dinamico. Nelle prime fasi dell'embriogenesi esso è attivo nei distretti embrionali in cui hanno luogo importanti movimenti morfogenetici, ed il suo trascritto marca gruppi di cellule che vanno incontro a migrazione durante la gastrulazione. Negli stadi finali dello sviluppo embrionale l'espressione del gene *102 Dm* si fa invece molto più localizzata ed i suoi trascritti sono presenti quasi esclusivamente nei due principali tessuti immunitari, emociti e corpi grassi, in cui il gene continua ad essere attivo anche durante gli stadi larvali. Negli emociti, la proteina P102 *Dm* presenta una distribuzione citoplasmatica polarizzata e viene apparentemente secreta attraverso il distacco di vescicole dalla superficie cellulare.

Mediante mobilizzazione di un elemento trasponibile P abbiamo generato un allele mutante che manca di gran parte della porzione codificante e che di fatto è un allele nullo, come formalmente dimostrato da analisi di western blot. Questo mutante è vitale e fertile e non ha alterazioni morfologiche visibili. Esso mostra però specifici ed evidenti difetti di risposta immunitaria. Mentre è in grado di reagire efficacemente alle infezioni batteriche e di attivare una normale reazione di melanizzazione, il mutante ha infatti una ridotta capacità di incapsulare le uova di un ceppo avirulento del parassitoide *Leptopilina boulardi*.

Questi dati dimostrano una relazione di ortologia tra il gene *102 Dm* di *Drosophila melanogaster* ed il gene *102* dei Lepidotteri, in quanto alla similarità di sequenza corrisponde un'analogia funzione immunitaria.

Conclusioni

È ragionevole ritenere che alla base della conservazione funzionale del gene *102* vi siano meccanismi molecolari anch'essi conservati. Il mutante da noi isolato in *Drosophila melanogaster* rappresenta un'ottima chiave di accesso a questi meccanismi, che potranno essere studiati sfruttando l'ampia gamma di strumenti di indagine genetica e molecolare disponibili in questo sistema modello.

Bibliografia

- Di Lelio I., Varricchio P., Di Prisco G., Marinelli A., Lasco V., Caccia S., Casartelli M., Giordana B., Rao R., Gigliotti S., Pennacchio F., 2014 - Functional analysis of an immune gene of *Spodoptera littoralis* by RNAi. *J. Insect Physiol.* 64: 90-97.
- Falabella P., Riviello L., Pascale M., Di Lelio I., Tettamanti G., Grimaldi A., Iannone C., Monti M., Pucci P., Tamburro A.M., de Eguileor M., Gigliotti S., Pennacchio F., 2012 -Functional amyloids in insect immune response. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 42: 203-211.
- Salt G.W., 1970 - The cellular defense reactions of insects. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wang L., Kounatidis I., Ligoxygakis P., 2014 - *Drosophila* as a model to study the role of blood cells in inflammation, innate immunity and cancer. *Front Cell Infect Microbiol.* 3: 113.
- Cerenius L., Lee B., Söderhäll K., 2008 - The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. *Trends Immunol.* 29: 263-271.

Caratterizzazione degli emociti e di alcune risposte immunitarie innate in *Pterostichus melas italicus* Dejean, 1828 (Coleoptera, Carabidae)

A. Giglio¹, P. Brandmayr¹, T. Pasqua¹, T. Angelone¹, P.G. Giulianini²

¹ Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra, Università della Calabria, Via P. Bucci, I-87036 Arcavacata di Rende

² Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste, Via Giorgieri 5, I-34127 Trieste

Introduzione

Il sistema immunitario innato degli insetti consiste di una componente costitutiva e di una indotta. La componente costitutiva comprende: 1) l'attività pro-fenolossidasi plasmatica (proPO) che regola la melanizzazione; 2) le risposte cellulari come l'attività fagocitaria, la formazione di noduli e l'incapsulamento (Strand, 2008). La componente indotta viene attivata in risposta ai patogeni e si basa sulla produzione di diversi peptidi antimicrobici. L'oggetto di questo studio è *Pterostichus melas italicus* (Dejean, 1828), un predatore generalista, euritopo, termofilo che mostra un periodo bimodale di attività. Gli adulti appaiono in aprile e settembre e si riproducono durante l'autunno. Questa specie è molto comune in Calabria e preda *Bactrocera oleae*. Studi precedenti hanno dimostrato che dosi sub-letali di dimetotoato inducono una diminuzione del numero totale di emociti circolanti in *P. melas italicus* (Giglio *et al.*, 2011). Data l'ampia distribuzione di questa specie negli agroecosistemi ed il suo ruolo come predatore di specie infestanti le colture agricole (Avgin e Luff, 2010; Luff, 1983; Rainio e Niemelä, 2003), è evidente che alcune sue caratteristiche fisiologiche possono essere usate come biomarkers per indagare gli effetti delle sostanze chimiche usate in agricoltura su specie non bersaglio.

Materiali e metodi

Per completare il quadro delle competenze immunitarie di questa specie abbiamo condotto le seguenti indagini: 1) analisi ultrastrutturale degli emociti circolanti; 2) conte emocitarie totali (THC) e differenziali (DHC) dopo 2 ore dall'iniezione di microsferule di lattice di 1µm di diametro; 3) analisi dell'attività fagocitaria degli emociti; 4) valutazione mediante Western blot dell'induzione della produzione emocitaria dell'ossido nitrico sintasi (iNOS) dopo 24 ore dall'iniezione di lipopolisaccaride (LPS); 5) valutazione mediante L-DOPA dell'attività enzimatica della fenolossidasi (PO) e della pro-fenolossidasi (proPO) plasmatiche dopo 24 ore dal trattamento con LPS.

Risultati e discussione

Sono stati identificati 4 tipi di emociti circolanti: proemociti, plasmacociti, granulociti ed oenocitoidi. Un quinto tipo cellulare di aspetto macrofagico è evidenziabile dopo trattamento con microsferule. Dopo stimolazione *in vivo* con l'iniezione delle microsferule solo i plasmacociti risultano coinvolti nell'attività fagocitaria. Essi presentano un profilo irregolare in sezione con diametro massimo fino a 16 µm, il nucleo è grande, lobato ed eucromatico con un evidente nucleolo. La caratteristica più evidente è la presenza di numerosi granuli elettrondensi con un diametro medio di 0.34 ± 0.1 µm (n=56). Dopo iniezione di microsferule di lattice, in sezione, sono evidenziabili fino a 40 di esse nei fagosomi. I granuli citoplasmatici si fondono con i fagosomi dimostrando il loro ruolo di lisosomi primari. I valori delle THC degli animali trattati (n = 5, media \pm SE: $0.65 \pm 0.07 \times 10^6$ cell/mL) sono significativamente inferiori a quelli degli animali di controllo (n = 10, media \pm SE: $1.41 \pm 0.44 \times 10^6$ cell/mL, p = 0.0126). Le DHC mostrano che i plasmacociti sono la categoria principale di emociti circolanti ($76.13 \pm 7.01\%$) e aumentano dopo il trattamento con le microsferule di lattice ($89.13 \pm 3.85\%$ di cui il $42.52 \pm 3.36\%$ è coinvolto nella fagocitosi). I granulociti rappresentano il $13.40 \pm 5.84\%$ degli emociti circolanti e dopo il trattamento il loro numero è significativamente più basso ($6.15 \pm 3.37\%$). I valori dei proemociti e degli oenocitoidi

sono molto bassi e non variano dopo il trattamento. Aggregati di cellule fagocitanti sono apprezzabili intorno a gruppi di microsferule libere o intrappolate in depositi melanotici (corpi bruni). Essi sono inglobati da cellule di tipo macrofagico con un diametro di circa 30 μm , nucleo eccentrico e citoplasma ricco di grandi mitocondri, reticolo endoplasmatico liscio e rugoso, complessi di Golgi, perossisomi e un grande numero di vescicole elettronelucenti. Questo tipo cellulare non è mai stato osservato in animali di controllo e il suo reclutamento in circolo è correlato alla presenza di corpi estranei nell'emocele. L'analisi in Western blot ha evidenziato una espressione di iNOS significativamente maggiore negli emociti di animali trattati con LPS rispetto a quella dei controlli (Welch t -test: $p = 0.0012$; Wilcoxon rank test sum : $p = 0.0238$). Dopo il medesimo trattamento, l'attività della PO degli animali trattati con LPS mostra valori maggiori con una tendenza alla significatività rispetto all'attività degli animali di controllo (ANCOVA: $F_3, 129 = 8.17$, $p = 0.056$), mentre l'attività della proPO è significativamente maggiore rispetto agli animali di controllo (ANCOVA: $F_3, 164 = 6.86$, $p = 0.034$). Viene dimostrato che nell'arco di 24 ore dal trattamento con LPS gli emociti rispondono con un aumento della produzione dell'enzima iNOS e con un rilascio di proPO nel plasma.

Considerazioni finali

Questo studio esamina alcuni dei marker usati negli studi di immunologia degli Invertebrati come base per studi futuri riguardanti l'immunoecologia della specie. I risultati mostrano che, sotto la pressione selettiva dell'ambiente, *P. melas italicus* modula i meccanismi di risposta immunitaria per preservare la propria fitness. Le stimolazioni *in vivo* hanno evidenziato che i microrganismi che superano le barriere fisiche di protezione ed arrivano nell'emocele vengono intercettati e bloccati dagli emociti mediante fagocitosi ed attività citotossica dell'NO prodotto dall'enzima iNOS a cui segue l'incremento di attività della proPO. Il presente studio ha individuato i plasmotociti come tipo emocitario primariamente coinvolto nella fagocitosi e la presenza di grandi cellule dall'aspetto macrofagico coinvolte nella fagocitosi e rimozione di cellule necrotiche/apoptotiche e di capsule melanotiche.

Bibliografia

- Avgin S.S., Luff , M., 2010 - Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators of human impact . *Munis Entomol. Zool.* 5: 209–215.
- Giglio A., Giulianini, P.G., Zetto, T., Talarico, F., 2011 - Effects of the pesticide dimethoate on a non-target generalist carabid, *Pterostichus melas italicus* (Dejean, 1828) (Coleoptera: Carabidae). *Ital. J. Zool.* 78: 471-477.
- Luff M.L., 1983 - The potential of predators for pest control. *Agr. Ecosyst. Environ.* 10: 159–181.
- Rainio J., Niemelä, J., 2003 - Ground beetles (Coleoptera: Carabidae) as bioindicators. *Biodivers. Conserv.* 12: 487–506.
- Strand M.R., 2008 - The insect cellular immune response . *Insect Sci.* 15: 1–14.

L'ultrastruttura dello spermatozoo e la spermiogenesi di *Matsucoccus feytaudi* Ducasse (Insecta-Coccoidea Matsucoccidae)

F. Paoli¹, P.F. Roversi¹, R. Dallai²

¹ Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia (CRA-ABP) 50125 Firenze, Italia. Email: francesco.paoli@entecra.it; piofederico.roversi@entecra.it

² Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Siena, 53100 Siena, Italia. Email: romano.dallai@unisi.it

Introduzione

Diversamente dagli spermatozoi della maggior parte degli insetti che presentano una testa con acrosoma e nucleo ed un flagello con derivati mitocondriali, corpi accessori e assonema 9+9+2, gli spermatozoi dei coccidi sono cellule allungate con un numero variabile di microtubuli disposti concentricamente o a spirale intorno ad un nucleo cilindrico che attraversa assialmente l'intera struttura. Tali spermatozoi mancano di acrosoma e di mitocondri. Questa peculiare organizzazione si realizza durante la spermiogenesi attraverso l'eliminazione del complesso mitocondriale e la partecipazione dei microtubuli citoplasmatici perinucleari all'allungamento del nucleo. Nonostante la presenza di semplici microtubuli - invece dei classici doppietti - e la loro inusuale disposizione, il complesso microtubulare è motile in quanto le singole unità sono collegate da ponti costituiti da una proteina simile a dineina con attività ATPasica. Studi cariologici hanno messo in evidenza complessi fenomeni di eliminazione cromosomica nella spermatogenesi di diverse specie di coccidi osservati, con conseguente perdita di metà degli spermatozoi prodotti. La presenza di partenogenesi è attestata in molti coccidi, ma non in *Matsucoccus feytaudi*, per il quale è nota solo la riproduzione anfigonia (Riom e Fabre, 1979). In questo lavoro abbiamo preso in esame tutti gli stadi di sviluppo della linea maschile allo scopo di descrivere le caratteristiche ultrastrutturali del processo spermatogenetico.

Materiali e metodi

Il materiale, proveniente da San Rossore (LI), è stato fissato ed incluso per essere processato per la microscopia elettronica a trasmissione.

Risultati e discussione

Ogni testicolo è formato da numerose cisti globose. All'interno di ogni cisti le cellule germinali si trovano allo stesso stadio di sviluppo, tuttavia non esiste sincronia fra le diverse cisti.

Cellule spermatogoniali prelevate da giovani larve hanno un grosso nucleo, citoplasma con mitocondri distribuiti irregolarmente, microtubuli ed un diplosoma con uno dei due centrioli particolarmente lungo (1.15 µm) ma sempre provvisto di triplette microtubulari. Ogni cisti è circondata da un sottile strato di cellule con nucleo ellittico.

La spermatogenesi procede in modo inusuale poiché i quattro spermatozoi derivanti dal processo di divisione cellulare (meiosi?) appaiono fusi in un unico complesso. In tale complesso, in sezione trasversale, si possono osservare tre dei quattro nuclei di aspetto simile con mitocondri distribuiti nel residuo citoplasma. Ogni nucleo, sul lato rivolto verso l'esterno della cisti, assume una forma conica e a questo livello si addensano numerosi microtubuli a formare una sorta di gabbia elettrondensa. Questa struttura è immersa in un materiale finemente granuloso. A breve distanza da questa struttura microtubulare, verso l'esterno, prende forma un cilindro di 0.6 µm di diametro che contatta la membrana plasmatica. In sezione trasversale al centro della struttura si notano 10-15 microtubuli a parete elettrondensa che circondano una sottile circonferenza di 70 nm. Tale struttura è assimilabile ad un centro organizzatore di microtubuli (MTOC) dal quale si formerà l'apparato microtubulare dello spermio maturo. I quattro spermatozoi sono funzionali e ciascuno di essi presenta la struttura mobile sopra descritta e formerà un prolungamento citoplasmatico entro il quale si insinuerà il

nucleo circondato dal fascio di microtubuli. Il nucleo degli spermatidi va incontro ad un processo di rimodellamento assumendo inizialmente un aspetto irregolare con pori nucleari concentrati su alcune regioni dell'involucro e con il materiale cromatinico condensato in dense strutture filamentose convergenti verso l'MTOC. Successivamente, i microtubuli densi presenti nel MTOC, lunghi circa 0.8 μm , si prolungano a dare origine al complesso microtubulare caratteristico dello spermio maturo. Il nucleo, che si estende per buona parte della lunghezza dello spermio, ha un diametro di 0.5 μm circa e mantiene ancora la cromatina condensata in strutture dense, filamentose, fino ad addensarsi completamente nello spermio maturo. Nel citoplasma dello spermatidio, al di sotto del nucleo, è presente un diplosoma. Ciò ha suggerito di definire MTOC anziché centriolo la struttura che dà origine all'apparato microtubulare sopra descritto. I mitocondri si raggruppano alla periferia della cellula e non prendono parte alla formazione dello spermio maturo. Al termine della spermiogenesi si forma un fascio di spermii. I fasci di spermii del *Matsucoccus feytaudi* sono costituiti da 64 unità, ciascuna delle quali provvista di circa 180 microtubuli disposti a spirale che danno un effetto girandola. I fasci di spermii si muovono attraverso onde elicoidali che dipartono dall'apice del fascio per proseguire verso l'estremità posteriore.

Considerazioni finali:

La presenza di due centrioli (diplosoma) insieme ad una struttura assimilabile al MTOC è alquanto inusuale in uno spermatidio di insetto. Fermo restando l'assunto che negli spermatozoi degli insetti ogni cellula ha un solo centriolo (Callaini *et al.*, 1999), alla luce di queste osservazioni ci viene da supporre che in questa specie non avvenga la meiosi a ripartire i due centrioli in due differenti cellule. Pertanto, un tale fatto conduce a pensare che -diversamente da quanto riportato in letteratura (Riom e Fabre, 1979)- *Matsucoccus feytaudi* possa facoltativamente riprodursi per partenogenesi apomittica.

Bibliografia

- Callaini G., Riparbelli M. G., Dallai R., - 1999. Centrosome inheritance in insects: fertilization and parthenogenesis. *Biol. Cell* 91, 355-366.
- Riom J., Fabre J. P., 1979 - Lack of synchrony in the adult emergence of the two sexes in *Matsucoccus feytaudi* Duc.(Homoptera Coccoidea, Margarodidae). *Comptes Rendus Hebdomadaires des Seances de l'Academie des Sciences*, D288, 1: 89-92.

Analisi del profilo di espressione delle *Odorant-Binding Proteins* (OBPs) nell'afide *Acyrtosiphon pisum*

F. De Biasio¹, D. Bruno², A. Grimaldi², T. Congiu³, G. Grossi¹, A.R. Santandrea¹, L. Palazzo¹, S. Laurino¹, R. Salvia¹, C. Labella¹, P. Falabella¹.

¹ *Università della Basilicata, Dipartimento di Scienze, via dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza, Italia;*

² *Università dell'Insubria, Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita, via Dunant 3, 21100 Varese, Italia;*

³ *Università dell'Insubria, Dipartimento di Scienze Chirurgiche e Morfologiche, via Dunant 3, 21100 Varese, Italia.*

Introduzione

La chemiorecezione, negli insetti, influenza sopravvivenza, riproduzione e riconoscimento di nemici naturali, mediante discriminazione di segnali chimici, presenti nell'ambiente, detti semiochimici. Tale riconoscimento avviene attraverso i chemiosensilli, strutture cuticolari innervate da neuroni sensoriali (Hansson et al., 2003). La maggior parte degli stimoli chimici sono molecole idrofobiche che si muovono nell'ambiente idrofilico della linfa sensillare mediante legame con piccole proteine idrosolubili: le *Odorant-binding proteins* (OBPs). Il complesso OBP-ligando viene riconosciuto dal recettore olfattivo, lo attiva e dà inizio alla trasduzione del segnale (Pelosi et al., 2006; Vogt, 2003).

In questo studio sono stati analizzati i profili di espressione di 5 OBPs (OBP1, OBP3, OBP6, OBP7, OBP8) mediante Real Time-PCR quantitativa (qRT-PCR) ed esperimenti di immunolocalizzazione sulle diverse parti del corpo e sui diversi stadi di sviluppo dell'afide *Acyrtosiphon pisum* (*A. pisum*). L'osservazione al microscopio ottico e al microscopio elettronico a scansione (SEM) ha fornito una guida per la mappatura dei profili di espressione delle OBPs.

Materiali e metodi

Le diverse parti del corpo (codicola e cornicoli, antenne, capo, zampe e restante parte del corpo) di adulti atteri sono state dissezionate allo stereomicroscopio, fissate ed immediatamente analizzate al microscopio ottico e al SEM.

Per l'analisi dell'espressione delle OBPs nei diversi stadi di sviluppo e nelle diverse regioni anatomiche di *A. pisum* è stata condotta l'estrazione dell'RNA totale e, dopo trattamento con DNasi, la sintesi del cDNA utilizzato per la qRT-PCR. I livelli di espressione sono stati valutati usando l'equazione descritta da Liu e Saint (2002), e i dati confrontati con analisi della varianza (ANOVA) e test Tukey's HSD. Per gli esperimenti di immunolocalizzazione i campioni sono stati incubati con anticorpi contro le diverse OBPs e con anticorpo secondario coniugato con la Tetrametilrodamina. Infine è stata condotta l'osservazione al microscopio a laser confocale.

Risultati e discussione

L'osservazione microscopica di zampe e antenne di adulti ha mostrato differenze nella morfologia e nella distribuzione dei sensilli: le zampe presentano sensilli tricoidei di dimensione, forma e distribuzione uniforme, mentre le antenne presentano sensilli placoidei e sensilli celoconici, oltre a sensilli tricoidei di tipo I, lungo tutta l'antenna, e di tipo II solo sull'estremità (Romani & Rossi Stacconi, 2009; Sun et al., 2013). Sull'apparato boccale sono stati osservati sensilli tricoidei e celoconici simmetricamente distribuiti, con strutture simili a pori alla base. L'osservazione al SEM ha evidenziato la presenza di strutture simili a fessure all'estremità dei lunghi sensilli tricoidei. A livello della codicola è stata osservata la presenza di proiezioni digitiformi con funzione non ancora nota.

La qRT-PCR ed esperimenti di immunostochimica hanno rivelato alti livelli di espressione di OBP7 e OBP6 nei sensilli antennali di adulti facendo ipotizzare un ruolo olfattivo di queste proteine nella percezione dell'(E)- β -farnesene (EBF) e di feromoni sessuali (Sun et al., 2013).

L'immunolocalizzazione condotta sulle antenne di *A. pisum* ha evidenziato l'espressione delle OBPs 3, 6 e 7 nei sensilli placoidi, supportando un loro ruolo chemiosensoriale. La OBP6 è stata localizzata anche nei sensilli tricoidei di tipo II e nei sensilli placoidi sul terzo e sul quinto segmento, mentre l'OBP7 solo sul quinto segmento. L'espressione della OBP3 e della OBP7 in sensilli placoidi multiporo giustifica il loro coinvolgimento nella percezione del feromone di allarme (Sun et al., 2012). Alcune delle OBPs analizzate sono risultate particolarmente espresse nella regione terminale del corpo degli afidi: le OBPs 1 e 3 sono state localizzate nei cornicoli, coinvolti nella secrezione del feromone di allarme, e anche nei sensilli tricoidei e nelle proiezioni digitiformi della codicola. Il gene per la OBP8 è espresso nel capo e la rispettiva proteina è stata immunolocalizzata a livello dell'apparato boccale, suggerendo un possibile ruolo nella selezione della pianta ospite. Per le zampe sono stati trovati livelli di espressione e segnali di immunolocalizzazione molto bassi per tutte le OBPs.

Dai profili di espressione condotti sui diversi stadi di sviluppo di *A. pisum* è stata osservata una massima espressione nel quarto stadio e negli adulti alati per OBP1, OBP3 e OBP7, una elevata espressione della OBP6 negli adulti alati e un'espressione costante della OBP8 in tutti gli stadi di sviluppo.

Le OBPs dunque mostrano un profilo di espressione molto complesso, sia nei diversi tessuti che nei diversi stadi di sviluppo, in relazione ai diversi ruoli nel comportamento degli afidi.

Bibliografia

- Hansson, B.S., Carlsson, M.A. and Kalinová, B. (2003) Olfactory activation patterns in the antennal lobe of the sphinx moth, *Manduca sexta*. *Journal of Comparative Physiology A. Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, 189, 301-308.
- Lee, C., Kim, J., Shin, S.G. and Hwang, S. (2006) Absolute and relative QPCR quantification of plasmid copy number in *Escherichia coli*. *Journal of Biotechnology*, 123(3), 273-280.
- Liu, W. and Saint, D.A. (2002) A new quantitative method of real time reverse transcription polymerase chain reaction assay based on simulation of polymerase chain reaction kinetics. *Analytical Biochemistry*, 302(1), 52-59.
- Pelosi, P., Zhou, J.J., Ban, L.P. and Calvello, M. (2006) Soluble proteins in insect chemical communication. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 63, 1658-1676.
- Romani, R. and Rossi Stacconi, M.V. (2009) Mapping and ultrastructure of antennal chemosensilla of the wheat bug *Eurygaster maura*. *Insect Science*, 16, 193-203.
- Sun, Y.F., De Biasio, F., Qiao, H.L., Iovinella, I., Yang, S.X., Ling, Y., Riviello, L., Battaglia, D., Falabella, P., Yang, X.L. and Pelosi, P. (2012) Two odorant-binding proteins mediate the behavioural response of aphids to the alarm pheromone (E)- β -farnesene and structural analogues. *PLoS ONE*, 7(3), e32759.
- Sun, Y.P., Zhao, L.J., Sun, L., Zhang, S.G. and Ban, L.P. (2013) Immunolocalization of odorant-binding proteins on antennal chemosensilla of the peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer). *Chemical Senses*, 38(2), 129-136.
- Vogt, R.G. (2003) Biochemical diversity of odor detection: OBPs, ODEs and SNMPs. *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology* (eds. G.J. Blomquist & R.G. Vogt), pp. 391-446. Elsevier Academic Press, London.

L'omologo della famiglia delle endoribonucleasi di tipo U mutato nei Lepidotteri, perde la sua attività enzimatica per produrre fibre amiloidi

M. Pascale¹, S. Laurino¹, R. Salvia¹, G. Grossi¹, A. Grimaldi², G. Tettamanti², H. Vogel³, P. Falabella¹

¹ Università della Basilicata, Dipartimento di Scienze, via dell'Ateneo Lucano 10, 85100 Potenza, Italy

² Università dell'Insubria, Dipartimento di Biotecnologie e Scienze della Vita, via Dunant 3, 21100 Varese, Italy

³ Department of Entomology, Max Planck Institute for Chemical Ecology, Hans-Knöll-Strasse 8, 07745 Jena, Germany

Introduzione

Gli emociti di *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera, Noctuidae), producono una proteina chiamata P102 appartenente alla famiglia delle endoribonucleasi di tipo U. Il capostipite di questa nuova classe di enzimi è la Xendo U, un'endoribonucleasi che taglia l'RNA a singolo filamento a livello di stringhe di U in presenza di ioni manganese come cofattore della reazione (Laneve *et al.*, 2003).

In un lavoro precedente abbiamo verificato il coinvolgimento di questa proteina nella risposta immunitaria dei Lepidotteri, attraverso la sua capacità di generare fibre amiloidi che si accumulano in grossi compartimenti localizzati nel citoplasma degli emociti (Falabella *et al.* 2012).

In questo lavoro mostriamo che P102 appartiene a una nuova classe di proteine che, almeno nei Lepidotteri, ha perso l'attività endo-U a causa di una mutazione di due dei cinque residui fondamentali presenti nel dominio catalitico XendoU. Inoltre dimostriamo che la ridotta attività endo-U di P102 e la sua capacità di formare fibre amiloidi, sono state ritrovate in un altro Lepidottero: *Trichoplusia ni* (H.) (Lepidoptera: Noctuidae).

Materiali e metodi

Le sequenze di P102 e P102*Tni* sono state confrontate con quelle presenti nelle banche dati disponibili al NCBI. La regione codificante del cDNA di 102 e di 102*Tni* è stata amplificata tramite PCR utilizzando una *Taq* fedele e primers provvisti di siti specifici per il clonaggio nel vettore di espressione. L'espressione in cellule batteriche e la successiva purificazione tramite cromatografia per affinità è stata condotta come descritto da Falabella *et al.* (2012). Per l'espressione in cellule di insetto il cDNA di 102, 102*Tni* e XendoU è stato amplificato mediante PCR utilizzando primers specifici contenenti siti di restrizione per enzimi noti. I costrutti ottenuti sono stati sequenziati e successivamente utilizzati in esperimenti di espressione stabile in cellule *Drosophila Schneider* 2 (S2). I prodotti delle proteine ricombinate sono stati verificati tramite Western Blotting. Le cellule del policlone stabile esprimenti P102*Tni*, sono state osservate al microscopio elettronico a trasmissione (TEM) e sottoposte ad Immunogold Labeling (IGL) (Donini *et al.*, 1989). L'attività endo-U è stata valutata utilizzando un saggio specifico come descritto da Laneve *et al.* (2003-2008). Come substrato della reazione è stato utilizzato un oligonucleotide a RNA a singolo filamento (P1) contenente il sito di taglio UUU dell'enzima XendoU marcato con ³²P all'estremità 5'. P1 è stato incubato con diverse concentrazioni di P102 e P102*Tni* nel tampone opportuno contenente ioni manganese come cofattore della reazione. I prodotti della digestione sono stati analizzati su gel di poliacrilammide e visualizzati mediante autoradiografia.

Risultati e discussione

L'allineamento tra P102 e P102*Tni* con XendoU mostra la mutazione di due dei cinque amminoacidi essenziali presenti nel sito catalitico. I due acidi glutammici in posizione E228 ed E234 e l'istidina in posizione H244 sono conservati mentre l'istidina in posizione H229 e la lisina in posizione K288 sono sostituiti da una asparagina e una alanina rispettivamente. I multiallineamenti di tutte le

sequenze proteiche P102-like dei Lepidotteri, evidenziano un elevato grado di identità con la proteina P102 comprese le medesime mutazioni nel dominio endoribonucleasico di tipo U. Il confronto della sequenza aminoacidica di P102 con sequenze omologhe identificate in altri ordini di insetti (Coleotteri, Ditteri, Imenotteri) evidenzia un'elevata similarità solo a livello del dominio catalitico, il quale, non mostrando nessuna delle mutazioni di P102, risulta apparentemente attivo (Laneve *et al.*, 2003; 2008; Renzi *et al.*, 2006). L'attività endo-U di P102 e P102*Tni* è stata verificata allestendo un saggio enzimatico specifico. Il substrato della reazione, l'oligoribonucleotide P1 contenente il sito di taglio specifico dell'enzima XendoU, è stato marcato radioattivamente all'estremità 5' con ³²P ed incubato con l'enzima in un tampone opportuno contenente manganese. Entrambe le proteine mostrano un'attività enzimatica residuale rispetto al controllo positivo, ovvero la XendoU ricombinante. I cDNA 102, 102*Tni* e XendoU sono stati clonati in pIZT e i costrutti stabilmente trasfettati in cellule S2. Le cellule del policlone stabile di P102*Tni* sono state osservate al TEM e sottoposte ad esperimenti di IGL. Come osservato per P102, l'analisi al TEM di queste cellule ha evidenziato, rispetto alle cellule S2 non trasfettate e al policlone stabile di XendoU, la formazione di compartimenti citoplasmatici delimitati da membrane pieni di materiale fibrillare, risultato positivo all'IGL eseguito con l'anticorpo anti-P102 in grado di cross reagire con P102*Tni* grazie alla forte identità di sequenza.

Conclusioni

I risultati ottenuti supportati dalle analisi bioinformatiche, ci consentono di ipotizzare che è ragionevole estendere quanto rilevato per P102 e P102*Tni* a tutti gli omologhi mutati della famiglia delle endoribonucleasi di tipo U, che, almeno nei Lepidotteri, condividono una sequenza aminoacidica altamente conservata in cui si evidenziano gli stessi residui mutati nel sito catalitico.

Bibliografia

- Donini, U., Casanova, S., Zucchelli, P., Linke, R.P., 1989 - Immunoelectron microscopic classification of amyloid in renal biopsies. *J. Histochem. Cytochem.* 37, 1101-1106.
- Falabella, P., Riviello, L. Pascale, M., Di Lelio, I., Tettamanti, G., Grimaldi, A., Iannone, C., Monti, M., Pucci, P., Tamburro, A.M., de Eguileor, M., Gigliotti, S., Pennacchio, F.,- 2012. Functional amyloids in insect immune response. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 42, 203-211.
- Laneve, P., Altieri, F., Fiori, M.E., Scaloni, A., Bozzoni, I., Caffarelli, E., 2003 - Purification, cloning, and characterization of XendoU, a novel endoribonuclease involved in processing of intron-encoded small nucleolar RNAs in *Xenopus laevis*. *J. Biol. Chem.* 278, 13026-13032.
- Laneve, P., Gioia, U., Ragno, R., Altieri, F., Di Franco, C., Santini, T., Arceci, M., Bozzoni, I., Caffarelli, E., 2008 - The tumor marker human placental protein 11 is an endoribonuclease. *J. Biol. Chem.* 283, 34712-34719.
- Renzi, F., Caffarelli, E., Laneve, P., Bozzoni, I., Brunori, M., Vallone, B., 2006 - The structure of the endoribonuclease XendoU: From small nucleolar RNA processing to severe acute respiratory syndrome coronavirus replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 103, 12365-12370.

Invasioni silenziose e controllo biologico

U. Bernardo¹, M. Gebiola^{1,2}, L. Gualtieri¹, A.G. Nappo¹, F. Nugnes^{1,3}, R. Sasso⁴,
S. Vicidomini¹, G. Viggiani^{1,3}

¹ CNR, Istituto per la Protezione Sostenibile delle Piante UOS di Portici, 80055 Portici, Italia,
E-mail: bernardo@ipp.cnr.it

² Department of Entomology, The University of Arizona, Tucson, AZ, USA

³ Università degli Studi di Napoli "Federico II", Dipartimento di Agraria, Laboratorio di Lotta
biologica, 80055 Portici, Italia, E-mail: genviggi@unina.it

⁴ ENEA, C. R. Casaccia, UTAGRI –ECO, 00123 Roma, Italia, E-mail: raffaele.sasso@enea.it

Introduzione

Da alcuni anni si sono intensificate sensibilmente, per varie ragioni, le invasioni d’insetti esotici, nonostante le sempre più rigide e costose misure di controllo, quarantena e monitoraggio adottate a livello internazionale. Tali regolamentazioni non solo non impediscono la diffusione delle specie dannose, ma scoraggiano od ostacolano l’utilizzo dei loro antagonisti naturali in progetti di controllo biologico. Evidenze passate e recenti dimostrano che, accanto a invasioni d’insetti che destano clamore per la loro elevata dannosità economica, vi sono anche delle invasioni ‘silenziose’, sia d’insetti fitofagi sia dei loro parassitoidi. Rispetto al passato, le attuali tecniche bio-molecolari consentono, se necessario, di interpretare con maggior precisione i loro spostamenti e di acquisire delle conoscenze d’interesse generale e applicativo.

Di seguito si presentano brevemente alcuni sistemi pianta-fitofago-parassitoide di cui si stanno approfondendo i complessi rapporti trofici a seguito del processo invasivo del fitofago:

- 1) Nel 2010 è stato segnalato per la prima volta in Europa un fillominatore del noce del genere *Coptodisca* (Bernardo et al. 2012). Studi successivi hanno evidenziato che il microlepidottero è da attribuire alla specie nearctica *C. lucifluella* (Bernardo et al. in revisione). Le conoscenze sui parassitoidi che controllano questa specie sono ancora modeste.
- 2) Tra i vari fitofagi esotici accidentalmente introdotti e infestanti gli Eucalipti in Italia vi è l’eulofide galligeno *Leptocybe invasa* (Viggiani et al. 2001). Uno dei suoi parassitoidi specifici, il *Quadrastichus mendeli* è stato introdotto in Israele e, quindi, in altri paesi europei e extraeuropei nell’ambito di un progetto di controllo biologico. L’eulofide è stato importato anche in Italia per studi in ambiente confinato e quindi non rilasciato in pieno campo.
- 3) Nel corso dell’ultimo decennio il fillominatore *Tuta absoluta* ha invaso l’Europa e altre parti del mondo. Tra i tanti parassitoidi che si stanno adattando a questo nuovo ospite in Italia e in Europa vi è l’eulofide *Neochrysocharis formosa* (Zappalà et al. 2012).
- 4) Il curculionide *Ceutorhynchus obstrictus* è una specie europea introdotta accidentalmente in Nord America dannosa alla colza (*Brassica napus*). Tra i suoi principali parassitoidi è segnalata la specie europea *Necremnus tidius* (Gibson et al. 2005).

Materiali e metodi

Esemplari dei parassitoidi studiati sono stati ottenuti isolando stadi parassitizzati dei loro ospiti in Italia, Europa e America. Essi sono stati caratterizzati integrando studi morfologici, genetici e dei loro simbionti manipolatori della riproduzione.

Risultati e discussione

I risultati ottenuti evidenziano diversi aspetti che sottendono le invasioni di specie esotiche, le problematiche riguardanti le normative messe in atto per impedirle e l'utilizzo di antagonisti di fitofagi originari delle stesse aree in progetti di controllo biologico.

- 1) Un complesso di parassitoidi indigeni si sta rapidamente adattando a *C. lucifluella* di cui è stata riscontrata un'elevata mortalità larvale in gran parte dovuta all'attività di tali antagonisti. L'eulofide *Cirrospilus coptodiscae*, originario della stessa area geografica dell'ospite, è una delle specie più attive.
- 2) Nell'ottobre 2013 il parassitoide specifico *Q. mendeli* è stato ritrovato in Campania su piante di *Eucalyptus camaldulensis* in pieno campo. Campioni prelevati nel 2014 hanno confermato l'avvenuto svernamento del parassitoide.
- 3) Lo studio genetico di varie popolazioni di *N. formosa* sembra suggerire che il parassitoide abbia compiuto il percorso inverso a quello del fitofago raggiungendo l'Argentina dall'Europa.
- 4) Lo studio di diverse popolazioni di *N. tidius* europee e nordamericane ha evidenziato la presenza di un complesso di specie criptiche di cui *N. duplicatus* è l'unica specie attiva su *C. obstrictus*. Dati molecolari sembrano supportare l'ipotesi che *N. tidius* sia stato introdotto accidentalmente dall'Europa insieme ad uno dei suoi ospiti, *Ceutorhynchus erysimi* e/o *Ceutorhynchus typhae*, su piante di *Capsella bursa-pastoris* introdotte in Nord America dai primi coloni.

Oltre agli esempi riportati, uno studio recente ha evidenziato che i processi invasivi possono anche interessare solo alcuni individui o popolazioni di una specie endemica, portatori di un particolare genotipo. E' il caso di *Pnigalio mediterraneus*, di cui alcuni individui portatori di un aplotipo mitocondriale hanno seguito il loro ospite *Cameraria ohridella* nel suo percorso invasivo (Gebiola et al. 2014).

Il processo d'invasione biologica e l'adattamento dei parassitoidi a nuovi ospiti sono quindi fenomeni molto complessi di cui si conosce ancora poco. Dai risultati qui presentati emerge che: a) non esistono frontiere, se non ostacoli naturali, in grado di bloccare la diffusione d'insetti esotici (utili e non); b) al controllo naturale delle specie fitofaghe invasive possono contribuire specie antagoniste sia autoctone sia esotiche, spesso indipendentemente dall'intervento umano; c) le normative nazionali e internazionali che riguardano l'introduzione di parassitoidi d'insetti esotici, più che tendere all'ipotetica conservazione di comunità biotiche di per sé fluttuanti, dovrebbero consentire applicazioni volte a costituire nuovi equilibri tra le specie esotiche e quelle autoctone.

Bibliografia

- Bernardo U., Sasso, R., Gebiola, M., Viggiani, G., 2012 - First record of a walnut shield bearer *Coptodisca* (Lepidoptera: Heliozelidae) in Europe. J Appl Entomol. 136: 638-640.
- Gebiola M., Lopez-Vaamonde, C., Nappo, A.G., Bernardo, U. 2014 - Did the parasitoid *Pnigalio mediterraneus* (Hymenoptera: Eulophidae) track the invasion of the horse chestnut leafminer? Biol Invasions 16:843-857.
- Gibson G., Baur, H., Ulmer, B., Dossdall L., Muller F., 2005 - On the misidentification of chalcid (Hymenoptera: Chalcidoidea) parasitoids of the cabbage seedpod weevil (Coleoptera: Curculionidae) in North America. Can Entomol. 137:381-403.
- Viggiani G., Laudonia, S., Bernardo, U., 2000 - Aumentano gli insetti dannosi agli eucalypti. Inf Agr. 58:86-87.
- Zappalà L., Bernardo, U., Biondi, A., Cocco, A., Deliperi, S., Delrio, G. et al. 2012 - Recruitment of native parasitoids by the exotic pest *Tuta absoluta* in Southern Italy. B Insectol. 65:51-61.

La risposta degli insetti e delle loro comunità al cambiamento climatico: chi ci perde e chi ci guadagna.

P. Brandmayr¹, A. Casale², P. Marcia², A. Mazzei¹, M. Gobbi³, A. Vigna Taglianti⁴, S. Scalercio⁵, R. Pizzolotto¹

¹ *Università della Calabria, DiBEST., 87036 Rende, ITALIA, e-mail: brandmayr@unical.it*

² *Università di Sassari, Dipartimento di Scienze della Natura e del Territorio, Sezione di Zoologia, 07100 Sassari, ITALIA, e-mail: a.casale@libero.it;*

³ *MUSE, Corso lavoro e scienza, 3, 38100 Trento, ITALIA, e-mail: mauro.gobbi@muse.it;*

⁴ *Università di Roma, La Sapienza, Dipartimento di Biologia e Biotecnologia “Charles Darwin”, 00185 Roma, ITALIA, e-mail: augusto.vignataglianti@uniroma1.it;*

⁵ *C.R.A. U. di R. Selvicoltura Ambiente Mediterraneo, 87036 Rende, ITALIA, e-mail: stefano.scalercio@entecra.it.*

Le terre emerse che circondano il bacino del Mediterraneo, dalla penisola iberica alla Grecia e all'Anatolia sono uno hot-spot della Biodiversità ben riconosciuto a livello internazionale. Queste aree vedono negli ultimi decenni, e specialmente a partire dagli anni '70 dello scorso secolo, un vistoso cambiamento climatico, che si esprime in un deciso aumento delle temperature medie annue, nella comparsa di inverni sempre più miti e in un vistoso cambio di regime delle precipitazioni quasi generalizzato e che interessa tutte le altitudini, variabile fra il 20 ed il 40% dei valori antecedenti. Sono qui analizzati i risultati di ricerche a lunga scadenza riguardanti Lepidotteri Ropaloceri e Coleotteri, soprattutto Carabidi, questi ultimi campionati sia a livello di specie sia di comunità, tanto nel dominio epigeo quanto in quello ipogeo. I lepidotteri mostrano di rispondere con notevole prontezza alle variazioni climatiche, con una decisa “uphill-shift” di specie orofile come *Erebia cassioides* verificata sul Massiccio del Pollino, estremo baluardo meridionale di molte specie alpino-appenniniche. Le popolazioni di questo lepidottero mostrano di ritirarsi progressivamente a quote superiori ai 1800 metri (sequenza 1975-2004-2012), anche se la densità degli individui aumenta notevolmente in seguito alla forte diminuzione del pascolo. Le comunità a Coleotteri Carabidi in aree alpine, pur mantenendo la loro fisionomia complessiva, mostrano la scomparsa o la forte rarefazione di specie microterme di habitat alpini e delle zolle pioniere, un forte decremento di elementi igrofilo e/o microtermi dei pascoli, un incremento di specie termoxerofile e/o predatrici di semi di piante nei medesimi ambienti, un aumento della biomassa di specie forestali nella pecceta subalpina, in relazione anche alla diminuzione della coltre di sfagni al suolo.

Nel dominio ipogeo sono state analizzate le cronosequenze delle descrizioni di carabidi troglobi a partire dalla metà del secolo XIX. Mentre per i generi epigei esaminati si osservano le classiche curve di saturazione, sigmoidali, le sequenze delle descrizioni dei nuovi taxa ipogei, in particolare troglobi specializzati, mostrano andamenti fluttuanti, con un deciso aumento delle scoperte nei periodi di più intenso “global warming”, le decadi 1920-1930 e quelle dopo il 1970. L'ipotesi alternativa della maggiore intensità di raccolta non spiega altrettanto efficacemente gli andamenti osservati; al momento, quindi, il fenomeno pare correlato essenzialmente all'aumento delle temperature minime invernali, che consentono alle popolazioni sotterranee, notoriamente fluttuanti nel reticolo delle fessure dei massicci carsici e dell'MSS, di colonizzare più stabilmente nuove macrocavità e falde di detrito raggiungibili dalle ricerche specializzate. Il fenomeno sembra rilevante sia a livello di macroregione (le catene montuose del Mediterraneo settentrionale) sia a livello locale (Sardegna), dove potrebbe essere influenzato anche dall'incremento stagionale delle precipitazioni. Negli ultimi dieci anni si è osservata infatti una maggiore estensione dell'areale di *Speomolops sardous*, che risulta oggi molto più diffuso nei massicci carbonatici sia costieri sia dei “supramonti” interni della Sardegna orientale. Per contro una specie un tempo presente in grotta, il colevide

leptodirino *Ovobathysciola grafittii*, risulta da anni introvabile in ambiente ipogeo, ma è comparsa in ambiente sotterraneo superficiale.

Il cambiamento climatico sembra quindi avere effetti contrastanti sul popolamento entomologico del mediterraneo: si assiste da un lato al confinamento di specie montane o alpine in areali sommitali sempre più ristretti, dall'altro esso sembra provocare, a ondate, una sorta di "upwelling" di nuove specie o anche generi ipogei altamente specializzati in grotte pur ben esplorate in precedenza, con la scoperta talora di taxa di rango superiore la cui esistenza mai sarebbe stata ipotizzata per l'Europa, quali la sottofamiglia Promecognathinae (*Dalyat mirabilis*) o la sottotribù Lovriciina, un clade prima sconosciuto di Bembidiini.

Contributo dei modelli di dinamica di popolazione nell'analisi del rischio posto dalle specie invasive

G. Gilioli¹, S. Pasquali²

¹ Università di Brescia, Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, viale Europa 11, 25121 Brescia, Email: gianni.gilioli@unibs.it;

² CNR, Istituto di Matematica Applicata e Tecnologie Informatiche "Enrico Magenes", via E. Bassini 15, 20133 Milano, Email: sara@mi.imati.cnr.it.

Introduzione

L'invasione di specie alloctone costituisce uno dei principali rischi a livello globale, con enormi impatti sulla economia e la salute umana, oltre che sull'ambiente. Tra i fattori che hanno incrementato le dimensioni del problema vi sono l'enorme aumento di flussi di merci e uomini, che fungono da vettori e la minore resistenza e resilienza degli ecosistemi. Le decisioni sulle misure di prevenzione, controllo e mitigazione dell'impatto delle specie invasive devono basarsi su una procedura razionale che permetta di stimare in modo quantitativo i rischi, allocare risorse limitate e stabilire priorità per gli interventi (Leung *et al.*, 2012).

Materiali e Metodi

La previsione del rischio è lo strumento fondamentale per permettere di stabilire priorità negli interventi di gestione delle specie invasive. La procedura normalmente utilizzata per la valutazione del rischio, la pest risk analysis (PRA), è però spesso caratterizzata da definizioni, procedure e modelli eterogenei che vincolano l'utilità delle informazioni che possono essere fornite ai responsabili della gestione del rischio (Blackburn *et al.*, 2011). Sono presentati e discussi alcuni aspetti di una metodologia generale per la razionalizzazione del processo di valutazione del rischio posto dai parassiti delle piante. Elementi caratterizzanti di questo approccio sono: (i) l'uso combinato di modelli di dinamica di popolazioni e modelli probabilistici, (ii) la necessità di considerare, nelle analisi del rischio, la abbondanza e prevalenza della specie quale driving force che permetta di fornire una base quantitativa della valutazione del rischio e alla valutazione comparativa delle opzioni di riduzione del rischio.

Risultati e discussione

La metodologia proposta è finalizzata alla standardizzazione della procedura di valutazione del rischio sulla base della definizione e dell'uso di opportuni moduli relativi a: (i) la caratterizzazione della specie, con particolare attenzione alla formalizzazione dei cicli di vita dei parassiti delle piante per facilitare lo sviluppo di modelli (Gilioli *et al.*, 2014a); (ii) l'arrivo della specie invasiva, basato su metodi probabilistici che considerano la catena di eventi che portano alla invasione di un nuovo territorio (Pasquali *et al.*, 2014a); (iii) il potenziale stabilirsi della specie invasiva, valutato tramite proiezioni nello spazio e nel tempo della densità del parassita ottenuta da modelli di dinamica di popolazione (Gilioli *et al.*, 2014b); (iv) la dispersione ottenuta con modelli continui o discreti che tengano conto delle caratteristiche della specie, della distribuzione della pianta ospite e del contributo dell'uomo (Gilioli *et al.*, 2013a); (v) la valutazione dell'impatto economico e ambientale (Gilioli *et al.*, 2013b); (vi) la valutazione comparativa di strategie di riduzione del rischio (Pasquali *et al.*, 2014). L'insieme dei moduli è combinato con un approccio sintattico che consente di aggregare specifici moduli di analisi del rischio in funzione: della specie analizzata, degli obiettivi dell'analisi, delle informazioni e delle risorse disponibili.

Conclusioni

L'analisi condotta mette in rilievo l'importanza di: (i) standardizzare la procedura di valutazione del rischio e, quando possibile, di dare priorità alle valutazioni di tipo quantitativo; (ii) di strutturare la

fase di scelta, raccolta e organizzazione dei dati usati nella PRA in funzione di approcci standardizzati e quantitativi; (iii) sviluppare approcci di modellistica generali che possano fornire informazioni adeguate su aspetti fondamentali della valutazione del rischio quali la distribuzione potenziale della specie e la loro abbondanza o prevalenza; (iv) omogeneizzare le diverse sorgenti di informazioni e combinare le componenti del rischio.

Bibliografia

- Blackburn T.M., Pyšek P., Bacher S., Carlton J.T., Duncan R.P., Jarošík V., Wilson J.R.U., Richardson D.M. 2011 - A proposed unified framework for biological invasions. *Trends Ecol. Evol.* 26(7): 333-339.
- Gilioli G., Pasquali S., Riolo F., Tramontini S. 2013a - Modelling local and long-distance dispersal of invasive chestnut gall wasp in Europe. *Ecol. Modell.* 263: 281–290.
- Gilioli G., Schrader G., Baker R.H.A., Ceglarska E., Kertész V.K., Lövei G.L., Navajas M., Rossi V., Tramontini S., van Lenteren J.C. 2013b - Ecosystem services approach for the environmental risk assessment of invasive alien species. *Sci. Total Environ.* 468–469 (2014) 475–486.
- Gilioli G., Pasquali S., Winter S., van Lenteren J., Schrader G., Rafoss T., Ponti L., Gutierrez A.P. 2014a - Selection and organization of life-history data for PRA: a mechanistic perspective. Invited talk at EFSA/EPPO Joint Workshop “Data collection and information sharing in plant health”, 1-2-3 April 2014, EFSA premises, Parma, Italy.
- Gilioli G., Pasquali S., Parisi S., Winter S. 2014b - Modelling the potential distribution of *Bemisia tabaci* in Europe in light of the climate change scenario. *Pest. Manag. Sci.* (online 26 FEB 2014 DOI: 10.1002/ps.3734).
- Leung B., Roura-Pascual N., Bacher S., Heikkilä J., Brotons L., Burgman M.A., Dehnen-Schmutz K., Essl F., Hulme P.E., Richardson D.M., Sol D., Vilà M. 2012 - TEASIng apart alien species risk assessment: a framework for best practices. *Ecol. Lett.* 15: 1475-1493.
- Pasquali S., Gilioli G., Jansenn D., Winter S. 2014 - Optimal strategies for interception and eradication in plant biosecurity. *Risk Anal.* (submitted).

Il progetto LIFE “MIPP”: monitoraggio di insetti di interesse comunitario e Citizen science.

A. Cini^{1,2}, A. Campanaro^{1,2}, G. Antonini^{1,3}, M. Bardiani^{1,2}, G.M. Carpaneto⁴, S. Hardersen², M. Maura⁴, E. Maurizi^{1,4}, F. Mosconi^{1,3}, M. Panella⁵, G. Sabbatini¹, E. Solano^{1,3}, P. Audisio³, M. Bologna⁴, A. Bottacci⁵, P.F. Roversi¹, F. Mason^{2,6}

¹ CRA-ABP Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura - Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia, Via di Lanciola 12/a, Cascine del Riccio, 50125, Firenze;

² Corpo Forestale dello Stato, Centro Nazionale per lo Studio e la Conservazione della Biodiversità Forestale “Bosco Fontana”, Via Carlo Ederle 16/a, 37100, Verona;

³ Università degli Studi di Roma “La Sapienza”, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie “C. Darwin”, via A. Borelli, 50, 00161, Roma;

⁴ Università degli Studi “Roma Tre”, Dipartimento di Scienze, Viale Marconi 446, 00146, Roma;

⁵ Corpo Forestale dello Stato, Ufficio per la Biodiversità, Via Giosuè Carducci 5, 00187, Roma;

⁶ CNR-IBAF, Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto di Biologia Agroambientale e Forestale. Via Salaria km 29,300 – 00015 Monterotondo (Rome, Italy)

Introduzione

La valutazione dello stato di conservazione è un obbligo sancito dalla Direttiva Habitat (43/92/CEE e aggiornamenti) per le specie inserite nei suoi allegati. Per raggiungere questo importante obiettivo è necessario disporre di protocolli standardizzati di monitoraggio che permettano di stimare le variazioni delle dimensioni delle popolazioni delle specie sul territorio nazionale (Trizzino *et al.* 2013). Sono state pubblicate proposte di monitoraggio di diverse specie (es. Campanaro *et al.* 2011), ma è necessario definire metodi efficaci in tutto il territorio nazionale.

Il progetto LIFE+11 MIPP NAT/IT/000252 (Monitoring of Insects with Public Participation) si propone come obiettivo principale lo sviluppo di protocolli di monitoraggio per i coleotteri *Osmoderma eremita*, *Lucanus cervus*, *Cerambyx cerdo*, *Rosalia alpina* e *Morimus asper/funereus*. Queste specie saproxiliche hanno anche una forte valenza di specie bandiera, l'entomofauna saproxilica rappresenta infatti circa il 20% dell'intera biodiversità forestale (Stokland *et al.*, 2012). Un ulteriore obiettivo è la raccolta di dati faunistici di presenza da parte della cittadinanza (Citizen Science; cf. Gura, 2013). I cittadini sono attivamente coinvolti nella raccolta dei dati raccolti nell'ambito del progetto, contribuendo alle conoscenze attualmente disponibili sulla distribuzione delle cinque specie di coleotteri già citate e di altre quattro specie di interesse comunitario (Fig. 1). Il progetto, cofinanziato nel 2012 dalla Commissione Europea (2.73 ml di €) e della durata di 5 anni, è coordinato dal Corpo Forestale dello Stato - Ufficio per la Biodiversità di Roma coadiuvato dal Centro Nazionale Biodiversità “Bosco Fontana” di Verona e si avvale della collaborazione di 5 enti beneficiari: l'Università degli Studi di Roma “La Sapienza”, l'Università degli Studi Roma Tre, il Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura - ABP Firenze, il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare e la Regione Lombardia.

Materiale e metodi

I metodi di monitoraggio per le 5 specie di insetti saproxilici previste dal progetto saranno messi a punto attraverso ricerche di campo effettuate in 5 aree di studio: Bosco della Fontana, Bosco della Mesola, Foreste Casentinesi, Parco Nazionale d'Abruzzo, Lazio e Molise, Foresta di Tarvisio e Parco Naturale delle Prealpi Giulie. I metodi che saranno saggiati prevedono l'impiego di trappole ad intercettazione e a caduta e osservazioni dirette delle specie lungo transetti. Inoltre verranno sviluppati metodi di monitoraggio innovativi e non invasivi, quali l'uso di tecniche molecolari per l'identificazione delle specie target e l'addestramento di un cane in grado di fiutare il caratteristico odore del feromone emesso da *Osmoderma eremita*. Le segnalazioni sul territorio sono sviluppate attraverso la “Citizen Science”, una divulgazione mirata (ad es. la Società Entomologica Italiana) e,

inoltre, con seminari tecnici locali (ad es. con il personale dei Parchi). La raccolta di dati faunistici delle 9 specie da parte della cittadinanza avviene su tutto il territorio nazionale attraverso l'utilizzo di un portale web (<http://lifemipp.eu>) e di un'applicazione per smartphone. Il sistema di segnalazione permette la georeferenziazione, il caricamento di un'immagine dell'insetto avvistato e l'inserimento di varie informazioni sul luogo di avvistamento. Le segnalazioni, previa validazione, sono inserite nel database del Network Nazionale per la Biodiversità (NNB) del Ministero dell'Ambiente a cura dal Lanabit di Verona del Centro Nazionale Biodiversità Forestale del Corpo Forestale dello Stato (Centro di Eccellenza del NNB), per le finalità della Direttiva Habitat 43/92/CEE.

Risultati e Discussione

Pur essendo nelle sue prime fasi, il progetto ha già catturato l'attenzione del pubblico, grazie a vari eventi di divulgazione (ad es. didattica nelle scuole), apparizioni in trasmissioni televisive (Geo & Geo) e sui giornali (es. "Venerdì" de "La Repubblica) e, soprattutto, grazie al sito web e ai social network. Un chiaro esempio dell'interesse del pubblico è rappresentato dalle oltre 20.000 visualizzazioni del sito web e dalle numerose segnalazioni già pervenute, nonché dalla partecipazione alle attività didattiche di oltre un migliaio di studenti.



Figura 1. Le nove specie per le quali sono richieste le segnalazioni dei cittadini su tutto il territorio nazionale. Da sinistra verso destra e dall'alto in basso: *M. asper/funereus*, *L. cervus*, *O. eremita*, *R. alpina*, *C. cerdo*, *L. achine*, *P. apollo*, *Z. polyxena*, *S. pedo*. Per le prime cinque specie il progetto prevede la messa a punto di specifici metodi di monitoraggio.

Bibliografia

- Campanaro A., Bardiani M., Spada L., Carnevali L., Montalto F., Antonini G., Mason F. & Audisio P. (eds), 2011. Linee guida per il monitoraggio e la conservazione dell'entomofauna saproxilica. Quaderni Conservazione Habitat, 6. Cierre Grafica, Verona, 8 pp. + CD-ROM.
- Gura T., 2013. Citizen Science, Amateur experts. Nature, Vol 496, n. 259.
- Stokland J.N., Siitonen J., Jonsson B.G., 2012. Biodiversity in Dead Wood. Cambridge University Press. 509 pp.
- Trizzino M., Audisio P., Bisi F., Bottacci A., Campanaro A., Carpaneto G.M., Chiari S., Hardersen S., Mason F., Nardi G., Preatoni D.G., Vigna Taglianti A., Zauli A., Zilli A. & Cerretti P. 2013. Gli artropodi italiani in Direttiva Habitat: biologia, ecologia, riconoscimento e monitoraggio. Quaderni Conservazione Habitat, 7. CFS-CNBFVR, Centro Nazionale Biodiversità Forestale. Cierre Grafica, Sommacampagna, Verona, 256 pp.

Utilità del DNA barcode nell'identificazione tassonomica degli afidi del genere *Anuraphis* (Hemiptera, Aphidoidea)

G.E.M. Cocuzza, V. Cavalieri, D. Guastella, S. Barbagallo

Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95123 Catania; e-mail: cocuzza@unict.it

Introduzione

Il DNA barcode è una metodologia molecolare affermata negli ultimi anni per l'identificazione tassonomica degli organismi viventi. La tecnica si è rivelata utile anche nel riconoscimento specifico degli afidi, gruppo d'insetti in cui è spesso difficile trovare caratteri morfologici utili a discriminare in modo univoco le specie. Scopo del presente lavoro è quello di confrontare i dati derivanti dall'analisi del DNA barcode e quelli morfometrici elaborati attraverso l'analisi multivariata in seno al genere *Anuraphis*. Le specie di questo gruppo hanno caratteri che li distinguono facilmente dagli altri generi, ma la distinzione morfologica delle diverse specie di *Anuraphis* è piuttosto complicata. Il genere in causa è rappresentato in Italia da 6 specie su un totale complessivo di 7 taxa. Tutte le specie hanno una distribuzione ponto-mediterranea. *A. farfarae*, *A. subterranea* e *A. catonii* svolgono un ciclo dioico, utilizzando come ospiti primari piante appartenenti al genere *Pyrus* e alla famiglia delle Ombrellifere come ospiti secondari (ad eccezione di *A. farfarae* che impiega le Composite *Petasites* e *Tussilago*). Delle restanti specie, *A. pyrlaseri*, *A. cachryos* e *A. shaposhnikovi*, si conosce solo l'ospite secondario, appartenente alle Ombrellifere.

Materiali e metodi

L'indagine molecolare è stata condotta su 21 esemplari del genere *Anuraphis* poste a confronto di 4 ulteriori specie (*Nearctaphis backeri*, *Brachycaudus jacobii*, *Aphis fabae* e *Roepkea marchali*) utilizzate come out-group. L'estrazione del DNA è avvenuta secondo la metodica descritta da Coeur d'acier *et al.* (2008) e Massimino Cocuzza & Cavalieri (2014). Sono stati ottenuti un totale di 650 bp appartenenti al gene mitocondriale COI. La divergenza genetica è stata calcolata usando il modello *p*-distance (Srivathsan & Meier, 2012) e rappresentata graficamente secondo il metodo neighbor-joining come implementato in MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2011). L'albero è una rappresentazione della matrice delle distanze calcolate sulle differenze genetiche senza implicazioni filogenetiche. I riscontri molecolari sono stati quindi confrontati con quelli ottenuti attraverso l'analisi morfometrica multivariata effettuata in precedenza sulle stesse specie del genere (Barbagallo e Cocuzza, 2003).

Risultati e discussione

I risultati (Fig. 1A) a livello genetico permettono di riunire in un medesimo cluster tutti gli esemplari appartenenti allo stesso taxon e distinguere inequivocabilmente le diverse specie. Dallo studio è emersa una notevole omogeneità genetica tra le diverse popolazioni di una stessa specie, indipendentemente dalla loro origine geografica. Nel confronto tra le specie, *A. catonii* e *A. shaposhnikovi* sono risultate le specie geneticamente più vicine (0,8% di variabilità) mentre *A. farfarae* e *A. cachryos* sono le più distanti (8%). Dal confronto con l'analisi multivariata (Fig. 1B) è emersa una completa sovrapposizione dei risultati ottenuti con le due metodologie a raffronto. Sorprendentemente, l'analisi molecolare ha evidenziato la somiglianza tra *A. catonii* e *A. shaposhnikovi* già evidenziata attraverso l'analisi multivariata dei caratteri morfologici.

Conclusioni

L'analisi ha permesso la caratterizzazione molecolare delle specie esaminate riuscendo a distinguere tra loro i vari taxa. I risultati sono inoltre del tutto sovrapponibili con quelli ottenuti attraverso l'analisi multivariata dei caratteri morfologici.

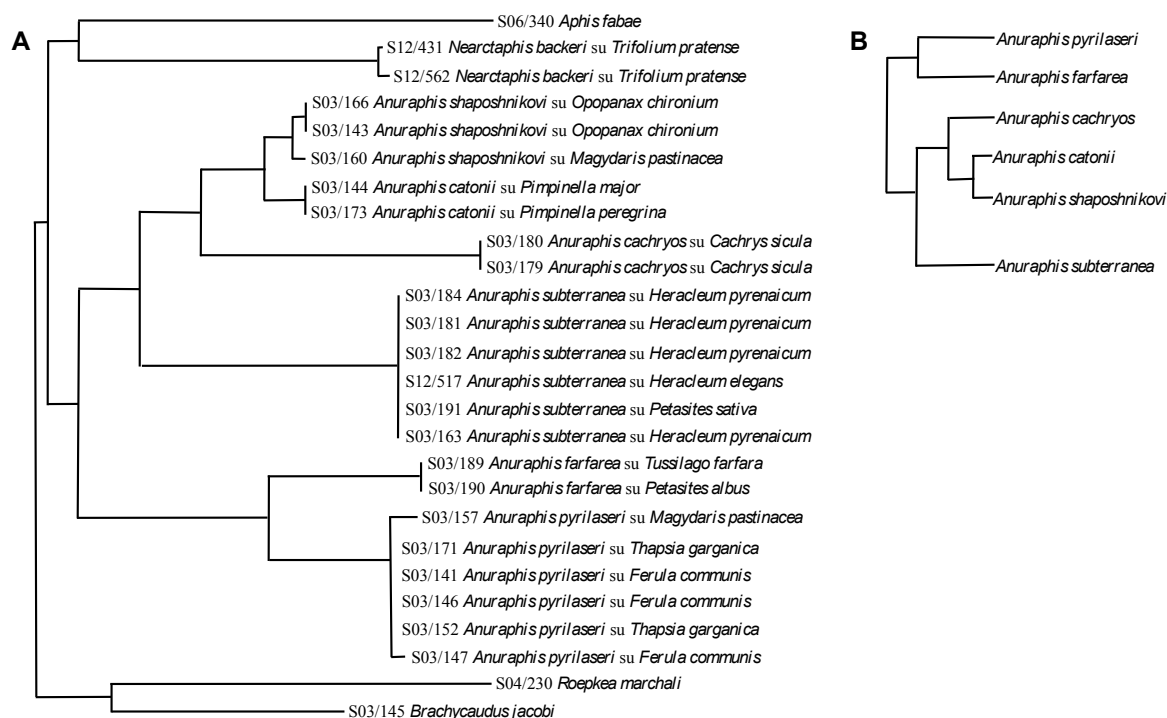


Fig. 1 A - B

Bibliografia

- Barbagallo S., Cocuzza G.E., 2003 – Morphological discrimination of six species of the genus *Anuraphis* (Hemiptera: Aphididae), including description of a new species. *The Canadian Entomologist*, 135: 839-862,
- Coeur d'acier A, Cocuzza GE, Jousset E, Cavalieri V, Barbagallo S (2008) Molecular phylogeny and systematics in the genus *Brachycaudus* (Homoptera: Aphididae): insight from a combined analysis of nuclear and mitochondrial genes. *Zoologica Scripta*, 37, 175-193.
- Massimino Cocuzza G.E., Cavalieri V., 2014 – Identification of *Aphis frangulae*-group living on Lamiaceae species through DNA barcode. *Molecular Ecology Resources*, 14: 447-457.
- Srivathsan A., Meier R., 2012 – On the inappropriate use of Kimura-2-Parameter (K2P) divergences in the DNA – barcoding literature. *Cladistics*, 28: 190-194.

DNA barcoding dei Chrysomelidae della regione mediterranea: una risorsa per la tassonomia e la conservazione della biodiversità

M. Montagna¹, D. Sassi², V. Mereghetti³, G. Lozzia¹

¹ Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, 20133 Milano, Italia, E-mail: matteo.montagna@unimi.it;

² Università degli Studi di Milano, Centro Interdipartimentale di Studi Applicati per la Gestione Sostenibile e la Difesa della Montagna, 20133 Milano, Italia.

³ Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica, 20133 Milano, Italia.

Introduzione

Negli ultimi decenni stiamo assistendo alla crisi dell' α -tassonomia (Wheeler, 2004; Wilson, 2004). Se si considera il tasso di estinzione delle specie, amplificato dal cambiamento climatico e dall'erosione degli habitat, abbinato alla scarsità delle risorse economiche dedicate a studi faunistici e tassonomici, il rischio reale è quello di una perdita della biodiversità senza averne compresi gli attuali livelli. Il bacino del Mediterraneo, hotspot di biodiversità, è particolarmente interessato da tale rischio. Una strategia basata sul DNA, integrata alla tassonomia tradizionale, è stata proposta come possibile soluzione al superamento dei problemi evidenziati (e.g. Tautz *et al.* 2002; Goldstein & DeSalle 2010). Scopo del progetto *Mediterranean Chrysomelidae Barcoding* è di: a) incrementare le conoscenze faunistiche per i Chrysomelidae della Regione Mediterranea; b) sviluppare una banca dati di sequenze nucleotidiche di riferimento per l'identificazione molecolare delle specie; c) integrare la banca dati molecolare e i dati di raccolta georeferenziati in un'unica base dati, liberamente accessibile, al fine di fornire un utile strumento alla Comunità Scientifica e agli Enti territoriali di gestione faunistica.

Materiali e Metodi

All'interno del progetto C-Bar sono annualmente intraprese numerose campagne di raccolta nella Regione Mediterranea. I campioni, identificati morfologicamente a livello di specie e corredati dei metadati di raccolta, sono conservati in etanolo assoluto a T -20°C. L'estrazione del DNA dagli esemplari avviene utilizzando kit commerciali (Qiagen DNeasy Blood and Tissue) e preservando la morfologia per le successive analisi e l'acquisizione di immagini. Tramite metodica PCR e l'utilizzo di specifici primers (LCO1490/HCO2198; Folmer *et al.* 1994) viene amplificato un frammento di 659 bp del gene mitocondriale *cox1* (marker di elezione in studi di DNA Barcoding sui metazoi, Hebert *et al.* 2003). Le sequenze nucleotidiche ottenute (tecnologia ABI) sono allineate in un dataset per le successive analisi. Le metodologie di analisi adottate prevedono quattro approcci: a) analisi della distanza nucleotidica e stima del valore ottimale di distanza nucleotidica intra- interspecifica; b) analisi BLAST di cross-validazione finalizzate a confermare che ciascun esemplare presenti i migliori *hits* con tutti gli esemplari conspecifici; c) applicazione di metodi di inferenza filogenetica "character-based" per testare lo status monofiletico di ciascuna specie; d) delimitazione delle specie sulla base dell'albero filogenetico inferito.

Risultati e discussione

A partire dal 2009 sono stati campionati nell'area di indagine oltre 5000 esemplari di crisomelidi (~450 specie). Il DNA è stato estratto da 950 campioni e le sequenze *cox1* ottenute da 864 esemplari, pari a 268 specie (~13% delle specie presenti). I metadati di raccolta dei campioni dai quali è stata ottenuta la sequenza nucleotidica sono disponibili sul sito internet dedicato al progetto (www.c-bar.org) e all'interno delle banche dati del Network Nazionale della Biodiversità. Sulla base delle analisi condotte sul dataset di sequenze *cox1* ottenute, la distanza nucleotidica media intraspecie è risultata pari a 0.77% mentre il valore interspecie è risultato pari a 20.89%. Valori di

diversità nucleotidica superiori alla soglia intra e interspecifica sono stati ottenuti per *Cryptocephalus rugicollis*, *C. violaceus* e *Chrysolina americana*. Non si è osservata alcuna variabilità nucleotidica tra gli esemplari, appartenenti a popolazioni diverse, di *Cryptocephalus strigosus* e *Cassida viridis*. Dalle analisi BLAST, condotte su 668 sequenze (166 specie), una perfetta corrispondenza tra identificazione morfologica-molecolare è stata ottenuta nel 99.4% dei casi. Le campagne di raccolta finora svolte hanno portato sia alla scoperta di tre nuove specie: *Pachybrachis sassii* Montagna 2011, *P. holerorum* Montagna & Sassi 2013 e *Stylosomus* n. sp. (in fase di descrizione) sia al censimento di specie invasive di nuova segnalazione per l'Europa: *Ophraella communis* (Boriani et al. 2013) e *Colasposoma* (Montagna et al. in press).

Conclusioni

I risultati finora raggiunti confermano l'efficacia del metodo utilizzato per la tassonomia molecolare dei crisomelidi, che consente, tra le altre cose, di indagare la possibile esistenza di complessi di specie criptiche. Per contro, gli stessi risultati evidenziano l'opportunità di incrementare gli sforzi in studi di α -tassonomia per conoscere la reale entità della biodiversità nell'area mediterranea.

Bibliografia

- Boriani M., Calvi M., Taddei A., Tantardini A., Cavagna B., Spadoni Andreani F., Montagna M., Bonini M., Lommen S., Müller-Schärer H. 2013 - *Ophraella communis* segnalata in Italia su Ambrosia. L'informatore agrario 34: 61.
- Folmer O., Black M., Hoeh W., Lutz R., Vrijenhoek R., 1994 - DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol Mar Biol Biotechnol 3: 294-299.
- Goldstein P. Z., DeSalle R., 2010 - Integrating DNA barcode data and taxonomic practice: determination, discovery, and description. Bioessays 33: 135-147.
- Hebert P. D., Ratnasingham S., deWaard J. R., 2003 - Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. Proc Biol Sci. 270: S96-S99.
- Montagna M., 2011 - *Pachybrachis sassii*, a new species from the Mediterranean Giglio Island (Italy) (Coleoptera, Chrysomelidae, Cryptocephalinae). 2011. Zookeys 155: 51- 60.
- Montagna M., Sassi D., Giorgi A. 2013 - *Pachybrachis holerorum* (Coleoptera: Chrysomelidae: Cryptocephalinae), a new species from the Apennines, Italy, identified by integration of morphological and molecular data. Zootaxa 3741: 243–253
- Tautz D., Arctander P., Minelli A., Thomas R. H., Vogler A. F., 2002. DNA points the way ahead in taxonomy. Nature 418: 479.
- Wheeler Q. D., 2004 - Taxonomic triage and the poverty of phylogeny. Philos Trans R Soc B 359: 571-583.
- Wilson E. O., 2004. - Taxonomy as a fundamental discipline. Philos. Trans. R. Soc. B 359:739.

Un approccio sperimentale all'intercettazione di coleotteri xilofagi esotici in aree ad alto rischio di introduzione

D. Rassati, E. Petrucco Toffolo, A. Battisti, L. Marini, M. Faccoli

Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente, 35020 Legnaro (PD), E-mail: davide.rassati@studenti.unipd.it

Introduzione

Dalla scoperta dell'America ad oggi sono state introdotte in Europa circa 11,000 nuove specie, principalmente piante e insetti (DAISIE, 2009). Tra questi ultimi hanno particolare rilevanza i coleotteri xilofagi, per lo più appartenenti alle famiglie scolitidi, cerambicidi e buprestidi, poiché facilmente trasportati attraverso il commercio internazionale di prodotti legnosi, ma anche in imballaggi di legno e *pallet*, all'interno dei quali eludono i controlli fitosanitari e superano eventuali condizioni climatiche avverse che si presentano durante gli spostamenti (Brockerhoff *et al.*, 2006). La rapida intercettazione di queste specie nei punti a maggiore rischio d'introduzione, quali porti e aeroporti, ha oramai assunto un'importanza fondamentale sia per monitorare il loro effettivo arrivo e stabilizzazione, che per attivare immediatamente l'eradicazione o il contenimento (Rassati *et al.*, 2014).

Materiali e metodi

Grazie alla collaborazione fra Università di Padova ed enti fitosanitari di varie regioni italiane, nel corso della primavera-estate 2012 e 2013 sono stati condotti due studi al fine di individuare i punti più suscettibili in cui concentrare gli sforzi di intercettazione di xilofagi esotici in vista della creazione di una rete nazionale di sorveglianza fitosanitaria. Nel 2012 è stato valutato il ruolo del volume medio annuo di importazioni dei porti e del paesaggio ad essi circostante, in termini di copertura e tipologia forestale (conifere vs latifoglie), sull'arrivo e diffusione di coleotteri xilofagi esotici. Il campionamento è stato condotto in 15 porti distribuiti in 9 regioni italiane utilizzando in ciascun sito 6 trappole “*multi-funnel*”, 3 poste nell'area portuale e 3 in aree boscate circostanti il porto. Le trappole sono state rese attrattive con una miscela di un monoterpene (α -pinene), alcoli (etanolo e metil-butenolo) e due feromoni di aggregazione del genere *Ips* (ispenolo, ipsdienolo). Utilizzando la stessa tecnica di monitoraggio, nel 2013 si sono invece confrontate le catture avute in 12 porti con quelle ottenute in altrettanti siti di smaltimento di materiali legnosi, considerati come destinazione finale di parte degli imballaggi importati e potenzialmente infestati da specie esotiche.

Risultati e discussione

Nel 2012 sono state catturate complessivamente 14 specie esotiche (di cui 6 nuove per l'Italia) e 67 native di insetti xilofagi, per un totale di 40.374 esemplari, principalmente scolitidi. Il numero medio di specie esotiche per controllo è stato influenzato positivamente dal volume di merci importate annualmente, con catture maggiori nei porti più grandi. Lo stesso valore è risultato inoltre maggiore nei boschi di latifoglie circostanti il porto ($0,83 \pm 0,32$ ES) rispetto ai porti stessi ($0,12 \pm 0,06$ ES) e ai boschi di conifere ($0,11 \pm 0,05$ ES). Anche la composizione delle comunità di xilofagi esotici è risultata essere nettamente diversa tra porti e foreste circostanti. In generale, i risultati ottenuti nel 2012 hanno evidenziato l'efficacia del protocollo di monitoraggio utilizzato, e suggeriscono una sua applicazione sia all'interno che all'esterno del porto, concentrando gli sforzi di sorveglianza nei porti con maggior traffico di merci e nei boschi misti di latifoglie localizzati nei primi chilometri attorno a questi.

Nel 2013 sono state catturate complessivamente 8 specie esotiche e 69 native di insetti xilofagi. Sia il numero medio di individui che di specie esotiche catturate per sito è risultato significativamente maggiore nei siti di smaltimento di materiali legnosi rispetto ai porti. La composizione delle comunità di specie esotiche sono risultate essere molto simili nei due ambienti. I risultati del 2013

dimostrano come i porti e i siti di riciclo o smaltimento di materiali legnosi siano ambienti del tutto comparabili, suggerendo come questi ultimi possano essere utili punti di monitoraggio delle regioni dell'entroterra.

Conclusione

La creazione di una rete nazionale di monitoraggio permanente finalizzata all' intercettazione di specie esotiche, non solo di xilofagi, rappresenta ormai una necessità impellente. Il presente studio fornisce utili indicazioni sia sul protocollo da utilizzare sia sui siti in cui concentrare gli sforzi di sorveglianza fitosanitaria.

Bibliografia

- Brockerhoff E.G., Jones D.C., Kimberley M.O., Suckling D.M., Donaldson T., 2006 – Nationwide survey for invasive wood-boring and bark beetles (Coleoptera) using traps with pheromones and kairomones. *For Ecol Manag.* 228: 234-240.
- DAISIE., 2009 – Handbook of alien species in Europe. Springer, Dordrecht.
- Rassati D., Petrucco Toffolo E., Roques A., Battisti A., Faccoli M., 2014 – Trapping wood boring beetles in Italian ports: a pilot study. *J Pest Sci.* 87: 61-69.

Il popolamento a coleotteri coprofagi (Coleoptera: Scarabaeoidea) delle isole vulcaniche circumsiciliane e la dispersione antropocora

M. Tonelli¹, R. Agoglitta¹, H. Dawson², M. Zunino¹

¹ *Dipartimento di Scienze della Terra, della Vita e dell'Ambiente (DiSTeVA), Università degli Studi di Urbino "Carlo Bo".*

² *Cluster of Excellence TOPOI, Freie Universität Berlin.*

Introduzione

Sebbene sia stato ampiamente discusso (Morrone e Crisci, 1995 e bibliografia ivi citata) come in biogeografia le ipotesi di vicarianza debbano avere la priorità nei confronti di quelle di dispersione aleatoria, non suscettibili di tentativi di confutazione, per quanto riguarda le isole oceaniche, vulcaniche, è necessario il ricorso a ipotesi dispersaliste per tentare di interpretarne i popolamenti in termini storici.

Nell'ambito della fauna dell'arcipelago delle Eolie, Fattorini (2010), sebbene con alcuni risultati contrastanti, giunge alla conclusione che la fauna a coleotteri coprofagi si sia originata piuttosto recentemente e che le specie si siano stabilite sulle isole mediante un processo dispersivo di "Stepping Stone": le specie si sono disperse passando da un'isola alla successiva più vicina. Prendendo spunto dall'analisi di Fattorini (2010), seppur con una base di dati ampliata e un diverso approccio metodologico, abbiamo indagato il popolamento a coleotteri coprofagi delle isole vulcaniche circumsiciliane (Ustica, Eolie, Pantelleria, Linosa) nel tentativo di ricostruire le possibili rotte di dispersione e formulare ipotesi sui meccanismi coinvolti.

Materiali e metodi

Le isole considerate non sembrano avere mai avuto connessioni biogeografiche terrestri con aree continentali. Ammettendo una regressione marina pleistocenica di circa 150 m (Lambeck e Purcell, 2005) e considerando che tali isole sono residui di edifici vulcanici emersi separati da acque con profondità comprese fra i 400 e i 2000 m, possiamo escludere collegamenti interisola e con aree continentali (ad eccezione delle isole di Lipari e Vulcano, separate fra loro da acque con profondità < 50 m). Abbiamo quindi ritenuto lecito esplorare l'ipotesi che l'attuale popolamento di tali isole, e i relativi patterns di biodiversità, siano imputabili a processi di dispersione. Tale ipotesi implica, come retrodizione, che i flussi dispersivi siano avvenuti con maggiore probabilità fra le aree che oggi presentano una maggiore somiglianza faunistica, considerando anche la relativa omogeneità dal punto di vista eco-geografico. Sulla base del catalogo di tutte le specie risultate presenti nelle aree indagate, ogni coppia di aree è stata analizzata mediante l'uso di 4 indici di beta diversità: Kulczynski 2, Jaccard e i coefficienti di direzione della dispersione DD₁ e DD₂. Poiché ogni indice presenta una sensibilità diversa nei confronti dei dati, si è proceduto ad integrarli attraverso l'uso della "Non Metric Multidimensional Scaling" (NMDS). Considerando una qualsiasi isola vulcanica, l'area che più probabilmente ha svolto il ruolo di sorgente sarà quella a lei più vicina nello spazio statistico creato dalla NMDS.

Risultati e discussione

I risultati evidenziano le seguenti linee di dispersione:

Sicilia → (Vulcano); Vulcano → (Lipari, Stromboli); Lipari → (Ustica, Salina, Filicudi, Alicudi); Salina → (Panarea); Malta → (Pantelleria, Linosa).

Il nostro risultato sembra essere in linea con la storia delle colonizzazioni umane delle isole circumsiciliane, e quindi di eventi di dispersione antropocora. Tale idea è ben supportata dai dati archeologici disponibili: le attuali faune a scarabei coprofagi si sarebbero originate per dispersione mediata dalle prime comunità insulari, anche attraverso gli spostamenti di mammiferi, domestici e non, che queste trasportavano. Tale ipotesi è ulteriormente avvalorata dalla presenza in 8 delle 10

isole considerate (escluse Alicudi e Pantelleria) di *Thorectes intermedius*, una specie attera incapace di sopravvivere per lunghi periodi al contatto con acqua marina (Zunino, osservazioni inedite). È plausibile che le prime comunità isolane abbiano effettuato spostamenti anche frequenti di animali tra le isole, per sfruttare al meglio le risorse del territorio. Le distribuzioni rilevate sarebbero il risultato sia dello stanziamento in periodo preistorico di coloni umani con animali a seguito, sia dei collegamenti successivi tra le isole, che spiegherebbe la diffusione, probabilmente in periodo storico, da Malta verso Pantelleria e Linosa (Maslah, 2012). Sottolineiamo come, per Linosa e Pantelleria, siano necessari ulteriori analisi volte a considerare l'eventuale dispersione dal sud Mediterraneo (corroborata dalla presenza di specie a gravitazione africana come *Megatelus contractus*, *Calamosternus algericus* e *Onitis alexis ssp. septentrionalis*). Verosimilmente, l'esplorazione iniziale delle isole circumsiciliane ha seguito semplici criteri di distanza. Invece, la decisione di creare insediamenti stabili deve essere stata influenzata da altri fattori, quali la presenza di risorse idriche e di aree da pascolo e coltivabili (spesso in funzione delle dimensioni delle isole). La presenza di ossidiana a Lipari fu il fattore decisivo nel renderla luogo prescelto dai primi coloni: l'isola vanta una sequenza ineguagliata tra tutte le isole circumsiciliane, essendo stata abitata in modo continuo dal Neolitico (VI millennio AC) (Bernabò Brea, 1958). Le altre isole subirono espansioni e contrazioni demografiche, con numerosi episodi di abbandono e ricolonizzazione. Combinando i dati di dispersione e di colonizzazione si evince che il nostro modello smentisce il classico processo di "Stepping Stones" (da un'isola alla successiva più vicina) previsto dalla teoria della biogeografia insulare: dopo la colonizzazione iniziale, Lipari avrebbe svolto il ruolo di punto focale (nei confronti delle Eolie e Ustica) per le successive dispersioni, sia di insediamenti umani sia di animali sinantropici.

Conclusioni

I nostri risultati mettono in evidenza come, nel caso di elementi direttamente o indirettamente sinantropici, i soli parametri eco-geografici non bastino a spiegare i pattern di biodiversità in termini causali. Infatti le attività e gli spostamenti umani, pur essendo condizionati dalle variabili biogeografiche, non sottostanno strettamente al modello della biogeografia insulare poiché i parametri ambientali sono mediati culturalmente dalle comunità insulari (Dawson, 2014).

Bibliografia

- Bernabò Brea, L., 1958 - La Sicilia prima dei Greci. Il Saggiatore, Milano.
- Dawson, H., 2014 - Mediterranean Voyages. The Archaeology of island colonization and abandonment. Left Coast Press, Walnut Creek, CA.
- Fattorini S., 2010 - The influence of geographical and ecological factors on island beta diversity patterns. *J. Biogeogr.*, 37: 1061-1070.
- Lambeck K., Purcell A., 2005 - Sea-level change in the Mediterranean Sea since the LGM: model predictions for tectonically stable areas. *Quat. Sci. Rev.*, 24: 1969-1988.
- Maslah, A., 2012 - Migrazioni isolane nel canale di Sicilia tra 1843 e 1900. *Palaver*, 1: 83-98.
- Morrone J.J., Crisci J.V., 1995 - Historical biogeography: Introduction to methods. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 26: 373-401.

Le comunità di Psychidae come bioindicatori in ambienti forestali montani della Calabria (Lepidoptera)

S. Scalercio¹, E. Fezza², T. Bonacci²

¹ Consiglio per la Ricerca e la sperimentazione in Agricoltura, Unità di Ricerca per la Selvicoltura in Ambiente Mediterraneo, 87036 Rende (CS), Italia. E-mail: stefano.scalercio@entecra.it;

² Università della Calabria, Dipartimento di Biologia, Ecologia e Scienze della Terra, 87036 Rende (CS), Italia. E-mail: teresa.bonacci@unical.it

Introduzione

L'utilizzo di una comunità di insetti come bioindicatore è legato molto alla capacità di un gruppo tassonomico di reagire alle modificazioni ambientali qualunque origine esse abbiano attraverso il cambiamento della composizione qualitativa e/o quantitativa delle specie che la compongono. D'altra parte, il taxon deve avere anche una sua stabilità intrinseca per poter testimoniare l'assenza di dinamiche ambientali in atto. Al fine di testare le potenzialità di bioindicatori in ambiente forestale dei lepidotteri appartenenti alla famiglia degli Psychidae, sono state campionate le comunità rinvenibili in ambienti forestali della Catena Costiera Paolana (Calabria) a 13 anni di distanza da un precedente campionamento (Scalercio, 2004). Durante questo periodo e per un lungo periodo precedente al primo campionamento non si sono osservate sostanziali modifiche ambientali di origine antropica, permanendo con la stessa modesta intensità il pascolo e il prelievo di legname. Anche i dati climatici medi dei 5 anni precedenti i campionamenti risultano molto simili. A questa stabilità dell'ecosistema ci si attende che corrisponda una stabilità delle comunità.

Materiali e Metodi

Le comunità sono state campionate attraverso la raccolta degli astucci larvali su 10 guardrail della ex SS107 Paola-Crotone, da Passo Crocetta procedendo verso Paola ad una altezza compresa fra 800 e 950 metri di quota. La determinazione delle specie è stata effettuata attraverso lo studio degli astucci, delle pupe e, quando possibile, degli adulti sfarfallati in laboratorio. I confronti fra le due annualità di campionamento sono stati effettuati utilizzando gli indici di Sorensen (similarità qualitativa) e di Renkonen (similarità quantitativa) (vedi Scalercio et al., 2007).

Risultati e Discussione

I risultati hanno mostrato complessivamente un netto incremento del numero degli individui nel 2013 (Tab. 1), ma una sostanziale stabilità nelle loro abbondanze relative mostrando una similarità quantitativa dell'84.0%. Sette delle otto specie rinvenute nel 2000 sono state rinvenute anche nel 2013 (*Taleporia tubulosa* (Retzius 1783), *Taleporia defoliella* Constant 1785, *Bankesia conspurcatella* (Zeller 1850), *Proutia betulina* (Zeller 1839), *Psyche casta* (Pallas 1787), *Canephora hirsuta* (Poda 1761), *Luffia lapidella* (Goeze 1783)), mentre *Phalacropterix apiformis* (Rossi 1790) è stata rinvenuta solo nel 2000 con pochissimi esemplari. La similarità qualitativa fra i due campionamenti è stata dell'87.5%. A livello di stazioni di campionamento la stabilità è stata molto variabile. Infatti in otto stazioni è stata raggiunta una similarità quantitativa superiore al 75%, in tre una similarità compresa fra il 60 e il 65%, e in una stazione la similarità ha raggiunto appena il 47.3%. Tuttavia quest'ultima comunità, la cui differenza fra i due campionamenti è per intero imputabile al cambiamento di abbondanza di sole due specie, conserva intatta la capacità di differenziarsi dalle comunità ad essa meno simili, raggiungendo comparabili valori di similarità nel 2000 e nel 2013 (3 e 7% in un caso, 15 e 16% in un secondo caso, 26 e 33% in un terzo caso). In conclusione, la comunità complessiva ha mostrato una elevatissima stabilità e le singole comunità, pur raggiungendo livelli di stabilità variabili, hanno confermato le capacità discriminatorie fra habitat ben differenti. Si confermano le potenzialità degli Psychidae come buoni bioindicatori.

Tabella 1. Numero di astucci larvali raccolti sui 12 guardrails nel 2000 e nel 2013.

		guardrails												Totale
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
<i>Taleporia defoliella</i>	2013	88	106	118	78	93	48	3	2	6	0	0	0	597
	2000	223	205	43	12	79	16	6	8	4	0	0	0	596
<i>Taleporia tubulosa</i>	2013	5	17	26	17	47	15	11	15	18	32	15	11	387
	2000	3	17	2	6	22	8	1	1	9	23	7	14	113
<i>Psyche casta</i>	2013	2	6	27	27	35	19	59	34	79	149	19	82	1479
	2000	5	23	39	13	51	35	31	33	27	41	4	8	310
<i>Proutia betulina</i>	2013	11	20	17	28	24	15	30	0	20	24	2	1	284
	2000	25	11	26	12	19	2	22	9	11	6	0	0	143
<i>Bankesia conspurcatella</i>	2013	11	13	3	4	2	0	0	1	1	0	0	0	65
	2000	0	2	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	5
<i>Canephora hirsuta</i>	2013	0	0	0	0	0	1	1	0	4	0	0	4	29
	2000	0	0	0	0	0	0	0	2	2	4	0	2	10
<i>Luffia lapidella</i>	2013	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
	2000	0	0	0	0	0	1	2	0	0	1	0	0	4
<i>Phalacropterix apiformis</i>	2013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2000	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	4
Totale esemplari	2013	117	162	191	154	201	99	104	52	128	205	36	98	2842
	2000	256	258	110	43	171	63	62	54	55	77	11	25	1185

Bibliografia

- Scalercio S., 2004 - I guardrails stradali come mezzo di campionamento dei Lepidotteri Psichidi: risultati faunistico-ecologici in due aree campione della Catena Costiera Paolana (Calabria, Italia). Atti XIX Congresso nazionale italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002: 191-196.
- Scalercio S., Pizzolotto R., Brandmayr P., 2007 - Multi-scale analysis of butterfly diversity in a Mediterranean mountain landscape: mapping and evaluation of community vulnerability. *Biodiv. Conserv.*, 16: 3463-3479.

Relazione tra struttura genetica e clima nella zona di contatto tra due linee filogenetiche di processionaria del pino

M. Simonato¹, M. Elmokhefi², G. Chakali³, C. Burban⁴, C. Kerdelhué⁵, A. Battisti¹

¹ Università di Padova, DAFNAE – Entomologia, Agripolis - Viale dell'Università 16, 35020 Legnaro PD, Italia

² Laboratoire de Zoologie, Département Pré-Clinique, Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Hassan Badi, BP 161 El Harrach, 16200 Algérie

³ Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach -Alger, Algérie

⁴ INRA - Site Forêt Bois UMR BIOGECO, Équipe GEP – Pierroton 69, route d'Arcachon 33612 Cestas Cedex, France

⁵ INRA, CBGP, Campus International de Baillarguet, CS30016 F-34988 Montferrier-sur-Lez cedex, France

Introduzione

Le zone di contatto si riscontrano in aree in cui gruppi di individui geneticamente molto vicini ma distinti si incontrano e si riproducono, dando origine a discendenti di origine mista. L'ampiezza di queste zone dipende dal flusso genico e dall'intensità delle barriere riproduttive eventualmente presenti tra i *taxa* di origine. Queste aree possono essere pertanto utili per studiare meglio le forze che mantengono distinti *taxa* filogeneticamente molto simili. Negli insetti e in particolare nei Lepidotteri lo studio di queste zone ha evidenziato processi di adattamento a diverse condizioni ambientali e processi di speciazione dovuti a ibridazione.

In questo studio è stata presa in considerazione la zona di contatto tra due gruppi di popolazioni filogeneticamente molto vicini di uno dei principali defogliatori delle foreste nel bacino del Mediterraneo, la processionaria del pino *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Notodontidae). Il gruppo '*pityocampa*' comprende le popolazioni europee e dell'Africa nord-occidentale mentre il gruppo '*ENA*' (East-North Africa) include le popolazioni presenti nell'Africa nord-orientale, con la zona di contatto localizzata approssimativamente nella parte centrosettentrionale dell'Algeria. Molto simili a livello morfologico, i due gruppi presentano un differenziamento genetico mitocondriale simile a quello tra le diverse specie di processionaria (Kerdelhué et al., 2009). Scopo dello studio è stato quello di individuare e caratterizzare dal punto di vista genetico la zona di contatto tra i due gruppi mediante marcatori mitocondriali e nucleari (microsatelliti e AFLP). Data la mancanza di barriere geografiche che possano spiegare questo differenziamento, sono stati valutati altri fattori quali le piante ospiti e le condizioni climatiche.

Materiali e metodi

Sono state campionate inizialmente 16 popolazioni distribuite sull'areale della processionaria del pino in Algeria mediante la raccolta di ovature da *Pinus halepensis*, *Pinus pinaster* e *Cedrus atlantica*. Il DNA di 132 larve ottenute dopo la schiusa è stato estratto mediante un protocollo di *Salting-out*. È stato quindi amplificato e successivamente sequenziato un frammento del gene mitocondriale *cox2*. Dalla distribuzione degli aplotipi mitocondriali individuati è stato possibile determinare più in dettaglio la zona di contatto tra i due gruppi filogenetici *pityocampa* ed *ENA*. Si è proceduto quindi a un ulteriore campionamento di 135 individui da 9 popolazioni in un transetto di 35 km perpendicolare alla zona di contatto. Per questi campioni si è proceduto a un'analisi del DNA mitocondriale mediante PCR allele specifica. Gli stessi campioni, assieme ai campioni di 6 popolazioni esterne alla zona di contatto, sono stati analizzati con marcatori microsatelliti (11 loci) e AFLP (170 loci). L'analisi sui dati nucleari è stata condotta col software Structure. Sia sui dati mitocondriali che nucleari è stata condotta un'analisi della varianza (AMOVA) per valutare il ruolo di pianta ospite e clima nel differenziamento genetico osservato.

Risultati e discussione

Dall'analisi preliminare delle 16 popolazioni mediante il sequenziamento di un frammento di 650 bp del gene mitocondriale *cox2*, è stato possibile individuare una zona di contatto ben definita tra i due gruppi filogenetici nei pressi di Chr ea, vicino ad Algeri. Questa suddivisione   stata riconfermata a livello mitocondriale dal successivo campionamento sul transetto individuato nella zona di contatto. Dal punto di vista nucleare invece sono stati rilevati due gruppi genetici che per  non si sovrappongono con quelli individuati a livello mitocondriale. Dall'analisi AMOVA la varianza osservata a livello mitocondriale non   spiegata da nessuno dei fattori considerati (pianta ospite, clima, altitudine), mentre, per entrambe i marcatori nucleari,   significativa quando vengono considerati clima e altitudine. Le differenze genetiche osservate dal punto di vista nucleare e la mancata sovrapposizione con i gruppi genetici mitocondriali potrebbero essere dovute al differente grado di dispersione tra maschi e femmine in *T. pityocampa* ed essere legate all'adattamento a condizioni ambientali diverse.

La zona di contatto mitocondriale tra il gruppo *pityocampa* ed *ENA* coincide con la zona di contatto individuata nella stessa area anche per altri organismi (Guilerand e Madec, 2010) e sembra essere in relazione con il limite tra le zone bioclimatiche semi-arida e subumida. I cambiamenti climatici in atto sembrano essere coinvolti nel processo influenzando la distribuzione dei due cladi, in particolare favorendo l'espansione del gruppo filogenetico associato alle zone semi-aride (*pityocampa*), e portando invece all'isolamento del gruppo *ENA* alle quote pi  elevate (foreste di cedro dell'Atlante) dove permangono condizioni di relativa freschezza del clima.

Conclusioni

Per delineare meglio il quadro genetico della zona di contatto tra i gruppi mitocondriali *pityocampa* ed *ENA* sono necessari ulteriori approfondimenti. Stiamo estendendo perci  l'analisi dei marcatori nucleari a tutte le popolazioni campionate sull'areale di distribuzione algerino. Inoltre verranno considerati alcuni caratteri morfologici a supporto dell'associazione tra gruppi genetici nucleari e fattori ambientali.

Bibliografia

- Kerdelhu , C., Zane, L., Simonato, M., Salvato, P., Rousselet, J., Roques, A., Battisti, A. (2009) - Quaternary history and contemporary patterns in a currently expanding species. *BMC Evol. Biol.*, 9(1), 220.
- Guiller, A., & Madec, L. (2010) - Historical biogeography of the land snail *Cornu aspersum*: a new scenario inferred from haplotype distribution

Artropodi ematofagi in casa: quanti sono e loro interazione con la salute umana

M. Maroli

già Dirigente di ricerca, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Il Phylum Arthropoda, con oltre 700.000 specie, include zecche, acari ed insetti che svolgono un ruolo importante nella trasmissione di agenti infettivi per l'uomo, potendo essere loro stessi la diretta causa della malattia (es. acaro della scabbia), oppure essere indirettamente coinvolti, come la pulce, ospite intermedio di un verme, *Dipylidium caninum*. Malaria, leishmaniosi, febbre gialla, peste e tifo sono alcuni esempi di gravi e fatali malattie causate da agenti infettivi veicolati dagli artropodi. Nella diffusione di tali patologie l'artropode può avere un ruolo di vettore meccanico ("passivo") o di vettore biologico ("attivo"). Inoltre molte specie, sia della classe Insecta che Aracnida, pur non essendo coinvolte nella trasmissione di agenti infettivi, possono essere all'origine di fastidiose e ripetute aggressioni per l'uomo a causa della loro ematofagia. Nella presente nota saranno sinteticamente trattate alcune specie di Artropodi che possono interagire con la salute dell'uomo in ambiente domestico. In particolare verranno prese in esame le diverse reazioni cutanee che possono insorgere dopo la puntura di Acarina (zecche ed acari), Rhynchota (cimici), Siphonaptera (pulci) e alcune specie di Ditteri ematofagi.

L'attuale modello edilizio ed il contenimento dei consumi energetici hanno imposto un sempre maggiore isolamento dei nostri edifici abitativi. Il risultato di questo modello edilizio ha comportato purtroppo l'insorgere di problematiche relative ad un deficit di ricambio d'aria all'interno delle dimore con la conseguente necessità del condizionamento dell'aria. Tutto questo ha favorito la creazione di micro-ambienti idonei alla proliferazione di numerosi artropodi infestanti. Si possono avere così infestanti nei diversi ambienti che caratterizzano la dimora dell'uomo quali soffitta, dispensa, cucina, camera da letto, soggiorno e polvere domestica. Tuttavia, la presenza di infestanti in questi ambienti è correlata, non solo alle caratteristiche dell'immobile ed alla natura dei materiali utilizzati (pannelli isolanti, rivestimenti, arredi, ecc.), ma anche, e soprattutto, allo "stile di vita" degli inquilini.

Le specie infestanti della casa sono tante e possono essere raggruppate in due grosse categorie: (i) "molesti", in quanto basta solo la loro presenza per arrecare fastidio alle attività umane e (ii) "parassiti" ovvero infestanti che possono arrecare danni a manufatti e persone. Fra i parassiti vi sono quelli che attaccano l'uomo, gli animali domestici, gli alimenti, il legno, la carta, gli indumenti. Vi sono poi altre due particolari categorie essendo la prima costituita dai "parassitoidi", ovvero i predatori di insetti e la seconda, che potremmo definire infestanti "indifferenti" che non fanno danni in casa, dove entrano alla ricerca di particolari temperature ed umidità, oppure solo accidentalmente.

Inoltre, in riferimento al tema del Congresso, "gli infestanti domestici" quali Blatte, Formiche, Mosche, Tarli, Tarme, Termiti, Tisanuri, Coleotteri e Lepidotteri della dispensa interagiscono con l'ecosistema casa mentre Acari, Zecche, Ditteri ematofagi, Cimici, Parassitoidi del tarlo del legno e Pulci hanno un'interazione diretta con la salute dell'uomo.

In questi ultimi tempi accade di frequente di ricevere richieste di consulenza del tipo "aiuto ho la casa invasa dagli insetti". Quasi sempre non si è nelle condizioni di poter effettuare un sopralluogo per monitorare "a vista" o mediante trappole l'infestante all'origine della richiesta di aiuto. Allora può essere utile seguire un modello di procedura operativa per tentare di arrivare alla identificazione dell'infestante sulla base delle informazioni che il nostro richiedente è in grado di fornire. Fatte salve alcune conoscenze di base sull'infestante da "identificare", quali ecologia e ciclo di sviluppo, è utile verificare una serie di variabili che possono indirizzare alla determinazione dell'insetto causa della richiesta di aiuto.

Di seguito un elenco delle principali variabili sulle quali indagare. Fra queste bisogna accertare: (i) se abita in zona urbana o rurale, (ii) se ha zanzariere a maglia “fitta a porte e finestre”, (iii) se ha animali in casa, (iv) se ha visto gli insetti, (v) se sì, quando, di giorno o di notte, (vi) se è stato punto, (vii) se si è sentito pungere, (viii) se ha reazioni cutanee alla puntura, (ix) se è stato in ambienti a rischio “infestanti” nei giorni precedenti. La combinazione di più variabili (esclusione e/o inclusione) può essere d’aiuto ad ipotizzare la presenza di un determinato infestante.

Fra le infestazioni più comuni, ed attualmente anche più importanti che interagiscono con la salute dell’uomo in ambiente domestico e non solo, vi sono quelle dovute (i) alla cimice dei letti, (ii) alla pulce; (iii) ai parassitoidi dei tarli del legno (*Pyemotes ventricosus* e *Sclerodermus domesticus*); (iv) alla zecca del piccione.

Cimice del letto

La cimice dei letti (*Cimex lectularius*) in questi ultimi tempi viene ritrovata sempre più di frequente in abitazioni private, alberghi, pensioni e mezzi di trasporto. Fra i motivi della sua “ricomparsa” vi sono il continuo aumento dei viaggi internazionali e probabilmente le frequenti difficoltà incontrate in alcuni casi nel controllare con rapidità ed efficacia l’infestazione. Per le cimici non è stato dimostrato alcun ruolo vettore di patogeni per l’uomo. Sono causa tuttavia di notevole molestia a causa delle loro punture che, oltre ad essere irritanti, sono anche fonte d’infezioni secondarie a seguito del continuo grattamento.

Pulce

Le pulci con cui l’uomo viene più di frequente in contatto sono le pulci del gatto (*Ctenocephalides felis*) e le pulci del cane (*Ctenocephalides canis*); meno diffuse sono le pulci dell’uomo (*Pulex irritans*). Le pulci rivestono importanza medica e veterinaria per due motivi: (i) le loro punture possono causare una dermatite dovuta alla reazione allergica nei confronti degli antigeni presenti nella loro saliva; (ii) trasmettono importanti malattie infettive per l’uomo.

Zecca del piccione

La presenza dei colombi nelle aree urbane non solo è fonte di danni estetici quali, degrado di piazze, chiese, statue e palazzi, ma crea sempre più spesso gravi problemi igienico-sanitari. Il colombo, infatti, può essere infestato da *Argas reflexus* (Acari: Argasidae), nota come zecca del piccione. Sempre più frequenti sono le segnalazioni di abitazioni letteralmente invase da questa zecca con aggressioni all’uomo. La sua puntura può dare origine a reazioni anafilattiche gravi dovute all’alto potere allergizzante che possono portare fino allo shock anafilattico.

Parassitoidi dei tarli del legno

Alcuni parassitoidi vivono a spese delle larve del tarlo. Fra questi i più comuni sono *Pyemotes ventricosus* e *Sclerodermus domesticus* che quando non trovano insetti xilofagi da parassitare si rivolgono all’uomo provocandogli con la puntura, nel caso dello scleroderma dolorosissima, un fortissimo prurito localizzato.

Biologia, ecologia e distribuzione di *Aedes koreicus* (Diptera: Culicidae), una nuova specie invasiva per l'Italia

F. Montarsi¹, S. Ciocchetta¹, S. Martini², A. Drago², S. Carlin¹, S. Cazzin¹, F. Russo³, G. Capelli¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio di Parassitologia, 35020 Legnaro (PD), Italia, E-mail: fmontarsi@izsvenezie.it;

² Entostudio snc, 35020 Brugine (PD), Italia. E-mail: martini@entostudio.com;

³ Regione Veneto, Settore Promozione Sviluppo Igiene e Sanità Pubblica, 30123 Venezia, Italia. E-mail: francesca.russo@regione.veneto.it.

Introduzione

Nel corso di un piano di sorveglianza per la diffusione della zanzara tigre in Veneto, nel 2011 è stata segnalata per la prima volta in Italia (Prov. di Belluno) una nuova specie esotica: *Aedes (Finlaya) koreicus* (Edwards) o zanzara coreana (Capelli *et al.*, 2011). Da allora è in corso un piano di monitoraggio per valutarne la distribuzione sul territorio, la numerosità e l'impatto socio-sanitario sulla popolazione (Montarsi *et al.*, 2013). Poiché le informazioni sulla sua biologia ed ecologia sono scarse e riferibili solo al suo areale di origine (sud-est asiatico), sono stati condotti studi di campo ed in laboratorio per conoscere meglio questi aspetti in un territorio di nuova colonizzazione.

Materiali e metodi

Da maggio 2011 fino al 2013 sono stati effettuati campionamenti nella provincia di Belluno e nelle aree limitrofe delle province di Vicenza, Treviso e Trento (da marzo a novembre nel 2012 e 2013). Il monitoraggio è stato eseguito ricercando attivamente i possibili siti di sviluppo larvale e posizionando trappole tipo BG Sentinel© e CDC con CO₂ ed ovitrappole per la ricerca rispettivamente di adulti e uova. Sono state monitorate sia aree pubbliche che private. In aggiunta sono stati catturati esemplari adulti mediante un aspiratore. Gli adulti ingorgati di sangue sono stati analizzati con metodiche molecolari per determinare il DNA del sangue dell'ospite (Alcaide *et al.*, 2009).

Presso l'IZS è stato allestito un insettario per allevare *Ae. koreicus* e studiarne la biologia in condizioni controllate. Sono stati condotti studi per determinare la preferenza d'ospite fornendo diversi tipi di sangue mediante un alimentatore artificiale.

Risultati e discussione

In totale sono stati monitorati 95 comuni e 43 sono risultati positivi per *Ae. koreicus* (pari al 45,3%). La zanzara risulta presente in tutte le province monitorate in un intervallo altitudinale compreso tra 192 e 1.250 m s.l.m. I siti monitorati e gli habitat larvali sono riportati in tabella (Tab. 1). La zanzara coreana è stata trovata nel 37,7% dei siti campionati ed i principali habitat larvali (con una unità campionaria >10) sono stati i contenitori artificiali (50,0%). *Aedes koreicus* è risultata spesso essere l'unica specie presente (71% dei casi) e più raramente è stata osservata la coesistenza con altre specie. Nei comuni dove era presente sia *Ae. koreicus* che *Ae. albopictus* la prima è risultata più abbondante tra i 400 ed i 600 m s.l.m, mentre la seconda sotto i 200 m di altitudine. Larve di *Ae. koreicus* sono state trovate da marzo fino a fine ottobre. Sono state catturate 23 zanzare replete ed il sangue è risultato appartenere in gran parte all'uomo (n=22) ad eccezione di un pasto su bovino.

In laboratorio *Ae. koreicus* sembra essere meno aggressiva della zanzara tigre e la reazione alla puntura è meno pruriginosa. Anche se è stata alimentata con successo con sangue di diversi animali (cane, pecora, pollo e tacchino) il sangue umano è stato comunque il più gradito.

Tabella 1. Tipi di sito monitorati e positivi per la presenza di *Aedes koreicus* (tabella a sinistra) e tipi di habitat larvale monitorati e positivi per la presenza di *Aedes koreicus* (tabella a destra).

Tipi di sito	Positivi/monitorati per <i>Ae. koreicus</i>	Siti larvali	Positivi/monitorati per <i>Ae. koreicus</i>
Cimiteri	20/100 (20%)	Vasi cimiteri	16/92 (17.4%)
Vivai	13/19 (68.4%)	Contenitori artificiali	41/82 (50%)
Giardini privati	16/33 (48.5%)	Caditoie	18/43 (41.9%)
Parchi pubblici	2/8 (25%)	Pozze naturali	3/6 (50%)
Riv. pneumatici	4/8 (50%)	Pneumatici	4/9 (44.4%)
Strade/Piazze	28/48 (58.3%)	Fontane	5/8 (62.5%)
Depositi	4/5 (80%)	Ovitrappole	15/21 (71.4%)
Abitazioni/Fabbricati	6/11 (54.5%)	Letamai	0/1 (0.0%)
Allevamenti	2/6 (33.3%)	Buchi alberi	0/1 (0.0%)
Boschi	2/3 (66.7%)	Totale	102/263 (38.8%)
Totale	87/231 (37.7%)		

Conclusioni

Aedes koreicus è attualmente presente in quattro province del Nord-Est Italia ed il suo areale sembra in espansione. È una specie con biologia simile ad *Ae. albopictus* ma più resistente alle basse temperature; per questo motivo è attiva sin dal mese di marzo ed ha colonizzato le aree montane-pedemontane superando comunque quote oltre i 1000 m s.l.m. Il suo ospite preferito è l'uomo.

Bibliografia

- Alcaide M., Rico C., Ruiz S., Soriguer R., Muñoz J., Figuerola J. 2009 - Disentangling vector-borne transmission networks: a universal DNA barcoding method to identify vertebrate hosts from arthropod bloodmeals. PLoS One. 4(9):e7092.
- Capelli G., Drago A., Martini S., Montarsi F., Soppelsa M., Delai N., Ravagnan S., Mazzon L., Schaffner F., Mathis A., Di Luca M., Romi R., Russo F. 2011 - First report in Italy of the exotic mosquito species *Aedes (Finlaya) koreicus*, a potential vector of arboviruses and filariae. Parasit Vectors. 4:188.
- Montarsi F., Martini S., Dal Pont M., Delai N., Ferro Milone N., Mazzucato M., Soppelsa F., Cazzola L., Cazzin S, Ravagnan S., Ciocchetta S., Russo F., Capelli G. 2013 - Distribution and habitat characterization of the recently introduced invasive mosquito *Aedes koreicus* [*Hulecoeteomyia koreica*], a new potential vector and pest in north-eastern Italy. Parasit & Vectors. 6:292.

Sorveglianza entomologica per West Nile Disease in Sardegna nel 2013

C. Foxi¹, G. Puggioni¹, S. Rolesu¹, S. Cappai¹, G. Meloni¹, G. Vento¹, R. Rossi¹,
A.M. Rocchigiani¹, G. Savini², M. Goffredo², G. Satta¹

¹ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Sardegna, E-mail: cipriano.foxi@gmail.com

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise

Introduzione

La West Nile Disease (WND) è una zoonosi causata da un arbovirus, trasmessa da zanzare, che causa forme di meningo-encefalite negli uccelli, sia selvatici che domestici, negli equidi e nell'uomo (Smithburn *et al.*, 1940). In Europa il vettore maggiormente competente è *Culex pipiens* (Hubalek, 2000). Tutti gli isolati da malattia grave in uccelli, equidi ed uomo sono ascrivibili al *lineage 1* e al *lineage 2*, altamente virulenti e neuro invasivi. Ceppi appartenenti ad altri *lineage*, al contrario, sono caratterizzati da scarsa patogenicità (Bakonyi *et al.*, 2006). A partire dal 2002 in Italia è stato predisposto un piano di sorveglianza nazionale per WND. Il piano prevede la sorveglianza entomologica, il controllo di animali sentinella e la sorveglianza sulle cause di mortalità nell'avifauna selvatica. La sorveglianza entomologica ha l'obiettivo di definire le specie di culicidi responsabili della trasmissione virale, individuare il periodo dell'anno di maggior abbondanza di tali specie e valutare l'overwintering delle zanzare e del virus all'interno delle stesse.

Gli autori presentano i risultati di un anno di sorveglianza entomologica utili ad implementare le conoscenze sulle specie di zanzare responsabili della trasmissione del West Nile Virus (WNV) in Sardegna.

Materiali e metodi

In seguito all'individuazione a fine estate 2011 di casi clinici in cavalli, avifauna e uomo, il territorio regionale, a partire dal 2012, è stato diviso in due aree: Area a Circolazione Virale (ACV) comprendente il territorio in cui negli anni passati è stata rilevata circolazione virale, e Area Esterna (AE) comprendente tutto il territorio regionale non incluso nell'ACV. Sono state individuate 10 aziende nell'ACV e 25 nell'AE (Fig. 1). Nelle aziende situate nell'ACV le zanzare sono state rilevate con le trappole: a) CDC Light Trap, b) BG Sentinel e c) Gravid Trap; nelle aziende ricadenti nell'AE sono state utilizzate solo le trappole CDC Light Trap e BG Sentinel. Le catture sono state effettuate per tutto il 2013 a cadenza mensile, per due giorni e due notti consecutive.

La presenza del virus negli insetti è stata accertata mediante Real Time RT-PCR che identifica un frammento di RNA virale specifico per i *lineage 1* e *2*. Le zanzare catturate sono state distinte in base alla specie, al sesso, e le femmine a loro volta in ingorgate e non, a seconda della presenza o dell'assenza del pasto di sangue nell'addome. Per ciascuna delle tre categorie sono stati creati pool composti da un massimo di 50 individui distinti per località e data di cattura.

Risultati e conclusioni

Nel 2013 sono state effettuate complessivamente 824 catture che hanno consentito di rilevare la presenza di 9.808 culicidi. Sono state identificate 17 specie, delle quali 2 appartenenti alla sottofamiglia Anophelinae e al genere *Anopheles* e 15 alla sottofamiglia Culicinae e più precisamente ai generi *Aedes*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Culiseta*, *Ochlerotatus* e *Uranotaenia*. La CDC Light Trap è risultata la trappola maggiormente attrattiva con oltre il 90% delle zanzare catturate. Le specie più numerose sono state *Culex pipiens* con il 33% dei culicidi catturati, *Ochlerotatus caspius* con il 24% (Fig. 2). *Culex pipiens* è stata presente tutto l'anno con popolazioni abbondanti da aprile ad ottobre e un picco nel mese di giugno. Questa specie, fortemente antropofila e ornitofila, è ritenuta il principale vettore del WNV in Italia e nel bacino del Mediterraneo (Autorino *et al.*, 2002). *Ochlerotatus caspius* è risultata assente solo nei mesi di gennaio e febbraio con un

picco di abbondanza nel mese di luglio. È considerata una potenziale specie vettrice in considerazione di isolamenti virali in alcuni esemplari in Inghilterra (Higgs *et al.*, 2004). Sono stati sottoposti ad analisi biomolecolare 1015 pool ed è stata rilevata la presenza del virus, identificato come appartenente al *lineage 2*, in due pool di zanzare catturate dalla CDC Light Trap nel comune di Olbia. Entrambi i pool positivi erano costituiti da femmine non ingorgate appartenenti alla specie *Cx. pipiens*. Il primo era composto da 7 esemplari catturati la prima settimana di settembre e il secondo da 2 femmine catturate la seconda settimana di ottobre. Le indagini hanno confermato la capacità vettoriale di *Cx. pipiens* in Sardegna. Le osservazioni entomologiche condotte nel 2013 hanno contribuito ad acquisire una maggiore conoscenza della fauna culicidica, hanno consentito di rilevare alcune caratteristiche biologiche di molte specie di zanzare e di individuare le specie responsabili della trasmissione del WNV e i potenziali vettori che possono svolgere ruoli differenti nella epidemiologia della malattia.

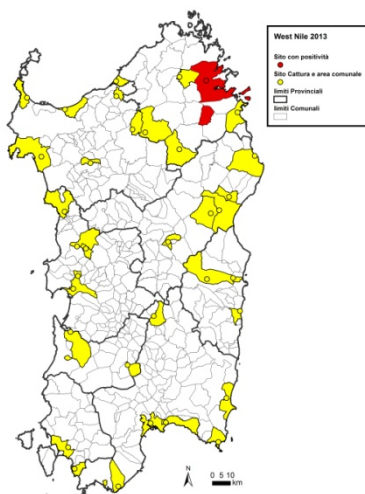


Figura 1. Localizzazione delle trappole

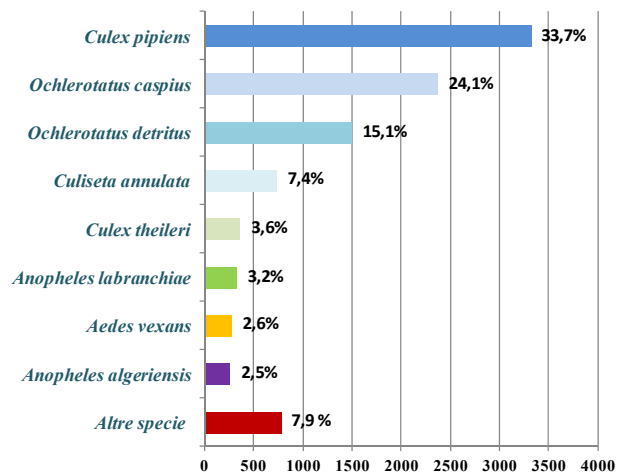


Figura 2. Composizione della fauna culicidica catturata.

Bibliografia

- Autorino G.L., Battisti A., Deubel V., Ferrari G., Forletta R., Giovannini A., Lelli R., Murri S., Scicluna M.T., 2002 - West Nile virus epidemic in horses, Tuscany region, Italy. *Emerg. Infect. Dis.* 8: 1372-1378.
- Bakonyi T, Ivanics É, Erdélyi K, Ursu K, Ferenczi E, Weissenböck H, Nowotny N., 2006 - Lineage 1 and 2 strains of encephalitic West Nile Virus, central Europe. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 618-623.
- Higgs S., Snow K., Gould E.A., 2004 - The potential for West Nile virus to establish outside of its natural range: a consideration of potential mosquito vectors in the United Kingdom. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98: 82-87.
- Hubalek Z., 2000 - European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: could it be relevant for the New World?. *Viral Imm.* 13: 415-426.
- Smithburn K.C., Hughes T.P., Burke A.W., Paul J.H., 1940 - A neotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *Am. J. Trop. Med.* 20: 471-492.

Indagine sulla fauna culicidica nel porto di Civitavecchia

L.Toma¹, F. Severini¹, M. Di Luca¹, D. Boccolini¹, V.Laghezza-Masci², G. Buzzi², A. Pautasso³, A. M.Fausto², R.Romi¹

¹ Dipartimento di Malattie infettive Parassitarie e Immunomediate – Istituto Superiore di Sanità-Roma.

² Dipartimento per la Innovazione dei Sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali - Università degli Studi della Tuscia - Viterbo.

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta. SC Neuroscienze-Lab Neuropatologia Centro di Referenza per le TSE – Torino.

Introduzione

La rapida diffusione di *Aedes albopictus* in Italia, l'episodio di Chikungunya in Emilia Romagna nel 2007 e l'epidemia di West Nile Disease tutt'ora in corso in varie regioni del paese, rafforzano sempre di più la necessità di una sorveglianza attiva sulla presenza delle specie di zanzare (Romi *et al.*, 2008). La varietà ambientale delle nostre regioni potrebbe di nuovo offrire l'habitat adatto anche per la specie *Aedes aegypti*, vettore dei virus di Dengue e Febbre gialla e molto simile alla zanzara tigre per aspetto e abitudini. Le grandi aree portuali sono da considerarsi come una delle possibili vie d'ingresso di nuove specie e/o di patogeni potenzialmente pericolosi per la salute umana, data l'intensa circolazione di merci e persone (Toma *et al.*, 2011).

Per questo, nel Porto di Civitavecchia mediante l'autorizzazione e la collaborazione dell'Autorità Portuale, sono state condotte ricerche volte a raccogliere informazioni dettagliate sulla presenza e distribuzione di zanzare, nell'ambito di un progetto finanziato dalla Fondazione CARICIV dal 2010 al 2012. Dal 2013 ad oggi, grazie ad una convenzione con l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta è stato possibile proseguire tale attività grazie al finanziamento del Progetto IZSPLV 04/11 RC finanziato dal Ministero della Salute, che supporterà i lavori fino alla fine della stagione 2014.

Materiali e metodi

La ricerca è stata condotta in tre siti dell'area portuale di Civitavecchia, dove l'attività di campo è consistita nella gestione di 3 trappole ad aspirazione BG sentinel® (una per ciascun sito) per la cattura massiva delle zanzare. Inoltre presso ciascun sito è stata collocata anche un'ovitrappola per la raccolta delle uova di specie del genere *Aedes*, con lo scopo di quantificare la presenza della zanzara tigre e con l'intento di verificare la possibile presenza di altre specie simili come *Ae. aegypti*.

La gestione dei due tipi di trappola è stata effettuata con cadenza mensile a partire da aprile fino a ottobre 2013. Le zanzare sono state identificate a livello morfologico e le uova raccolte con le ovitrappole sono state immerse per la chiusura; le larve sono state mantenute fino allo sfarfallamento per l'identificazione morfologica degli adulti. Tutti i dati raccolti sono stati confrontati con l'andamento di temperatura media, umidità relativa e precipitazioni.

Risultati e discussione

Dall'inizio dell'attività fino ad oggi, sono state catturate 2448 zanzare appartenenti a 3 specie: *Ae. albopictus* (n=1441; 59%), *Culex pipiens* (n=947; 39%) e *Culiseta longiareolata* (n=60; 2%). Le due specie prevalenti *Ae. albopictus* e *Cx. pipiens* sono quelle più comuni e di maggior interesse sanitario; mentre la minore abbondanza di *Cs. longiareolata* potrebbe essere imputabile ad una minore disponibilità di condizioni adatte allo sviluppo larvale. L'esame delle zanzare provenienti dalla schiusa delle uova raccolte non ha rilevato la presenza di specie diverse da *Ae. albopictus*.

Conclusioni

I dati raccolti confermano per l'area portuale di Civitavecchia, una fauna culicidica composta essenzialmente da *Ae. albopictus* e *Cx. pipiens*. La raccolta delle uova con le ovitrappole ha confermato la massiccia presenza della zanzara tigre praticamente in tutti i siti studiati per cui si ritiene di fondamentale importanza continuare a condurre la sorveglianza entomologica attualmente in corso.

Bibliografia

- Romi R., Toma L., Severini F., Di Luca M., 2008 - Twenty Years of the presence of *Aedes albopictus* in Italy – From the Annoying Pest Mosquito to the Real Disease Vector. *Eur. Infect. Dis.* 2:98-101.
- Toma L., Di Luca M., Severini F., Boccolini D., Romi R., 2011 - *Aedes aegypti*: risk of introduction in Italy and strategy to detect the possible re-introduction. *Veterinaria Italiana. Collana di monografie.* 23:18-26.

Distribuzione delle forme biologiche di *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Italia

M. Di Luca¹, L. Toma¹, D. Boccolini¹, F. Severini¹, G. Bongiorno¹, F. Montarsi², G. Capelli², D. Arnoldi³, A. Rizzoli³, G. Mancini⁴, M.A. Cafiero⁴, R. Romi¹

¹ Dip. Malattie Infettive, Parassitarie ed Immunomediate, Istituto Superiore di Sanità, Roma; e-mail: marco.diluca@iss.it;

² Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro (PD);

³ Dip. Biodiversità ed ecologia molecolare, Fondazione Edmund Mach, S. Michele all'Adige (TN);

⁴ Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, Foggia.

Introduzione

Le specie nel complesso *Culex pipiens* sono distribuite in tutto il mondo e sono efficienti vettori di vari arbovirus, come il virus della West Nile (WNV), agente di una forma di encefalite equina (Farajollahi *et al.*, 2011). Mentre alcune specie del complesso presentano una distribuzione più localizzata, *Culex pipiens* e *Culex quinquefasciatus* risultano ubiquitarie: la prima infatti occupa ampie aree dell'emisfero boreale, mentre la seconda è presente nell'emisfero australe. In alcune regioni i due areali hanno ampie zone di sovrapposizione e le due specie possono incrociarsi, dando luogo a progenie ibrida.

La sistematica e la tassonomia dei membri del complesso è ancora oggetto di controversie per la difficoltà di distinguere morfologicamente i vari taxa. A complicare la faccenda, secondo molti Autori la specie nominale del complesso comprende due differenti forme biologiche o biotipi, indistinguibili morfologicamente, ma con caratteri ecologici peculiari. La forma *pipiens*, strettamente ornitofila, vive e si riproduce in ambiente rurale, ha necessità dell'apporto proteico del pasto di sangue per ogni ciclo gonotrofico e le femmine gravide, al termine della stagione favorevole, sono soggette a diapausa invernale. Al contrario la forma *molestus* punge preferenzialmente i mammiferi, incluso l'uomo, vive in focolai larvali sotterranei (naturali o antropici), dove ha un ciclo di sviluppo continuo e può deporre le prime uova senza pasto di sangue. Teoricamente gli ibridi di queste due forme, per il loro comportamento intermedio e generalista, potrebbero agire da vettore-ponte nella trasmissione del WNV. L'ibrido infatti sarebbe in grado di trasferire direttamente il virus dal ciclo selvatico, mantenuto dalla forma *pipiens* tra specie aviarie migratorie e stanziali, ad ospiti mammiferi suscettibili (cavallo e/o uomo), sia agendo come vettore principale, sia integrando l'azione della forma *molestus*.

Per determinare la distribuzione e la composizione delle specie del complesso, è stato avviato uno studio su oltre 40 popolazioni italiane di *Cx. pipiens* s.l., raccolte tra il 2003 e il 2013 in diverse località, utilizzando due diversi marcatori molecolari per l'analisi genetica. Inoltre, alcune popolazioni sono state allevate per diverse generazioni in insettario per valutare nel tempo eventuali variazioni delle caratteristiche fisiologiche e comportamentali.

Materiali e Metodi

Per l'analisi molecolare sono stati processati in media 20 esemplari per popolazione utilizzando inizialmente il test dell'ACE (Smith e Fonseca, 2004), che ha permesso di escludere dal campionamento la presenza di *Culex torrentium*, altra specie criptica del complesso. Successivamente, il test del CQ11 (Bahnck e Fonseca, 2006), che rileva un polimorfismo nella regione 5' fiancheggiante l'omonimo microsatellite, è stato in grado non solo di differenziare le due forme biologiche, ma anche di evidenziare gli ibridi.

Risultati e Discussione

A differenza di quanto riportato per l'Europa centro-settentrionale (Hesson *et al.*, 2011), i nostri risultati mostrano che nella maggior parte delle popolazioni analizzate (54,5%), le due forme

parentali e gli ibridi convivono nello stesso ambiente a frequenze diverse, mentre popolazioni pure e isolate delle forme *pipiens* o *molestus* risultano estremamente rare (2,3% e 4,5%, rispettivamente). In assenza di ibridi, le due forme biologiche si trovano in associazione nel 9,1% delle popolazioni, mentre gli ibridi sono in simpatria con *pipiens* o *molestus* rispettivamente nel 20,4% e 9,1% dei casi.

L'analisi dei fattori etologici delle colonie di *Cx. pipiens* mantenute per diverse generazioni in insettario mostra una relazione solamente tra la composizione genetica di ciascuna popolazione e la capacità autogenica di deporre senza pungere su un ospite. Infatti questa caratteristica risulta assente nelle popolazioni in cui è presente solo la forma *pipiens*, mentre si manifesta laddove siano presenti ibridi e/o esemplari di *molestus*, risultando tanto più marcata all'aumentare di questi ultimi.

Conclusioni

Dal 2008 la malattia della WN si è diffusa in Italia, acquisendo un andamento a carattere endemico, con casi clinici sia negli equidi che negli umani. Vista la plasticità in termini etologici ed ecologici della specie *Cx. pipiens*, discriminare le due forme e gli ibridi diventa condizione imprescindibile e focale, non solo per studi ecologici ed epidemiologici, ma soprattutto per pianificare e avviare tempestivamente strategie di salute pubblica e di controllo vettoriale. A questo scopo risulta necessario approfondire l'analisi stagionale delle popolazioni naturali di questa specie per verificarne la composizione genetica nello spazio e nel tempo. Ciò permetterebbe di evidenziare, qualora ci fosse, la diversa insorgenza stagionale delle forme parentali e degli ibridi per capire se può essere messa in relazione alle diverse fasi della trasmissione del virus.

Bibliografia

- Farajollahi A., Fonseca D. M., Kramer L. D., Kilpatrick A. M. 2011 - "Bird biting" mosquitoes and human disease: a review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect Genet Evol.* 11(7): 1577-1585.
- Smith J. L., Fonseca D. M., 2004 - Rapid assays for identification of members of the *Culex* (*Culex*) *pipiens* complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera: Culicidae). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70(4): 339-345.
- Bahnck C. M., Fonseca D. M., 2006 - Rapid assay to identify the two genetic forms of *Culex* (*Culex*) *pipiens* L. (Diptera: Culicidae) and hybrid populations. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 75(2): 251-255.
- Hesson J. C., Östman Ö., Schäfer M., Lundström J. O. 2011 - Geographic distribution and relative abundance of the sibling vector species *Culex torrentium* and *Culex pipiens* in Sweden. *VBZD.* 11, 1383–1389.

Questa ricerca è stata finanziata dal EU grant HEALTH.2010.2.3.3-3 project 261391 EuroWestNile.

***Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) vettori del virus della Bluetongue in Sardegna**

C. Foxi, G. Delrio, G. Falchi, M.G. Marche, L. Ruiiu

Università di Sassari, Dipartimento di Agraria, E-mail: cfoxi@uniss.it

Introduzione

A partire dal 2000 diverse ondate epidemiche di Bluetongue (BT) hanno colpito la Sardegna determinando la morte di oltre 500.000 pecore. Il vettore riconosciuto del virus della Bluetongue (BTV) in Sardegna è *Culicoides imicola* (Goffredo *et al.*, 2001), mentre in altre regioni d'Italia anche *C. pulicaris* e l'Obsoletus complex sono considerati potenziali vettori (Caracappa *et al.*, 2003; De Liberato *et al.*, 2005). Queste specie e altre, fra cui *C. newsteadi* e *C. punctatus*, che frequentemente vengono catturate con popolazioni abbondanti negli allevamenti zootecnici, potrebbero svolgere un importante ruolo nella diffusione della malattia (Foxi *et al.*, 2011). Durante recenti focolai epidemici di BT in Sardegna è stato effettuato uno studio molecolare per accertare la presenza di BTV nelle femmine di *Culicoides* allo scopo di valutare il potenziale delle diverse specie nella trasmissione della malattia.

Materiali e metodi

In 4 allevamenti ovinii con focolai attivi di BT della Sardegna sono state effettuate catture settimanali di adulti di *Culicoides* con trappole luminose a suzione in novembre e dicembre 2012 e da aprile a giugno 2013. Gli adulti catturati sono stati determinati su base morfologica e le specie appartenenti all'Obsoletus complex e le forme chiara (A) e scura (B) di *C. newsteadi* sono state identificate anche geneticamente mediante amplificazione e sequenziamento di geni specifici (Gomulski *et al.*, 2006). Le analisi molecolari per il rilevamento di BTV sono state effettuate su gruppi di 1-30 femmine delle specie più abbondanti catturate nella stessa data e località. Le analisi hanno riguardato esclusivamente le femmine con addome pigmentato, che avevano effettuato almeno un'ovideposizione e in cui il virus, assunto con un precedente pasto di sangue infetto, si era presumibilmente moltiplicato nelle ghiandole salivari. La positività al virus è stata rilevata attraverso l'estrazione del RNA totale, retrotrascrizione e amplificazione del segmento 2 del virus (RT-PCR) utilizzando coppie di primers sierotipo-specifiche (Maan *et al.*, 2012). Per ulteriore conferma della positività, alcuni ampliconi sono stati purificati e sottoposti a sequenziamento.

Risultati e Conclusioni

Fra le 15 specie di *Culicoides* catturate, le più abbondanti sono risultate *C. scoticus*, *C. imicola*, le forme B e A di *C. newsteadi*, *C. obsoletus*, *C. punctatus* e *C. pulicaris* (Tab. 1). Le analisi molecolari hanno rilevato la presenza del virus appartenente al sierotipo 1 (BTV 1) in femmine di tutte queste specie che avevano completato almeno un ciclo gonotrofico (Tab. 2). In particolare, *C. imicola* e le due forme di *C. newsteadi* sono risultate positive in tutte le località di cattura, mentre femmine positive di *C. pulicaris*, *C. punctatus*, *C. scoticus* e *C. obsoletus* sono state riscontrate a Barisardo.

BTV può quindi essere trasmesso in Sardegna da un complesso di vettori, fra cui *C. imicola* è responsabile dell'esplosione estiva delle epidemie nelle aree litoranee, mentre *C. newsteadi*, *C.*

scoticus e le altre specie di *Culicoides* possono avere un diverso ruolo nello svernamento del virus e nella sua diffusione nelle aree più interne.

Tabella 1. Catture di *Culicoides* in 4 località della Sardegna.

Specie	San Giovanni Suergiu	Uta	Barisardo	Alghero	Totale
<i>C. scoticus</i>	0	0	5281	157	5438
<i>C. imicola</i>	942	636	3169	7	4754
<i>C. newsteadi</i> forma B	37	224	2662	27	2950
<i>C. newsteadi</i> forma A	13	10	205	197	425
<i>C. obsoletus</i>	8	4	278	64	354
<i>C. punctatus</i>	0	0	77	0	77
<i>C. pulicaris</i>	0	0	65	0	65
Altri <i>Culicoides</i>	6	2	310	1372	1690

Tabella 2. Positività a BTV 1 rilevata con RT-PCR su specie di *Culicoides*.

Specie	N. gruppi analizzati	N. gruppi positivi
<i>C. imicola</i>	11	6
<i>C. obsoletus</i>	9	7
<i>C. scoticus</i>	1	1
<i>C. newsteadi</i> forma A	7	6
<i>C. newsteadi</i> forma B	16	10
<i>C. pulicaris</i>	1	1
<i>C. punctatus</i>	6	4

Bibliografia

- Caracappa S., Torina A., Guercio A., Vitale F., Calabro A., Purpari G., Ferrantelli V., Vitale M., Mellor P. S., 2003 - Identification of a novel bluetongue virus vector species of *Culicoides* in Sicily. *Vet. Rec.* 19: 71-74.
- De Liberato C., Scavia G., Lorenzetti R., Scaramozzino P., Amaddeo D., Cardeti G., Scicluna M., Ferrari G., Autorino G. L., 2005 - Identification of *Culicoides obsoletus* (Diptera, Ceratopogonidae) as a vector of bluetongue virus in Central Italy. *Vet. Rec.* 156: 301-304.
- Foxi C., Pinna M., Sarto I Monteyes V., Delrio G., 2011 - An updated checklist of the *Culicoides* Latreille (Diptera: Ceratopogonidae) of Sardinia (Italy), and seasonality in proven and potential vectors for Bluetongue Virus (BTV). *Proc. Entomol. Soc. Wash.* 113: 403-416.
- Gomulski L.M., Meiswinkel R., Delecolle J.C., Goffredo M., Gasperi G., 2006 – Phylogeny of the subgenus *Culicoides* and related species in Italy, inferred from internal transcribed spacer 2 ribosomal DNA sequences. *Med. Vet. Entomol.* 20: 229-238.
- Goffredo M., Satta G., Torina A., Federico G., Scaramozzino P., Cafiero M.A., Lelli R., Meiswinkel R., 2001 - The 2000 bluetongue (BTV) outbreak in Italy: distribution and abundance of the principal vector *Culicoides imicola* Kieffer. X International Symposium of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Salsomaggiore-Parma, 4–7 July 2001: 308-309.
- Maan N.S., Maan S., Belaganahalli M.N., Ostlund E.N., Johnson D.J., Nomikou K., Mertens P.P., 2012 - Identification and differentiation of the twenty six bluetongue virus serotypes by RT-PCR amplification of the serotype-specific genome segment 2. *PLoS ONE* 7: e32601.

Sui vettori di leishmaniosi (Diptera, Psychodidae) nell'area urbana di Catania (Sicilia, Italia)

O. Lisi¹, V. D'Urso¹, V. Vaccalluzzo¹, G. Bongiorno², C. Khoury², F. Severini², M. Gramiccia², L. Gradoni², M. Maroli²

¹ Dipartimento di Scienze Biologiche, Geologiche ed Ambientali, Sezione di Biologia Animale "M. La Greca", Università degli Studi di Catania, Italia;

² Dipartimento MIPI, Istituto Superiore di Sanità, Roma, Italia. E-mail michele.maroli@gmail.com

Introduzione

La leishmaniosi, dovuta a *Leishmania infantum*, è principalmente una zoonosi che causa manifestazioni cutanee (LC) e viscerali sia nell'uomo (LV) che nel cane (LCan). In seguito all'aumento della popolazione canina negli ambienti urbani, si è verificato in tempi recenti un aumento della LCan nelle aree urbane dove sono ancora persistenti i flebotomi (Diptera, Psychodidae), i vettori provati della parassitosi (Maroli *et al.*, 2013). Fin dagli anni 30 del secolo scorso, Catania è uno dei focolai storici di leishmaniosi nel bacino del Mediterraneo. Tuttavia, gli unici dati sulla presenza dei flebotomi in questo focolaio risalgono a circa 80 anni fa quando Adler e Theodor (1931) effettuarono le storiche ricerche sulla LV, a quel tempo conosciuta come "kala-azar mediterraneo". Nel presente lavoro sono riportati i risultati di due indagini entomologiche condotte nel 2006 e 2013 finalizzate al monitoraggio della persistenza dei vettori della leishmaniosi nell'area urbana di Catania.

Materiali e metodi

L'area di studio è stata suddivisa in 44 sub-unità costituite da un reticolo (600 x 600 m ciascuno). Per il monitoraggio sono stati utilizzati i siti di riposo presenti lungo le strade, quali cavità di drenaggio dei muri di sostegno, soprattutto quelle asciutte e quelle esterne delle vecchie case, le cavità presenti nei muri di lava o tubi di scarico. Per 10 sub-unità (22,7%) non è stato possibile reperire alcun sito di riposo; nelle rimanenti 34 sub-unità sono state individuate 51 stazioni di cattura (minimo 1 - massimo 3/sub-unità). Nel 2006 sono stati monitorati tutti i 51 siti mentre nel 2013 l'indagine è stata limitata solo ai 4 siti più produttivi del 2006.

Sono state utilizzate "trappole adesive" (20x20 cm) ad intervalli regolari di 10 giorni a partire dalla fine di aprile fino a dicembre di ogni anno di raccolta. Il numero di cavità presente in ciascun sito di raccolta è variato da sito a sito. In media, 12 trappole adesive/sito (minimo 4 - massimo 28) sono state lasciate *in situ* per 3 notti consecutive. I flebotomi catturati sono stati rimossi con un pennello imbevuto di alcool assoluto, separati per sesso, chiarificati in cloro-lattofenolo e poi montati in preparati permanenti per la loro identificazione. Tutti i flebotomi sono stati identificati a livello di specie in base alle loro caratteristiche morfologiche secondo Theodor (1958) e Léger *et al.* (1983).

Risultati e discussione

Alla fine di giugno del 2006, 8/51 siti (15,6%) sono risultati sempre negativi e pertanto sono stati rimossi dallo studio. I rimanenti 43 siti hanno prodotto un totale di 4339 flebotomi risultati appartenere al genere *Sergentomyia* (2587 esemplari, 59,6%) e al genere *Phlebotomus* (1752 esemplari, 40,4%). Tutti i flebotomi del genere *Sergentomyia* sono risultati essere *S. minuta*. Tra il genere *Phlebotomus*, *P. perniciosus* (90,1%) è stata la specie più diffusa, seguita da *P. sergenti* (6,1%), *P. neglectus* (3,6%), *P. perfiliewi* (0,1%) e *P. mascittii* (0,1%). *P. perniciosus* è risultato essere ubiquitario essendo presente in tutti i siti positivi. L'indagine del 2013 ha prodotto 1130 flebotomi, di cui 658 appartenenti a *S. minuta* (58,2%). Gli esemplari del genere *Phlebotomus* sono stati 472, di cui 446 erano *P. perniciosus* (94,5%), 18, *P. sergenti* (3,8%) e 8, *P. neglectus* (1,7%).

La densità dei flebotomi relativamente alle quattro stazioni ricampionate è stata diversa nei due anni di studio. In particolare quella di *P. perniciosus*, uno dei vettori più competenti di *L. infantum*

(Maroli *et al.*, 2013), è stata più bassa nel 2013 (massima 14, media 5 esemplari/m² di trappola adesiva) rispetto a quella del 2006 (massima 25, media 11 esemplari/m²).

Nelle zone temperate del Vecchio Mondo l'abbondanza e la stagione di volo dei flebotomi sono fortemente influenzate da fattori climatici. Nel nostro studio si sono avute differenze climatiche significative durante i mesi più freddi della stagione invernale che ha preceduto ogni stagione di volo. In particolare durante i mesi freddi 2013 si sono avute temperature più basse e poca piovosità che possono aver influenzato negativamente la sopravvivenza delle larve di flebotomo ibernanti. Di conseguenza, il numero più basso di larve sopravvissute durante la stagione fredda ha influenzato l'abbondanza dei flebotomi della stagione di volo 2013.

Conclusioni

Sulla base dei risultati delle due indagini entomologiche si possono trarre due importanti considerazioni. La prima è che, nonostante i drastici cambiamenti ambientali avvenuti già nel secolo scorso nelle grandi città del mondo occidentale, i flebotomi sembra si siano bene adattati a tali cambiamenti. La seconda riguarda la presenza ubiquitaria di *P. perniciosus* nell'area urbana della città Catania. La sua persistente presenza in area urbana spiega anche l'urbanizzazione della leishmaniosi (soprattutto quella canina) di recente registrata in molti focolai del Mediterraneo.

Bibliografia

- Adler S., Theodor O., 1931 - Investigation on Mediterranean Kala Azar. III. The Sandflies of the Mediterranean Basin. Distribution and Bionomics of Sandflies in Catania and District. Proc Roy Soc, London, B. 108: 464-480.
- Léger N., Pesson B., Madulo-Leblond G., Abonnen, E., 1983 - Sur la differenciation des femelles du sous-genre Larroussius Nitzulescu, 1931 (Diptera-Phlebotomidae) de la region mediterraneenne. Ann Parasitol Hum Comp. 58: 611-623.
- 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. Med Vet Entomol. 27: 123-147
- Theodor O., 1958 - Psychodidae-Phlebotomine. In: Lindner, E. (Ed.), Die Fliegen der Palaearktischen Region, 9c. E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart, pp. 1-55.

Ricerca parzialmente finanziata dal progetto FP7 UE EDENext, Contratto No. 261504.

Infestazione da *Dermanyssus gallinae* nell'uomo in contesti urbani: sintesi dei casi osservati negli anni 2001-2013 dall'Istituto Zooprofilattico di Puglia e Basilicata

D. Galante, G. Mancini, D.A. Raele, M.A. Cafiero

Istituto Zooprofilattico Sperimentale della Puglia e della Basilicata, S.S. Diagnostica Virologica ed Entomologia Sanitaria, 71121 Foggia, Italia, E-mail: ma.cafiero@izsfg.it

Introduzione

Il Laboratorio di Entomologia Sanitaria dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale di Puglia e Basilicata (IZSPB), Foggia è impegnato da alcuni anni nello studio di alcuni acari Mesostigmata e, in particolare, dei diversi aspetti della infestazione da *Dermanyssus gallinae*, De Geer 1778, nei suoi ospiti naturali (polli) e nell'uomo. *Dermanyssus gallinae* (D.g.), detto anche *red poultry mite* è un acaro ematofago obbligato e temporaneo di polli e altri uccelli selvatici che, occasionalmente, può nutrirsi su mammiferi, uomo incluso.

In questo lavoro sono riportati i dati relativi agli episodi di dermanissosi nell'uomo in contesti urbani, nel corso di oltre un decennio di attività.

Materiali e Metodi

Nel periodo 2001-2013 il laboratorio di Entomologia IZSPB ha ricevuto campioni di artropodi relativi a 14 outbreaks di dermatite in persone che vivevano in aree metropolitane e non avevano contatti con animali domestici. I parassiti erano stati raccolti dai Servizi Veterinari e di Igiene Pubblica delle AA.SS.LL. (4/14) e da privati (10/14), in un ospedale (1/14) (sala travaglio), in uffici pubblici (2/14), in appartamenti (11/14) (camere da letto (9/11) e altre stanze (2/11)) ubicati in differenti città di Puglia (11/14), Basilicata (2/14) e Campania (1/14). Gli episodi si sono manifestati in primavera-estate (12/14) e autunno-inverno (2/14). La sintomatologia clinica (durata min. 1 sett. - Max 36 sett.) consisteva in una dermatite molto pruriginosa caratterizzata da papule eritematose su tutto il corpo (9/14) o quasi esclusivamente su arti e tronco (5/14) dei pazienti, un totale di 45 soggetti accertati, di cui 42 adulti (19 M, 23 F) e 3 bambini di età inferiore ai 5 anni di età. In 11 casi (11/14), il severo prurito e la sensazione di essere punti ha indotto i pazienti a consultare i medici (4 medici di famiglia, 10 dermatologi e 2 pediatri) che hanno posto diagnosi generica di acariasi, allergia, punture da insetti, prurito *sine materia* e prescritto cure farmacologiche con antistaminici e steroidi (8/11) in associazione a shampoo antiparassitari (1/11), antibiotici *per os* (1/11) e tranquillanti (1/11).

Risultati e discussione

Tutti gli acari raccolti sono stati identificati come *Dermanyssus gallinae*, in accordo con le chiavi di Baker (Baker, 1999). La sorgente dell'infestazione è stata individuata in nidi abbandonati di uccelli sinantropici, piccioni (13/14) e passeri (1/14), in prossimità dei locali infestati. La completa regressione della sintomatologia è avvenuta dopo le attività di bonifica ambientale suggerite dallo staff IZSPB (rimozione dei nidi, uso di aspirapolvere e disinfestazioni a base di piretroidi in 2-3 cicli di fumigazione) e non è stata necessaria alcuna terapia farmacologica. In 4/14 casi (3/14 in appartamenti privati e 1/14 ospedale) si è reso necessario il trasloco di arredi/strumentazione e il "tutto vuoto" per circa 15 giorni. Le attività di bonifica sono state effettuate dai proprietari degli appartamenti (9/14) e da ditte esterne (5/14). Interrogati dallo staff IZSPB, alcuni dei pazienti, tra cui quelli a cui era stata posta diagnosi di "punture da insetti" e "acariasi", hanno riferito di aver mostrato ai medici in occasione della visita, esemplari simili a quelli conferiti all'IZSPB, ipotizzando un nesso di causa-effetto. I medici, tuttavia, pur mostrando difficoltà nell'identificarli, ne avevano escluso il coinvolgimento nella genesi della dermatite, né avevano fornito indicazioni finalizzate alla ricerca di parassiti zoonotici negli ambienti. *D. gallinae* (D.g.) visita di notte i suoi

ospiti per effettuare il pasto di sangue, mentre nelle ore diurne si nasconde in crepe, fessure e ogni nascondiglio. Esso risulta molto frequente sugli uccelli sinantropici, soprattutto piccioni, e la sua densità è direttamente correlata con quella del suo ospite naturale. I piccioni vivono numerosi nelle nostre città, dove trovano cibo abbondante e assenza di predatori (Haag, 2005) e, spesso, costruiscono i loro nidi in prossimità delle abitazioni umane. Quando i nidi vengono abbandonati in seguito ad azioni di disturbo o dopo lo svezzamento dei piccoli, come accade nella tarda primavera, l'acaro può migrare all'interno di edifici, nella ricerca di una fonte alternativa di cibo, e alimentarsi sull'uomo. La maggior parte dei casi di dermatite insorge nel periodo aprile-luglio (Cafiero *et al.*, 2013); tale stagionalità rifletterebbe il picco di crescita della popolazione del *red mite* a sua volta correlata a quella del suo ospite naturale. La notevole resistenza (5-6 mesi in media) del parassita al digiuno, assicura la sua sopravvivenza negli edifici anche per diversi mesi in assenza dell'ospite e spiega gli episodi di dermatite in soggetti che soggiornano solo saltuariamente nei locali infestati, come da noi osservato nell'outbreak occorso in un appartamento utilizzato per le vacanze. La gravità dei sintomi, oltre che alla carica infestante è associata alla possibilità dell'acaro di alimentarsi indisturbato, evenienza che può verificarsi nei casi di infestazioni occorse nelle camere da letto e tardivamente risolte; in questi casi, infatti, gli attacchi possono ripetersi anche ogni notte e la dermatite risulta sempre severa e generalizzata. Negli episodi osservati negli uffici pubblici e nell'ospedale (sala travaglio), le lesioni cutanee sono invece risultate sempre sporadiche e quasi esclusivamente limitate alle parti scoperte (arti). L'ospite in movimento e disponibile per lo più nelle ore di luce, sono alcuni dei fattori che disturbano l'attività ematofaga dell'acaro, essenzialmente notturno e, quindi, maggiormente visibile e predabile in queste circostanze. Le sue punture, in simili casi, risultano sporadiche e meno marcate.

Conclusioni

La nostra esperienza evidenzia una certa difficoltà da parte dei medici, soprattutto dermatologi in quanto i più consultati, a diagnosticare correttamente tale dermatite nell'uomo, probabilmente per la scarsa conoscenza del parassita e del suo ruolo zoonotico. Ciò porterebbe come conseguenza ad una sottostima della problematica che, al contrario, noi riteniamo molto più frequente di quanto possa evincersi dai reports in letteratura. Tali infestazioni sono un problema di sanità pubblica e possono dare luogo a pericolosi outbreaks di massa se si verificano in scuole, uffici, ospedali con perdite economiche anche importanti (cure mediche, attività di prevenzione/bonifica, assenza dal lavoro per malattia, ecc.). Segnalare i casi contribuisce a migliorare le nostre conoscenze sul ruolo zoonotico del *red mite* e a considerare queste infestazioni come una problematica emergente.

Bibliografia

- Baker A. S., 1999 - Mites and ticks of domestic animals. The Natural and History Museum, London, The Stationery Office.
- Haag-Wackernagel D., 2005 - Parasites from feral pigeons as a health hazard for humans. *Ann of Appl Biol*; 147: 203-210.
- Cafiero M. A., Camarda A., Galante D., Mancini G., et al., 2013 - Outbreaks of red mite (*Dermanyssus gallinae*) dermatitis in city-dwellers: an emerging urban epizoonosis. In: *Hypothesis in Clinical Medicine*, Nova Science Publisher, Inc., pp. 413-424.

Specie alloctone di interesse forense ed identificazione molecolare: le specie del genere *Chrysomya* (Diptera: Calliphoridae)

S. Bortolini¹, Lara Maistrello¹, Stefano Vanin²

¹ Università di Modena e Reggio Emilia, Dipartimento di Scienze della Vita, 42122 Reggio Emilia, Italia, E-mail: asara.bortolini@unimore.it; blara.maistrello@unimore.it;

² University of Huddersfield, School of Applied Science, Huddersfield HD1 3DH, United Kingdom, E-mail: stefano.vanin@hud.ac.uk

Introduzione

L'entomologia forense medico legale è la disciplina che si occupa dello studio degli insetti associati ai cadaveri, con lo scopo primario di stimare il tempo minimo intercorso dal decesso (mPMI), o meglio il tempo di colonizzazione, nonché di ricavare ogni altra informazione utile a fini giudiziari, quali: evidenze di spostamento del cadavere o presenza nello stesso di droghe o veleni. Per intervalli di tempo relativamente brevi (settimane/mesi) la stima del mPMI si basa sulla determinazione dello stadio di sviluppo delle mosche che per prime colonizzano il cadavere. Precisato lo stato di sviluppo, la stima del mPMI potrà essere formulata una volta note le condizioni ambientali in essere durante il periodo precedente al ritrovamento del cadavere. Essendo il tasso di sviluppo dei ditteri specie-specifico, la corretta identificazione delle specie diventa “conditio sine qua non” per una corretta stima del mPMI. Negli ultimi anni, la ricerca di strumenti utili a superare i limiti dell'identificazione morfologica, soprattutto nel caso di uova e stadi larvali, ha trovato nelle tecniche biomolecolari una risorsa efficace e senz'altro molto promettente tuttavia con alcune limitazioni relative alla incompletezza delle banche dati. I ditteri che per primi colonizzano un cadavere appartengono prevalentemente alle famiglie Calliphoridae e Muscidae. I generi maggiormente interessanti, nel contesto forense, appartenenti alla prima famiglia sono *Calliphora*, *Chrysomya*, *Cynomya*, *Lucilia*, *Phormia* e *Protophormia*.

Negli ultimi anni è stata segnalata in Europa la diffusione verso Nord delle specie del genere *Chrysomya*, tipiche di ambienti circum-mediterranei, tropicali e sub-tropicali. *C. albiceps*, già stabilita in Europa dall'inizio degli anni '90 (Grassberger *et al.*, 2003; Introna *et al.*, 1998), ha raggiunto la Polonia nel 2008 (Szpila *et al.*, 2008), mentre *C. megacephala* è stata riscontrata per la prima volta in Spagna nel 2001 (Martinez-Sanchez *et al.*, 2001) e in Portogallo nel 2007 (Prado e García, 2009). La diffusione geografica di queste specie verso il Nord Europa sembrerebbe correlata con la presenza di estati calde, favorite dalla corrente del Golfo (Grassberger *et al.*, 2003). Vista la rapida diffusione in Europa, l'utilizzo delle specie del genere *Chrysomya* in ambito forense come indicatori per la stima del mPMI è un aspetto concreto, che richiede una loro corretta identificazione. Il presente lavoro si è posto come obiettivo l'analisi dei dati molecolari disponibili per quattro specie di questo genere e la valutazione della strategia più economica ed efficace per una corretta identificazione molecolare delle suddette.

Materiali e metodi

Allo stato attuale, sono disponibili in GenBank 1169 sequenze appartenenti a quattro specie del genere *Chrysomya* (*C. albiceps*, *C. megacephala*, *C. rufifacies* e *C. chloropyga*) già utilizzate o comunque utilizzabili per l'identificazione a livello specifico. Le sequenze disponibili sono di 20 geni nucleari e mitocondriali (COI, COII, Cytb, 28S rRNA, 18S rRNA, 16S rRNA, 12S rRNA, 5.8S rRNA, tRNA-Ile, tRNA-Met, tRNA-Gln, ITS2, ITS1, EF-1 α , CAD, ND1, ND5, ND4, ND4L e PER). Sono state escluse dall'analisi sequenze di lunghezza superiore alle 1650 bp e sequenze depositate senza identificazione a livello di specie. Le 943 sequenze selezionate sono state allineate utilizzando il software ClustalW2 (McWilliam *et al.*, 2013) mentre l'analisi di “Best Match” per valutare il successo di identificazione delle sequenze prese in considerazione è stata realizzata con TaxonDNA (Meier *et al.*, 2006). La verifica dei risultati ottenuti è stata effettuata per via

sperimentale estraendo il DNA da materiale (pupari) di oltre 20 anni già identificato morfologicamente come *C. albiceps*. È stata eseguita una PCR con differenti primers disegnati per amplificare tre regioni di lunghezza: 425 bp, 215 bp e 153 bp del gene COI. Gli amplificati così ottenuti sono stati sequenziati e l'identità delle sequenze ottenute è stata confermata, inizialmente da un confronto effettuato con l'algoritmo BLAST e, successivamente, da un'analisi filogenetica basata sul metodo di Massima Parsimonia utilizzando il software DNAPars del pacchetto PHYLIP (Felsenstein, 2005).

Risultati e discussione

Delle 943 sequenze utilizzabili per l'identificazione, le sequenze di 8 geni (COI, 28S rRNA, 12S rRNA, tRNA-Ile, tRNA-Met, tRNA-Gln, ITS2 e EF-1 α) sono disponibili per tutte le specie e 12 (COI, COII, 28S rRNA, 12S rRNA, 5.8S rRNA, tRNA-Ile, tRNA-Met, tRNAGln, ITS2, EF-1 α , CAD e Cytb) per le specie segnalate in Europa e con areale potenzialmente in via di espansione verso l'Italia.

Il gene COI è quello maggiormente rappresentato con un totale di 414 sequenze variamente distribuite tra le specie in un range compreso tra le 10 e le 250 sequenze rispettivamente per *C. chloropyga* e *C. megacephala*. Di particolare interesse risultano anche i geni 28S rRNA e ITS2 con rispettivamente 55 e 71 sequenze disponibili in GenBank. Geni comunemente utilizzati per l'identificazione specifica quali COII, Cytb, 16S rRNA con rispettivamente 116, 82 e 79 sequenze non sono disponibili per *C. chloropyga*. L'analisi del "Best Match" rivela che solo 5 geni (COI, 16S rRNA, 5.8S rRNA, ITS2 e Cytb) permettono un'identificazione "corretta" superiore al 90% e di questi, solo COI e ITS2 sono presenti per tutte e 4 le specie studiate. In particolare, il 92,7% delle sequenze del gene COI attualmente disponibili permette una identificazione delle singole specie "corretta", lo 0,24% una identificazione "ambigua" mentre il 7,05% "non corretta". I valori per il gene COII, invece, sono rispettivamente 87,93%, 0,86% e 11,2%. Una identificazione corretta con valori superiori al 95% è permessa invece solo utilizzando le sequenze dei geni 16S rRNA e Cytb. Tali geni, tuttavia, sono disponibili rispettivamente solo per 2 e tre specie.

I risultati dell'analisi di laboratorio per il gene COI hanno permesso una corretta identificazione di specie anche dai frammenti amplificati corti (105 e 109 bp). I valori di identità ottenuti con l'utilizzo di BLAST sono pari al 99% per le sequenze ottenute da una pupa e pari al 100% per le sequenze ricavate da alcuni pupari. Lo stesso risultato è confermato dall'analisi filogenetica eseguita con il metodo di Massima Parsimonia (albero di Major Consensus), in cui le sequenze oggetto di studio risultano raggruppate con le sequenze di *C. albiceps*.

Conclusioni

L'analisi dei dati mette in rilievo la necessità di creare dei database e protocolli standardizzati utilizzabili in sede forense per la corretta identificazione delle specie, soprattutto di quelle di recente introduzione, spesso confuse per imperizia oppure per ragioni legate alla disponibilità di sequenze nelle banche dati, come emerge da questo lavoro. Tale necessità è particolarmente sentita nel territorio italiano, che per posizione geografica costituisce una via di accesso in Europa per specie con distribuzione più meridionale o comunque mediterranea.

Implicazioni molecolari dell'interferenza causata dai conidi aeriferi di *Beauveria bassiana* sull'ovideposizione di *Ceratitis capitata*

L. Ruiiu, Maria G. Marche, M.E. Mura, G. Falchi

Dipartimento di Agraria, Università di Sassari, Via E. de Nicola, 07100 Sassari, Italy. E.mail: lucaruii@uniss.it

Introduzione

Il fungo entomopatogeno *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) è un agente di controllo biologico largamente impiegato per il contenimento di specie nocive in differenti agro-ecosistemi. L'attività insetticida, oltre che ad un'azione combinata fisico-meccanica ed enzimatica delle ife fungine che penetrano e si diffondono nel corpo dell'insetto ospite, è dipendente dall'effetto causato da differenti tossine (Kumar *et al.*, 1999). Molte di queste sono ben note, altre in fase di studio, anche alla luce dei dati derivanti dal recente sequenziamento *shotgun* dell'intero genoma del ceppo ARSEF 2860.

Recenti osservazioni di laboratorio e di campo hanno messo in evidenza una riduzione dell'ovideposizione di femmine di *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) su frutti trattati con formulazioni contenenti conidi di *B. bassiana* (Ortu *et al.*, 2009). Il presente studio è stato condotto con l'obiettivo di identificare le principali frazioni e le componenti molecolari del fungo responsabili degli effetti sull'ovideposizione dell'insetto.

Materiali e metodi

Nelle prime sperimentazioni, frutti di arance Washington Navel venivano trattati con preparati, ottenuti in laboratorio su coltura solida o liquida, contenenti concentrazioni note di differenti forme del fungo come conidi, ife ed i supernatanti delle colture liquide. I frutti venivano poi offerti a femmine fecondate di *C. capitata* al fine di conteggiare il numero di visite e di ovideposizioni sul frutto, in comparazione con un controllo non trattato.

Successivi esperimenti venivano condotti come test "choice" o "no choice", a seconda del caso, potendo così verificare gli effetti di differenti preparati e frazioni del fungo. Specifiche metodiche di estrazione sono state impiegate per purificare e identificare per via molecolare, mediante approccio combinato proteomico e genomico, le proteine contenute in una frazione ottenuta dalla superficie dei conidi.

Risultati e discussione

Il trattamento dei frutti con adeguati dosaggi (10 ml/frutto) e concentrazioni ($> 10^7$ /ml) di conidi di *B. bassiana* ha messo in evidenza un effetto deterrente l'ovideposizione, in comparazione con frutti controllo non trattati, espresso in termini di riduzione del numero di visite e di punture di ovideposizione per frutto (Fig. 1). Gli effetti più evidenti hanno riguardato i preparati contenenti conidi, piuttosto che altre frazioni (micelio, supernatanti). Conseguentemente è stato confermato il loro ruolo centrale nell'effetto di disturbo del comportamento di pre-ovideposizione e di ovideposizione dell'insetto. In particolare è stata dimostrata l'implicazione di una specifica frazione estratta dalla parete dei conidi aeriferi e contenente proteine appartenenti alla classe I delle idrofobine (Hyd1 e Hyd2), molecole già coinvolte nell'interazione con l'ospite, nello sviluppo e virulenza del fungo. Il sequenziamento dei relativi geni codificanti ha messo in evidenza una elevata omologia tra differenti ceppi di *B. bassiana*. Lo studio condotto enfatizza il ruolo di un gruppo di proteine che può interferire sulla capacità recettiva degli stimoli derivanti dal frutto e che regolano il comportamento di pre-ovideposizione di *C. capitata* (Levinson *et al.*, 2003). Tale risultato contribuisce alla prospettiva di impiegare film di particelle idrofobiche nel contenimento di insetti dannosi (Glenn *et al.*, 1999). Tuttavia, il presente studio non esclude un possibile ruolo deterrente secondario dovuto al rilascio di componenti organiche volatili del fungo (Crespo *et al.*,

2008). La possibilità di massimizzare l'espressione dei geni *hyd1* e *hyd2* apre la prospettiva di incrementare l'efficacia delle formulazioni del fungo impiegate nei programmi di controllo integrato della mosca mediterranea della frutta (Zhang *et al.*, 2011).

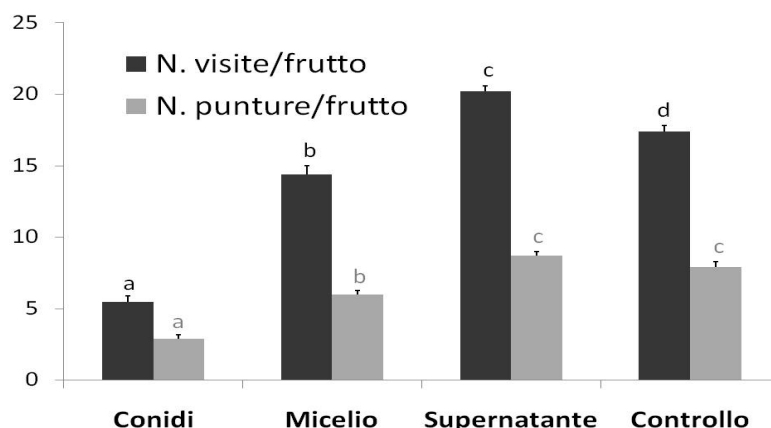


Fig. 1 – Numero (media ± es) di visite e di punture di ovideposizione in frutti di arance trattati con differenti preparati di *Beauveria bassiana*. Differenti lettere per ogni gruppo di colore indicano differenze statisticamente significative (ANOVA, LSD test, $P < 0.05$)

Ringraziamenti

Il presente studio è stato finanziato da Sardegna Ricerche, Progetto Bioinnovation, Incentivo Ricerca Polaris 2010 (CBC Europe Srl) e Progetto IndBase, Aiuti per Progetti di Ricerca e Sviluppo 2012 (Bioecopest Srl), POR FESR SARDEGNA 2007-2013.

Bibliografia

- Crespo R., Pedrini, N., Juárez, M.P., Dal Bello, G.M., 2008 - Volatile organic compounds released by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Microbiol. Res.* 163: 148-151.
- Glenn D.M., Puterka, G., Vanderzwet, T., Byers, R.E., Feldhake, C., 1999 - Hydrophobic particle films: a new paradigm for suppression of arthropod pests and plant diseases. *J. Econ. Entomol.* 92: 759-771.
- Kumar V., Singh, G.P., Babu, A.M., Ahsan, M.M., Datta, R.K., 1999 - Germination, penetration, and invasion of *Beauveria bassiana* on silkworm, *Bombyx mori*, causing white muscardine. *Ital. J. Zool.* 66: 39-43.
- Levinson H., Levinson, A., Osterried, E., 2003 - Orange-derived stimuli regulating oviposition in the Mediterranean fruit fly. *J. Appl. Entomol.* 127: 269-275.
- Ortu S., Cocco, A., Dau, R., 2009 - Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 for the management of *Ceratitis capitata*. *B. Insectology* 62: 245-252.
- Zhang S., Xia, Y.X., Kim, B., Keyhani, N.O., 2011 - Two hydrophobins are involved in fungal spore coat rodlet layer assembly and each play distinct roles in surface interactions, development and pathogenesis in the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Mol. Microbiol.* 80: 811-826.

***Xylella fastidiosa* in Italia – aspetti entomologici di un problema agrario emergente**

R.P.P. Almeida¹, D. Bosco², F. Porcelli³

¹ *Department of Plant and Microbial Biology, University of California, Berkeley, USA*

² *Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università di Torino, Italy*

³ *Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università di Bari, Italy*

Il rilevamento del batterio fitopatogeno *Xylella fastidiosa* Wells et al. in Italia nell'ottobre 2013 è destinato ad avere importanti conseguenze sulla produzione e il commercio di prodotti agricoli in Italia. Il batterio risulta presente in Nord e Sud America, Taiwan e Italia.

X. fastidiosa è un batterio xilematico che causa fitopatie dovute al blocco del flusso di linfa grezza in molte specie di piante, incluse diverse specie coltivate di grande importanza economica, come vite, agrumi, caffè, mandorlo e alberi ed arbusti ornamentali. La specie *X. fastidiosa* mostra una grande variabilità genetica e fenotipica che si riflette sulla gamma di piante ospiti che risulta diversa per i diversi genotipi (o sottospecie).

La maggior parte delle piante ospiti contiene popolazioni batteriche modeste e non mostra sintomi; al contrario in molte altre piante *X. fastidiosa* è virulenta e induce sintomi severi. È importante sottolineare che la gamma di piante ospiti è stata studiata approfonditamente solo per alcune sottospecie e i risultati ottenuti su un genotipo non possono essere estesi ad altri genotipi.

In Puglia questo patogeno da quarantena è stato associato a malattie in olivo, mandorlo e oleandro.

Il genotipo italiano di *X. fastidiosa* è in corso di caratterizzazione genetica ma i dati disponibili già indicano che esso è diverso dagli altri genotipi conosciuti.

X. fastidiosa è trasmessa da Emitteri xilemomizi, come le cicaline della sottofamiglia Cicadellinae (Hemiptera, Cicadellidae) e le sputacchine (Hemiptera, Aphrophoridae e Cercopidae).

Durante l'acquisizione su una pianta sorgente infetta, il batterio aderisce alla cuticola che riveste lo stomodeo e, particolarmente nel precibario, si moltiplica e persiste per tutta la vita dell'adulto. Diversamente, nelle neanidi e ninfe l'infezione viene persa con la muta. A differenza degli altri fitopatogeni trasmessi in modo persistente da insetti, quali virus, fitoplasmi e spiroplasma, *X. fastidiosa* non colonizza in modo sistemico il corpo del vettore e rimane limitata allo stomodeo, perciò la modalità di trasmissione è unica tra i fitopatogeni trasmessi da insetti. Mentre lo specifico meccanismo di adesione alla cuticola del vettore è stato chiarito (Killiny e Almeida, 2014), il meccanismo attraverso cui l'insetto inocula il batterio non è ancora conosciuto. Non esistono indicazioni di specificità genotipo batterico-specie vettrice e tutti i cicadellini e le sputacchine sono da considerarsi potenziali vettori, fino a prova contraria.

X. fastidiosa è stata studiata principalmente nelle Americhe dove causa gravi malattie a piante coltivate nelle regioni Neartica e Neotropica. In queste aree biogeografiche alcune decine di "sharpshooter" (Cicadellidae, sottofamiglia Cicadellinae, tribù Cicadellini e Proconiini) e alcune specie di sputacchine (Aphrophoridae e Cercopidae) sono state riconosciute vettrici di *X. fastidiosa* (Redak et al. 2004). Oltre ai summenzionati insetti, le cicale (Hemiptera, Cicadidae e Tibicinidae) hanno comportamento nutrizionale xilemomizo, ma la loro capacità di trasmissione non è stata ancora chiarita e, sebbene non si possa escludere un loro ruolo, ad oggi non ci sono prove definitive della loro capacità di trasmissione. I cicadellini rappresentano i vettori di gran lunga più importanti in America ma solo pochissime specie di questo gruppo sono presenti in Europa. Una specie, *Cicadella viridis* (Linnaeus, 1758), è ampiamente diffusa in Europa ma è comune soltanto nelle aree umide. Al contrario, un numero relativamente elevato di sputacchine, che sono vettori di minore importanza in America, sono presenti in Europa dove alcune specie sono molto comuni (de Jong, 2013). Poiché non sono state introdotte specie vettrici esotiche in Italia e in Europa, le specie indigene xilemomize più comuni sono i candidati vettori più probabili. La sputacchina comune *Philaenus spumarius* (L.), presente anche in Nord America, è un vettore riconosciuto di *X.*

fastidiosa (Purcell, 1980). Prove preliminari hanno dimostrato che adulti raccolti in campo nel Salento negli oliveti infetti, sono in grado di trasmettere il genotipo italiano di *X. fastidiosa* a piante di *Catharanthus roseus* (L.) G. Don (Apocynaceae) (Saponari et al., 2014).

L'efficienza di trasmissione è altamente variabile e dipende dalle complesse interazioni dell'associazione vettore-pianta-patogeno. Le diverse specie vettrici non hanno quindi la stessa efficienza di trasmissione, che varia all'interno della stessa specie in relazione alle diverse piante ospiti. Inoltre, il ruolo di ogni singola specie vettrice deve essere considerato nell'ambito di un ampio contesto ecologico che include il patogeno e la pianta ospite. Ad esempio, fitopatie epidemiche causate da *X. fastidiosa* possono essere associate a vettori a bassa densità di popolazione ma molto efficienti, oppure, in altre circostanze, da vettori inefficienti ma in presenza di elevata popolazione. Inoltre, la capacità di trasmissione può dipendere dallo stadio vitale del vettore, dalle preferenze alimentari e dalla disponibilità stagionale di piante ospiti coltivate suscettibili al batterio. Di conseguenza le strategie di controllo rivolte contro le specie vettrici, che sono generalmente polifaghe, devono tenere in considerazione molti fattori e non semplicemente la densità della popolazione del vettore.

La presentazione includerà una breve revisione della biologia di *X. fastidiosa*, della sua trasmissione mediante insetti vettori e della sua ecologia. Inoltre verrà presentato un riassunto delle conoscenze recentemente acquisite sull'epidemia in Puglia.

Bibliografia

- de Jong, Y.S.D.M. (ed.) 2013. Fauna Europaea version 2.6. Web Service available online at <http://www.faunaeur.org>.
- Killiny N, Almeida RPP, 2013. Factors Affecting the initial adhesion and retention of the plant pathogen *Xylella fastidiosa* in the foregut of an insect vector. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(1), 420–428.
- Purcell AH, 1980. Almond leaf scorch: leafhopper and spittlebug vectors. *Journal of Economic Entomology*, 73,834–838.
- Redak RA, Purcell AH, Lopes JRS, Blua MJ, Mizell III RF, Andersen PC, 2004. The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. *Annual Review of Entomology*, 49, 243-270.
- Saponari M, Loconsole G, Cornara D, Yokomi RK, De Stradis A, Boscia D, Bosco D, Martelli GP, Krugner R, Porcelli F, 2014. Infectivity and transmission of *Xylella fastidiosa* Salento strain by *Philaenus spumarius* L. (Hemiptera: Cercopidae) in Apulia, Italy. *Journal of Economic Entomology*, Rapid Communication: Submitted.

Processamento proteolitico di tossine Vip3A di *Bacillus thuringiensis* in due specie di *Spodoptera* (Lepidoptera: Noctuidae)

S. Caccia¹, M. Chakroun², K. Vinokurov³, J. Ferré²

¹ Università degli Studi Federico II di Napoli, Dipartimento di Agraria, 80055, Portici, Italia, E-mail: silvia.caccia@unina.it;

² Università di Valencia, Dipartimento di Genetica, 46100, Burjassot, Spagna, E-mail: chakrounmaissa7@gmail.com, juan.ferre@uv.es;

³ Istituto di Entomologia, Centro di Biologia dell'Accademia di Scienze, 37001 CeskeBudejovice, Repubblica Ceca, E-mail: orchesia@seznam.cz.

Introduzione

Le tossine insetticide Vip (Vegetative Insecticidal Proteins) di *Bacillus thuringiensis* vengono secrete durante la fase di crescita vegetativa del batterio e non hanno omologia di sequenza con le tossine Cry e Cyt, prodotte invece durante la fase di sporulazione (Estruch *et al.*, 1996). In particolare, le tossine Vip3 presentano ampio spettro di tossicità nei confronti delle larve di lepidottero (van Frankenhuyzen e Nystrom, 2002; Milne *et al.*, 2008). Un lavoro precedente ha mostrato come le larve di *Spodoptera exigua* (Hübner) e di *S. frugiperda* (Smith), pur appartenendo allo stesso genere, presentano differente suscettibilità alla tossina Vip più studiata ed utilizzata già in campo, la proteina Vip3Aa (Chakroun *et al.*, 2012). In particolare, dai biosaggi eseguiti su dieta artificiale è risultata una LC₅₀ di 290 (160-610) ng/cm² e di 24 (17-34) ng/cm² rispettivamente per *S. exigua* e *S. frugiperda* (in parentesi i limiti fiduciali FL₉₅).

E' stato quindi condotto uno studio dettagliato sull'attivazione proteolitica della Vip3Aa per comprendere se differenze in questo processo potessero essere responsabili della diversa suscettibilità delle due specie di *Spodoptera*.

Materiali e metodi

Il succo intestinale è stato estratto dall'ultima età delle larve, centrifugato a 15000 × g per 10 min a 4°C e il supernatante è stato conservato a -80°C fino al suo utilizzo per gli esperimenti di attivazione *in vitro* o la separazione cromatografica delle frazioni ad attività peptidasica. Per misurare l'attività peptidasica totale è stato usato come substrato l'azocaseina mentre specifici substrati cromogenici sono stati utilizzati per misurare le attività triptiche e chimotriptiche. La separazione parziale delle peptidasi di *S. frugiperda* è stata ottenuta con una combinazione di cromatografia a scambio anionico e ad esclusione molecolare.

Risultati

Il succo intestinale delle larve di entrambe le specie attiva la protossina (90 kDa), ma il frammento attivo (62 kDa) viene rapidamente degradato in frammenti più piccoli al crescere della concentrazione di succo intestinale (Fig. 1). Questa degradazione, che dimostra come la tossina non abbia un frammento attivo resistente alle proteasi intestinali, risulta essere più accentuata nel caso di *S. exigua*, contro la quale la proteina Vip3Aa è meno tossica. Al fine di chiarire il ruolo delle peptidasi intestinali nel processo di attivazione della protossina e nella degradazione del frammento attivo, sono state separate le tre principali frazioni ad attività peptidasica presenti nel lume intestinale delle larve di *S. frugiperda*. La frazione cationica ad attività triptica digerisce la protossina producendo un frammento di 62 kDa che risulta stabile nelle condizioni sperimentali utilizzate. Al contrario, la frazione anionica ad attività chimotriptica e ancora più marcatamente quella cationica con attività chimotriptica, digeriscono rapidamente la protossina impedendo l'accumulo significativo del frammento attivo di 62 kDa. I risultati suggeriscono quindi che le serin proteasi con attività triptica sono responsabili dell'accumulo del frammento attivo, mentre quelle con attività chimotriptica partecipano alla sua immediata degradazione.

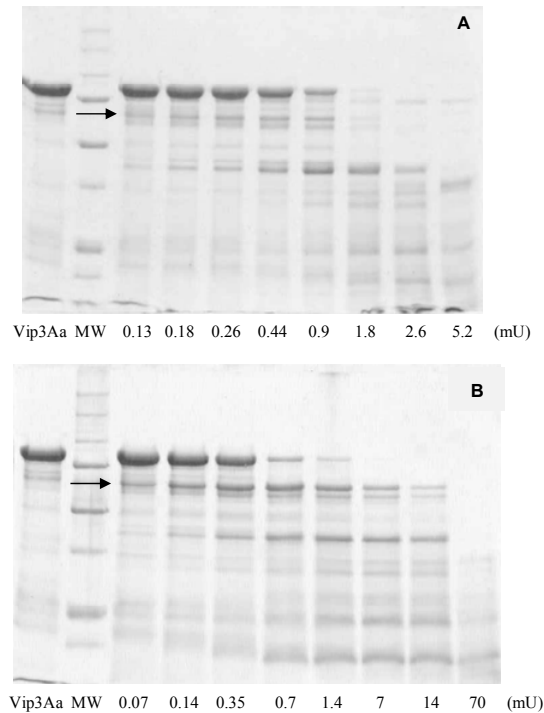


Figura1. Attivazione della protossina Vip3Aa da parte del succo intestinale di *S. exigua* (A) e *S. frugiperda* (B) dopo incubazioni di 1 h a 30°C. Le reazioni contenevano 9,5 µg di protossina e diverse concentrazioni di succo intestinale la cui attività peptidasiica totale è stata determinata usando come substrato modello l'azocaseina. MW: marker delle masse molecolari (250, 150, 100, 75, 50, 37, 25 e 6 kDa). Le frecce indicano la posizione del frammento atteso di 62 kDa.

Conclusioni

E' possibile concludere che il processo di attivazione della proteina Vip3Aa è diverso da quello delle tossine Bt più conosciute e utilizzate per il contenimento delle larve di lepidottero, le Cry, i cui frammenti attivi sono resistenti all'ulteriore degradazione da parte delle proteasi dell'ambiente intestinale.

Bibliografia

- Chakroun M., Bel Y., Caccia S., Abdelkefi-Mesrati L., Escriche B., Ferré J., - 2012. Susceptibility of *Spodoptera frugiperda* and *S. exigua* to *Bacillus thuringiensis* Vip3Aa insecticidal protein. *J Invertebr Pathol.* 110: 334-339.
- Estruch J. J., Warren G. W., Mullins M.A., Nye G. J., Craig J. A., Koziel M.G.,- 1996. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *PNAS.* 93: 5389-5394.
- Milne R., Liu Y., Gauthier D., van Frankenhuyzen K.,- 2008. Purification of Vip3Aa from *Bacillus thuringiensis* HD-1 and its contribution to toxicity of HD-1 to spruce budworm (*Choristoneura fumiferana*) and gypsy moth (*Lymantria dispar*) (Lepidoptera). *J Invertebr Pathol.* 99: 166-172.
- van Frankenhuyzen K., Nystrom C., - 2002. The *Bacillus thuringiensis* toxin specificity database. <http://www.glf.cfs.nrcan.gc.ca/Bacillus/btsearch.cfm>.

Comunità batterica specifica associata al Coleottero troglobio *Cansiliella servadeii* (Coleoptera, Leptodirini)

M.G. Paoletti¹, L. Mazzon², I. Martinez-Sañudo², M. Simonato², A. Squartini²

¹ Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Biologia, Via U. Bassi, 58/B – Padova

² Università degli Studi di Padova, Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente-DAFANA, V.le dell'Università, 16 - 35020 Legnaro (PD), E-mail: isabel.martinez@unipd.it

Introduzione

Cansiliella (Coleoptera, Leptodirini) è un genere di coleotteri troglobi, altamente specializzati, che utilizza il biofilm batterico e vive endemico in alcune profonde grotte prealpine carsiche, tra Veneto orientale e Friuli occidentale (Paoletti, 1973; 1980). *C. servadeii* vive in un habitat igropetrico caratterizzato dalla presenza di una concrezione chiamata “moonmilk” ricoperta da un velo di acqua percolante. In questo ambiente l'insetto passa gran parte del suo tempo a “brucare” alla superficie del moonmilk e, sotto il velo d'acqua, il ricco biofilm batterico (Paoletti et al., 2009). L'apparato boccale, assai modificato (mandibole a “zappa” e galee a “cucchiaio”), consente di raschiare il moonmilk ed ingurgitare organismi della dimensione dei batteri. È una nuova catena alimentare basata sui batteri (video <http://www.youtube.com/watch?v=iXF5pDrF2J0>) (Paoletti et al., 2011; 2013).

L'obiettivo di questo studio è stato quello di analizzare la diversità batterica del tegumento esterno e del tratto digestivo dell'insetto.

Materiali e metodi

Gli insetti sono stati campionati all'interno della Grotta della Foos che si sviluppa, con oltre 2600 m di passaggi, all'interno del Monte Ciaurlec (Friuli-Venezia Giulia). Dieci punti di campionamento all'interno della grotta sono stati utilizzati per le indagini di comportamento e raccolta di insetti. Questi ultimi sono stati inseriti vivi in provette Falcon sterili e trasportati in laboratorio.

La presenza di batteri sul tegumento è stata analizzata mediante metodi coltura-dipendente. In seguito gli esemplari sono stati sterilizzati in superficie e dissezionati in condizioni microbiologicamente controllate e i loro tubi digerenti sono stati prelevati. Una sezione del tubo digerente è stata analizzata direttamente su preparati microscopici colorando il campione con LIVE/DEAD® BacLight Bacterial Viability Kit. Successivamente il contenuto del lume intestinale è stato analizzato mediante metodo coltura-dipendente e metodo coltura-indipendente. Un'aliquota del contenuto dell'intestino medio è stata piastrata in terreno di coltura (PCA) e incubata al buio a 20°C per oltre 10 giorni. La parte rimanente è stata utilizzata per l'amplificazione di una porzione del gene mitocondriale 16S rRNA al fine di identificare i batteri presenti. Gli amplificati ottenuti sono stati clonati in cellule competenti JM109 utilizzando il vettore P-GEM-T Easy vector (Promega) e successivamente sequenziati mediante i primers M13 e T7 nel servizio di sequenziamento BMR Genomics (Padova).

Risultati e discussione

Le osservazioni compiute all'interno della grotta al momento dei campionamenti hanno consentito di rilevare una densità pari a 1,4-1,8 esemplari adulti di *C. servadeii* per metro quadrato. Gli stadi preimaginali invece sono sconosciuti.

Le osservazioni al microscopio e le analisi molecolari, basate sul 16S rRNA, hanno rilevato la presenza di abbondanti masse di cellule batteriche sulle appendici esterne di *C. servadeii* appartenenti a tre phyla: Gamma-Proteobacteria, Actinobacteria e Firmicutes. Inoltre, l'identificazione molecolare delle diverse specie batteriche presenti nei tubi digerenti di *C. servadeii* ha evidenziato la presenza di 29 filotipi diversi, distribuiti nei phyla Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria e le classi Alpha-, Beta- e Delta- Proteobacteria. Il maggior numero di sequenze

ottenute (58.6%) è risultato appartenere al phylum Firmicutes. È interessante notare che nessun filotipo individuato nel tubo digerente presenta corrispondenza con i batteri rinvenuti nel moonmilk da Engel et al. (2013). Da GenBank (BLAST) risulta che in molti casi le sequenze riscontrate manifestavano un livello di omologia al di sotto del limite di specie o anche di genere (rispettivamente l'89% e il 63% dei campioni). Le sequenze con più alti valori di omologia corrispondevano a batteri provenienti del sistema digerente di insetti legati per lo più ad ambienti terricoli.

Conclusioni

Nonostante lo stile di vita semiacquatico di *C. servadeii* sia intimamente legato al microbiologicamente ricco moonmilk, la comunità batterica intestinale dell'insetto si è rivelata completamente distinta da quella di tale substrato. Questi risultati confermano la presenza di una comunità batterica specifica, suggerendo una probabile storia coevolutiva tra i batteri dell'intestino e l'insetto. Tale comunità, dalla letteratura, risulta confrontabile con i batteri presenti nel sistema digerente di altri coleotteri terricoli (es. Scarabaeidae) (Andert et al., 2010). Queste entità batteriche si sarebbero quindi conservate in queste linee di insetti attraverso gli eventi di speciazione evidenziando l'esistenza di fondamentali legami con la fisiologia dell'ospite. Questi risultati insieme a ulteriori studi più approfonditi potrebbero contribuire ad una migliore comprensione dell'evoluzione e dell'ecologia di questo microbiota così come sull'origine del loro ospite troglobio.

Bibliografia

- Andert J., Marten A., Brandl R., Brune A., 2010 - Inter- and intraspecific comparison of the bacterial assemblages in the hindgut of humivorous scarab beetle larvae (*Pachnoda* spp.). FEMS Microbiol Ecol, 74: 439–449.
- Engel A.S., Paoletti M.G., Beggio M., Dorigo L., Pamio A., Gomiero T., Furlan C., Brilli M., Dreon A.L., Bertoni R., Squartini A., 2013 - Comparative microbial community composition from secondary 1 carbonate (moonmilk) deposits: implications for the *Cansiliella servadeii* cave hygropetric food web. Int J Speleol. 42: 181-192.
- Paoletti M.G., 1973 - Notizie sistematiche ed ecologiche su di un nuovo interessante genere del Consiglio Cansiliella. Suppl Boll Mus Civ S Na. Venezia. 24: 81–88.
- Paoletti M.G., 1980. Dati aggiuntivi alla conoscenza del genere *Cansiliella* Paoletti (Col. Bathysciinae). *Redia*, Firenze, 63: 67- 80.
- Paoletti M.G., Beggio M., Dreon AL., Pamio A., Gomiero T., Brilli M., Concheri G., Squartini A., Engel A.S., 2011- A new foodweb based on microbes in calcitic caves: The *Cansiliella* (Beetles) case in northern Italy. Int J Speleol. 40: 45–52.
- Paoletti M.G., Beggio M., Pamio A., Gomiero T., Brilli M., Dreon A.L., Toniello V., Engel AS., 2009 - Comparison of three moonmilk cave habitats associated with troglobitic beetles. In Proc 15th Int Cong Speleol. 1st edition. Edited by White WB. Kerrville, Texas, 400–403.
- Paoletti M.G., Mazzon L. Martinez-Sañudo I., Simonato M., Beggio M., Dreon A.L., Pamio A., Brilli M., Dorigo L., Engel A.S., Tondello A., Baldan B., Concheri G., Squartini A., 2013 - A unique midgut-associated bacterial community hosted by the cave beetle *Cansiliella servadeii* (Coleoptera: Leptodirini) reveals parallel phylogenetic divergences from universal gut-specific ancestors. BMC Microb 13: 129.

Analisi del comportamento sociale e riproduttivo dei maschi sterili di *Rhynchophorus ferrugineus*: implicazioni per il controllo biologico con agenti entomopatogeni

**G. Mazza¹, V. Francardi¹, A.F. Inghilesi², G. Stasolla², C. Benvenuti¹, A. Cini^{1,2},
G. P. Barzanti¹, A. Cito¹, S. Arnone³, M. Cristofaro³, S. Musmeci³, R. Sasso³,
M. Camerota¹, R. Cervo², P.F. Roversi¹**

¹ *Consiglio per la ricerca e la sperimentazione in agricoltura, Centro di ricerca per l'agrobiologia e la pedologia, via di Lanciola 12/a, Cascine del Riccio, 50125 – Firenze; Italia; E-mail:*

giuseppe.mazza@entecra.it

² *Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze, Via Madonna del Piano 6, 50019 – Sesto Fiorentino, Firenze, Italia*

³ *ENEA Casaccia, UTAGRI-ECO, via Anguillarese 301, 00123 – Roma, Italia*

Introduzione

Le specie aliene invasive rappresentano una delle maggiori minacce per la biodiversità, l'economia e la salute umana. *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera, Dryophthoridae) è considerato uno dei più dannosi fitofagi per le palme a livello mondiale (Faleiro, 2006).

Recentemente, le ricerche per il controllo di questo insetto invasivo si stanno concentrando verso metodologie con effetti a lungo termine e a basso impatto sia sull'ambiente che sulla salute umana. Due tecniche attualmente in fase di studio per un controllo integrato sono la tecnica dei maschi sterili (SIT) e l'impiego di patogeni, in particolare funghi (Llácer *et al.*, 2013).

Gli obiettivi del presente studio sono: (1) valutare il potenziale utilizzo di maschi sterili di *R. ferrugineus* (irradiati con raggi gamma ad 80 Gy) come vettori per diffondere un ceppo virulento del fungo entomopatogeno *Metarhizium anisopliae* (Man 08/I05); (2) acquisire nuove conoscenze su biologia e comportamento di questa specie per evidenziare eventuali criticità e/o finestre di vulnerabilità.

Materiali e metodi

Quattro gruppi sperimentali (C=controllo, S=sterili, F=fungo e SF=sterili con fungo) di individui con sex-ratio bilanciata (M=16 e F=16) sono stati osservati in laboratorio, per 90 minuti, in arene circolari (diametro: 48 cm), registrando accoppiamenti e interazioni fra i vari membri. I dati ottenuti sono stati analizzati tramite la *social network analysis* (Croft *et al.*, 2007), che ha permesso di valutare gli effetti dell'irradiazione, dell'esposizione al fungo e dell'effetto combinato di entrambi i trattamenti sulla competitività sessuale dei maschi e, quindi, l'efficacia dei maschi sterilizzati per la diffusione del fungo. Inoltre, nei giorni successivi all'esperimento, è stata valutata la fecondità (n° di uova deposte) e la fertilità delle femmine (n° di uova schiuse).

Risultati e discussioni

L'analisi delle reti sociali evidenzia che i maschi, a differenza delle femmine, sono stati estremamente attivi, iniziando tutte le interazioni sessuali registrate, come già riportato anche in Mazza (2010). Le femmine non hanno mai iniziato una interazione, mostrando livelli di attività e di connettività tra loro molto simili.

I maschi trattati (S, F e SF) sono risultati essere attivi come i maschi controllo (C) e il numero di accoppiamenti non è stato significativamente diverso all'interno dei singoli gruppi sperimentali. La sterilizzazione a 80 Gy e l'infezione sperimentale non hanno influito sul comportamento dei maschi, che però hanno avuto una sopravvivenza minore a causa della forte dose d'irraggiamento e dell'effetto del fungo entomopatogeno. Anche se i maschi dei gruppi sperimentali sono risultati quindi essere meno longevi rispetto ai maschi controllo, grazie alla elevata, continua e frenetica

attività e alla gregarietà mostrata, sono idonei al fine di diffondere l'infezione fungina verso le femmine e gli altri individui sani, come suggerito anche in Dembilio *et al.* (2010).

La fecondità femminile non è stata influenzata dal maschio con cui ciascuna femmina si è accoppiata. Osservando globalmente i gruppi sperimentali, la fertilità è diminuita nel gruppo S e significativamente nel gruppo SF. L'infezione da fungo è stata riscontrata in entrambi i sessi nel 25% degli individui non trattati del gruppo F e nel 37.5% del gruppo SF.

Conclusioni

I nostri risultati, in accordo con Llácer *et al.* (2013) e nell'ottica di un controllo integrato, suggeriscono che i danni e la diffusione di *R. ferrugineus* potrebbero essere ridotti attraverso il rilascio di maschi irradiati e contaminati con un ceppo virulento di *M. anisopliae*. L'effetto della minore produzione di larve da parte delle femmine, a causa degli accoppiamenti con maschi sterili e della trasmissione del fungo a entrambi i sessi, favorita dall'elevata promiscuità della specie all'interno delle palme, costituisce un'interessante premessa per l'utilizzo di tale strategia combinata.

La ricerca è stata finanziata da fondi del Ministero delle politiche Agricole, Alimentari e Forestali (MiPAAF) all'interno del Progetto Nazionale "Protezione delle Palme ornamentali e spontanee dall'invasione biologica del Punteruolo rosso - PROPALMA" (D.M. 25618/7301/11, 2012/12/01).

Bibliografia

- Croft D. P., James R., Krause J., 2007 - Exploring animal social networks. Princeton Univ. Press, Princeton, USA.
- Demobilio Ó., Quesada-Moraga E., Santiago-Álvarez C., Jacas J. A., 2010 - Potential of an indigenous strain of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* as a biological control agent against the Red Palm Weevil, *Rhynchophorus ferrugineus*. J Invertebr Pathol. 104: 214-221.
- Faleiro J. R., 2006 - A review of the issues and management of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Rhynchophoridae) in coconut and date palm during the last one hundred years. Int J Trop Insect Sci. 26: 135-154.
- Llácer E., Santiago-Álvarez C., Jacas J. A., 2013 - Could sterile males be used to vector a microbiological control agent? The case of *Rhynchophorus ferrugineus* and *Beauveria bassiana*. Bull Entomol Res. 103: 241-250.
- Mazza G., 2010 - Eto-ecologia di specie alloctone: il caso di studio del punteruolo rosso delle palme, *Rhynchophorus ferrugineus*. PhD thesis, Università degli Studi di Firenze.

Dinamica di popolazione, indice di immigrazione e infettività di *Cacopsylla melanoneura* in Valsugana

R. Tedeschi¹, M. Baldessari², V. Mazzone², F. Trona², G. Angeli²

¹ DISAFA – ULF Entomologia Generale e Applicata - Università degli Studi di Torino, largo P. Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO). E-mail: rosemarie.tedeschi@unito.it

² IASMA, Fondazione E. Mach, via E. Mach 1, 38010 San Michele all'Adige (TN).

Introduzione

La malattia degli scopazzi del melo ha determinato nell'ultimo quindicennio seri danni alla produzione melicola nel nord Italia tanto che nel solo 2001 sono state registrate perdite fino a 100 milioni di euro (Strauss, 2009). La diffusione della fitoplasmosi è associata prevalentemente a due specie di psille, *Cacopsylla melanoneura* (Förster) (Tedeschi *et al.*, 2003; Tedeschi e Alma, 2004) e *C. picta* (Förster) (Frisinghelli *et al.*, 2000, Jarausch *et al.*, 2011), vettori dell'agente causale 'Candidatus Phytoplasma mali'.

In Trentino sono presenti entrambe le specie con distribuzione e densità variabili nel tempo e nello spazio. Delle due, *C. picta* ha sempre mostrato più alti indici di infezione naturale e una maggiore efficienza di trasmissione del patogeno rispetto a *C. melanoneura* motivo per cui a quest'ultima è stata storicamente attribuita un'importanza secondaria (Mattedi *et al.*, 2008). In seguito ad una recrudescenza della malattia e ad un incremento di *C. melanoneura* in Valsugana, indagini più approfondite sono state realizzate in questo distretto per accertare l'effettivo ruolo di questa specie nell'epidemiologia degli scopazzi del melo.

Materiali e metodi

Campionamenti settimanali di adulti svernanti sono stati svolti nel corso di 5 stagioni (2006-2010), mediante scuotimento di 25 branche/ripetizione per un totale di 4 ripetizioni/rilievo corrispondenti a 4 subparcelle di un frutteto sperimentale di Borgo Valsugana (TN). La presenza di uova e stadi giovanili è invece stata rilevata mediante l'osservazione al microscopio stereoscopico di 30 germogli/ripetizione, ogni sette giorni dall'inizio dell'ovideposizione fino allo sfarfallamento dei nuovi adulti. Durante gli stessi anni il numero di piante sintomatiche è stato registrato a fine estate. Campioni di adulti svernanti, giovani e adulti neo sfarfallati, nonché campioni di piante sintomatiche sono stati sottoposti ad analisi molecolari per la diagnosi di 'Ca. Phytoplasma mali'. L'attribuzione specifica degli adulti di psille è stata fatta mediante analisi morfologica e confermata mediante analisi molecolare.

Inoltre, analizzando i dati raccolti nel quinquennio, è stato messo a punto un indice di immigrazione ($I_i = [(T_{7n} - T_{7th}) + dd_n]$) basato sulle temperature massime registrate nel frutteto, che tiene conto della media di sette giorni (T_{7n}) e del numero medio settimanale di ore (dd_n) con temperature superiori ad un valore soglia (T_{7th}), in grado di prevedere la comparsa e la progressiva colonizzazione dei meleti da parte degli adulti svernanti (Tedeschi *et al.*, 2012).

Risultati e discussione

I campionamenti hanno evidenziato l'esclusiva presenza di *C. melanoneura*, mentre *C. picta* non è mai stata catturata. La colonizzazione del meletto da parte di *C. melanoneura* è risultata molto variabile a seconda degli anni con il picco massimo degli adulti svernanti (fino a 7,92 individui/branca) generalmente concentrato nella seconda metà di marzo. Le uova sono state osservate da marzo ai primi di maggio, mentre i giovani da aprile a maggio.

Nel corso degli anni il numero di piante sintomatiche è risultato variabile tra il 60% e il 100% a seconda delle parcelle, con un incremento annuale medio del 5%. Le analisi molecolari hanno permesso di stimare un'infettività naturale degli adulti svernanti pari a 6,25%, mentre tutti i campioni di piante sintomatiche sono sempre risultate positive a 'Ca. Phytoplasma mali'.

Confrontando la dinamica di popolazione di *C. melanoneura* con la fenologia del melo, è stata riscontrata una buona corrispondenza tra il picco degli adulti svernanti e le prime ovideposizioni con la rottura delle gemme, mentre il picco di uova ha sempre preceduto di poco la fioritura. In particolare attraverso l'esame dei dati meteo nell'areale indagato è stato calcolato un valore di T_{7th} pari a $9,5^{\circ}C$.

L'arrivo di *C. melanoneura* nei meleti è possibile pertanto quando I_i è maggiore a 0, cioè (1) se $T_{7n} > 9.5$, oppure se nel corso di una settimana si presenta un sufficiente numero (dd_n) di ore sopra al valore soglia in grado di compensare un T_{7n} più basso. Ad ogni modo, i nostri campionamenti hanno accertato la presenza o l'incremento di psille in meleto soltanto quando I_i è stato maggiore a 2.

Conclusioni

Al termine della nostra indagine è stato rivalutato il ruolo di *C. melanoneura* come vettore di 'Ca. Phytoplasma mali' nell'Italia nord-orientale, dando peraltro un'importante conferma ai risultati precedentemente ottenuti da Malagnini *et al.* (2010). Inoltre, la definizione e la validazione di un indice di immigrazione permetterà di predire il progressivo arrivo delle psille nei meleti a partire da fine inverno, consentendo agli agricoltori di effettuare trattamenti più tempestivi e mirati. L'applicazione di tale indice in altri areali, con differenti caratteristiche climatiche e orografiche, dovrà essere validato partendo dai dati storici sui campionamenti e/o programmando campionamenti periodici.

Bibliografia

- Frisinghelli, C., Delaiti, L., Grando, M. S., Forti, D., and Vindimian, M.E., 2000. *Cacopsylla costalis* (Flor 1861), as a vector of apple proliferation in Trentino. J. Phytopathol. 148: 425-431.
- Jarausch B., Schwind N., Fuchs A., Jarausch W., 2011. Characteristics of the spread of apple proliferation by its vector *Cacopsylla picta*. Phytopathology 101(12): 1471-1480.
- Malagnini V., Pedrazzoli F., Gualandri V., Zasso R., Bozza E., Fiamingo F., Pozzebon A., Mori N., Ioriatti C., 2010. Detection of 'Candidatus Phytoplasma mali' in different populations of *Cacopsylla melanoneura* in Italy. B. Insectol. 63: 59-63.
- Mattedi L., Forno F., Cainelli C., Grando M. S., Jarausch W., 2008. Research on 'Candidatus Phytoplasma mali' transmission by insect vectors in Trentino. Acta Hort. 781: 369-374.
- Strauss E., 2009. Phytoplasma research begins to bloom. Science 325: 388-390.
- Tedeschi R., Alma A., 2004. Transmission of apple proliferation phytoplasma by *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera Psyllidae). J. Econ. Entomol. 97: 8-13.
- Tedeschi, R., Visenti, C., Alm, A., Bosco D., 2003. Epidemiology of apple proliferation (AP) in Northwestern Italy: evaluation of the frequency of AP-positive psyllids in naturally infected populations of *Cacopsylla melanoneura* (Homoptera: Psyllidae). Ann. Appl. Biol. 142:285-290.
- Tedeschi R., Baldessari M., Mazzoni V., Trona F., Angeli G., 2012. Population dynamics of *Cacopsylla melanoneura* (Hemiptera: Psyllidae) in Northeast Italy and its role in the apple proliferation epidemiology in apple orchards. J. Econ. Entomol. 105(2): 322-328.

Il microbiota associato alle specie del gruppo *Cryptocephalus marginellus* (Chrysomelidae): determinanti ecologici nell'interazione mutualistica insetti-batteri

M. Montagna¹, J. Gómez-Zurita², A. Giorgi¹, V. Merighetti³, C. Bandi³, G. Lozzia¹

¹ *Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, 20133 Milano, Italia, E-mail: matteo.montagna@unimi.it;*

² *Consejo Superior de Investigaciones Científicas - Universitat Pompeu Fabra, Institute of Evolutionary Biology, 08003 Barcelona, Spain.*

³ *Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Veterinarie e Sanità Pubblica, 20133 Milano, Italia.*

Introduzione

La maggior parte dei metazoi beneficia di interazioni mutualistiche con consorzi batterici (Dillon and Dillon, 2004; Clemente *et al.*, 2012). Le associazioni ospite-microbiota sono ben note per diverse specie di insetti, in particolare per quelli la cui risorsa trofica è carente in macro- e/o micro-nutrienti (e.g. McCutcheon *et al.*, 2009). Ad oggi, la maggior parte degli studi è finalizzata a caratterizzare il microbiota associato ad insetti di rilevanza economica o a singoli taxa e poca attenzione è rivolta a caratterizzare le comunità batteriche associate a gruppi di specie, rendendo difficile la comprensione della dimensione evolutiva del fenomeno.

Le specie del gruppo *Cryptocephalus marginellus* (Coleoptera; Chrysomelidae) sono presenti in Europa meridionale dalla Spagna alla Macedonia, dal livello del mare (*C. renatae*, *C. zoiai* e *C. marginellus* s.s.) fino a medio-alte quote sui rilievi montuosi (*C. marginellus* s.s., *C. eridani*, *C. hennigi* e *C. aquitanus*). L'ecologia delle specie è prevalentemente sconosciuta; in bibliografia sono riportate numerose piante ospiti (e.g. *Corylus*, *Cytisus*, *Genista*, *Quercus*, *Crataegus*, *Rosa*; Mohr, 1966; Petitpierre, 2000; Sassi, 2011) che indicano una possibile polifagia del gruppo. Sulla base di caratteri morfologici edeagici è stato ipotizzato che il gruppo abbia avuto origine a seguito di speciazione di tipo allo- o parapatrico (Sassi, 2011). Gli obiettivi del presente lavoro sono: a) caratterizzare, attraverso metodi coltura-indipendenti, il microbiota associato a sei popolazioni (cinque specie) del gruppo *C. marginellus*; b) valutare i pattern di similarità tra le comunità batteriche individuate e valutare l'influenza sia della distanza geografica tra le popolazioni che di fattori ambientali (latitudine, longitudine, altitudine e pianta ospite) sulla composizione del microbiota; c) ricostruire il potenziale metabolico conferito dal microbiota sulla base dei taxa batterici individuati.

Materiali e Metodi

Campioni appartenenti a cinque delle sei specie del complesso *C. marginellus* sono stati raccolti da diverse località dell'areale e preservati in etanolo assoluto a -20°C. Per ciascuna popolazione il DNA è stato estratto da 5 individui, previa sterilizzazione in una soluzione di NaClO al 4%. Per ciascuno dei 5 individui, appartenenti alla stessa specie e provenienti dalla stessa località di raccolta, sono stati prelevati 200 ng di DNA ed uniti in pool, usato successivamente come template per allestire le PCR con primers universali batterici per il gene 16S rRNA, regione V1-V3 (27Fmod/519Rmod). Le analisi di pyrotag sono state realizzate presso MR DNA (TX, USA) con tecnologia 454 Roche. Le analisi di clustering e identificazione tassonomica sui dati di sequenza ottenuti sono state condotte mediante l'applicativo QIME, mentre le analisi sulla struttura delle comunità batteriche, le correlazioni con fattori ambientali e le analisi di β -diversità sfruttando l'applicativo R. Le predizioni sul potenziale metabolico del microbioma associate alle sei popolazioni sono state inferite mediante PiCRUST.

Risultati e discussione

Dalla procedura di pyrosequenziamento si sono ottenuti ~49.300 ampliconi 16S rRNA, di cui circa 13.200 sono risultati attribuibili a batteri. L'analisi di clustering condotta con un valore di soglia di identità pari al 97% ha portato ad individuare un totale di 381 OTUs batteriche associate alle sei popolazioni analizzate. Le popolazioni di *C. aquitanus* (Pirenei) e *C. marginellus* s.s. (Calanques) possiedono il maggior numero di OTUs (rispettivamente 134 e 105); il valore più basso è risultato associato a *C. zoiai* (45 OTUs; Albenga). Le comunità batteriche associate a *C. aquitanus* e *C. renatae* (Levanto) sono risultate le più diverse. Il microbioma associato alle popolazioni del gruppo *C. marginellus* è dominato da batteri del phylum Proteobacteria ad eccezione di *C. eridani* in cui predominano i Tenericutes. Alcune famiglie batteriche, come Enterobacteriaceae, Burkholderiaceae e Oxalobacteraceae, sono presenti in tutte le popolazioni indagate, mentre batteri della famiglia Rickettsiaceae e Spiroplasmataceae sono esclusivamente presenti in *C. marginellus* (Calanques), *C. eridani* (Grigna) e *C. renatae*. Batteri dei generi *Ralstonia*, *Methylobacterium* e *Sphingomonas* sono diffusi in tutte le popolazioni analizzate.

L'analisi di clustering condotta sulle comunità batteriche non è congruente con l'ipotesi di coevoluzione ospite-simbionte. Il pattern di distanza ottenuto dall'analisi di ordinamento NMDS, condotta sulle comunità batteriche associate alle diverse popolazioni, è stato correlato con diversi fattori ambientali (latitudine e longitudine, altitudine, pianta ospite). L'altitudine è risultata l'unico fattore che spiega, in modo significativo, le differenze osservate nella struttura delle comunità batteriche delle popolazioni del complesso *C. marginellus* ($R^2 = 0.96$, $P = 0.009$). L'analisi della β -diversità ha indicato un elevato turnover tra le popolazioni, ad indicare un basso numero di specie batteriche condivise. L'analisi di clustering condotta sul potenziale metabolico del microbiota associato a ciascuna popolazione è risultata più congruente con la tassonomia e l'ipotesi evolutiva del gruppo.

Conclusioni

Attraverso questo studio sulle comunità batteriche associate ad un gruppo di Chrysomelidae è emersa l'importanza di fattori ambientali ed evolutivi sulla composizione del microbiota associato: i primi sembrano aver giocato un ruolo sulla composizione in specie, i secondi nel restringere il potenziale metabolico delle comunità mutualiste.

Bibliografia

- Clemente J. C., Ursell L. K., Parfrey L. W., Knight R., 2012 - The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell* 148: 1258-1270.
- Dillon R. J., Dillon V. M., 2004 - The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions. *Ann. Rev. Entomol.* 49: 71-92.
- McCutcheon J. P., McDonald B. R., Moran N. A., 2009 - Convergent evolution of metabolic roles in bacterial co-symbionts of insects. *PNAS* 106: 15394-15399.
- Mohr K. H., 1966 - Chrysomelidae. In: *Die Käfer Mitteleuropas*, Band 9, eds. Freude, Harde and Lohse: 95.
- Petitpierre E., 2000 - Coleoptera Chrysomelidae I. *Fauna Ibérica*, vol. 13. Museo Nacional de Ciencias Naturales C.S.I.C., Madrid, Spain.
- Sassi D., 2011 - A new species of the *Cryptocephalus marginellus* complex from Italian Western Alps (Coleoptera: Chrysomelidae: Cryptocephalinae). *Genus* 22: 123-132.

Effetto della conservazione a breve termine, a diverse temperature, sulla vitalità delle uova e lo sviluppo *in vitro* del parassitoide *Exorista larvarum* (L.) (Diptera Tachinidae)

M.L. Dindo, E. Marchetti, L. Stangolini, L. Depalo

Alma Mater Studiorum Università di Bologna, Dipartimento di Scienze Agrarie, 40127 Bologna, Italia, E-mail: marialuisa.dindo@unibo.it

Introduzione

Exorista larvarum (L.) è un parassitoide polifago gregario di larve di lepidotteri, le cui femmine depongono uova macrotipiche sul corpo dell'ospite e che può essere allevato, con relativa facilità, sia *in vivo* che *in vitro*. Tale tachinide è importante per il controllo sostenibile di insetti di interesse agro-forestale, sia come agente di lotta biologica, sia come specie-modello per ricerche riguardanti gli effetti secondari di sostanze insetticide (Dindo e Grenier, 2014). Si giustificano quindi gli studi sul miglioramento del suo allevamento, anche opportunamente integrando la tecnica *in vivo* con quella *in vitro*. Ad esempio, per fronteggiare i problemi di discontinuità che talora si verificano nella colonia *in vivo*, è utile sfruttare la possibilità di allevare *E. larvarum in vitro* a partire da uova deposte fuori dall'ospite (Dindo *et al.*, 2007). Tale possibilità consente di recuperare le uova che le femmine depongono sulle pareti della gabbia o altri supporti, che abitualmente vanno perdute.

Nel presente studio è stata valutata la possibilità di conservare *in vitro* a diverse temperature, nel breve periodo, le uova e i successivi stadi preimmaginali del parassitoide. Le temperature sono state selezionate considerando che, di norma, la conservazione degli entomofagi, nei diversi stadi, avviene tra i 4°C e i 15°C (van Lenteren e Tommasini, 2003; Dindo e Grenier, 2014). È stata saggiata inoltre la temperatura di 20°C, che è comunque inferiore a quella standard di 26°C, utilizzata nei nostri allevamenti.

Materiali e metodi

Le uova di *E. larvarum* sono state prelevate dal tegumento di larve dell'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* (L.) previamente superparassitizzate, entro 24 h dalla deposizione. Lo studio si è svolto in tre fasi. In fase I è stata valutata la capacità di schiusa delle uova, trasferite su agar, conservate per 3 o 5 giorni alle temperature sperimentali (5°C, 10°C, 15°C, 20°) e poi spostate alla temperatura standard di 26°C. Uova testimoni sono state mantenute a 26°C fin dall'inizio (numero uova= 16 per tesi). In fase II, uova posate su substrato artificiale a base di latte scremato (Dindo *et al.*, 2007) sono state conservate a 15°C per 5 giorni e poi trasferite a 26°C. In fase III, uova su substrato artificiale sono state invece conservate a 20°C (a) per 5 giorni, (b) per 3 giorni e (c) per tutto la durata dello sviluppo larvale. Sia in fase II che in fase III, è stata mantenuta come testimone la situazione standard di allevamento *in vitro* alla temperatura costante di 26°C. Ciascuna delle repliche (5 in fase II e 4 in fase III) era costituita da una piastra con 24 uova. I risultati sono stati valutati sulla base di una serie di parametri quanti-qualitativi, di seguito riportati. L'analisi statistica è stata effettuata mediante tabelle di contingenza 2x2 o analisi della varianza semplice.

Risultati e discussione

In fase I, già dopo 3, e ancor più dopo 5 giorni, la schiusa delle uova di *E. larvarum* stoccate a 5°C e 10°C ha subito una diminuzione rispetto alle altre situazioni (Fig. 1): per questo tali tesi sono state escluse dalle successive fasi, finalizzate a valutare l'effetto delle basse temperature su tutto lo sviluppo *in vitro* del parassitoide.

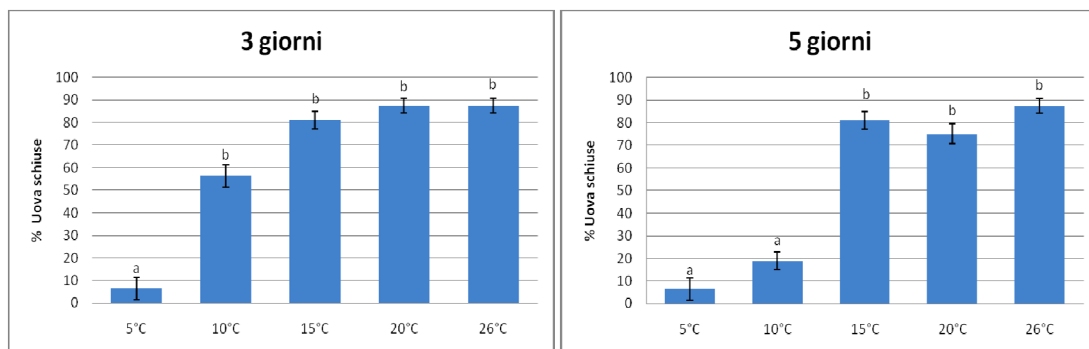


Figura 1. Schiusa (% \pm ES) di uova di *Exorista larvarum* conservate a basse temperature per 3 o 5 giorni e 26 °C (testimoni). Lettere diverse sulle colonne indicano le differenze significative tra le percentuali (tabelle di contingenza 2x2, create per saggiare ogni possibile combinazione di trattamenti)

In fase II, una volta riportate a 26°C, le uova conservate a 15°C per 5 giorni sono schiuse in tempi non significativamente diversi rispetto alle uova testimoni. Tuttavia, per i parassitoidi conservati a 15°C, le rese in pupari (=39,1%) sono state significativamente inferiori rispetto alle rese relative ai testimoni (=61,7%). I pesi dei pupari (uno dei parametri di norma considerati nei controlli di qualità) non sono però risultati significativamente diversi tra le due tesi.

In fase III, in base ai parametri considerati (= percentuale di schiusa delle uova, tempi di sviluppo, rese in pupari e in adulti, longevità e fecondità delle femmine), i risultati migliori, sia pure inferiori rispetto alla situazione standard, si sono ottenuti con lo stoccaggio a 20°C per 5 giorni. Sono state comunque ottenute rese di adulti fertili non inferiori al 40% in tutte le condizioni saggiate (compresa la conservazione a 20°C per tutta la durata dello sviluppo larvale del parassitoide, che ha consentito, come era prevedibile, un prolungamento nei tempi dello sviluppo stesso).

Conclusioni

I risultati ottenuti dimostrano la possibilità di conservare a temperature inferiori a quella standard, nel breve periodo, uova e larve di *E. larvarum* poste su substrato artificiale, a tutto vantaggio di una gestione più flessibile dell'allevamento e di una maggiore facilità di trasporto (durante il quale le condizioni termiche possono non essere ottimali). Tenuto conto che il concetto di "qualità" (ma anche di quantità) non è assoluto, ma dipende dagli obiettivi per cui i parassitoidi vengono allevati (Grenier, 2009), tutte le situazioni saggiate nelle fasi II e III possono, a seconda delle esigenze, essere applicate, pur nella consapevolezza che il loro utilizzo comporta cali produttivi più o meno accentuati.

Bibliografia

- Dindo M. L., Grenier S., 2014 - Production of dipteran parasitoids. In: Mass production of beneficial organisms, eds. Morales-Ramos, Rojas and Shapiro-Ilan: 101-143.
- Dindo M. L., Marchetti E., Baronio P., 2007 - *In vitro* rearing of the parasitoid *Exorista larvarum* (Diptera: Tachinidae) from eggs laid out of host. J. Econ. Entomol. 100: 26-30.
- Grenier S., 2009 - *In vitro* rearing of entomophagous insects - Past and future trends: a minireview. Bull. Insectol. 62: 1-6.
- Lenteren J. C. van, Tommasini M. G., 2003 - Mass production, storage, shipment and release of natural enemies. In: Quality control and production of biological control agents - theory and testing procedures, ed. J.C. van Lenteren: 181-189.

Interazioni interspecifiche tra due parassitoidi oofagi della cimice verde in condizioni di campo e semi-campo

E. Peri¹, A. Cusumano¹, V. Amodeo¹, E. Wajnberg², S. Colazza¹

¹Università degli Studi di Palermo, Dipartimento Scienze Agrarie e Forestali, 90128 Palermo, Italia, E-mail: ezio.peri@unipa.it; cusumanoantonino@tiscali.it; valentina.amodeo@unipa.it; stefano.colazza@unipa.it

²INRA – 06903 Sophia Antipolis, Cedex, France, E-mail: eric.wajnberg@sophia.inra.fr

Introduzione

In campo, i parassitoidi che competono per lo stesso ospite possono dare luogo a interazioni interspecifiche che hanno un importante ruolo ecologico nel modellare la struttura delle comunità, nonché rilevanti risvolti applicativi nella razionalizzazione di interventi di controllo biologico (Godfray, 1994; Meiners e Peri, 2013). Le interazioni interspecifiche possono essere divise in due gruppi: competizione estrinseca, che avviene tra le femmine adulte durante la localizzazione dell'ospite, e competizione intrinseca, che avviene tra le larve che si sviluppano nello stesso ospite. La maggior parte delle ricerche ha messo in luce queste interazioni in condizioni di laboratorio, con sistemi più semplificati rispetto alle condizioni naturali, mentre solo negli ultimi anni sono stati pubblicati risultati in condizioni di campo o semicampo.

Il modello *Trissolcus basalis* - *Ooencyrtus telenomicida*

Trissolcus basalis (Wollaston) e *Ooencyrtus telenomicida* (Vassiliev) sono due parassitoidi che coesistono naturalmente in campo su ovature della cimice verde *Nezara viridula* (L.). In Sicilia circa il 25% delle ovature raccolte in campo è risultato attaccato contemporaneamente dalle due specie (Peri *et al.*, 2011). Osservazioni condotte durante il biennio 2011-2012, collocando settimanalmente ovature sentinella di *N. viridula* in un campo coltivato a pomodoro, hanno evidenziato che *T. basalis* è attivo da maggio a settembre, mentre *O. telenomicida* è attivo soprattutto nei mesi di luglio-agosto (Peri *et al.*, in corso di stampa). Nello stesso periodo, la raccolta settimanale di ovature naturali del pentatomide in un altro campo della stessa coltura ha mostrato che *T. basalis* ha raggiunto livelli di parassitizzazione più elevati rispetto al competitore, determinando un maggiore impatto sull'ospite anche sulle ovature multiparassitizzate da *O. telenomicida*. Infatti, in entrambi gli anni, circa il 30% delle uova di *N. viridula* sono state parassitizzate da *T. basalis* sia nel caso in cui le ovature dell'ospite erano attaccate solo da *T. basalis* sia nel caso in cui queste erano attaccate da entrambe le specie. Invece *O. telenomicida* ha parassitizzato una percentuale di uova compresa tra 0,4 e 4,5 a seconda se le ovature erano attaccate da *O. telenomicida* o da entrambe le specie (Peri *et al.*, in corso di stampa). Sebbene in misura contenuta, data la sua elevata capacità di localizzazione dell'ospite, *T. basalis* soffre la contemporanea presenza di *O. telenomicida*. Infatti, nelle prove di semicampo, eseguite disponendo ovature sentinella su 5 piante di peperoni coltivate in parcelle coperte da rete anti insetto, le percentuali di parassitizzazione raggiunte da *T. basalis* e *O. telenomicida* erano rispettivamente 57 e 26 quando le due specie erano rilasciate singolarmente e 23 e 37 quando erano rilasciate contemporaneamente (Peri *et al.*, in corso di stampa). In queste condizioni, dunque, *T. basalis* diminuisce la sua efficienza a causa dell'effetto esercitato dal competitore. Infatti, prove di laboratorio hanno dimostrato che *O. telenomicida* è superiore a livello di competizione intrinseca, in quanto, nel caso in cui l'uovo ospite è parassitizzato da entrambe le specie, la competizione larvale è dominata da *O. telenomicida* con il rilevante contributo dell'azione svolta dalla femmina ovideponente (Cusumano *et al.*, 2011, 2012b). Inoltre, attaccando uova di *N. viridula* già parassitizzate dall'altra specie, *O. telenomicida* è in grado di estendere il periodo di sfruttamento delle risorse per ulteriori 6-7 giorni, potendosi anche comportare come iperparassitoide (Cusumano *et al.*, 2013).

Conclusioni

In campo *T. basalis* e *O. telenomicida* competono per la stessa risorsa, rappresentata dalle ovature di *N. viridula*. Tuttavia, le due specie riescono a coesistere adottando strategie differenti. Questa coesistenza rappresenta un esempio del concetto di “counterbalanced competition” descritto da Zwolfer (1971). Come dimostrato da altri modelli, ad esempio tra parassitoidi di fitofagi di piante forestali (Schröder, 1974; Hougardy e Grégoire, 2003), la coesistenza tra due specie che dividono una stessa risorsa è possibile quando una è superiore nella competizione estrinseca e l'altra domina la competizione intrinseca. Nello specifico, *T. basalis* si dimostra superiore nella competizione estrinseca avendo una maggiore capacità di localizzare l'ospite e una più elevata fecondità (Peri *et al.*, 2011, Peri *et al.*, in corso di stampa), mentre *O. telenomicida* risulta superiore a livello di competizione intrinseca, potendosi anche comportare da iperparassitoide facoltativo (Cusumano *et al.*, 2011, 2012b, 2013).

Bibliografia

- Cusumano A., Peri E., Amodeo V., McNeil J. N., Colazza S., 2013 - Intraguild Interactions between Egg Parasitoids: Window of Opportunity and Fitness Costs for a Facultative Hyperparasitoid. PLoS ONE doi:10.1371/journal.pone.0064768.
- Cusumano A., Peri E., Vinson S. B., Colazza S., 2011 - Intraguild interactions between two egg parasitoids exploring host patches. *BioControl* 56:173–184.
- Cusumano A., Peri E., Vinson S. B., Colazza S., 2012 - The ovipositing female of *Ooencyrtus telenomicida* relies on physiological mechanisms to mediate intrinsic competition with *Trissolcus basalis*. *Entomol Exp Appl* 143: 155–163.
- Godfray H. C. J., 1994 - Parasitoids: behavioral and evolutionary ecology. Princeton Univ. Press.
- Hougardy E., Grégoire J. C., 2003 - Cleptoparasitism increases the host finding ability of a polyphagous parasitoid species, *Rhopalicus tutela* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Behav. Ecol. Sociob.* 55: 184–9.
- Meiners T., Peri E., 2013 - Chemical ecology of insect parasitoids: essential elements for developing effective biological control programmes. In: *Chemical Ecology of Insect Parasitoids*, eds. Wajnberg and Colazza: 197–228.
- Peri E., Cusumano A., Agro' A., Colazza S., 2011 - Behavioral response of the egg parasitoid *Ooencyrtus telenomicida* to host-related chemical cues in a tritrophic perspective. *BioControl* 207:47–53.
- Peri E., Cusumano A., Amodeo V., Wajnberg E., Colazza S., (in corso di stampa) Intraguild interactions between two egg parasitoids of a true bug in semi-field and field conditions.
- Schröder D., 1974 - A study of the interactions between the internal larval parasites of *Rhyacionia buoliana* [Lepidoptera: Olethreutidae]. *Entomophaga* 19: 145–71.
- Zwolfer H (1971) The structure and effect of parasite complexes attacking phytophagous host insects. In: *Dynamics of populations: proceedings of the advanced study institute on dynamics and numbers in populations*, eds. den Boer and Gradwell: 405–418.

Effetto dei funghi entomopatogeni sul sistema insetto ospite-endoparassitoide “*Trialeurodes vaporariorum*-*Encarsia formosa*”

M. Oreste, E. Tarasco

Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, Università degli Studi di Bari “Aldo Moro”, Via Amendola n. 165/a, 70100 Bari

Introduzione

I funghi entomopatogeni sono considerati non dannosi per l’artropofauna utile o indifferente, in particolare per quella tellurica, nonché nei confronti di insetti predatori e parassitoidi, sebbene questo aspetto sia relativamente poco studiato. Gli esperimenti sinora condotti, infatti, hanno riguardato soprattutto la valutazione dell’efficacia congiunta dei diversi agenti di controllo piuttosto che la verifica dell’effetto diretto dei funghi entomopatogeni su questi organismi, dell’azione sul sistema tritrofico nel suo complesso e sui meccanismi di predazione/parassitismo (Avery *et al.* 2008, Hamdi *et al.* 2011).

Con il presente lavoro di ricerca si è voluto studiare l’effetto dei trattamenti fungini entomopatogeni sul sistema “*Trialeurodes vaporariorum*-*Encarsia formosa*” in termini di patogenicità/virulenza nonché valutare l’eventuale influenza dei trattamenti fungini sul comportamento del parassitoide. In particolare si è voluto verificare (1) l’effetto dei funghi entomopatogeni sullo sviluppo dell’endoparassitoide, (2) la capacità del parassitoide di discriminare tra ospiti sani e infetti la conseguente capacità di perpetrare il proprio ciclo biologico parallelamente all’evolversi di epizoozie fungine, (3) l’eventuale ruolo operato dai parassitoidi nella disseminazione dei funghi entomopatogeni.

Materiali e metodi

E’ stato valutato l’effetto di alcuni isolati fungini entomopatogeni mediterranei (compreso il micoinsetticida Naturalis Bioguard e il ceppo ATCC74040 di *B. bassiana* isolato dal medesimo prodotto commerciale) sul sistema *Trialeurodes vaporariorum* - *Encarsia formosa* in laboratorio. I trattamenti fungini sono stati realizzati in tempi diversi rispetto all’esposizione dell’ospite al parassitoide (4 giorni prima, 2 giorni prima, lo stesso giorno, 2 giorni dopo e 4 giorni dopo) e registrando il tasso di parassitizzazione, lo sfarfallamento di *E. formosa* e la mortalità di *T. vaporariorum*. Successivamente, al fine di verificare l’effetto dei trattamenti sul comportamento del parassitoide, è stato valutato il tropismo di *E. formosa* in condizioni di scelta multipla (free-multiple choice test) allestendo un’arena sperimentale nella quale al parassitoide sono state sottoposte foglie di pomodoro infestate e diversamente trattate con isolati entomopatogeni e registrando le scelte effettuate dall’insetto. Quindi, è stato osservato il comportamento di *E. formosa* su foglie di pomodoro sottoposte a diversi trattamenti (no-choice test) registrando il tempo trascorso dall’insetto sulla foglia, il tempo impiegato nell’attività di ricerca, il numero di ospiti incontrati, il tempo trascorso ispezionando l’ospite, il numero di ospiti accettati per l’ovideposizione. Infine, tramite esperimenti realizzati in vitro, è stata valutata la trasmissione orizzontale dei funghi entomopatogeni mediata da *E. formosa*.

Risultati e discussione

I funghi entomopatogeni hanno un effetto deleterio sulla parassitizzazione se effettuati 2 giorni dopo, lo stesso giorno o prima di esporre gli ospiti al parassitoide mentre trattamenti effettuati 4 giorni dopo l’avvenuta parassitizzazione hanno un effetto trascurabile in termini di riduzione del tasso di parassitizzazione. L’effetto deleterio dei trattamenti nei confronti di *E. formosa* è superiore quando effettuato 2 e 4 gg prima di esporre gli insetti al parassitoide. In ogni caso, i trattamenti fungini riducono l’emergenza del parassitoide e il prodotto commerciale dimostra di avere l’effetto deleterio maggiore. *E. formosa* non presenta alcun tropismo olfattivo differenziale nei confronti

degli ospiti sani o infetti, ovvero non riesce a percepire a distanza lo stato di salute dell'ospite ma la selezione dell'ospite è effettuata tramite esplorazione diretta. Questo aspetto concorda con quanto pubblicato precedentemente circa le modalità di individuazione e selezione dell'ospite per la specie in oggetto (Van Lenteren *et al.* 1996). L'accettazione dell'ospite per l'ovideposizione si riduce sensibilmente in caso di trattamenti fungini, in particolare quando effettuati 4 giorni prima dell'esperimento e soprattutto quando si applica il prodotto commerciale poco prima di esporre gli ospiti al parassitoide. *E. formosa* dimostra, quindi, di essere in grado di riconoscere gli ospiti infetti in stadio avanzato (Fransen e Van Lenteren, 1993). Il prodotto commerciale Naturalis sembra, inoltre, avere un effetto repellente nei confronti di *E. formosa* immediatamente dopo la sua applicazione. *E. formosa* risulta inoltre capace di trasmettere la micosi da ospite sano a ospite infetto attraverso la propria attività di esplorazione dell'ospite e ovideposizione.

Conclusioni

I risultati del lavoro forniscono importanti informazioni circa la possibilità di integrare i due agenti di controllo e chiariscono alcuni aspetti biologici e comportamentali del sistema "ospite x patogeno x parassitoide". Sulla base dei risultati ottenuti è possibile affermare che, nel caso si scelga di impostare il controllo di *T. vaporariorum* sull'utilizzo di *E. formosa*, è possibile effettuare successivamente un trattamento a base di funghi entomopatogeni, almeno 4 giorni dopo il lancio dei parassitoidi in modo da massimizzare l'efficacia dei due agenti di controllo (colpire gli insetti sfuggiti alla parassitizzazione) e al contempo ridurre gli effetti negativi del trattamento. In ogni caso *E. formosa* risulta capace di perpetrare il proprio ciclo biologico parallelamente all'evolversi di epizozie fungine grazie alla sua capacità di selezione dell'ospite previa esplorazione diretta e di trasferire l'inoculo in popolazioni sane. Tale aspetto risulta particolarmente interessante se si considera l'immobilità degli stati pre-imaginali del Trialeurode, fattore che rende pressoché impossibile la trasmissione orizzontale intra-specifica.

Bibliografia

- Avery P.B., Faull J., Simmonds M.S.J., 2008. Effects of *Paecilomyces fumosoroseus* and *Encarsia formosa* on the control of the greenhouse whitefly: preliminary assessment of a compatibility study. *BioControl* 53 (2): 303-316.
- Fransen J.J., Van Lenteren J.C., 1994. Survival of the parasitoid *Encarsia formosa* after treatment of parasitized greenhouse whitefly larvae with fungal spores of *Aschersonia aleyrodis*. *Entomol. Exp. Appl.* 71:235-243.
- Hamdi F., Fargues J., Ridray G., Jeannequin B., Bonato O., 2011. Compatibility among entomopathogenic hyphocreales and two beneficial insects used to control *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleurodidae) in Mediterranean greenhouses. *Journal of Invertebrate Pathology* 108: 22 - 29.
- Van Lenteren J.C., Van Roermund H.J.V., Sutterlin S., 1996. Biological Control of Greenhouse Whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) with the Parasitoid *Encarsia formosa*: How Does It Work? *Biological Control* 6:1-10

Comportamento predatorio di *Macrolophus pygmaeus* nei confronti di *Acyrtosiphon pisum*: influenza dell'età della preda e interazioni intraspecifiche nel predatore

J. Duran Prieto, V. Trotta, P. Fanti¹, D. Battaglia

Università della Basilicata, Dipartimento di Scienze, 85100 Potenza, Italia. E-mail: juliana.duran@unibas.it, vincenzo.trotta@unibas.it, paolo.fanti@unibas.it, donatella.battaglia@unibas.it

Introduzione

Macrolophus pygmaeus Rambur (Hemiptera: Miridae) è un predatore zoo-fitofago, polifago, originario del bacino del Mediterraneo, utilizzato con successo nel controllo biologico di specie dannose alle colture ortive tra cui aleurodidi, afidi, lepidotteri e acari (Perdikis *et al.* 1999; Perdikis e Lykouressis 2000).

L'obiettivo di questo lavoro è quello di studiare il comportamento di predazione di *M. pygmaeus* nei confronti dell'afide *Acyrtosiphon pisum*, nella prospettiva di utilizzare questa specie afidica come modello in studi sulle relazioni tritrofiche e sulla predazione "intraguild" che vedano tra gli organismi coinvolti anche il miride predatore.

Materiali e Metodi

L'attività predatoria delle femmine di *M. pygmaeus* nei confronti degli stadi preimmaginali di *A. pisum* è stata studiata mettendo a punto test con e senza possibilità di scelta. In entrambi i casi è stata utilizzata una foglia di fava con il picciolo inserito in una Eppendorf piena di acqua per evitarne il disseccamento. La foglia, dopo il trasferimento degli afidi, veniva posta in un contenitore cilindrico e esposta al predatore per 24 ore a 22°C. Nel test senza possibilità di scelta erano usati afidi di una singola età a due diverse densità (10 e 20 individui per foglia) mentre nel test con possibilità di scelta le età dell'afide venivano offerte a coppie (10 individui per ogni età). Il peso medio delle singole età dell'afide è stato stimato pesando gruppi di 10-30 afidi anestetizzati con una bilancia di precisione. L'effetto delle interazioni intraspecifiche sul tasso di predazione individuale è stato studiato con lo stesso metodo descritto sopra, utilizzando come preda neanidi di seconda età di *A. pisum*. In questo caso sono stati isolati per 24 ore sulla stessa foglia 1,2 o 5 femmine oppure 1, 2 maschi, oppure 1 maschio e 1 femmina di *M. pygmaeus*, lasciando inalterato il rapporto preda/predatore (10 afidi per individuo).

Risultati e Discussione

I risultati ottenuti mettono in evidenza una preferenza per le prime età neanidali di *A. pisum*, che si associa non solo a un tasso di predazione più elevato (Fig. 1A, C), ma anche a una biomassa consumata maggiore. È stata inoltre osservata la presenza di prede uccise ma non consumate e quella di prede consumate solo parzialmente (Fig. 1B). Il tasso di predazione è stato maggiore alla densità di 20 afidi rispetto a 10 afidi (Fig. 1A), confermando quanto già documentato per altre specie di afidi (Fantinou *et al.*, 2008). Questo significa che il tasso di predazione dipende dal tasso di incontro con la preda e che, anche se confinato in un ambiente ristretto (singola foglia di fava), il predatore non riesce a consumare tutte le prede a disposizione per raggiungere il livello di sazietà. Aumentando la densità del predatore non sono stati osservati fenomeni di cannibalismo. Nel caso della interazione tra femmine il numero di prede consumate per individuo mediamente non è variato all'aumentare del numero di predatori, mentre si è ridotto significativamente il numero di afidi consumati parzialmente (Fig. 1D). Questo suggerisce che la compresenza di più femmine ha come conseguenza una ottimizzazione nell'utilizzo della preda. Nella interazione tra maschi e in quella tra un maschio e una femmina, l'effetto principale è consistito invece nell'aumento del numero di prede non consumate completamente (Fig. 1D).

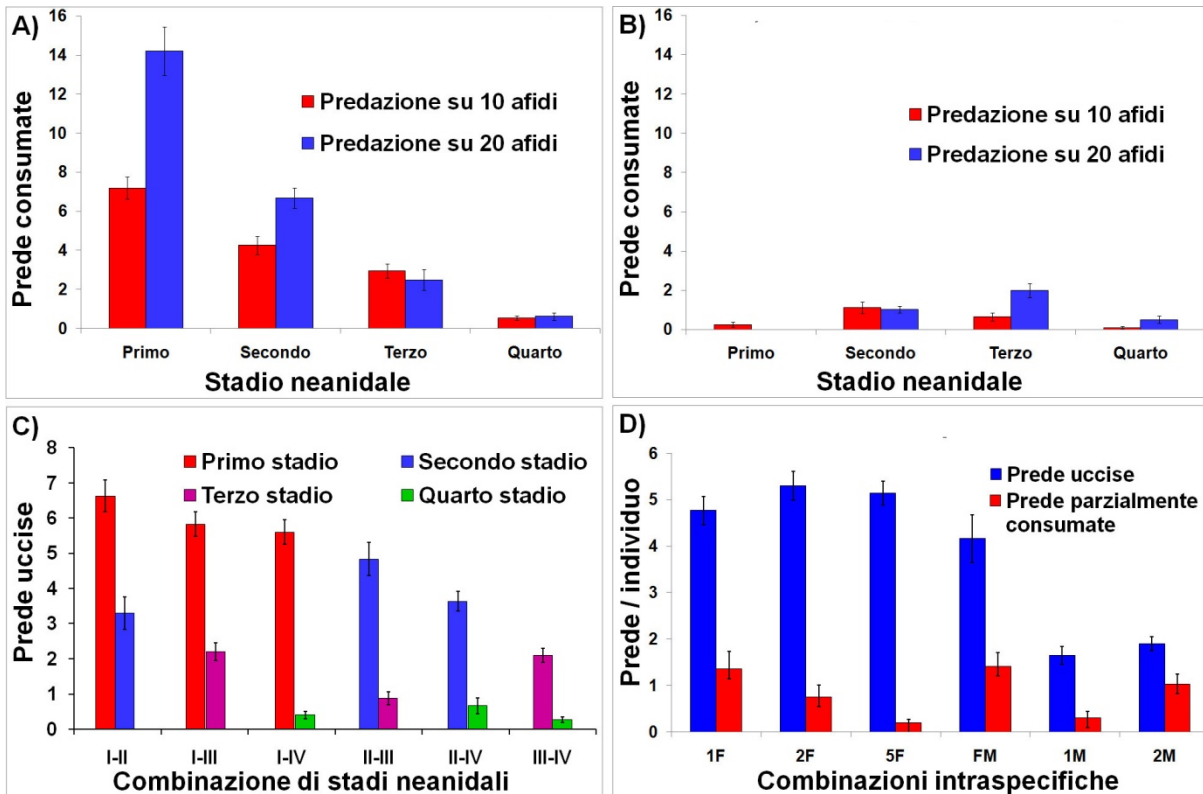


Figura 1. Tasso di predazione di *M. pygmaeus* nei confronti di *A. pisum* (medie \pm errore standard): A) prede interamente consumate per femmina in funzione dello stadio e della densità della preda; B) prede parzialmente consumate per femmina in funzione dello stadio e della densità della preda; C) prede uccise per femmina in condizioni di scelta; D) prede uccise e parzialmente consumate per individuo in presenza di altri individui conspecifici, 1F= 1 femmina, 2F= 2 femmine, 5F= 5 femmine, FM= 1 femmina e 1 maschio, 1M= 1 maschio, 2M= 2 maschi

Bibliografia

- Fantinou A.A., Perdikis D., Maselou D.A., Lambropoulos P.D., 2008- Prey killing without consumption: Does *Macrolophus pygmaeus* show adaptive foraging behaviour?. Biol. Control 47: 187-193
- Perdikis D, Lykouressis D, Economou LP (1999) The influence of temperature, photoperiod and plant type on the predation rate of *Macrolophus pygmaeus* Rambur on *Myzus persicae* (Sulzer). BioControl 44: 281-289
- Perdikis D, Lykouressis D (2000) Effects of various items, host plants, and temperatures on the development and survival of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). Biol. Control 17: 55-60

Aspetti del gregarismo di *Bracon nigricans*, parassitoide di *Tuta absoluta* *

A. Biondi^{1,2}, N. Desneux², M. Naselli¹, A. Di Mauro¹, G. Tropea Garzia¹, G. Siscaro¹, L. Zappalà¹

¹ Università di Catania, Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali

² French National Institute for Agricultural Research (INRA), Sophia-Antipolis, France

Introduzione

Il numero di uova deposte durante un singolo evento (*clutch size*) da parte di imenotteri parassitoidi gregari può dipendere da diversi fattori fisiologici, comportamentali, ecologici nonché evolutivisti (Godfray *et al.*, 1991; Pexton *et al.*, 2009). In tale ambito, sono stati studiati in laboratorio i meccanismi fisiologici e comportamentali che regolano tale caratteristica riproduttiva e le conseguenze dello sviluppo gregario sulla fitness della progenie nell'ectoparassitoide generalista, *Bracon nigricans* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae). Questa specie è stata recentemente segnalata come antagonista paleartico del lepidottero Gelechiide neotropica *Tuta absoluta* (Meyrick) (Zappalà *et al.*, 2013).

Materiali e metodi

Larve mature di *T. absoluta* sono state offerte a femmine neosfarfallate di *B. nigricans*. Quotidianamente, e per tutta la durata di vita del parassitoide, gli ospiti erano sostituiti e il numero di uova deposte per ospite conteggiato. L'effetto della densità dell'ospite sul *clutch size* è stato studiato offrendo 10, 20 e 40 ospiti ad una singola femmina. Larve mature del lepidottero sono state esposte singolarmente a femmine del parassitoide per sei ore e larve parassitizzate con *clutch* da 1 a 6 uova sono state isolate per lo studio dello sviluppo e della sopravvivenza degli stadi giovanili (Fig. 1a). La dimensione delle pupe e la longevità di entrambi i sessi nelle sei classi di gregarismo individuate, sono state osservate. Inoltre, una parte di femmine (60) di cui era nota la dimensione pupale, è stata dissezionata per la determinazione del carico di uova mature presenti negli ovaroli. Osservazioni comportamentali sono state inoltre condotte al fine di studiare i comportamenti di *host feeding* e oviposizione.

Risultati e discussione

È noto che, in presenza di un numero costante di ospiti parassitizzabili (larve mature), l'età e l'esperienza delle femmine non influiscono sul numero di uova deposte per ospite parassitizzato (Biondi *et al.*, 2013). Al contrario, la dimensione del *clutch size* è variata significativamente al variare del numero di ospiti esposti, in maniera inversamente proporzionale. Da osservazioni comportamentali è emerso che alcune femmine messe a contatto con l'ospite se ne alimentano (*host feeding*) (35%), altre ovidepongono (21%) e la restante parte (44%) ovidepone e compie *host feeding* sulla stessa larva ospite (Fig. 1b). Tali osservazioni hanno evidenziato altresì che il *clutch size* non è influenzato dall'attività di *host feeding*. In particolare, il *clutch size* non è stato significativamente diverso tra le femmine che hanno solo ovideposto e quelle che hanno ovideposto e si sono alimentate sullo stesso ospite. Lo sviluppo delle forme giovanili, sia in termini di durata (~11 giorni) che di quota di sfarfallamento (~38%), non è stato significativamente influenzato dal *clutch size*. Di conseguenza, il numero di parassitoidi emersi per singolo ospite è stato significativamente più elevato nei *clutch* più grandi. Inoltre, la dimensione delle pupe sviluppate nei diversi *clutch* è stata inversamente proporzionale al grado di gregarismo. Infine, l'analisi di correlazione ha dimostrato che la fecondità (*egg load*) della progenie femminile è correlata alla dimensione delle pupe mentre la loro longevità è indipendente.

* Lavoro svolto nell'ambito del Progetto PRIN MIUR "Insetti e globalizzazione: controllo sostenibile di specie esotiche in ecosistemi agro-forestali" (GEISCA).

Conclusioni

Le femmine di *B. nigricans* hanno rivelato una grande plasticità nello sfruttamento dell'ospite seguendo, nel numero di uova deposte, i due modelli ecologici di *egg limitation* e di *host limitation* (Heimpel *et al.*, 1998). Infatti, in condizioni di bassa densità dell'ospite, la più alta disponibilità di uova da deporre si traduce in *clutch* più grandi, massimizzando il numero di progenie prodotta per ospite parassitizzato, anche se a scapito della *fitness* della progenie. Invece, nel caso di alta densità dell'ospite sono preferiti *clutch* più piccoli con una progenie di dimensioni maggiori. È stato altresì dimostrato che non esiste competizione per la risorsa tra la femmina che effettua *host feeding* e la sua progenie che si sviluppa sul medesimo ospite.

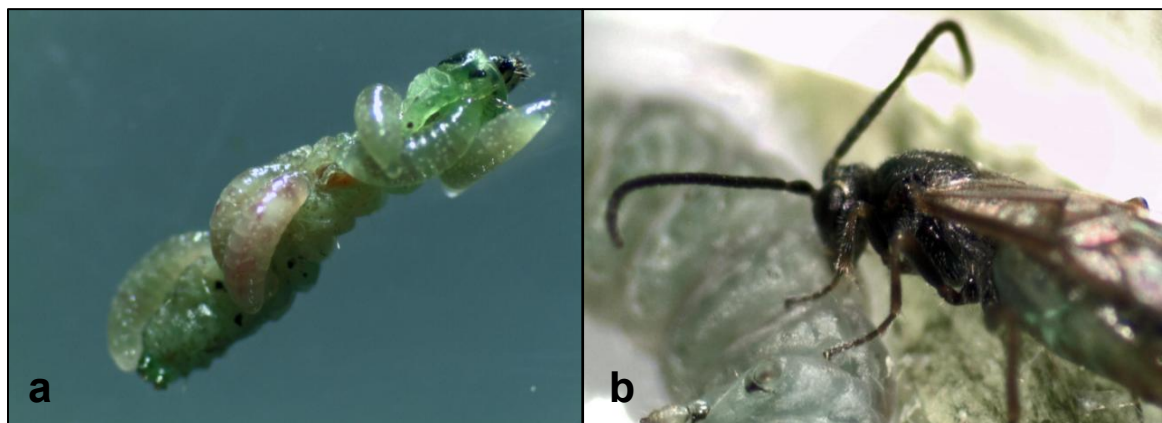


Figura 1. (a) Larve gregarie di *Bracon nigricans* su larva matura di *Tuta absoluta*. (b) Femmina di *B. nigricans* in attività di *host feeding* a carico di una larva di *T. absoluta*.

Bibliografia

- Biondi A., Desneux N., Amiens-Desneux E., Siscaro G., Zappalà L., 2013 - Biology and developmental strategies of the Palearctic parasitoid *Bracon nigricans* (Hymenoptera: Braconidae) on the Neotropical moth *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol.* 106: 1638-1647.
- Godfray H. C. J., Partridge L., Harvey P. H., 1991 - Clutch Size. *Annu Rev Ecol.* 22: 409-429.
- Heimpel G. E., Mangel M., Rosenheim J. A., 1998 - Effects of time and egg-limitation on behavior and lifetime reproductive success of a parasitoid in the field. *Am Nat.* 152: 273-289.
- Pexton J. J., de Boer J. G., Heimpel G. E., Vet L. E. M., Whitfield J. B., Ode P. J., 2009 - Competition and brood reduction: testing alternative models of clutch-size evolution in parasitoids. *Behav Ecol.* 20: 403-409.
- Zappalà L., Biondi A., Alma A., Al-Jboory I. J., Arnò J., Bayram A., Chailleux A., El-Arnaouty A., Gerling D., Guenaoui Y., Shaltiel-Harpaz L., Siscaro G., Stavrinides M., Tavella L., Vercher Aznar R., Urbaneja A., Desneux N., 2013 - Natural enemies of the South American moth, *Tuta absoluta*, in Europe, North Africa and Middle-East, and their potential use in pest control strategies. *J Pest Sci.* 86: 635-647.

Efficacia dei due enantiomeri del limonene nel controllo di *Tribolium confusum* DuVal

O. Campolo, A. Malacrinò, F. Laudani, V. Palmeri*

Dipartimento di AGRARIA, Università degli Studi Mediterranea di Reggio Calabria, 89122 Reggio Calabria, Italia. *E-mail: vpalmeri@unirc.it

Introduzione

Gli effetti delle pullulazioni di artropodi infestanti il comparto molitorio sono in grado di influenzare indirettamente tutti i settori che si trovano a valle di questo (Campolo *et al.*, 2012). Negli ultimi anni, le ricerche scientifiche mirate all'individuazione di metodologie ecosostenibili per il controllo dei parassiti animali hanno focalizzato l'attenzione verso l'impiego di oli essenziali e/o dei loro singoli costituenti (Isman *et al.*, 2000). In particolare le sostanze di natura terpenica risultano essere quelle maggiormente attive nel controllo degli infestanti delle derrate. La presente sperimentazione ha avuto come intento primario quello di testare l'efficacia insetticida degli enantiomeri del limonene (R(+)-limonene e S(-)-limonene) sul coleottero *Tribolium confusum* DuVal al fine di poterne determinare l'efficacia e valutare le possibili prospettive applicative di queste sostanze.

Materiali e metodi

La verifica dell'attività insetticida per fumigazione degli enantiomeri del limonene su *T. confusum* è stata effettuata applicando concentrazioni (V/V) di: 0.001 %, 0.0025%, 0.005%, 0.1% delle due molecole. E' stato anche valutato l'effetto schermante che le matrici, come la farina stessa, possono avere sull'efficacia di queste sostanze, utilizzando diversi quantitativi di substrato in modo da ottenere strati di altezza pari a 0 cm, 0,5 cm e 1 cm. E' stata, parallelamente, studiata l'influenza della temperatura sull'efficacia di questi composti, conducendo gli esperimenti a 20°C, 30°C e 40°C.

La verifica dell'attività insetticida per contatto è stata condotta somministrando 1 µl di una soluzione (acetone/limonene) a diversa concentrazione (V/V di: 1%, 10%, 25%, 50%, 75% e 100%) direttamente sulla parte ventrale dell'insetto .

I rilievi sono stati effettuati a 24h, 48h, 72h e 7 gg. Tutti i test sono stati eseguiti predisponendo 5 repliche di 15 esemplari ciascuna. La procedura GLM (Generalized Linear Model) è stata utilizzata per evidenziare differenze significative tra i diversi fattori analizzati.

Risultati e discussione

Il modello utilizzato per descrivere la relazione tra le variabili analizzate e la mortalità di *T. confusum* (GLM) è risultato significativo dal punto di vista statistico ($F_{71, 288}=269,527$; $P < 0,001$). Il modello ha inoltre evidenziato degli effetti significativi dei singoli fattori analizzati (enantiomero, temperatura, altezza substrato e concentrazione s.a.), e delle interazioni tra di loro ($P < 0,001$). In tutti i test eseguiti utilizzando le s.a. alla concentrazione dello 0,001% non è stata evidenziata alcuna efficacia. Nei test eseguiti in assenza di substrato, si è osservato come l'enantiomero R(+) del limonene, alla concentrazione più alta testata (0,01%), sia stato in grado di controllare l'intera popolazione di individui esposti, a tutte le temperature. Nelle medesime condizioni, l'enantiomero S(-)-limonene è stato in grado di portare a morte il 100% degli esemplari solo nei test eseguiti a 40°C, mentre a 20°C e 30°C l'efficacia è risultata inferiore (80,0±0,0% e 88,0±4,9% rispettivamente). L'altezza dello strato di farina si è rivelato essere un fattore di disturbo dell'efficacia di queste molecole: con 0,5 cm di substrato, il 100% di efficacia è stato raggiunto da entrambi gli enantiomeri solo alla concentrazione più alta testata e a 40°C. Invece, utilizzando 1 cm di substrato trofico, è stata evidenziata un'efficacia del 66,0±6,78% nel caso dell'R(+)-limonene, e

dell'86,0±2,45% per l'enantiomero S(-) entrambi alla massima concentrazione e temperatura testata.

Il modello risultante dai test eseguiti per valutare l'efficacia per contatto ($F_{10, 259}=82,609$; $P < 0,001$) ha evidenziato differenze significative tra i due enantiomeri testati, tra le concentrazioni utilizzate e tra i diversi tempi di osservazione ($P < 0,01$). Alla concentrazione più bassa (1%) gli esemplari testati sono sopravvissuti all'esposizione. Nelle prove effettuate con l'R(+) limonene, alla concentrazione del 10% è stata osservata una mortalità del 18,4±1,37% degli esemplari. Alle altre concentrazioni sono stati raggiunti valori di efficacia del 42,4±3,75%, 65,6±2,65% e 66,4±2,7% rispettivamente nei test condotti alle concentrazioni del 25%, 50% e 100%. Invece, utilizzando l'enantiomero S(-)-limonene, i valori di efficacia registrati sono stati pari al 26,8±2,81%, 44±2,16%, 49,2±3,05% e 60,8±4,96% nelle rispettive concentrazioni (25%, 50% e 100%).

Conclusioni

Questi risultati, comparabili con quelli ottenuti in studi precedenti utilizzando oli essenziali di agrumi (Campolo *et al.*, 2014), suggeriscono come il limonene, componente principale di diversi oli essenziali, possa essere la molecola più attiva nei confronti di *T. confusum* e di altri insetti delle derrate (Tripathi *et al.*, 2003).

L'applicabilità delle molecole testate nelle reali condizioni operative è teoricamente possibile, sebbene si renda necessario effettuare ulteriori indagini, volte allo studio di molteplici variabili che non sono state prese in considerazione durante le prove effettuate, quali ad esempio gli effetti di queste molecole sulle proprietà reologiche delle farine, l'impatto sugli aspetti sensoriali, ecc. Dagli studi effettuati sulla tossicità per fumigazione i risultati incoraggianti ottenuti auspicano un'applicabilità pratica del metodo, benché sia da considerare come la presenza di alcuni elementi quali farine e detriti vari, possano limitarne l'efficacia.

Bibliografia

- Campolo O., Patanè V., Verdone A. M., Palmeri V., 2012 - Survey of solid impurities and active infestation in flours produced in Calabria (Italy). *J. Stor. Prod. Res.* 50: 36-41.
- Campolo O., Malacrinò A., Zappalà L., Laudani F., Chiera E., Serra D., Russo M., Palmeri V., 2014 - Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica* 42: 223-233.
- Isman M. B., 2000 - Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603-608.
- Tripathi A. K., Prajapati V., Khanuja S. P., Kumar S., 2003 - Effect of d-Limonene on three stored-product beetles. *J. Econ. Entomol.* 96: 990-995.

Attività fumigante di tre composti volatili di origine vegetale verso gli adulti di *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera, Anobiidae) e di *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera, Phycitidae)

G.S. Germinara¹, R. Albanese¹, A. De Cristofaro², A. Di Palma¹, G. Rotundo²

¹ Università di Foggia, Dipartimento di Scienze Agrarie, degli Alimenti e dell'Ambiente, 71122 Foggia, Italia, E-mail: giacinto.germinara@unifg.it

² Università del Molise, Dipartimento Agricoltura, Ambiente e Alimenti, 86100 Campobasso, Italia, E-mail: rotundo@unimol.it

Introduzione

La principale strategia di controllo degli insetti infestanti le derrate è stata rappresentata per molti anni dalle fumigazioni con bromuro di metile o fosfina. La revoca delle autorizzazioni all'utilizzo di prodotti a base di bromuro di metile ed i problemi legati all'uso continuo della fosfina, tra cui la selezione di ceppi resistenti ed i rischi per l'ambiente e la salute umana, incoraggiano la ricerca di nuovi principi attivi.

Diversi studi hanno dimostrato l'efficacia insetticida di vari estratti vegetali verso alcuni infestanti delle derrate (Rajendran e Sriranjini, 2008); tuttavia, ancora poco indagata è l'attività di singoli componenti sebbene alcuni di essi possano risultare più tossici degli estratti *in toto* (Tunç *et al.*, 2000). In studi precedenti è stata dimostrata l'attività fumigante dell'acido propionico e di (*E*)-2-esenale verso gli adulti di *Sitophilus granarius* (Coleoptera, Curculionidae) (Germinara *et al.*, 2007; Germinara *et al.*, 2014) e di 1,8-cineolo verso alcuni coleotteri delle derrate (Rozman *et al.*, 2007). È stato dimostrato, inoltre, che la tossicità per fumigazione di una sostanza è influenzata dalla presenza o meno di substrato (Germinara *et al.*, 2012).

Nel presente lavoro è stata valutata l'attività fumigante di acido propionico, (*E*)-2-esenale e 1,8-cineolo verso gli adulti di *Lasioderma serricorne* (F.) e di *Ephestia kuehniella* (Zeller), importanti infestanti delle derrate, in assenza ed in presenza di un substrato vegetale rappresentato da camomilla (*Matricaria chamomilla* L.).

Materiali e metodi

Acido propionico (purezza > 99,5%), (*E*)-2-esenale (purezza > 95%) e 1,8-cineolo (purezza > 99%) sono stati forniti da Sigma-Aldrich (Milano, Italia). Gli insetti utilizzati per le prove (5-10 gg di età) sono stati prelevati da una colonia di laboratorio. Un contenitore cilindrico di vetro (600 mL) è stato utilizzato come camera di fumigazione. Un disco (Ø 2,0 cm) di carta da filtro (Whatman n.1) è stato sospeso al centro del contenitore mediante un filo di ferro collegato alla superficie inferiore del coperchio. Adulti di *L. serricorne* (n = 15) o di *E. kuehniella* (n = 10) sono stati posti nella camera di fumigazione ed il dischetto di carta trattato con un determinato volume di sostanza. Gli esperimenti sono stati condotti in assenza ed in presenza di 5 g di camomilla posti nella camera di fumigazione prima degli insetti. Ciascun composto è stato saggiato alle dosi di 0, 1,25, 2,5, 5, 10, 20, 30, 40 mg/L aria. Negli esperimenti con acido propionico in presenza di substrato sono state saggiate anche le dosi di 50, 60 e 70 mg/L aria. Per ogni dose sono state allestite 5 ripetizioni. I contenitori sono stati tenuti al buio a 25±2°C. Dopo 24 h è stata determinata la mortalità degli insetti e calcolate le concentrazioni letali 50 e 95 (CL₅₀ e CL₉₅).

Risultati e discussione

Per gli adulti di *L. serricorne*, la CL₅₀ di acido propionico, (*E*)-2-esenale e 1,8-cineolo è risultata rispettivamente di 2,24, 3,37 e 2,56 mg/L aria in assenza di substrato e di 32,74, 4,01 e 3,07 in presenza di camomilla. I valori di CL₉₅ degli stessi composti sono variati da 3,20, 5,04 e 3,48 mg/L aria in assenza di substrato a 65,06, 9,18 e 10,07 mg/L aria in sua presenza.

Per gli adulti di *E. kuehniella*, la CL₅₀ di acido propionico, (*E*)-2-esenale e 1,8-cineolo è risultata rispettivamente di 4,19, 1,25 e 1,16 mg/L aria in assenza di substrato e di 30,10, 1,17, e di 1,52 in presenza di camomilla. Allo stesso modo i valori di CL₉₅ degli stessi composti sono variati da 10,72, 1,92 e 2,10 mg/L aria in assenza di substrato a 45,01, 2,29 e 3,38 mg/L aria in sua presenza.

Acido propionico, (*E*)-2-esenale e 1,8-cineolo hanno mostrato livelli elevati di tossicità acuta per inalazione verso gli adulti di *L. serricornis* e di *E. kuehniella* confermando i risultati conseguiti verso altre specie di insetti infestanti le derrate. I valori di tossicità registrati verso gli adulti del coleottero e del lepidottero risultano migliori di quelli riportati in letteratura per diversi estratti vegetali considerati potenzialmente suscettibili di applicazione pratica.

La tossicità per fumigazione dei composti saggiati è stata attenuata dalla presenza della camomilla, molto probabilmente per l'adsorbimento delle sostanze sul substrato. Tuttavia, è interessante notare che l'entità della riduzione di tossicità registrata in presenza di camomilla è stata maggiore per l'acido propionico che per gli altri composti. Ciò evidenzia la necessità di valutare le potenzialità di impiego dei fumiganti naturali anche in funzione dei substrati che si intendono disinfestare.

Conclusioni

Acido propionico, (*E*)-2-esenale e 1,8-cineolo mostrano ottime potenzialità di impiego come fumiganti naturali per il controllo di un ampio numero di specie di insetti infestanti le derrate. Tuttavia, per una loro applicazione pratica, sono necessari studi per la messa a punto di formulazioni adeguate per applicazioni su larga scala.

Bibliografia

- Germinara G.S., Rotundo G., De Cristofaro A., 2007 - Repellence and fumigant toxicity of propionic acid against adults of *Sitophilus granarius* (L.) and *S. oryzae* (L.). J. Stored Prod. Res. 43: 229-233.
- Germinara G.S., De Cristofaro A., Rotundo G., 2012 - Bioactivity of short-chain aliphatic ketones against adults of the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.). Pest Manag. Sci. 68: 371-377.
- Germinara G.S., Conte A., Lecce L., Di Palma A., Contò F., Del Nobile M.A., 2014 - Controlled release of propionic acid and (*E*)-2-Hexenal against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). J. Food Process. Pres. (doi:10.1111/jfpp.12212), in press
- Rajendran S., Sriranjini V., 2008 - Plant products as fumigants for stored-product insect control. J. Stored Prod. Res. 44: 126-135.
- Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z., 2007 - Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 43: 349-355.
- Tunç I., Berger B.M., Erler F., Dağlı F., 2000 - Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. J. Stored Prod. Res. 36: 161-168.

Attività di repellenza di packaging funzionali nei confronti di insetti infestanti le derrate alimentari

P. Suma¹, I. Calandra¹, A. Russo¹, G. Muratore², F. Licciardello².

¹ *Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali. Sez. Entomologia applicata - 95123 Catania. E-mail: suma@unict.it.*

² *Dipartimento di Scienze delle Produzioni Agrarie ed Alimentari. Sezione Tecnologie Alimentari e Microbiologia - 95123 Catania. E-mail: fabio.licciardello@unict.it*

Introduzione

Gli insetti infestanti sono stati per lungo tempo considerati tra le cause più frequenti di perdita delle produzioni alimentari (Hanlon *et al.*, 1998). L'infestazione di alimenti confezionati può verificarsi a causa di processi di produzione inadeguati, non in grado cioè di devitalizzare le uova degli infestanti, o per penetrazione attiva degli insetti attraverso il materiale d'imballaggio; la loro presenza nelle confezioni, così come quella dei relativi metaboliti, causa importanti perdite economiche, riduzione delle proprietà nutrizionali, produzione di off-flavours e l'accelerazione dei processi di decadimento qualitativo dovuta all'aumento della temperatura e dell'umidità delle matrici. La salvaguardia delle derrate alimentari per lungo tempo è stata basata sull'utilizzo di molecole di sintesi ad attività insetticida; esempi sono i fumiganti bromuro di metile e fosfina ma il cui impiego è stato recentemente ristretto per via degli effetti nocivi sull'ambiente (es. impoverimento dello strato d'ozono cagionato dal bromuro di metile) e dell'insorgenza dei fenomeni di resistenza in alcune specie di insetti (Shaaya *et al.*, 1997). L'accresciuta sensibilità verso tematiche quali salute ed ecologia ha aumentato l'interesse verso gli studi sull'effetto biologico di prodotti naturali, come oli essenziali ed estratti di piante (Ogendo *et al.*, 2008, Rozman *et al.*, 2007) le cui proprietà sono già conosciute da lungo tempo tali da essere utilizzate tradizionalmente in paesi in via di sviluppo per la conservazione di derrate cerealicole (Obeng-Ofori *et al.*, 1998). Considerata la limitata letteratura scientifica in tema di progettazione di sistemi di imballaggio contenenti sostanze repellenti per la prevenzione delle infestazioni entomatiche, il presente lavoro mira a valutare l'attività di repellenza di packaging funzionali nei confronti di insetti infestanti le derrate alimentari.

Materiali e metodi

Per la realizzazione delle prove di repellenza, il punteruolo del riso, *Sitophilus oryzae*, e il tribolio della farina, *Tribolium castaneum*, sono state selezionate quali specie target. Gli adulti impiegati, tutti di età compresa tra le 24 e 48 ore, venivano mantenuti in regime di affamamento durante le 24 ore precedenti l'avvio delle prove. Fogli di polipropilene (PP), rivestito con una lacca organica tal quale (tesi controllo) e con la lacca contenente oli essenziali di basilico, rosmarino e citronella (tesi trattato) sono stati forniti dalla ditta ARTIBAL (Sabiñanigo, Spagna). La quantità media di lacca applicata al PP era pari a 0.182 mg/cm². Per le prove, sono stati realizzati piccoli sacchetti in PP, termosaldati, delle dimensioni 5.5 x 7.5 cm contenenti 25 g di semola di grano duro per *T. castaneum* e di grano duro per *S. oryzae*. Come riportato in Licciardello *et al.* (2013), per i test di repellenza, un sacchetto realizzato con PP controllo e uno con PP trattato si disponevano, ciascuno a una estremità, in box rettangolari in polietilene (20 x 10 x 7 cm) e 20 adulti della specie target venivano rilasciati al centro del box. Parallelamente, per valutare il grado di dispersione naturale degli esemplari all'interno dei contenitori, è stata condotta anche una prova di controllo, ponendo nel medesimo contenitore due sacchetti contenenti il substrato alimentare, realizzati con il solo PP controllo. Ciascun test, relativo alla singola specie infestante e al diverso olio essenziale, è stato replicato quattro volte e le osservazioni sono state effettuate a 24 ore, 2, 4 e 6 settimane dalla preparazione dei sacchetti; i risultati sono stati espressi come percentuale di repellenza secondo la formula: $R \% = (C -$

$T)/(C+T) \times 100$ dove, C e T , rappresentano rispettivamente il numero di insetti presenti sull'area controllo e sul trattato.

Risultati e discussione

Dalle prove condotte con *T. castaneum* il valore di R% massimo è stato registrato al controllo effettuato a 24h, impiegando il film di confezionamento attivato con olio di citronella (92,9%); tale valore, dopo le 8 settimane di impiego si è invece ridotto al 73%. Valori di repellenza pari al 57,1% e al 54,4% sono stati registrati alle 8 settimane impiegando i film attivati con basilico e rosmarino rispettivamente. Similmente, in relazione alle prove effettuate con *S. oryzae*, i risultati più interessanti sono stati ottenuti con i film rivestiti con olio di citronella (72,5% e 82,3% a 24 h e a 8 settimane rispettivamente). Nessun effetto di repellenza significativo è stato, di contro, registrato impiegando i film attivati con basilico e rosmarino (R% 24h = 37,5% e 59,4%, rispettivamente) che dopo 8 settimane hanno mostrato un effetto parzialmente attrattivo (R% = -8,9% e -7,5% per basilico e rosmarino, rispettivamente).

Conclusione

Le prove di repellenza effettuate con i prototipi di film plastico attivati con oli essenziali, hanno restituito valori di repellenza significativamente positivi principalmente per l'olio di citronella, a prescindere dalle specie target adottate nel presente studio. Ulteriori studi sono attualmente in corso, miratamente alla valutazione di oli essenziali estratti da altre specie vegetali allargando, al contempo, la gamma di specie bersaglio, selezionandole tra quelle che necessitano di maggiore attenzione, nei programmi di gestione delle infestazioni animali nelle industrie della filiera agro-alimentare.

Bibliografia

- Hanlon J. F., Kelsey, R. J., Forcinio, H. E., 1998. Handbook of package engineering. CRC Press, EEUU.
- Licciardello F., Muratore G., Suma P., Russo A., Nerín C., 2013. Effectiveness of a novel insect-repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). Innovative food science & emerging technologies, 19: 173-180.
- Obeng-Ofori D., Reichmuth C., Bekele A.J., Hassanali A., 1998. Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum kilimandscharicum* against four stored product beetles. International Journal of Pest Management, 44: 203-209.
- Ogendo J.O., Kostjukovsky M., Ravid U., Matasyoh J. C., Deng A. L., Omolo E.O., Kariuki S.T., Shaaya E., 2008. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two constituents against five insect pests attacking stored food products. Journal of Stored Products Research, 44, 328-334.
- Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z., 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. Journal of Stored Products Research 43: 349-355.
- Shaaya E., Kostjukovsky M., Eilberg J., Sukprakarn C., 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for control of stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 33: 7-15.

Trattamenti in atmosfera a base di biossido di carbonio per il controllo degli infestanti le derrate alimentari

A. La Pergola¹, S. Bella¹, P. Ranno², A. Russo¹, P. Suma¹

¹ *Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, sez. Entomologia applicata. Università degli Studi di Catania, 95100 Catania, Italia, E-mail: suma@unict.it;*

² *Sanica Srl, 95131 Catania, Italia, E-mail: ranno@sanica.it*

Introduzione

La protezione delle derrate alimentari dagli infestanti animali è un problema molto sentito tra gli operatori del settore che, cercano di adeguarsi alla diffusa tendenza di ottenere un prodotto di qualità nel rispetto dell'ambiente e della sicurezza dei consumatori, ricercando soluzioni alternative all'impiego dei prodotti chimici.

La tecnica delle atmosfere modificate consiste nel confinare le matrici da disinfectare in ambienti dedicati, in cui vengono variate le concentrazioni dei gas normalmente presenti nell'aria e principalmente N₂, O₂, CO₂. La maggior parte degli infestanti le derrate subisce effetti letali quando la concentrazione di O₂ è inferiore al 4,5% (Bailey, 1965), ma la più alta efficacia del trattamento, richiede periodi di esposizione piuttosto prolungati nel tempo. In diversi Paesi, prove condotte in laboratorio e in ambito industriale hanno dimostrato come le atmosfere modificate possano essere considerate valide strategie alternative, tecnicamente ed economicamente comparabili alle più note fumigazioni (Fleurat-Lessard, 1990; Adler *et al.*, 2000). In Italia la tecnica non ha, sino ad oggi, trovato una dimostrata applicabilità.

Nel presente contributo vengono riportati i dati relativi all'efficacia delle atmosfere modificate a base di CO₂ impiegate per il controllo di insetti infestanti i prodotti di prima e seconda trasformazione della filiera cerealicola, in ambiente confinato.

Materiali e metodi

Colonie di *Sitophilus oryzae* (L.), *Rhyzopertha dominica* (F.), *Tribolium castaneum* (Herbst) ed *Ephesia kuehniella* Zell., sono state appositamente mantenute in condizioni controllate di temperatura e umidità in laboratorio. Nello specifico, per la realizzazione dei test, sono stati utilizzati adulti di 24-48 ore di età e larve di seconda e terza età che venivano confinati all'interno di una provetta in PVC (20 ml) munita di tappo forato e rete antinsetto, a costituire i bioindicatori.

L'efficacia del biossido di carbonio è stata saggiata utilizzando una camera pneumatica a tenuta, della capacità di 3 m³ (2 x 1 x 1,5 mt) (Kill Box System – Ecotrade, Roma) collegata, tramite elettrovalvola dotata di programmatore per la gestione automatica dell'immissione del gas, ad una bombola contenente la CO₂ pressurizzata. Sono state sottoposte a trattamento disinfectante quattro differenti matrici alimentari opportunamente infestate con le specie target (test 1) e, in una seconda prova, l'efficacia del trattamento è stata valutata su pasta alimentare preconfezionata (test 2).

Test 1. I substrati selezionati erano rappresentati da semola rimacinata, cariossidi di grano duro, semi di girasole e pangrattato a costituire le tesi in studio. Per ciascuna di esse, sono stati impiegati due sacchi di 25 Kg di peso come repliche. Per la valutazione della mortalità delle specie target, in ciascun sacco sono stati confinati i bioindicatori contenenti i diversi stadi biologici delle quattro specie sopracitate, posizionati a differenti profondità all'interno dei sacchi. Contestualmente, esternamente alla camera, venivano mantenuti i corrispettivi bioindicatori di controllo. Sono stati valutati due diversi tempi di esposizione, 96 h e 168 h, con una concentrazione media di O₂ e CO₂ del 7,16 % e 63,34% rispettivamente; la temperatura è stata mantenuta costante a 30±1°C.

Test 2. Un totale di 18 imballaggi in cartone ondulato, contenenti ognuno 10 confezioni da 1 Kg di pasta alimentare, tipo "tortiglioni", sono stati confinati all'interno della camera pneumatica, due si lasciavano all'esterno della camera come controllo non trattato. All'interno di 4 delle 10 confezioni di pasta di ciascun imballaggio venivano inseriti i bioindicatori. Due repliche della medesima

prova sono state effettuate fissando il tempo di esposizione a 144 h, mantenendo inalterate le concentrazioni medie di O₂ e CO₂ e la temperatura di esercizio.

L'efficacia dei trattamenti è stata valutata in termini di mortalità percentuale degli esemplari confinati nei bioindicatori, corretta con la formula di Schneider-Orelli (Püntener, 1981), quindi confrontata con quella dei testimoni non trattati.

Risultati e discussione

I risultati ottenuti hanno evidenziato la buona efficacia della tecnica adottata che ha permesso il raggiungimento di percentuali di mortalità del 100% degli esemplari sottoposti a trattamento, in entrambe le prove effettuate. Nessuna differenza è stata registrata tra le diverse tesi, tra le specie e, nell'ambito di queste, tra i diversi stadi biologici. Anche i tempi di esposizione delle matrici all'atmosfera di CO₂, non hanno determinato significative differenze nei livelli di mortalità. In tale contesto quindi, è possibile concludere come, esposizioni a tenori superiori al 60% di CO₂ per 96 h, a 30°C, possono rappresentare una valida strategia di controllo delle specie infestanti impiegate come target nel presente studio in accordo a quanto riportato da altri autori che, impiegando la medesima tecnica, seppur in condizioni operative leggermente diverse, concludono che l'impiego della CO₂ porta a risultati paragonabili a quelli ottenuti con le fumigazioni (Fleurat-Lessard, 2004). L'uso di gas anossici quindi, potrebbe trovare largo impiego tra gli operatori del settore e dovrebbe essere considerato quale strategia alternativa o complementare ai più comuni trattamenti disinfestanti. Gli incoraggianti risultati ottenuti, pongono le basi per la realizzazione di ulteriori indagini volte all'acquisizione di più approfondite conoscenze, sull'integrazione delle atmosfere modificate nei programmi di gestione integrata delle infestazioni.

Bibliografia

- Adler C., Corinth H.G., Reichmuth C., 2000 - Modified atmospheres. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), Alternatives to Pesticides in Storedproduct IPM. Kluwer Academic Publishers, MA, USA, pp. 105-146.
- Bailey S.W., 1965 - Air-tight storage of grain; its effect on insect pests e IV *Rhyzopertha dominica* (F.) and some other Coleoptera that infested stored grain. J. Stored Prod. Res. 1, 25-33.
- Fleurat-Lessard F., 1990 - Effect of modified atmospheres on insects and mites infesting stored products. In: Calderon, M., Barkai-Golan, R. (Eds.), Food Preservation by Modified Atmospheres. CRC Press, INC., Boca Raton, Florida, USA, pp. 21-38.
- Fleurat-Lessard, F., 2004 -Pest management, in Wrigley, C., Corke, H. and Walker, C. E. (eds) Encyclopedia of Grain Science, Stored Grain, Elsevier Science and Technology books, 244-254.
- Püntener W., 1981 - Manual for field trials in plant protection second edition. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited.

Impiego dell'Ozono per il contenimento di *Drosophila suzukii* Matsumura e *Drosophila melanogaster* Meigen nei fruttai e nei locali di appassimento delle uve

N. Mori¹, L. Bonetti², L. Tonina¹, P. Dall'Ara¹, P. Tirello¹, R. Ferrarini²

¹ Dipartimento di Agronomia Animali Alimenti Risorse Naturali e Ambiente - Università degli Studi di Padova; autore corrispondente nicola.mori@unipd.it

² Dipartimento di Biotecnologie - DAFNAE – Università degli Studi di Verona

Introduzione

Drosophila suzukii Matsumura è un carpofigo originario del sud-est asiatico, recentemente segnalato in Italia su piccoli frutti, drupacee e vite. I danni causati dalle ferite dell'ovopositore possono essere ulteriormente aggravati da successivi attacchi della nativa *Drosophila melanogaster* Meigen e dallo sviluppo di funghi filamentosi e batteri acetici sulla frutta colpita.

Le infestazioni di *D. suzukii* a carico di molti frutti in prossimità della raccolta, rendono necessario lo studio di tecniche di contenimento alternative all'impiego degli insetticidi, al fine di limitare la presenza di residui dei fitofarmaci negli alimenti.

Un metodo di lotta contro insetti e patogeni nelle celle di conservazione della frutta e nei locali di appassimento delle uve può essere l'impiego dell'ozono (O₃) (Mason *et al.*, 1997; Carletti *et al.*, 2013). L'efficacia di tale gas è legata alle sue capacità iper-ossidanti dei lipidi di membrana, dei liposaccaridi, degli amminoacidi e lesive del DNA (Pryor and Rice, 1999, Carletti *et al.*, 2013). L'ozono può venire impiegato come additivo alimentare in quanto gas instabile e poco persistente nell'aria e nelle matrici liquide (Kim *et al.*, 1999, Sharma, 2005).

In questo studio è stata indagata l'efficacia di due concentrazioni di O₃ sui diversi stadi di sviluppo di *D. suzukii* e di *D. melanogaster*.

Materiali e metodi

Larve ed adulti di *D. suzukii* e di *D. melanogaster* provenienti da allevamenti, sono stati esposti a 20 e 100 ppm di ozono per differenti periodi in apposite gabbie all'interno di celle climatizzate a 20°C, 75% UR. Per la produzione del gas è stato impiegato un generatore O3 Technology AirNow abbinato a un Ozone analyzer BMT964 per il controllo e la regolazione della concentrazione. Come testimone, gabbie con la stessa quantità di individui, sono state poste in una seconda cella con le medesime condizioni. Al termine di ogni tempo di esposizione è stata valutata la mortalità dei diversi stadi di sviluppo. I dati della mortalità, corretta secondo la formula di Abbott, sono stati elaborati con regressione probit PriProbitNM (Sakuma, 1998) al fine di calcolare il tempo di esposizione medio che garantisce il 50% (TM50%) ed il 100% (TM100%) di mortalità.

Le stesse celle sono state successivamente impiegate per testare l'efficacia dell'O₃ sulle uova e sulle larve poste all'interno della frutta danneggiata. Fette di banana, pezzi di mela, mirtillo e acini d'uva, precedentemente infestati per 96 ore dai due drosofilidi, sono stati esposti a 20ppm per 24 ore. Dopo il trattamento la frutta è stata posta in singole gabbie di sfarfallamento per seguire l'eventuale sviluppo degli adulti. I dati ottenuti sono stati analizzati all'analisi della varianza e Tukey'test per P<0.05.

Risultati e discussione

Nelle condizioni sperimentali adottate l'O₃ è risultato efficace nel contenimento dei due drosofilidi indagati. Alla concentrazione di 100ppm sono necessarie rispettivamente 2 e 3 ore per uccidere il 100% degli adulti e delle larve di *D. suzukii*, mentre per controllare completamente *D. melanogaster* è necessario un tempo di esposizione di circa 4 ore. A 20ppm la completa mortalità degli adulti e delle larve *D. suzukii* è stata ottenuta con rispettivamente 15 e 22 ore di esposizione, mentre per uccidere *D. melanogaster* sono necessarie 48 ore per gli adulti e 60 ore per le larve.

Dalla frutta esposta per 24 ore ad un atmosfera arricchita con 20 ppm di ozono, sono sfarfallati in meno il 41% di *D. suzukii* ed il 43% di *D. melanogaster* di individui rispetto a quelli ottenuti dalla frutta non esposta con differenze statisticamente significative. Ciò fa ipotizzare che l'O₃ sulla frutta infestata agisca solo sulle uova e sulle larve superficiali, mentre non è in grado di devitalizzare gli individui maggiormente approfonditi nel mesocarpo.

Effetti positivi del trattamento dell'O₃ sono stati osservati anche nel contenimento di *Botritis cinerea* e di marciume acido sviluppatosi sulle ferite create dall'ovopositore di *D. suzukii*, mentre i lieviti presenti sulla buccia dell'uva non hanno risentito dell'effetto tossico del gas.

L'applicazione di 100ppm garantisce una rapidità di azione, ma questa elevata concentrazione richiede l'impiego di attrezzature potenti e crea difficoltà nella gestione della sicurezza dell'operatore e degli ambienti circostanti; mentre l'impiego di 20ppm per 1-2 giorni risulta di più facile e sicura applicabilità, non comporta scadimenti qualitativi del prodotto trattato e parallelamente coadiuva il contenimento dello sviluppo di muffe e batteri patogeni.

Conclusioni

I trattamenti dell'aria con l'ozono sono efficaci nel contenimento delle larve e degli adulti di *D. suzukii* e *D. melanogaster* in condizioni controllate. Il tempo di esposizione necessario per uccidere tutti gli individui è risultato variabile, da qualche ora a qualche giorno, a seconda della concentrazione del gas erogato, della specie e dello stadio di sviluppo dell'insetto.

L'O₃ potrebbe essere impiegato contro gli adulti di *D. suzukii* per prevenire le ovideposizioni nelle fasi di post-raccolta o nella disinfestazione dei fruttai o dei locali di appassimento, mentre su infestazioni già in atto sono necessari ulteriori studi per stabilire il tempo di esposizione necessario per uccidere anche le larve più approfondite.

Bibliografia

- Carletti L., Botondi R., Moschetti R., Stella E., Monarca D., Cecchini M. and Massantini R., 2013 - Use of ozone in sanitation and storage of fresh fruits and vegetables. *Journal of Food, Agriculture & Environment* Vol.11 (3&4): 585-589.
- Kim, J.G., Yousef, A.E. and Dave, S., 1999 - Application of ozone for enhancing the microbiological safety and quality of foods: A review. *J. Food Protect.* 62:1071-1087.
- Mason L.J., Woloshuk C.P., Maier D.E., 1997 - Efficacy of ozone to control insects, molds and mycotoxins. *Proceedings of the International Conference on Controlled Atmosphere and Fumigation in Stored Products*, Nicosia, Cyprus Printer Ltd., Nicosia, pp. 665-670.
- Pryor, A. and Rice, R.G., 1999 - Introduction to the use of ozone in food processing applications. *Proceeding of the 14th Ozone World Congress*, Michigan, pp.28-36.
- Sakuma M., 1998 - Probit analysis of preference data. *Appl. Entomol. Zool.* 33:339-347.
- Sharma, R., 2005 - Ozone decontamination of fresh fruit and vegetables. In Jongen, W. (ed). *Improving the safety of fresh fruit and vegetables*. CRC Press, Cambridge U.K. pp. 373-386.

L'induzione di resistenza a patogeni e fitofagi: stato dell'arte a 50 anni dalla scoperta.

F. Faoro

Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Via Celoria 2, 20133 Milano, Italia. E-mail: franco.faoro@unimi.it

Dopo una breve rassegna dei progressi recentemente fatti nella comprensione dei meccanismi sottostanti il fenomeno della resistenza indotta a patogeni e fitofagi (IR) nelle piante, con particolare riferimento alle vie biosintetiche implicate e alla loro interazioni, verranno trattati alcuni tra i più efficaci induttori chimici di resistenza, quali il BTH, il chitosano e il BABA e le problematiche connesse con la loro applicazione in campo. Tra queste, l'influenza di fattori biotici e abiotici, le pratiche agronomiche e i problemi di fitness saranno discussi, insieme all'elusivo fenomeno del "priming" e alla recente scoperta della trasmissibilità genetica di IR.

Una medicina amara: alcaloidi del nettare e un caso di automedicazione nei bombi

D. Baracchi¹, M. Brown², L. Chittka¹

¹Queen Mary University of London, Research Centre for Psychology, School of Biological and Chemical Sciences, Mile End Road, London E1 4NS, UK2

²Royal Holloway University of London, School of Biological Sciences, Egham, Surrey TW20 0EX, UK

Introduzione

In natura, i bombi (*Bombus* spp.) possono contrarre il parassita intestinale *Crithidia bombi* sia attraverso i loro compagni di nido sia attraverso fiori contaminati visitati durante l'attività di bottinamento. La prevalenza di colonie infette da *C. bombi* aumenta durante il corso della stagione e il protozoo *C. bombi* spesso infetta la maggior parte dei membri della colonia (Skykoff & Schmid-Hempel 1991). *C. bombi* ha un grosso impatto sulle operaie, in quanto è in grado di indurre una costosa attivazione immunitaria, un aumento della mortalità e di compromettere memoria ed apprendimento (e con essa l'efficienza di bottinamento) (Brown et al. 2003; Brown et al. 2000; Raine & Chittka 2008). La severità dell'impatto sulle abilità cognitive aumenta al crescere del carico parassitario e ogni eventuale meccanismo in grado di ridurre il carico dei parassiti di un'operaia dovrebbe migliorare la sua efficienza di bottinamento e la salute della colonia. L'evidenza sperimentale che i metaboliti secondari presenti nel nettare di molte angiosperme hanno attività antimicrobiche (Manson et al. 2010) suggerisce che, in determinate condizioni, gli insetti prònubi potrebbero beneficiare dal consumo di nettari ricchi di alcaloidi e metaboliti secondari. Tuttavia, sebbene sia noto che, in rari casi, alcuni insetti siano in grado di inserire nella propria dieta tossine per contrastare eventuali infezioni (Bernays & Singer 2005; Singer et al. 2009, Smilanich et al. 2011, Milan et al. 2012), questa fenomeno di automedicazione (farmacofagia) è completamente sconosciuto negli insetti impollinatori. Nel presente lavoro abbiamo indagato se la nicotina, un metabolita secondario comune in alcune *Solenaceae* ed altre piante visitate da insetti prònubi, possa ridurre il carico parassitario in bombi (*Bombus terrestris*) infettati da *C. bombi*.

Materiali e metodi

Nello studio è stato inizialmente verificato se il consumo di nicotina da parte dei bombi riduce il loro carico parassitario e successivamente se la nicotina sia in grado di ridurre l'infettività del protozoo in vivo. Al fine di capire l'impatto dell'assunzione di nicotina sulla sopravvivenza dei bombi, abbiamo condotto una serie di esperimenti nei quali abbiamo esposto a nettari artificiali arricchiti con nicotina bombi, sia mantenuti in condizione di stress fisiologico (affamamento) sia in condizioni ottimali (libero accesso al cibo). Infine, per capire se api infette sono in grado di automedicarsi (farmacofagia), abbiamo permesso a bombi sani e sperimentalmente infettati di foraggiare in arene artificiali e di scegliere tra fiori artificiali la cui ricompensa consisteva in una soluzione zuccherina arricchita o meno con nicotina). I test di sopravvivenza e tossicità sono stati condotti mantenendo singolarmente api sane ed artificialmente infettate in caspule petri e provviste di polline e nettare con e senza nicotina. I test di preferenza alimentare sono stati condotti utilizzando arene artificiali provviste di fiori artificiali la cui ricompensa era una soluzione zuccherina con o senza nicotina. Ciasscuna ape è stata testata singolarmente per evitare influenze nella scelta dei fiori.

Risultati e discussione

I nostri risultati dimostrano che nettari artificiali contenenti l'alcaloide naturale nicotina riducono la severità del patogeno intestinale *C. bombi* in *Bombus terrestris*. I nostri test comportamentali mostrano, per la prima volta, che le api infette sono in grado di automedicarsi attivamente,

arricchendo la loro dieta con un alcaloide privo di valenza nutrizionale. I risultati suggeriscono che gli impollinatori giocano un ruolo importante nel mantenimento di alcaloidi ed altri metaboliti secondari nel nettare dei fiori.

Conclusioni

I nuovi dati, insieme alle recenti scoperte che alcuni metaboliti secondari sono in grado di manipolare farmacologicamente il comportamento degli impollinatori, hanno numerose implicazioni per la coevoluzione tra piante e impollinatori. Questi ultimi sono intimamente connessi e non è possibile capire completamente la storia evolutiva dei fiori (e di tutti i segnali biologici a loro annessi) senza comprendere le abilità cognitive e le preferenze alimentari dei riceventi (impollinatori).

Bibliografia

- Bernays E. A., Singer M. S., 2005 - Taste alteration and endoparasites. *Nature*. 436: 476.
- Brown M. J. F., Loosli R., Schmid-Hempel, P., 2000 - Condition-dependent expression of virulence in a trypanosome infecting bumblebees. *Oikos*. 91: 421-427.
- Brown M. J., Schmid-Hempel R., Schmid-Hempel, P., 2003 - Strong context-dependent virulence in a host-parasite system: reconciling genetic evidence with theory. *J Anim Ecol*. 72: 994-1002.
- Manson J. S., Otterstatter M. C., Thomson J. D., 2010 - Consumption of a nectar alkaloid reduces pathogen load in bumble bees. *Oecologia*. 162: 81-89.
- Milan N. F., Kacsoh B. Z., Schlenke T. A. 2012 - Alcohol consumption as self-medication against blood-borne parasites in the fruit fly. *Curr Biol*. 22: 488-493.
- Raine N. E., Chittka L. 2008 - The correlation of learning speed and natural foraging success in bumble-bees. *Proc R Soc B*. 275: 803-808.
- Singer M. S., Mace K. C., Bernays E. A. 2009 - Self-medication as adaptive plasticity: increased ingestion of plant toxins by parasitized caterpillars. *Plos one*, 4: e4796.
- Shykoff J. A., Schmid-Hempel P. 1991 - Incidence and effects of four parasites in natural populations of bumble bees in Switzerland. *Apidologie*. 22: 117-125.
- Smilanich A. M., Mason P. A., Sprung L., Chase T. R., Singer M. S. 2011 - Complex effects of parasitoids on pharmacophagy and diet choice of a polyphagous caterpillar. *Oecologia* 165: 995-1005.

Capacità delle api di riconoscere foraggiatrici estranee alla colonia con il profilo cuticolare alterato dalla *Varroa*

R. Cervo¹, F. Cappa¹, C. Bruschini¹, S. Meconcelli¹, I. Protti¹, G. Pieraccini², S. Turillazzi^{1,2}

¹ Dipartimento di Biologia, Università degli Studi di Firenze, via Madonna del Piano 6, 50019, Sesto Fiorentino, Florence, Italy

² Centro di servizi di Spettrometria di Massa (CISM), Università degli Studi di Firenze, Via U. Schiff 6, 50019, Sesto Fiorentino, Florence, Italy

Introduzione

L'acaro parassita *Varroa destructor* rappresenta una delle principali cause della preoccupante scomparsa degli alveari a livello globale (Potts *et al.*, 2010) ed è attualmente considerato come uno dei maggiori flagelli per l'apicoltura (Le Conte *et al.*, 2010; Ratnieks e Carrech, 2010). Per tale motivo, la messa a punto di metodi efficaci per contenere e arrestare il trasferimento dell'acaro tra gli alveari è di primaria importanza per salvare le colonie di api da un ulteriore declino. Nonostante l'urgenza di trovare una soluzione per affrontare l'allarmante fenomeno, fino ad oggi le strategie adottate dagli acari per invadere una nuova colonia e i possibili contro-adattamenti messi a punto dalle api per difendere le loro colonie da minacce esterne hanno ricevuto soltanto un'attenzione marginale.

In un precedente studio (Cervo *et al.*, in revisione) abbiamo dimostrato che, a bassi tassi di infestazione coloniale, gli acari preferiscono rimanere all'interno della colonia ospite trascorrendo la loro fase foretica su api nutrici, distinte dalle foraggiatrici sulla base del diverso profilo di idrocarburi cuticolari, e promuovendo così la riproduzione del parassita. Quando i livelli di infestazione aumentano, il profilo cuticolare di api nutrici e foraggiatrici tende a sovrapporsi promuovendo la dipartita degli acari che lasciano la colonia sfruttata attraverso le foraggiatrici utilizzate come vettore foretico. Una volta trasferitosi su una foraggiatrice, il parassita potrebbe alterare il profilo chimico del suo ospite in modo da renderlo meno facilmente individuabile dalle guardiane di una colonia estranea così da facilitare la trasmissione dell'acaro tra le colonie. Nel presente studio, abbiamo investigato le alterazioni indotte dall'acaro *Varroa* sul profilo degli idrocarburi cuticolari delle api e abbiamo condotto esperimenti comportamentali per valutare la capacità delle api guardiane di una colonia di riconoscere api con un profilo alterato dal parassita rispetto ad individui non parassitati.

Materiali e metodi

Per tale studio sono state allestite 3 categorie di api: api neosfarfallate nate con *Varroa* a cui gli acari sono immediatamente stati rimossi, api neosfarfallate nate senza *varroa* e api foraggiatrici senza *Varroa* alle quali l'acaro è stato aggiunto per intervalli di tempo di 3, 5 e 7 giorni rispettivamente. In questo modo è stato valutato se le eventuali modificazioni del profilo di idrocarburi cuticolari fossero dovute al contatto con la *varroa* prima o dopo lo sfarfallamento. In totale sono stati preparati 80 campioni che sono stati sottoposti successivamente ad analisi chimiche con Gas-cromatografia/Spettrometria di Massa.

I saggi comportamentali sono stati effettuati presentando ad api guardiane all'ingresso delle rispettive colonie, foraggiatrici estranee uccise a freddo il cui profilo cuticolare era stato sperimentalmente alterato dall'esposizione prolungata all'acaro rispetto a soggetti di controllo non esposti al parassita.

Risultati e discussione

Dai cromatogrammi risultanti sono state identificate 3 classi di idrocarburi cuticolari: Alcani Alcheni e Idrocarburi metilati. L'analisi hanno evidenziato un aumento dei composti metilati sulla cuticola di api parassitate.

I risultati degli esperimenti comportamentali hanno mostrato un significativo incremento dei comportamenti esplorativi/aggressivi delle guardiane nei confronti degli zimbelli con profilo alterato dal parassita.

Questi risultati sottolineano la capacità di *Apis mellifera* di riconoscere le alterazioni fenotipiche indotte dall'acaro *Varroa* nel profilo cuticolare di individui conspecifici e la possibilità che tali indizi di natura chimica possano essere utilizzati per prevenire l'ingresso di individui parassitati all'interno di una colonia.

Conclusioni

I risultati ottenuti in questo studio, sia con le analisi chimiche che con i saggi comportamentali, suggeriscono che *A. mellifera* può essere in grado di difendere la colonia dal possibile ingresso di api portatrici di *Varroa*.

Bibliografia

Le Conte Y., Ellis M., Ritter W., 2010 - *Varroa* mites and honey bee health: can *Varroa* explain part of the colony losses? *Apidologie* 41: 353-363.

Del Piccolo F., Nazzi F., Della Vedova G., Milani, N.- 2010 Selection of *Apis mellifera* workers by the parasitic mite *Varroa destructor* using host cuticular hydrocarbons. *Parasitology* 137: 967-973.

Potts S.G., Roberts S.P.M., Dean R., Marris G., Brown M., Jones R., Neumann P., Settele J. - 2010 Declines of managed honeybees and beekeepers in Europe. *Journal of Apicultural Research* 49: 15-22.

Ratnieks F.L.W., Carrech N.L.. 2010. Clarity on honey bee collapse? *Science* 327: 152-153.

La ricerca è stata finanziata dal PRIN 2008 (prot. 2008KZ82RE) a R.C. e S.T. e dall'Accademia Nazionale dei Lincei con un assegno a C.B

Impatto di insetticidi neonicotinoidi sul sistema immunitario e sullo stato di salute delle api

G. Di Prisco¹, V. Cavaliere², D. Annoscia³, P. Varricchio¹, E. Caprio¹, F. Nazzi³, G. Gargiulo², F. Pennacchio¹

¹ Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, I-80055 Portici, Italia, E-mail: gennaro.diprisco@unina.it;

² Dipartimento di Farmacia e Biotecnologie, Università di Bologna, I-40126 Bologna, Italia;

³ Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Udine, I-33100 Udine, Italia

Introduzione

La diffusa mortalità di colonie di api (*Apis mellifera* L.) è un problema d'importanza globale, le cui cause e meccanismi sono ancora poco compresi (Williams *et al.*, 2010; vanEngelsdorp *et al.*, 2010; vanEngelsdorp *et al.*, 2012). Diversi sono i fattori di stress, biotici e abiotici, coinvolti in questo fenomeno che è spesso associato ad elevati tassi di infestazione di parassiti e patogeni, soprattutto virali. In particolare, l'ectoparassita *Varroa destructor* Anderson & Trueman esercita un effetto sinergico nei confronti del virus delle ali deformi (DWV) provocando, tramite l'impatto sulle difese immunitarie dell'ape, la transizione da innocue infezioni latenti a disastrose esplosioni virali (Nazzi *et al.*, 2012). Di recente, nelle api, è stato rilevato un collegamento fra la proliferazione di patogeni e l'esposizione a insetticidi neonicotinoidi, ma il nesso causale tra i due fenomeni rimane ancora poco chiaro (Blacquièrre *et al.*, 2012).

In questo lavoro si dimostra come dosi subletali di insetticidi neonicotinoidi possano modulare negativamente un fattore di trascrizione (NF- κ B) coinvolto nella difesa antivirale, promuovendo, di conseguenza, la replicazione di DWV.

Materiali e metodi

In una fase iniziale dello studio, svolta su *Drosophila melanogaster*, è stato individuato un gene (*Dmel\LRR*) che agisce come modulatore negativo di NF- κ B. Allo scopo, dopo stimolazione immunitaria, sono stati valutati i livelli trascrizionali di tale gene e di peptidi antimicrobici sotto il controllo di NF- κ B. È stato inoltre valutato l'effetto del silenziamento di *Dmel\LRR* sul livello di espressione dei peptidi antimicrobici sotto il controllo di NF- κ B.

L'impatto degli insetticidi neonicotinoidi sull'espressione di *Dmel\LRR* e, quindi, sull'attivazione di NF- κ B è stato valutato attraverso la stimolazione immunitaria di larve di *D. melanogaster* transgeniche, esprimenti il peptide drosomicina fuso con GFP.

Per verificare l'esistenza di un simile meccanismo in *Apis mellifera*, diverse dosi di insetticidi sono state somministrate ad api adulte per via orale o per contatto, facendo seguire una stimolazione immunitaria e quantificando il livello trascrizionale del gene *Amel\LRR*, dei peptidi antimicrobici sotto il controllo di NF- κ B e il livello assoluto di copie virali di DWV.

Risultati e discussioni

L'espressione di *Dmel\LRR* è risultata negativamente correlata a quella dei peptidi antimicrobici, che sono sovra-espressi nelle larve in cui tale gene è stato silenziato. Pertanto, *Dmel\LRR* risulta essere un modulatore negativo di NF- κ B.

Il trattamento di larve di *D. melanogaster* con dosi subletali di neonicotinoidi (Chlotianidin e Imidacloprid) determina una ridotta attivazione del pathway Toll, associata a un più elevato livello trascrizionale di *Dmel\LRR*. Ciò dimostra l'impatto negativo dei neonicotinoidi sull'immunità. Tale effetto non si osserva in risposta a trattamenti con un insetticida fosfororganico (Chlorpyrifos).

La modulazione negativa del pathway Toll da parte dell'omologo Amel/LRR è osservabile anche in ape e la sua induzione a seguito di trattamenti con neonicotinoidi determina un aumento della replicazione di DWV, conseguente ad una riduzione delle barriere antivirali NF-kB dipendenti.

Conclusioni

I risultati di laboratorio, ottenuti a dosi subletali, analoghe a quelle rinvenibili in condizioni naturali, suggeriscono che l'effetto negativo dei neonicotinoidi sull'immunità delle api potrebbe avere rilevanza anche in condizioni di campo, con ovvie implicazioni sulla conservazione delle api.

I risultati di questo studio, oltre a dimostrare che esistono anche negli insetti, come nell'uomo, meccanismi di controllo della risposta immunitaria regolati dal sistema nervoso, pongono le basi per lo sviluppo di linee guida più adeguate per la valutazione degli effetti cronici sulle api di agrofarmaci neurotossici.

Bibliografia

- Blacquièrè T., Smaghe G., van Gestel C. A. M., Mommaerts V., 2012 - Neonicotinoids in bees: A review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 21:973-992.
- Nazzi F., Brown, S. P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., Della Vedova, G., Cattonaro, F., Caprio, E., Pennacchio, F., 2012 - Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Pathog* 8: e1002735.
- vanEngelsdorp D., Meixner M. D., 2010 - A historical review of managed honey bee populations in Europe and the United States and the factors that may affect them. *Journal of Invertebr Pathol.* 103: S80-S95.
- vanEngelsdorp D., Caron D., Hayes J., Underwood R., Henson M., Rennich K., Spleen A., Andree M., Snyder R., Lee K., Roccasacca K., Wilson M., Wilkes J., Lengerich E., Pettis J. S., 2012 - A national survey of managed honey bee 2010-11 winter colony losses in the USA: Results from the Bee Informed Partnership. *J Apic Res.* 51:115-124.
- Williams G. R., Tarpy D. R., vanEngelsdorp D., Chauzat M. P., Cox-Foster D. L., Delaplane K. S., Neumann P., Pettis J. S., Rogers R. E. L., Shutler D., 2010 - Colony Collapse Disorder in context. *BioEssays.* 32: 845-846.

Nutrizione e salute delle api: evidenze e meccanismi

F. Nazzi¹, D. Annoscia¹, R. Bortolomeazzi², E. Caprio³, G. Di Prisco³, R. Ferrara³,
M. Margiotta³, A. Quirici¹, P. Varricchio³, V. Zanni¹, F. Pennacchio³

¹ *Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali, Università degli Studi di Udine, 33100 Udine, Italia*

² *Dipartimento di Scienze degli Alimenti, Università degli Studi di Udine, 33100 Udine, Italia*

³ *Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Napoli Federico II, 80055 Portici, Italia*

Introduzione

Le api sono essenziali per il mantenimento della biodiversità vegetale e per l'impollinazione della maggior parte delle piante coltivate (Klein *et al.*, 2007); per questa ragione, le morie segnalate negli ultimi anni a livello globale destano grande preoccupazione e hanno stimolato approfondite ricerche volte ad identificare le cause di questo fenomeno (Ratnieks e Carreck, 2010). Tali studi hanno permesso di accertare che il collasso delle colonie d'api è normalmente associato ad elevate infezioni parassitarie e può essere facilitato da ulteriori fattori di stress, anche di natura abiotica, a causa della possibile interferenza con il sistema immunitario dell'ape (Nazzi *et al.*, 2012).

In questo quadro, la nutrizione delle api riveste un ruolo chiave, perché condizioni di stress nutrizionale potrebbero indurre la proliferazione incontrollata di agenti patogeni, come sembrano indicare alcune ricerche (DeGrandi-Hoffman *et al.*, 2010). In questo lavoro si è voluto, innanzitutto, verificare l'effetto di una nutrizione sbilanciata sulla sopravvivenza e la proliferazione virale in api sane e infestate dall'acaro parassita *Varroa destructor*; successivamente sono stati indagati i possibili meccanismi causali.

Materiali e metodi

Per verificare l'effetto di stress nutrizionali sulla salute delle api, operaie adulte, infestate artificialmente con *Varroa* durante lo sviluppo e api non infestate sono state mantenute in condizioni termo-igrometriche controllate in presenza di acqua, zucchero candito e polline (dieta completa) oppure solamente acqua e zucchero candito (dieta carente). Campioni di api raccolti da ogni gruppo sperimentale, dopo due giorni, sono stati sottoposti ad analisi real time RT-PCR per determinare l'infezione da virus delle api deformi (DWV). Altrettante api dagli stessi gruppi sono state sottoposte ad un'analisi trascrittomico per verificare eventuali effetti sull'espressione genica.

Per individuare la componente pollinica responsabile dell'effetto osservato, l'esperimento è stato ripetuto fornendo alle api la dieta completa e la dieta privata delle componenti polare o della componente lipidica; quest'ultima, data l'attività biologica, è stata analizzata mediante tecniche analitiche standard.

Per valutare l'effetto di stress nutrizionali di segno opposto, sono stati anche condotti esperimenti su api adulte, alimentate con diete proteiche arricchite di aminoacidi essenziali (dieta sbilanciata).

Risultati e discussione

Api infestate mantenute su una dieta privata della componente pollinica hanno manifestato una sopravvivenza ridotta, a dimostrazione di un effetto sinergico tra stress biotici indotti dal parassita e stress abiotici legati ad un'alimentazione carente. Infatti, le api mantenute sulla dieta carente hanno mostrato livelli di infezione virale più elevati e tale effetto è stato più marcato nelle api infestate. Analogamente, le api nutrite con la dieta sbilanciata hanno mostrato cariche virali maggiori. Si è così confermato come stress di varia natura possono alterare l'equilibrio fra il sistema di difesa dell'ape e virus patogeni, come il DWV.

Lo studio della frazione biologicamente attiva del polline ha permesso di determinare l'importanza della componente lipidica, la quale potrebbe essere coinvolta sia per l'apporto di idrocarburi utili al mantenimento dell'equilibrio idrico sia per la presenza di sostanze ad attività antimicrobica.

L'analisi trascrittomico ha dimostrato marcati effetti trascrizionali della dieta, evidenziando i possibili meccanismi responsabili del fenomeno osservato. In particolare, gli effetti a carico del sistema immunitario e del pathway insulinico suggeriscono come la dieta possa influire sulla difesa nei confronti dei patogeni, fornendo sostanze ad attività immunitaria o materie prime per la sintesi delle stesse.

Conclusioni

I risultati ottenuti permettono di approfondire le conoscenze sui fattori che influiscono sulla salute delle api e forniscono spunti per applicazioni pratiche volte a mitigare l'effetto di stress biotici e abiotici sulle stesse.

Bibliografia

- DeGrandi-Hoffman G., Chen, Y., Huang, E., Huang, M.H., 2010 - The effect of diet on protein concentration, hypopharyngeal gland development and virus load in worker honey bees (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Physiol.* 56: 1184-1191.
- Klein A. M., Vaissière, B. E., Cane, J. H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S. A., Kremen, C., Tscharntke, T., 2007 - Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proc. R. Soc. B* 274: 303-313.
- Nazzi F., Brown, S. P., Annoscia, D., Del Piccolo, F., Di Prisco, G., Varricchio, P., Della Vedova, G., Cattonaro, F., Caprio, E., Pennacchio, F., 2012 - Synergistic Parasite-Pathogen Interactions Mediated by Host Immunity Can Drive the Collapse of Honeybee Colonies. *PLoS Pathog* 8: e1002735.
- Ratnieks F. L. W., Carreck, N.L., 2010 - Clarity on Honey Bee Collapse? *Science* 327: 152–153.

Aggiornamenti sulla classificazione morfometrica intraspecifica di popolazioni di *Apis mellifera* della Sardegna

I. Floris¹, A. Satta¹, L. Ruiu¹, S. Fuchs²

¹ Università di Sassari, Dipartimento di Agraria, Viale Italia, 39, 07100 Sassari, Italia, E-mail: ifloris@uniss.it;

² Goethe Universität Frankfurt am Main, Institut für Bienenkunde, FB Biowissenschaften, Karl-von-Frisch-Weg 2, 61440 Oberursel, Germany, E-mail: safuchs@t-online.de

Introduzione

Nonostante l'evoluzione nelle tecniche di classificazione e caratterizzazione delle sottospecie ed ecotipi di ape (Meixner *et al.*, 2013), il quadro più completo della variazione geografica di *Apis mellifera* L., basato sull'applicazione di caratteri di morfometria "classica", resta ancora oggi quello fornito dalla monografia di Ruttner (1988), dove, le poche informazioni sulla Sardegna concordano nell'attribuire ad *Apis mellifera ligustica* le popolazioni sarde di api (Vecchi, 1927; Prota, 1976). Ulteriori studi (Floris, 1994; Floris e Prota, 1994; Floris *et al.*, 2002; Floris *et al.*, 2007; Dall'Olio *et al.*, 2007) hanno contribuito ad incrementare le conoscenze, senza consentire, nonostante l'oggettiva condizione d'insularità, di rivelare un evidente isolamento genetico delle popolazioni sarde. In questa indagine, si è ritenuto opportuno, con il supporto della banca dati morfometrica più completa a livello mondiale dell'Institut für Bienenkunde di Oberursel e con la collaborazione del dr. Stefan Fuchs, rivedere comparativamente le caratteristiche morfometriche alari di popolazioni sarde di api rispetto ad altre razze mediterranee di *Apis mellifera*.

Materiali e metodi

Le api sarde esaminate nel presente studio, considerate di maggiore interesse per origine ed epoca di campionamento, sono riferibili a 28 campioni raccolti a metà degli anni '70 esclusivamente da apiari rustici della Sardegna (Prota, 1976). L'analisi morfometrica dell'ala anteriore destra di tali campioni è stata effettuata esaminando al microscopio i seguenti angoli: A4, B4, D7, E9, G18, J10, J16, K19, L13, N23, O26 (Fig. 1), oltre all'Indice Cubitale, alla lunghezza e alla larghezza dell'ala anteriore.

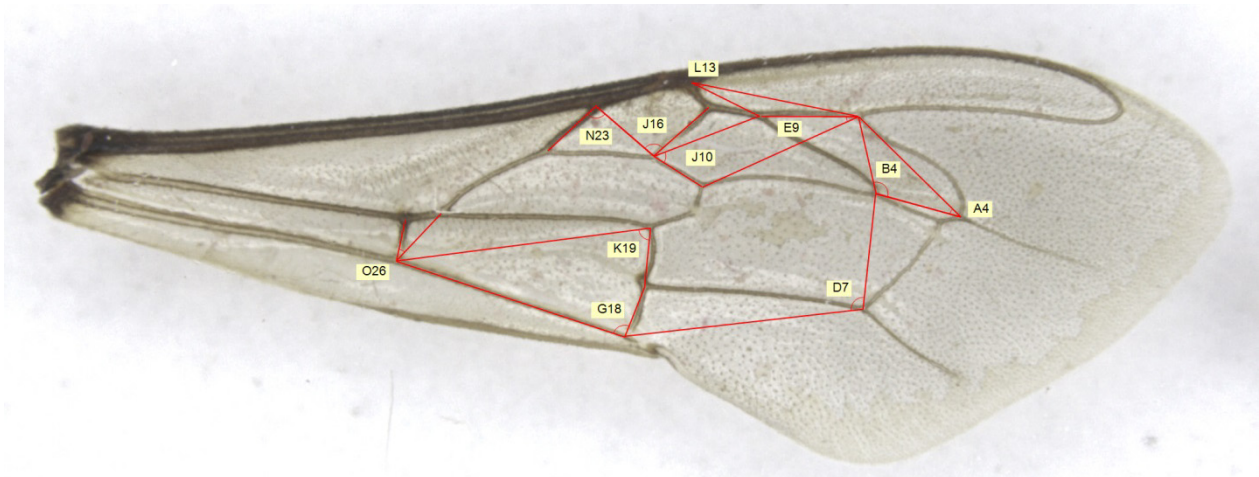


Figura 1. Rappresentazione degli 11 angoli considerati nell'analisi morfometrica.

Come campioni di riferimento sono state utilizzate le seguenti sottospecie disponibili presso la Banca Dati di Oberursel (Germania): *Apis mellifera mellifera* (n. 55 campioni); *A. m. iberiensis* (n. 50 campioni); *A. m. intermissa* (n. 22 campioni), *A. m. carnica* (n. 97 campioni); *A. m. ligustica* (n. 37 campioni); *A. m. siciliana* (n. 23 campioni) e *A. m. ruttneri* (n. 15 campioni). L'elaborazione

dei dati è stata effettuata applicando le seguenti tecniche statistiche: analisi fattoriale (*Factor analysis*), analisi dei gruppi (*Cluster analysis*) e analisi discriminante (*Discriminant analysis*).

Risultati e discussione

Nel complesso, non emerge una struttura omogenea delle popolazioni locali di *Apis mellifera*, piuttosto un intervallo di variazione tra gli standard considerati.

I campioni sardi sono stati posizionati tra *A. m. ligustica* e *A. m. siciliana* in tutte le analisi. In generale, sono stati classificati prevalentemente come *ligustica*, con una ripartizione comunque variabile dei campioni in funzione del metodo statistico, che sembrerebbe indicare una scarsa uniformità degli stessi campioni. Questo risultato è probabilmente causa anche della massiccia importazione di api regine e nuclei dalla penisola avvenuta nel secolo scorso a seguito del processo di razionalizzazione dell'apicoltura sarda e di eventi negativi di carattere patologico, a partire soprattutto dal secondo dopoguerra.

Attualmente sono in corso procedure di estrazione del DNA dai resti dei corpi delle api degli stessi campioni conservati a secco o in alcol, nel tentativo di caratterizzare e comparare dal punto di vista genetico questo prezioso patrimonio di api, ormai presumibilmente scomparse.

Bibliografia

- Dall'Olio R., Marino A., Lodesani M., Moritz (2007) RFA, 2007 - Genetic characterization of Italian honey bees, *Apis mellifera ligustica*, based on microsatellite DNA polymorphisms. *Apidologie* 38: 207-217.
- Floris I., 1994 - Studio morfometrico di popolazioni di *Apis mellifera* L. della Sardegna. Atti XVII Congresso Italiano di Entomologia, Udine 13-18 giugno, 1994: 819-822.
- Floris I., Prota R., 1994 - Variazioni di alcune caratteristiche morfometriche nella popolazione di *Apis mellifera* L. della Sardegna nell'ultimo ventennio. *Apicoltura*, 9: 163-175.
- Floris I., Satta A., Ruiu L., 2002 – Studio della variabilità morfometrica di popolazioni di *Apis mellifera* L. con l'ausilio di strumenti informatici. Atti XIX CNIE, Catania 10-15 giugno 2002: 1263-1267.
- Floris I., Satta A., Ruiu L., Buffa F., 2007 – Searching for the origin of Sardinian honeybees. Morphometric comparison between samples from Sardinia and Northern Tunisia. *REDIA*, XC, 2007: 105-108.
- Meixner M., Pinto M.L., Bouga M., Kryger P., Ivanova E., Fuchs S., 2013 - Standard methods for characterising subspecies and ecotypes of *Apis mellifera*. *Journal of Apicultural Research* 52(4): 1-27.
- Prota R., 1976 – Osservazioni sulla variabilità somatometrica delle popolazioni sarde di *Apis mellifera ligustica* Spinola. *Apicolt. Mod.*, 67: 77-81.
- Ruttner F., 1988 - Biogeography and taxonomy of honey bees. Springer-Verlag; Berlin, Germany. ISBN 0387177817.
- Vecchi A., 1927 – Sulla distribuzione geografica dell'*Apis mellifera ligustica* Spin. in Italia. - *Boll. Lab. Zool. gen. e agr.*, Portici: 150-168.

Rapporto tra qualità del polline, uso del territorio e salute delle api, nell'ambito del progetto BeeNet

F. Sgolastra¹, M. Lodesani², L. Bortolotti², A. Gallina³, R. Colombo², M.T. Renzi¹, S. Draghetti¹, S. Tosi¹, P. Medrzycki², M. Boi², G. Serra², M.A. Bozza³, F. Mutinelli³, C. Porrini¹

¹ DipSA, Università di Bologna, 40127 Bologna, Italia. E-mail: teresa.renzi@unibo.it;

² CRA-API, Unità di ricerca di apicoltura e bachicoltura, 40128 Bologna, Italia;

³ Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 35020 Legnaro (Padova) Italia

Introduzione

La salute delle api è influenzata da numerosi fattori, tra i quali la dieta riveste un ruolo particolarmente importante. Il polline costituisce il principale apporto proteico per l'alveare e, a seconda della specie botanica, può contenere quantità di proteine che vanno dal 3 al 61% (Day *et al.*, 1990; Roulston *et al.*, 2000). Dal punto di vista apistico, un polline di buona qualità si caratterizza per oltre il 20% di proteine grezze con un apporto elevato di amminoacidi essenziali (De Groot *et al.*, 1953). Studi di laboratorio hanno già dimostrato che la qualità nutrizionale del polline influenza sia la longevità sia la suscettibilità delle api a diversi fattori di stress, tra cui pesticidi (Wahl e Ulm 1983; Tosi *et al.*, in prep.) e patogeni (Di Pasquale *et al.*, 2013; Alaux *et al.*, 2010). Oltre ad avere buone caratteristiche nutrizionali, un polline di qualità dovrebbe anche essere esente da pesticidi, che spesso invece si ritrovano in elevate quantità (Mullin *et al.*, 2010). Nell'ambito della rete nazionale di monitoraggio BeeNet, attiva dall'autunno 2011, abbiamo analizzato i dati relativi alla qualità del polline immagazzinato dalle api (pane d'api) in relazione all'uso del territorio circostante gli apiari e la perdita annuale di famiglie.

Materiali e metodi

La rete BeeNet è organizzata in 63 moduli e circa 3000 alveari distribuiti uniformemente sul territorio nazionale. Ogni modulo è costituito da 5 apiari con 10 alveari stanziali che vengono controllati 4 volte l'anno: ad inizio primavera, in tarda primavera-inizio estate, a fine estate-inizio autunno e prima dell'inverno. Nel primo e terzo controllo di ogni postazione, viene prelevato, insieme ad altre matrici, un campione in pool dai 10 alveari di pane d'api, per l'analisi del contenuto di azoto (metodo Kjeldahl) e dei pesticidi (metodo QuEChERS-LS/MS). Le informazioni sull'uso del suolo nelle aree circostanti gli apiari sono fornite in automatico dalla banca dati del Sistema Informatico Nazionale. Fra i parametri sono considerate la mortalità annuale, che comprende la percentuale di famiglie morte nel corso dei 4 controlli e la mortalità invernale, rilevata fino al 31 marzo dell'anno successivo.

Risultati e discussione

I risultati hanno mostrato che il contenuto di proteine grezze nel polline raccolto dalle api varia con la stagione e con l'uso del territorio. In particolare, nel periodo primaverile, il polline contiene più proteine grezze rispetto a quello autunnale, sia nel 2012 sia nel 2013. In primavera la quantità di proteine grezze è positivamente correlata con la percentuale di terreno agricolo attorno agli apiari. (2012: $r=0,15$; $p<0,05$; 2013: $r=0,28$; $p<0,01$). Relativamente all'autunno 2012, invece, questa correlazione è negativa ($r=-0,22$; $p<0,01$), probabilmente per la minor presenza di fioriture in questo periodo. L'uso del territorio influenza anche la presenza di residui di pesticidi: all'aumentare della percentuale di terreno agricolo aumenta, infatti, il numero di residui trovati nel polline in entrambi gli anni (2012: $r=0,26$; $p<0,01$; 2013: $r=0,19$; $p<0,01$). I prodotti maggiormente rinvenuti sono stati i fungicidi, seguiti dagli insetticidi fosfororganici, piretroidi e neonicotinoidi. Bisogna considerare che, tra le molecole rintracciate, sono comprese anche quelle usate per la lotta alla varroa. Complessivamente, la perdita di famiglie di api nel 2012 è stata del 13,2% ed è risultata

negativamente correlata con la quantità di proteine grezze presenti nel pane d'api raccolto sia in primavera ($r=-0,15$; $p<0,05$), sia in autunno ($r=-0,15$; $p<0,05$). Tuttavia, non è emersa una relazione significativa tra la perdita di alveari e l'uso del territorio o la presenza di residui di pesticidi. Nel 2013, la mortalità media in tutto il periodo è risultata del 7,8%, di cui il 2,5% in inverno, molto al di sotto della mortalità considerata fisiologica (10%).

Conclusioni

Questi risultati indicano che l'uso del territorio gioca, insieme ad altri fattori come la stagione e le pratiche agricole, un ruolo rilevante nel determinare la qualità delle fonti di cibo disponibili per le api. L'ambiente agricolo può avere, a seconda di come è gestito, un'influenza negativa o positiva rispetto alle fonti di nutrimento e all'inquinamento da pesticidi. I dati di questa indagine confermano quelli ottenuti in condizioni di laboratorio, per cui la qualità della dieta ha un effetto importante sulla salute delle api.

Bibliografia

- Alaux C., Ducloz F., Crauser D., LeConte Y., 2010 – Diet effects on honeybee immunocompetence. *Biol. Lett.* 6: 562-565.
- Day S., Beyer R., Mercer A., Ogden S., 1990 - The nutrient composition of honeybee-collected pollen in Otago, New Zealand. *J. Apicult. Res.* 29: 138-146.
- De Groot A. P., 1953 - Protein and amino acid requirements of the honey bee (*Apis mellifica* L.). *Physiol. Comp. Oecol.* 3 : 197–285.
- Di Pasquale G., Salignon M., Le Conte Y., Belzunces L. P., Decourtye A., Kretzschmar A., Suchail S., Brunet J-L., Alaux C., 2013 - Influence of Pollen Nutrition on Honey Bee Health: Do Pollen Quality and Diversity Matter? *PLoS One* 8: e72016
- Mullin C. A., Frazier M., Frazier J. L., Ashcraft S., Simonds R., vanEngelsdorp D., Pettis J. S., 2010 - High levels of miticides and agrochemicals in North American apiaries: implications for honey bee health. *PLoS ONE* 5: e9754
- Roulston T. H., Cane J. H., Buchmann S. L., 2000 – What governs protein content of pollen : pollinator preferences, pollen-pistil interactions, or phylogeny? *Ecol. Monogr.* 70: 617–643.
- Tosi S., Bergamini D., Porrini C., Medrzycki P. - Influence of pollen quality on honey bees survival and susceptibility to pesticides. In prep.
- Wahl O. e Ulm K., 1983 -Influence of pollen feeding and physiological condition on pesticide sensitivity of the honey bee *Apis mellifera carnica*. *Oecologia* 59: 106 – 128.

Plasticità cronobiologica in *Apis mellifera* e organizzazione del pathway molecolare tra orologio biologico centrale e periferico

S. Ben Attia, G. Mazzeo, C. Rapisarda

Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Sezione Entomologia Applicata, Università degli Studi, via Santa Sofia n. 100, 95123 Catania (Italia)

Introduzione

I ritmi circadiani regolano il comportamento, la fisiologia e il metabolismo degli organismi viventi, consentendo loro, tra l'altro, di anticipare i cambiamenti delle condizioni ambientali (Bass e Takahashi, 2010; Albrecht, 2012; Bass, 2012). Tra gli Insetti, *Apis mellifera* L. mostra comportamenti circadiani per la cui ontogenesi è stata suggerita una correlazione con l'età degli individui, che ben si adatta all'organizzazione sociale della specie (Moore, 2001; Bloch, 2010): le giovani operaie, per le prime 2-3 settimane, svolgono lavori interni all'alveare ininterrottamente nell'arco delle 24 ore; successivamente, esse passano all'attività di foraggiamento, con chiara tendenza a visitare i fiori durante le ore di massima disponibilità di polline e nettare.

Oltre alla luce, gli stimoli sociali costituiscono un importante "zeitgeber" primario nel determinare il ritmo dell'attività locomotoria delle api, come dimostrato in particolare dalla robustezza dell'attività circadiana evidenziata da giovani nutrici allontanate sperimentalmente dalle interazioni sociali della colonia (Shemesh *et al.*, 2007, 2010). Tale dipendenza del comportamento circadiano dell'ape dal suo contesto sociale è stata spesso associata alla variazione nel profilo di espressione dei principali geni "core-clock" a livello del cervello; ma non è stato ancora esaminato se tali variazioni si estendano anche ad altri tessuti periferici, quali, in particolare, il tessuto muscolare, che tende a manifestare modifiche a livello sia molecolare che biochimico secondo le transizioni comportamentali degli individui e le conseguenti esigenze fisiologiche (Roberts e Elekonich, 2005).

Materiali e metodi

Il presente lavoro riporta i risultati di una sperimentazione condotta sia in campo che in laboratorio. L'indagine di campo è stata volta a valutare, sia in giovani nutrici che in bottinatrici prelevate da una colonia posta a regime naturale di alternanza di luce e buio (LD), se i principali geni "core-clock" mostrano differenze nella regolazione circadiana in tessuti muscolari legati al volo. L'arnia ospitante la colonia esaminata è stata posta all'interno di una tenda oscurante protettiva, che veniva chiusa durante le ore notturne in modo da assicurare il totale oscuramento; in tal modo, solo le bottinatrici durante le ore diurne venivano esposte alla luce.

La sperimentazione di laboratorio è stata condotta su esemplari coetanei ottenuti da pupe mature di api operaie e isolati subito dopo lo sfarfallamento in tubi eppendorf opportunamente adattati per il costante approvvigionamento di acqua e di cibo. Gli stessi tubi sono stati posti in incubatore, alla temperatura di $29^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, umidità relativa = 50% e regime di permanente oscurità (DD). Tale metodologia, oltre a eliminare eventuali interferenze derivanti dalla colonia, ha consentito di effettuare prelievi di operaie a diversi giorni (1, 3, 7, 17 e 24) dal loro sfarfallamento, al fine di studiare l'eventuale evoluzione, con l'età degli individui, dei profili di espressione dei geni sia circadiani che metabolici tanto nel cervello quanto nei tessuti muscolari periferici.

In entrambe le sperimentazioni, gli esemplari campionati sono stati prelevati a intervalli regolari di 4 ore (00h00, 04h00, 08h00, 12h00, 16h00 e 20h00) per 24 ore, immersi in azoto liquido e conservati a -80°C fino al momento in cui è stata effettuata la dissezione e la conseguente estrazione del cervello e dei muscoli toracici. Sui tessuti così estratti è stato isolato l'RNA totale, che, dopo conversione, è stato sottoposto a real-time quantitative RTPCR. La variazione giornaliera nell'espressione dell'mRNA relativo ai geni di interesse è stata sottoposta ad analisi statistica della varianza (ANOVA).

Risultati e discussione

La sperimentazione complessivamente qui presentata mette per la prima volta in evidenza una chiara oscillazione circadiana nella trascrizione di geni “*core-clock*” (soprattutto *per* e *cry*) nel tessuto muscolare di api operaie. L’andamento temporale di tale oscillazione differisce significativamente tra individui sperimentalmente posti ad alternanza di luce e buio (LD) e altri posti in regime di permanente oscurità (DD), secondo una modalità dipendente più dalla funzione che dall’età degli stessi individui. Benché sia ancora necessario chiarire l’eventuale autonomia di tale *oscillatore periferico* dalla coordinazione dell’*oscillatore centrale* posto nel cervello (o “*pacemaker*”), la consistente cadenza ritmica circadiana evidenziata nei livelli di espressione di geni altamente coinvolti nel metabolismo muscolare (quali ad esempio, significativamente espressi, *nau* e *pgk* o *tmod*) suggerisce interessanti opportunità future di individuare, nell’ape, ulteriori geni perifericamente regolati, detti “*clock-controlled-genes*”.

Conclusioni

Le acquisizioni realizzate attraverso il presente lavoro potrebbero contribuire nel dare risposta al tipo di interazioni esistenti tra i diversi orologi biologici, coinvolgendo ipoteticamente la totale o parziale autonomia di sincronizzazione, soprattutto in un eccellente modello di studio cronobiologico, quale l’ape.

Bibliografia

- Albrecht U., 2012 - Timing to Perfection: The Biology of Central and Peripheral Circadian Clocks. *Neuron* 74: 246-270.
- Bass J., 2012 - Circadian topology of metabolism. *Nature* 491: 348-356.
- Bass J., Takahashi J.S., 2010 - Circadian Integration of Metabolism and Energetics. *Science* 330 (6009): 1349–1354.
- Bloch G., 2010 - The social clock of the honey bee. *Journal Biol. Rhythms* 25 (5): 307-317.
- Moore D., 2001 - Honeybee circadian clocks: Behavioral control from individual workers to whole - colony rhythms. *J. Insect. Physiol.* 47: 843-857.
- Roberts S.P., Elekonich M.M., 2005 - Muscle biochemistry and the ontogeny of flight capacity during behavioral development in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. exp. Biol.* 208: 4193-4198.
- Shemesh Y., Cohen M., Bloch G., 2007 - Natural plasticity in circadian rhythms is mediated by reorganization in the molecular clockwork in honeybees. *FASEB J.* 21: 2304–2311.
- Shemesh Y., Eban-Rothschild A., Cohen M., Bloch G., 2010 - Molecular dynamics and social regulation of context-dependent plasticity in the circadian clockwork of the honey bee. *J. Neurosci.* 30: 12517–12525.

La natura dei dati entomologici di campo e implicazioni per le analisi statistiche

S. Arpaia¹, F. Baldacchino¹, P.W. Goedhart², M. Kos³, J.J.A. van Loon³,
H. van der Voet²

¹ ENEA, Agenzia Nazionale per le Nuove Tecnologie, l'Energia e lo Sviluppo Economico Sostenibile - Laboratorio di Sviluppo Sostenibile della Produzione Primaria (UTTRI-SSPP), Centro Ricerche Trisaia, Rotondella (MT);

² DLO, Wageningen University and Research Centre, Plant Research International, Biometris, Wageningen, Netherlands

³ Laboratory of Entomology, Wageningen University, Netherlands

Introduzione

La raccolta di dati ecologici di campo rappresenta la base su cui vengono condotte analisi entomologiche per vari scopi (e.g. valutazione di impatti ambientali dovuti alle attività agricole, valutazione della resistenza varietale agli artropodi, ecc.). I metodi di analisi statistiche utilizzati andrebbero scelti in base sia alla natura dei dati stessi che alla specifica risposta attesa. Quando l'obiettivo dello studio intende valutare gli impatti ambientali di una pratica agricola sull'artropodofauna, una particolare attenzione va indirizzata al calcolo del potere discriminatorio del modello statistico (power analysis). Con l'obiettivo di ottenere un modello efficiente per la valutazione di impatti ambientali, in questo lavoro sono stati analizzati dati provenienti da campi di confronto varietale, per verificare il modello statistico più adatto a rappresentare la distribuzione di artropodi su colture erbacee e per stimare il numero di repliche necessarie per un esperimento con un sufficiente potere discriminatorio.

Materiali e metodi

Dataset n.1. Campo sperimentale (Metaponto (MT), IT) con 10 varietà di fragola, anni 2004 e 2005. Disegno sperimentale completamente randomizzato, con 6 repliche nel 2004 e 5 nel 2005. Ogni plot costituito da 10 piante, tutte campionate per monitorare la presenza di fitofagi tramite campionamento visivo. *Aphys gossypii* Glover è stato monitorato contando il numero di afidi da una foglia scelta a caso per ogni pianta; le osservazioni sono state eseguite settimanalmente dal 15 marzo 2004 al 31 maggio 2004 e dal 3 maggio 2005 al 20 giugno 2005. *Tetranychus urticae* Koch monitorato nel 2004 con la stessa metodologia e frequenza applicata per la popolazione afidica, mentre nel 2005 sono stati eseguiti solo due rilievi (16 e 29 maggio).

Dataset n.2. Campo sperimentale (Wageningen, NL) con 4 cultivar di cavolo bianco anni 2008 e 2009. in Olanda) Disegno sperimentale a blocchi randomizzati, con 8 repliche e campionato settimanalmente da inizio giugno a fine settembre, scegliendo casualmente 9 piante per plot. Il dataset, contenente dati relativi alla presenza di fitofagi, parassitoidi e predatori, è costituito dal numero di afidi (*Brevicoryne brassicae* L.), larve e pupe del lepidottero *Plutella xylostella* L., mummie e afidi parassitizzati dall'imenottero *Diaeretiella rapae* McIntosh, pupe di *P. xylostella* parassitizzata da *Diadegma semiclausum* Hellén, larve e pupe del sirfide *Episyrphus balteatus* de Geer, uova e pupe del neurottero *Chrysoperla carnea* Stephens.

Su tali dataset sono stati calcolati i principali parametri di dispersione delle variabili considerate e applicati alcuni modelli di stima dei parametri di dispersione.

Risultati e discussione

I conteggi relativi ad afidi ed acari su fragola, hanno rivelato che le caratteristiche principali di queste distribuzioni sono: una notevole "over-dispersione" ed un notevole numero di zeri. La distribuzione di Poisson non riesce a modellizzare efficacemente il fenomeno di overdispersione né la mancata proporzionalità fra la varianza e la media (Goedhart et al., 2014). Un'analisi basata su una distribuzione lognormale ha il limite di un cattivo fit degli zero. La distribuzione binomiale

negativa offre caratteristiche intermedie fra una distribuzione di Poisson per medie basse e una distribuzione lognormale per medie alte. Anche l'analisi di dati provenienti dallo studio sul cavolo relativamente a diversi fitofagi e loro nemici naturali, ha mostrato che soltanto in 18 delle 280 date di campionamento (6%) in tutte le 32 parcelle sono stati registrati valori diversi da zero. Al contrario, in 87 casi (31%) tutte le 32 parcelle avevano conteggi a valore zero. In base alle caratteristiche dei fenomeni di dispersione registrati, si può evidenziare come il potere discriminatorio del modello statistico sia sensibile al valore della variabili rilevato, alla intensità del fenomeno di overdispersione e alla eventuale differenza tra le medie dei trattamenti da testare. Da un esempio teorico in cui si intende valutare un trattamento che fa registrare dei valori medi di una variabile doppi rispetto a quelli del testimone, si ricavano le stime del numero di repliche necessario, in base a 3 possibili modelli descrittivi, per raggiungere un potere discriminatorio dell'80% (Tab. 1). Una analisi preventiva del potere discriminatorio è necessaria. Per distribuzioni non-normali si può procedere per simulazioni, o ricorrere a un metodo pratico e più facile (Lyles et al., 2007).

Tabella 1. Numero di repliche necessarie per ottenere un risultato significativo ($\alpha=0,05$) con probabilità dell'80%, quando la tesi trattata ha valore medio doppio del controllo. μ = media, ω = fattore di overdispersione (approx. Varianza/media)

NegBinomiale	$\mu= 1$	$\mu= 2$	$\mu= 5$	$\mu= 10$	$\mu= 20$	$\mu= 40$
$\omega= 0.25$	29	21	13	10	9	9
$\omega= 0.50$	>40	27	21	19	17	16
$\omega= 1.00$	>40	>40	37	35	33	32
Over-Poisson	$\mu= 1$	$\mu= 2$	$\mu= 5$	$\mu= 10$	$\mu= 20$	$\mu= 40$
$\omega= 0.25$	32	22	13	10	10	9
$\omega= 0.50$	>40	27	21	18	16	16
$\omega= 1.00$	>40	39	32	32	28	27
Log-Normale	$\mu= 1$	$\mu= 2$	$\mu= 5$	$\mu= 10$	$\mu= 20$	$\mu= 40$
$\omega= 0.25$	36	26	17	13	12	11
$\omega= 0.50$	>40	37	30	27	24	23
$\omega= 1.00$	>40	>40	>40	>40	>40	>40

Conclusioni

L'applicazione di un modello statistico per dati entomologici in campo deve essere basata su un metodo che possa gestire sia gli eccessi di zero che l'over-dispersione. La caratteristica over-dispersione porta ad una necessità di aumentare in maniera notevole le repliche in caso di medie dei conteggi inferiori a 5-10. I dati da noi utilizzati indicano che un esperimento di campo per valutare l'abbondanza di specie non-bersaglio (es. nemici naturali) come differenza fra due trattamenti deve essere impostato considerando le caratteristiche di dispersione dei dati. Una analisi preventiva del potere discriminatorio è sempre necessaria.

Bibliografia

- Goedhart PW, van der Voet H, Baldacchino F, Arpaia S (2014). Ecology and Evolution, 4: 1267–1283. <http://dx.doi.org/10.1002/ece3.1019>.
- Lyles RH, Lin H-M & Williamson JM (2007). Statistics In Medicine: 6(7): 1632-1648.

Il contributo di entomologi italiani nel programma di eradicazione di *Lobesia botrana* dalla California

A. Lucchi¹, B. Bagnoli², C. Ioriatti³

¹Università di Pisa, DiSAAA-a, 56124 Pisa, Italia, E-mail: andrea.lucchi@unipi.it;

²Università della Tuscia, DIBAF, 01100 Viterbo, Italia, E-mail: bagnoli@unitus.it

³Fond. E. Mach, 38010 S. Michele all'Adige (TN), Italia, E-mail: claudio.ioriatti@fmach.it

La tignoletta della vite *Lobesia botrana* (Den. & Schiff.) è stata segnalata per la prima volta in Nord America il 15 settembre 2009, in un vigneto della Napa Valley (California) (Lucchi *et al.*, 2012). A seguito di detto rinvenimento, da tempo temuto in Nord America, l'APHIS-USDA istituì immediatamente un 'Technical Working Group' (TWG) composto da esperti locali e internazionali, tra cui gli autori, allo scopo di contribuire alla definizione del problema, riunire ed elaborare le conoscenze scientifiche e tecniche sulla specie, gestire l'emergenza e fornire raccomandazioni appropriate alle agenzie locali e agli operatori di settore. Sebbene il periodo dell'anno, coincidente con l'inizio della diapausa invernale della specie, non fosse idoneo al monitoraggio degli adulti, a partire dal 7 ottobre, 248 trappole a feromoni furono installate nei vigneti circostanti l'area di primo rinvenimento. Parallelamente furono condotte indagini in vigneto alla ricerca di larve e soprattutto di crisalidi svernanti. Detta attività permise la raccolta di complessivi 30 esemplari di *L. botrana* (6 maschi, 1 femmina, 15 larve e 8 crisalidi) in due diverse località della Contea di Napa.

Dal febbraio 2010 il monitoraggio degli adulti si estese alle altre contee californiane alla densità di 16-25 trappole per mi² (0,6-1 trappola ogni 10 ha). Su un totale di 40.000 dispositivi installati, circa 8.000 riguardavano vigneti e aree residenziali di Napa. Durante il primo volo, le trappole catturarono 99.266 maschi in questa contea e solo 78 esemplari in altre nove contee californiane. Nonostante i consistenti livelli d'insediamento, il TWG, riunitosi a Napa nell'aprile 2010 (proprio in concomitanza con il primo volo annuale della specie), ritenne di dover considerare l'eradicazione del tortricide come obiettivo finale, rimandando all'autunno ogni altra decisione in merito. Allo scopo, sulla base del monitoraggio furono definite "in tempo reale" le aree di quarantena e vennero prese le necessarie decisioni per l'applicazione di insetticidi (principalmente metossifenozone, clorantprilprolo, emamectina benzoato, spinosad e *Bacillus thuringiensis*) contro la prima e la seconda generazione del fitofago. Inoltre, a seguito di specifiche raccomandazioni del TWG volte a utilizzare tutti i mezzi e metodi disponibili, la confusione sessuale (CS) con erogatori Isonet L fu applicata nella Contea di Napa su 3.200 ha di vigneto, contro gli adulti del secondo e terzo volo. Nelle aree residenziali sottoposte a regime di quarantena, la popolazione fu invitata a intervenire con prodotti a base di *B. thuringiensis* o a procedere alla distruzione dei grappoli delle viti di loro pertinenza. Come conseguenza di dette azioni, solo 1.284 e 281 maschi furono catturati nella Contea di Napa rispettivamente nel secondo e terzo volo del 2010. L'esame dei grappoli per la stima della popolazione preimmaginale, fortemente raccomandato dal TWG soprattutto per le aree a CS, confermò ovunque una drastica riduzione della densità dell'insetto in seconda e terza generazione. Nell'incontro del TWG svoltosi a Napa nel novembre 2010, emerse la convinzione di poter proseguire nel progetto di eradicazione. Le principali ragioni a sostegno di tale orientamento furono le seguenti: 1) assenza in California di *Daphne gnidium*, la timelacea ritenuta in Europa l'ospite primario della tignoletta; ritrovamento di un esiguo numero di uova su fiori di olivo solo nell'aprile 2010, unicamente nei pressi di vigneti fortemente infestati; nessun ritrovamento su altri potenziali ospiti del tortricide; 2) sostegno e attiva partecipazione al programma da parte delle aziende viticole; 3) collaborazione competente e proficua fra tutte le agenzie, federali e locali; 4) constatazione che le strategie di lotta adottate, in quanto applicate secondo criteri di 'Area Wide Pest Management', si erano dimostrate estremamente efficaci.

Nel 2011 furono installate 65.000 trappole a feromoni in tutta la California e la CS fu applicata a partire dall'inizio del primo volo, nelle contee di Napa su 6.400 ha e di Sonoma su 620 ha. Inoltre,

interventi insetticidi contro la prima e la seconda generazione della tignoletta furono prescritti all'interno di aree circolari aventi un raggio di 500 m dal punto nel quale uno stadio vitale fosse stato intercettato nei due anni precedenti. In quell'anno, solo 113 maschi furono catturati a Napa e 33 in tutte le altre contee.

Nel 2012, in quattro delle dieci contee entrate in regime di quarantena negli anni precedenti, iniziò la fase di deregolamentazione, ampiamente dibattuta e poi definita, in ambito TWG, in tutti i suoi parametri temporali e spaziali. Da marzo dello stesso anno, solo la Contea di Napa applicò su 10.500 ha la CS, mentre nelle sei contee ancora in regime di quarantena (Napa inclusa) furono effettuate anche in questo caso applicazioni insetticide contro la prima e la seconda generazione. Complessivamente furono catturati 77 maschi, tutti durante il primo volo, in aree non sottoposte a CS della Contea di Napa e nessun segno di infestazione fu rilevato nei numerosi controlli di campo. Nel 2013 la CS fu mantenuta a Napa solo nelle aree dove erano state registrate catture nell'anno precedente. Oltre alla prosecuzione dei trattamenti contro le prime due generazioni dell'anno (confermatesi di gran lunga le più consistenti), venne intensificato il monitoraggio degli adulti mediante un considerevole aumento del numero di trappole a feromoni per unità di superficie (0,4-1 trappola/ha). In totale, in tutta la Contea di Napa furono catturati 40 maschi a fronte di zero esemplari in tutte le altre contee.

Per quanto riguarda l'anno in corso, nessun adulto è stato finora rilevato durante il primo volo. Ciò nonostante non possiamo escludere che popolazioni residuali siano presenti, in particolare a Napa, a livelli di densità così bassi da renderne difficile il rilevamento. Questa eventuale situazione dovrà continuare a essere oggetto di riflessione in seno al TWG, in rapporto fra l'altro alla densità di trappole suggerita per la deregolamentazione.

I risultati finora raggiunti, oltremodo soddisfacenti, sono in larga parte merito della capacità organizzativa delle strutture locali e federali coinvolte, che hanno saputo avvalersi del contributo scientifico del TWG e hanno efficacemente utilizzato le risorse finanziarie pubbliche disponibili (pari a circa 60 milioni di dollari), facendo leva sull'assistenza tecnica e sulla ricerca applicata nazionale e internazionale, e assicurando parallelamente una capillare e progressiva informazione e formazione, in inglese e spagnolo, dei responsabili aziendali, dei viticoltori e dei cittadini mediante ogni possibile forma di comunicazione (depliant, programmi radio, internet newsletters, innumerevoli incontri frontali, ecc.) (Lucchi *et al.*, 2014; Cooper *et al.*, 2014).

Indipendentemente dalle possibilità del programma di raggiungere l'effettiva eradicazione della tignoletta dalla California o di configurarsi come un sistema di controllo integrato della nuova avversità, il percorso e lo sforzo realizzati rappresentano senza dubbio un'esperienza altamente significativa.

Bibliografia

- Cooper M.L., Varela L.G., Smith R.J., Whitmer D.R., Simmons G.A., Lucchi A., Broadway R., Steinhauer R., 2014 - A collaborative effort: grape growers, scientists and regulators respond to the invasive European Grapevine Moth in California. California Agriculture, in press.
- Lucchi A., Bagnoli B., Cooper M., Ioriatti C., Varela L.G., 2014 – The successful use of sex pheromones to monitor and disrupt mating of *Lobesia botrana* in California. IOBC-WPRS Bulletin, 99: 45-48.

Effetti di insetticidi microbiologici e a base di estratti vegetali sulle tignole della vite

C. Duso¹, M. Lorenzon¹, A. Pozzebon¹, D. Fornasiero¹, P. Tirello¹, B. Costa¹, M. Benanchi², S. Simoni³, E. Gargani³, S. Guidi³, F. Tarchi³, B. Bagnoli³

¹ Università degli Studi di Padova, Dipartimento DAFNAE, 35020 Legnaro (Padova), Italia E-mail: carlo.duso@unipd.it;

² Università degli Studi di Firenze, Dipartimento DISPAA, 50125 Firenze, Italia;

³ CRA, Centro di ricerca per l'agrobiologia e la pedologia, 50125 Firenze, Italia

Introduzione

Il controllo delle tignole della vite, *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) ed *Eupoecilia ambiguella* (Hübner), è ritenuto fondamentale nei principali areali viticoli europei. Altre problematiche dovute a insetti e acari possono indurre ad effettuare interventi specifici ma in ambiti territoriali più ristretti. Ne rappresenta un esempio la lotta contro il principale vettore della Flavescenza dorata, *Scaphoideus titanus* Ball. In alcuni comprensori si segnalano infestazioni di cicaline, in particolare *Empoasca vitis* (Goethe), e delle cocciniglie *Parthenolecanium corni* Bouché e *Planococcus ficus* (Signoret). Gli acari *Panonychus ulmi* (Koch) e soprattutto *Eotetranychus carpini* (Oudemans) sono localmente importanti. L'impiego di insetticidi in viticoltura è relativamente contenuto (in media 3,1 trattamenti l'anno; Fonte: Istat 2010) se confrontato con quello dei fungicidi. Il consumo di insetticidi aumenta notevolmente nelle coltivazioni di uva da tavola a causa dei rischi associati a *L. botrana* e a *Frankliniella occidentalis* (Pergande). Gli effetti tossicologici ed ecotossicologici associati all'uso degli insetticidi sono stati al centro di numerosi provvedimenti legislativi che hanno portato alla drastica riduzione del numero di molecole disponibili. Tale processo, considerato i requisiti per l'autorizzazione all'uso contenuti nel Reg. 1107/2009/CE, è sicuramente destinato a proseguire. I fenomeni di resistenza a insetticidi e acaricidi in viticoltura sono per ora circoscritti, ma alcuni orientamenti della grande distribuzione potrebbero favorirne la diffusione. Due ulteriori fenomeni vanno considerati nel contesto della difesa fitosanitaria della vite: i cambiamenti climatici e l'introduzione di specie alloctone (Marchesini e Dalla Montà, 2004). I problemi associati all'uso di insetticidi convenzionali e la richiesta di alimenti privi di residui di prodotti fitosanitari hanno stimolato la ricerca di nuovi strumenti di lotta (Tasin, 2005). La Direttiva 128/2009/CE prevede di sostituire gli insetticidi di sintesi con mezzi alternativi non chimici privilegiando i mezzi biologici di controllo. La ricerca di queste soluzioni si è avvalsa del Progetto PURE che ha preso in considerazione le principali colture europee tra cui la vite. Allo scopo, sono state identificate e confrontate alcune possibili alternative agli insetticidi convenzionali nel controllo delle tignole della vite. Nel presente lavoro sono riportati i risultati più interessanti di un triennio di ricerche relative agli effetti principali e collaterali di questi mezzi di controllo.

Materiali e metodi

Le indagini sono state condotte in due vigneti situati rispettivamente in Toscana ("vigneto 1", cv. Sangiovese) e Veneto ("vigneto 2", cv. Cabernet Franc) dal 2011 al 2013. Lo schema sperimentale ha previsto il confronto tra tesi trattate con insetticidi di origine microbiologica (*Bacillus thuringiensis*, *Beauveria bassiana*, spinosad) o a base di estratti vegetali (piretrine e azadiractina) mediante un disegno a blocchi randomizzati con 4-5 ripetizioni per tesi. Nel confronto è stato inserito un testimone non trattato. Tutte le tesi sono state difese da peronospora ed oidio. La tempistica dei trattamenti è stata determinata in relazione alla fenologia di *L. botrana* (seconda generazione) e alla modalità d'azione degli insetticidi. Gli effetti sulle tignole sono stati valutati, a un mese di distanza dai trattamenti, in termini di percentuale di grappoli infestati e numero di larve per grappolo. Sono stati effettuati rilievi di campo e di laboratorio allo scopo di valutare l'effetto

dei trattamenti su altri fitofagi (ad es. cicaline e cocciniglie) e su alcuni entomofagi rappresentativi (ad es. acari Fitoseidi). I dati relativi alle tignole sono stati elaborati mediante ANOVA con test *post-hoc* di Tukey ($\alpha = 0,05$). I dati su cicaline, cocciniglie e acari sono stati elaborati mediante ANOVA a misure ripetute e le differenze tra le tesi sono state valutate mediante un t-test sulle medie-minime quadratiche ($\alpha = 0,05$).

Risultati e discussione

Nei due vigneti, *L. botrana* è risultata ampiamente dominante; tra gli altri fitofagi, le cicaline *E. vitis* e *Zygina rhamni* (Ferrari) hanno raggiunto densità moderate solo nel “vigneto 2” mentre le cocciniglie e gli acari fitofagi hanno raggiunto densità limitate. Relativamente agli acari predatori, *Typhlodromus pyri* Scheuten è risultato dominante nel “vigneto 1”, mentre nel “vigneto 2” si è constatata la coesistenza di *Amblyseius andersoni* (Chant) e *Phytoseius finitimus* Ribaga. Dai rilievi è emerso che i trattamenti insetticidi hanno esercitato effetti significativi sulle densità di *L. botrana* e sui relativi danni. In entrambi i vigneti si è rilevata la spiccata efficacia degli interventi a base di spinosad. Le applicazioni a base di *B. thuringiensis* sono risultati particolarmente efficaci nel “vigneto 2” ove gli altri insetticidi hanno ottenuto risultati intermedi tra il testimone e la tesi trattata con spinosad. Nel “vigneto 2” le popolazioni delle cicaline hanno talvolta raggiunto densità relativamente elevate nelle tesi trattate con piretrine o spinosad. Allo stesso tempo, questi interventi hanno provocato una riduzione significativa delle densità degli acari predatori rispetto al testimone e ad altre tesi (*B. thuringiensis* e azadiractina).

Conclusioni

Le differenze di efficacia osservate nei due vigneti sono verosimilmente attribuibili alla densità di popolazione della specie bersaglio e alle condizioni climatiche. In generale, è emersa la considerevole efficacia degli insetticidi a base di spinosad nei confronti delle tignole. Tuttavia, essi hanno manifestato effetti indesiderati su cicaline e acari predatori che meritano approfondimenti sui meccanismi coinvolti. L'attività di *B. thuringiensis* è apparsa degna di rilievo nel “vigneto 2” ove è emersa una moderata efficacia degli interventi a base di estratti vegetali. L'assenza di effetti collaterali dei trattamenti a base di *B. thuringiensis* rappresenta un elemento di grande interesse nelle strategie di protezione integrata.

Bibliografia

- Marchesini, E., Dalla Montà, L., 2004 - Nel Veneto quattro generazioni di tignoletta della vite. Inform. Agr., 60: 75-78.
- Tasin, M., 2005 - Sex, wine and chemical communication in grapevine moth *Lobesia botrana*. Ph.D. thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Acta Universitatis Agriculturae Sueciae, Alnarp, Sweden.

La presente ricerca è stata finanziata dal EU (FP7/ 2007-2013) grant agreement n° 265865- PURE.

I nuovi alleati informatici nella gestione delle emergenze fitosanitarie: SIMFito e SIMFito Lab

R. Griffo¹, C. De Michele², L. Marotta², A. Staiano², F. Nugnes^{3,4}

¹ Regione Campania – Servizio fitosanitario regionale

² Ariespace s.r.l.- spin-off Federico II

³ Consiglio Nazionale delle Ricerche, Istituto protezione delle Piante, Sezione di Portici, Italia

⁴ Dipartimento di Agraria - Biologia e Protezione dei sistemi agricoli e forestali (BiPAF) - Università degli Studi di Napoli Federico II, Italia

Introduzione

L'intensificarsi degli scambi commerciali internazionali ha esposto l'Europa negli ultimi decenni all'ingresso e alla diffusione di molti organismi nocivi che, grazie alle condizioni climatiche favorevoli e all'assenza di antagonisti naturali, sono riusciti ad insediarsi e a proliferare, causando gravi danni ambientali ed economici.

Per far fronte alle crescenti problematiche fitosanitarie la Regione Campania, attraverso il proprio Servizio fitosanitario ha promosso un programma di monitoraggio e sorveglianza del territorio "rafforzato" che vede la collaborazione dei partner URCoFI (Dipartimento di Agraria di Portici, CNR – IPP e CRA), le amministrazioni comunali, gli enti gestori dei parchi, altri soggetti pubblici o privati, per quanto di loro competenza, basato non solo su strategie "convenzionali" di rilevamento ed archiviazione dei dati, ma anche su strumenti informatici innovativi. I numerosi sforzi, coadiuvati dal supporto informatico fornito da Ariespace (spin-off della "Federico II"), hanno portato allo sviluppo di S.I.M.Fito (Sistema Informativo per il Monitoraggio Fitosanitario) e S.I.M.Fito Lab (Sistema Informativo per il Monitoraggio Fitosanitario e la gestione del Laboratorio di analisi).

Materiali e metodi

SIMFito è un'applicazione Web (www.simfito.org) che consente l'inserimento on-line delle schede di monitoraggio e/o ispezione da parte degli Ispettori fitosanitari e dei tecnici attraverso un'interfaccia semplice ed intuitiva. La peculiarità del sistema è costituita dall'associazione dei rilevamenti effettuati per il monitoraggio con l'acquisizione dei dati georeferenziati del sito controllato; pertanto il database risulta di tipo geografico e consente, tramite interrogazione e supporto di analisi GIS, l'esportazione di report sia in formato tabellare sia in formato cartografico, aggregando i dati su scala spaziale e temporale.

L'integrazione di questa piattaforma con quella di SIMFito Lab, che supporta la gestione e l'archiviazione delle analisi di laboratorio condotte sui campioni raccolti e sulle trappole (un esempio di scheda da compilare da parte del laboratorio e riportata in Fig. 5), chiude in maniera efficiente la raccolta delle informazioni su campo, consentendo la produzione di report e certificati in tempo reale in accordo con gli impegni nazionali e comunitari (direttiva 2000/29/CE del Consiglio Europeo).

Le due applicazioni implementano diverse banche dati preesistenti allo scopo di avere un archivio, quanto più completo possibile, delle piante ospiti, degli organismi nocivi e delle relazioni intercorrenti tra di essi; si è fatto ricorso alla banca dati della EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), alla banca dati del software PQR (Plant Quarantine data Retrieval system), sempre della EPPO, che fornisce, tra l'altro, informazioni dettagliate sulla distribuzione geografica degli organismi nocivi censiti (Sito Web EPPO), e dei dati della Regione Campania – SeSIRCA (Regione Campania, 2012), per quanto riguarda gli organismi nocivi di tipo "ordinario" (per ordinari si intendono gli organismi nocivi che ormai sono stabilmente insediati nel territorio). Per consentire la massima flessibilità nell'uso di queste banche dati è stata messa a disposizione la possibilità di effettuare nuove segnalazioni di relazioni ospite-parassita, in modo che, una volta

validate dall'amministratore, l'associazione risulti immediatamente disponibile, quindi anche in anticipo rispetto al periodico aggiornamento ufficiale della banca dati della EPPO.

Risultati e discussione

SIMFito e SIMFito Lab in versione 1 costituiscono il primo pacchetto a livello nazionale per l'informatizzazione del monitoraggio fitosanitario, consentendo l'archiviazione e l'interrogazione in tempo reale delle informazioni inserite nel sistema; inoltre l'esportazione dei dati in formato tabellare consente di effettuare statistiche personalizzate, utilizzabili dagli utenti per gli scopi più diversi, ad esempio valutare quale fase fenologica di una specie è più suscettibile ad un attacco di un organismo patogeno, valutare metodi di analisi alternativi nella ricerca di un organismo, coordinare gli interventi sul territorio in fase di emergenza, allertare gli agricoltori con bollettini periodici, programmare gli interventi preventivi, ecc. Entrambe le piattaforme sono in continua evoluzione per rispondere alle esigenze degli utilizzatori e alle richieste della Comunità Europea.

Conclusioni

L'utilizzo di due piattaforme integrate come SIMFito e SIMFito Lab presentano numerosi vantaggi, come visto, e pertanto sarebbe auspicabile un loro utilizzo su scala nazionale, in previsione di un'uniformità dei dati sia in fase di raccolta in campo sia in fase di analisi in laboratorio.

Bibliografia

Sito Web Progetto: www.simfito.org

Sito Web EPPO: www.eppo.int

Regione Campania, 2012 – Norme tecniche per la difesa fitosanitaria ed il diserbo integrato delle colture. Piano Regionale di lotta fitopatologia Integrata. PSR (REG. CE 1698/05).

Risultati di cinque anni di esperienze sul controllo biologico di *Tuta absoluta*

M. Nannini, F. Atzori, G. Murgia, R. Pesci, F. Sanna

Agris Sardegna, Dipartimento per la Ricerca nelle Produzioni Vegetali, V.le Trieste 111, 09123 Cagliari, Italia, E-mail: mnannini@agrisricerca.it

Introduzione

In seguito all'introduzione in Sardegna della tignola del pomodoro *Tuta absoluta*, specie segnalata per la prima volta nell'Isola nel 2008 (Viggiani *et al.*, 2009), lo stato fitosanitario della coltura del pomodoro ha subito un rapido peggioramento, stimolando le istituzioni di ricerca regionali allo studio di efficaci metodi di contenimento del fitofago. Nel corso del quinquennio 2009/13 l'agenzia regionale Agris Sardegna ha condotto alcune indagini per valutare l'efficacia di diversi antagonisti naturali della tignola del pomodoro, tra i quali principalmente il batterio entomopatogeno *Bacillus thuringiensis* e i Miridi predatori *Macrolophus pygmaeus* e *Nesidiocoris tenuis*.

Materiali e metodi

Le prove sono state ospitate nella serra sperimentale in ferro-vetro del Laboratorio per l'Allevamento di Insetti Utili di Ussana (CA), in serre e multi-tunnel dell'Azienda S'Appassiu di Uta (CA) e in strutture commerciali di diversa tipologia e superficie ubicate nel distretto serricolo di Santa Margherita di Pula (CA). Nel corso delle diverse esperienze svolte sono stati adottati disegni sperimentali differenti; alcune prove hanno richiesto l'impiego di gabbie in rete anti-insetto (1,4 x 2,5 x 1,3 m) per l'isolamento degli insetti oggetto dei test. I dati sperimentali sono stati analizzati con metodi parametrici e non parametrici.

Risultati e discussione

Differenze significative sono state rilevate nell'efficacia dei preparati commerciali a base di *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* e/o *aizawai* testati (Fig. 1), caratterizzati peraltro da sensibili differenze in termini di potenza insetticida e dose d'impiego consigliata. L'applicazione di quattro trattamenti settimanali di prodotti a base del batterio ha permesso in diversi casi di ottenere livelli di contenimento dell'infestazione di *T. absoluta* paragonabili a quelli determinati da trattamenti con un prodotto di riferimento a base di spinosad, ma una significativa riduzione dell'efficacia è stata osservata quando la dose d'applicazione del *B. thuringiensis* è scesa sotto i 2 grammi/litro (Fig. 1). I Miridi *M. pygmaeus* e *N. tenuis* hanno dimostrato in condizioni controllate un buon potenziale come limitatori naturali della tignola del pomodoro. In genere l'introduzione artificiale dei predatori in colture commerciali di pomodoro in serra, effettuata secondo il metodo inoculativo stagionale, non ha invece permesso di raggiungere i risultati attesi in termini di contenimento dell'infestazione del fitofago. Ciò a causa del lento accrescimento delle popolazioni dei Miridi, determinato in alcuni casi dall'impiego di fitofarmaci non selettivi, ma anche da altri fattori limitanti. Specifiche indagini volte a identificare tali fattori hanno evidenziato l'influenza sull'accrescimento delle popolazioni dei Miridi dello stato di fitness degli insetti liberati, della disponibilità di prede e, in minore misura, di una precoce sfogliatura delle piante di pomodoro effettuata dopo i lanci. Sono state inoltre condotte esperienze per migliorare l'insediamento dei predatori nelle colture di pomodoro, attraverso l'anticipazione del lancio, l'introduzione in ambiente confinato, la somministrazione di alimenti artificiali e la razionalizzazione degli interventi di sfogliatura (Fig. 2).

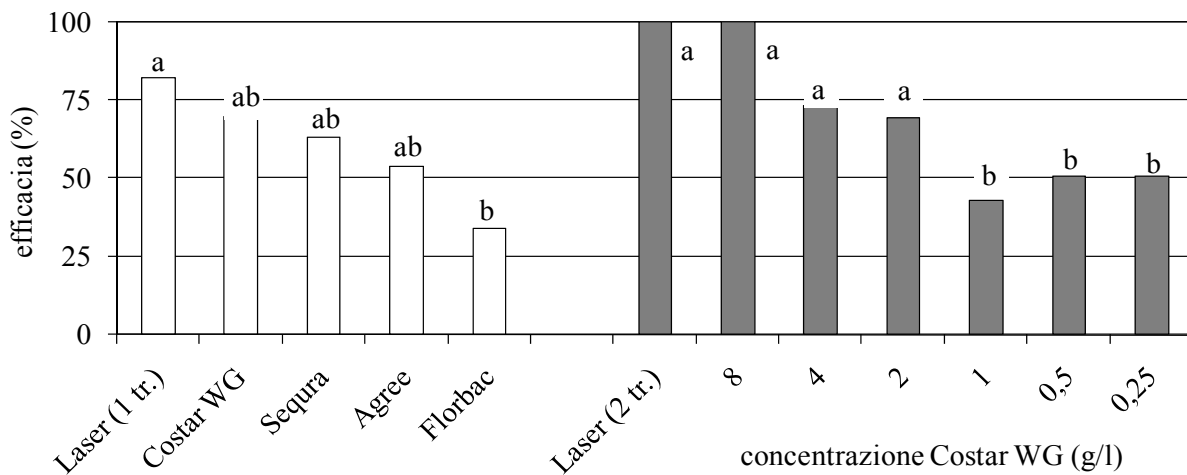


Figura 1. Efficacia contro *T. absoluta* di 4 trattamenti con prodotti a base di *B. thuringiensis* applicati alla massima concentrazioni prevista su pomodoro (a sinistra) o a diverse concentrazioni (a destra), e di trattamenti con spinosad; a lettere differenti corrispondono differenze significative per $p = 0,05$ (test U di Mann-Whitney / test di Duncan).

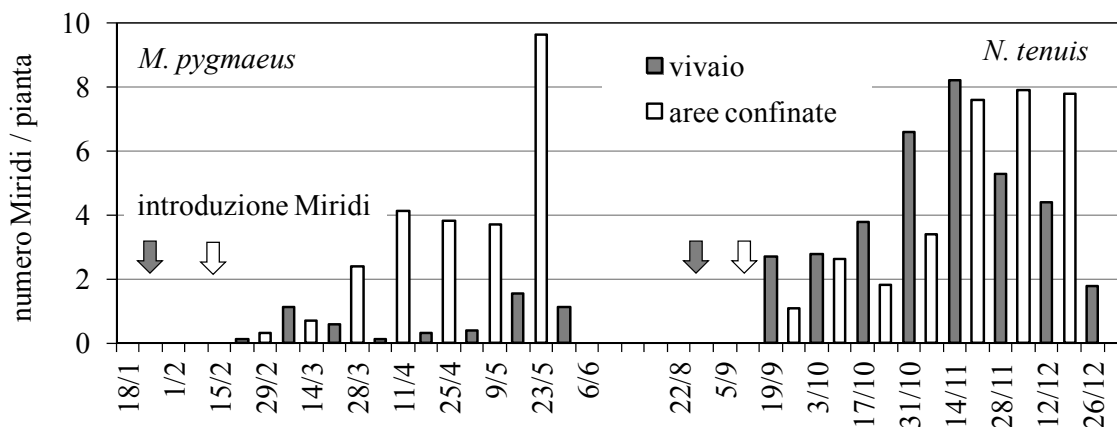


Figura 2. Andamento del numero medio di *M. pygmaeus* e di *N. tenuis* rilevato successivamente all'introduzione in vivaio o in aree confinate di Miridi predatori provenienti da un allevamento di laboratorio.

Conclusioni

Lo studio svolto ha permesso di mettere in luce le potenzialità ed alcuni limiti d'impiego degli antagonisti naturali della tignola del pomodoro presi in esame. Mentre l'uso di prodotti a base di *B. thuringiensis* ha dimostrato di poter essere inserito senza particolari difficoltà nella normale pratica colturale del pomodoro coltivato in serra, principalmente nella forma di interventi ripetuti nel corso delle prime fasi colturali, l'impiego dei Miridi predatori è risultato in genere di più complessa implementazione, richiedendo un profondo ripensamento della gestione fitosanitaria della coltura. La sperimentazione svolta ha tuttavia messo in luce la possibilità di migliorare l'efficacia dei lanci inoculativi dei Miridi, sia integrandone l'azione con l'uso di prodotti selettivi nei loro confronti, come il *B. thuringiensis*, sia attraverso l'applicazione di misure in grado di accelerare l'accrescimento delle loro popolazioni.

Bibliografia

Viggiani G., Filella F., Delrio G., Ramassini W., Foxi C., 2009 - *Tuta absoluta*, nuovo lepidottero segnalato anche in Italia. L'Informatore Agrario 2: 66-68.

Resistenze “target-site” in popolazioni italiane dell’afide verde del pesco (*Myzus persicae*).

M. Panini, M. Anaclerio, V. Puggioni, E. Mazzoni

Istituto di Entomologia e Patologia vegetale, Università Cattolica del Sacro Cuore, Piacenza 29122, Italia. E-mail: emanuele.mazzoni@unicatt.it

Introduzione

Nel corso degli anni, l’afide verde del pesco ha sviluppato diversi meccanismi di resistenza agli insetticidi, come dimostrato da numerose segnalazioni di mancata efficacia dei trattamenti (Whalon *et al.*, 2008). In Italia è documentata da tempo l’elevata resistenza a esteri fosforici, carbammati e piretroidi (Mazzoni e Cravedi, 2012). A partire dal 2010, anche per i neonicotinoidi sono stati evidenziati gravi problemi di resistenza in Spagna, Francia e Italia (Slater *et al.*, 2012; Panini *et al.*, 2014). La presente indagine aggiorna le conoscenze sulla diffusione delle mutazioni legate alle resistenze target-site a neonicotinoidi, piretroidi e carbammati nelle popolazioni italiane di *M. persicae*.

Materiali e metodi

L’indagine è stata condotta su 75 popolazioni di *M. persicae* raccolte tra il 2012 (n = 50) e il 2013 (n = 25) in varie aree italiane, sia da pesco (n = 69), sia da alcuni ospiti secondari (peperone: n = 3; melanzana: n = 2; tabacco: n = 1). La presenza delle mutazioni puntiformi legate alla resistenza è stata evidenziata con PCR allele specifica (PASA-PCR) (Panini *et al.*, 2014) e/o pirosequenziamento (Ahmadian *et al.*, 2000).

Risultati e discussione

I risultati mostrano che la frequenza delle mutazioni legate alle resistenze è variabile in funzione del tipo di mutazione, dell’area geografica di origine e dell’ospite di raccolta delle popolazioni studiate. Le mutazioni del gene codificante il canale del sodio voltaggio dipendente, L1014F (*kdr*) e M918T (*s-kdr*), responsabili della resistenza ai piretroidi, sono state trovate con percentuali prossime al 100% in tutte le popolazioni indagate (Tabella 1). Nel locus del *s-kdr* è stata inoltre trovata, nel 22% circa delle popolazioni, una differente mutazione (M918L), recentemente descritta in letteratura (Fontaine *et al.*, 2011).

La mutazione R81T, legata alla resistenza ai neonicotinoidi, e in grado di conferire fattori di resistenza di oltre 100 volte, è stata trovata, nel 2012, nel 65% circa degli afidi analizzati. Tale percentuale si è leggermente ridotta nei campioni del 2013, arrivando al 45% circa. Per la prima volta la presenza di questa mutazione è stata scoperta anche in popolazioni prelevate da ospiti erbacei.

La mutazione S431F presente nel gene dell’acetilcolinesterasi, legata alla resistenza ai dimetilcarbammati, è stata trovata nel 25% degli afidi analizzati.

La percentuale di individui con la contemporanea presenza di più mutazioni è particolarmente elevata.

Conclusioni

I dati raccolti descrivono una situazione preoccupante che richiederà una continua attenzione per mantenere l’efficacia dei trattamenti insetticidi eseguiti contro *M. persicae*. I risultati delle analisi condotte nel biennio 2012-2013 descrivono una sostanziale costanza nel tempo della resistenza ai dimetilcarbammati: la percentuale di presenza della mutazione S431F è infatti la stessa di quella riportata in un’indagine condotta in anni precedenti (Criniti *et al.*, 2008).

Tabella 1. Percentuale di individui con mutazioni legate alla resistenza a neonicotinoidi, piretroidi e dimetilcarbammati (MACE = modified acetylcholinesterase; n = numero di individui analizzati; S/S = omozigoti sensibili; S/R = eterozigoti; R/R = omozigoti resistenti).

anno	genotipo	neonicotinoidi	piretroidi			dimetilcarbammati
		R81T	L1014F (<i>kdr</i>)	M918T (<i>s-kdr</i>)	M918L (<i>s-kdr</i>)	S431F (MACE)
2012	S/S	35.0	2.6	5.8	78.6	51.9
	S/R	29.6	34.5	43.8	20.5	45.5
	R/R	35.4	62.9	50.4	0.9	2.6
	<i>n</i>	466	466	466	117	154
2013	S/S	53.3	2.3	19.4	80.1	69.8
	S/R	29.5	21.2	46.2	19.3	20.8
	R/R	17.2	76.5	34.4	0.6	9.4
	<i>n</i>	261	217	314	176	53

Al contrario, la resistenza ai piretroidi si è ampiamente diffusa ed è ora presente, pur in diverse combinazioni genotipiche di *kdr* e *s-kdr*, in quasi tutte le popolazioni di *M. persicae* raccolte in Italia. L'applicazione di qualunque insetticida della classe dei piretroidi può quindi essere del tutto inefficace contro questo afide. Infine, la resistenza ai neonicotinoidi, per la prima volta documentata nel 2010, in poco tempo ha raggiunto percentuali preoccupanti. Il rischio di una sua maggiore diffusione è consistente, soprattutto nelle colture erbacee per le quali i neonicotinoidi non hanno avuto particolari limitazioni d'uso legate alla protezione delle popolazioni dei pronubi.

Bibliografia

- Ahmadian A., Gharizadeh B., Gustafsson A.C., Sterky F., Nyren P., Uhlen M., Lundeberg J., 2000 - Single-nucleotide polymorphism analysis by pyrosequencing. *Anal. Biochem.* 280: 103-110.
- Criniti A., Mazzoni E., Cassanelli S., Cravedi P., Tondelli A., Bizzaro D., Manicardi G.C., 2008 - Biochemical and molecular diagnosis of insecticide resistance conferred by esterase, MACE, *kdr* and super-*kdr* based mechanisms in Italian strains of the peach potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *Pest. Biochem. Physiol.* 90: 168-174.
- Fontaine S, Caddoux L, Brazier C, Bertho C, Bertolla P, Micoud A, Roy L, 2011 - Uncommon associations in target resistance among French populations of *Myzus persicae* from oilseed rape crops. *Pest Manag Sci* 67: 881-885.
- Mazzoni, E., Cravedi, P., 2012 - La resistenza agli insetticidi nell'afide *Myzus persicae* (Sulzer), *Atti dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia* 60: 187-192
- Panini M., Dradi D., Marani G., Butturini A., Mazzoni E., 2014 - Detecting the presence of target-site resistance to neonicotinoids and pyrethroids in Italian populations of *Myzus persicae*. *Pest Manag. Sci.* 70: 931-938.
- Slater R., Paul V.L., Andrews M., Garbay M., Camblin P., 2012 - Identifying the presence of neonicotinoid resistant peach-potato aphid (*Myzus persicae*) in the peach-growing regions of southern France and northern Spain. *Pest Manag. Sci.* 68: 634-638.
- Whalon M.E., MotaSanchez D., Hollingworth R.M., 2008 - Analysis of global pesticide resistance in arthropods. In: *Global pesticide resistance in Arthropods*. Eds. Whalon M.E., Mota-Sanchez D., Hollingworth R.M., CABI, Wallingford: 5-31.

FruitFlyNet: un sistema georeferenziato per il monitoraggio e la lotta ai Ditteri Tefritidi

A. Sciarretta¹, M.R. Tabilio², I. Marwan³, M.A. Miranda⁴, D. Nestel⁵, V. Alchantis⁵, Y. Cohen⁵, C. Athanassiou⁶, N. Papadopoulos⁶, T. Tsiligiridis⁷

¹ Università degli Studi del Molise, Campobasso, Italia. E-mail: sciarretta@unimol.it

² CRA, Centro di Ricerca per la Frutticoltura, Roma, Italia.

³ National Center for Agricultural Research and Extension, Baqa', Jordan.

⁴ University of the Balearic Islands, Laboratory of Zoology, Palma de Majorca, Spain.

⁵ ARO, Volcani Center, Beit Dagan, Israel.

⁶ University of Thessaly, Laboratory of Entomology, Volos, Greece.

⁷ Agricultural University of Athens, Informatics Laboratory, Athens, Greece.

Introduzione

Le attività di monitoraggio assumono un ruolo chiave nei programmi di lotta integrata per rilevare la presenza di una specie infestante e quantificare la sua presenza nel tempo e nello spazio, consentendo di ridurre i costi diretti ed indiretti per l'agricoltura, l'ambiente e la società.

Un'attività di monitoraggio efficiente risulta economicamente impegnativa e richiede un alto livello di competenza e precisione. A tale riguardo, la diffusione dell'Information and Communication Technology (ICT) può rappresentare un cambiamento radicale nella gestione delle produzioni favorendo l'applicazione dell'agricoltura di precisione per la protezione integrata delle colture (Pontikakos *et al.*, 2012; Sciarretta e Trematerra, 2014; Tabilio *et al.*, 2014).

Materiali e metodi

Nel presente lavoro si descrive un sistema georeferenziato di gestione delle infestazioni (Location-Aware System, LAS) basato su una rete di sensori wireless (Wireless Multimedia Sensor Network) integrata a un modulo semi-automatico di conteggio e riconoscimento degli esemplari target, in grado di trasmettere in tempo reale i dati di cattura da una trappola a una stazione remota. LAS mira a integrare vari moduli in ambiente Internet, combinando la comunicazione wireless con software GIS e un sistema di supporto alle decisioni (Decision Support System) che consentirà l'ottimizzazione finale degli interventi di controllo.

Il metodo descritto è in via di applicazione per la gestione di *Ceratitis capitata* (in Italia), *Bactrocera oleae* (in Spagna, Grecia e Giordania), *Rhagoletis cerasi* (in Grecia) e le specie invasive *Dacus ciliatus* e *Bactrocera zonata* (in Israele).

Risultati e discussione

LAS è dotato di un ricco database geografico, ed è in grado di fornire numerosi output in forma georeferenziata, tra cui dati meteorologici, posizione delle trappole, livello delle catture, aree coltivate, ecc. Il processo decisionale riguardante i trattamenti da eseguire viene modellizzato attraverso la definizione di livelli di rischio (da "nessun rischio" a "rischio elevato"). Il sistema fornisce le istruzioni finali per effettuare un intervento di lotta, riportando le spiegazioni di tale scelta e definendo su una mappa le aree da trattare. Inoltre è in grado di valutare ex-post il piano di difesa calcolando appositi indicatori quali numero di applicazioni, quantità media di fitofarmaco utilizzato per pianta, superfici di intervento, percorso seguito dai mezzi agricoli, danno sui frutti, e di metterli a confronto con frutteti che adottano una gestione integrata tradizionale delle infestazioni, se disponibili.

Nel caso delle specie invasive *D. ciliatus* e *B. zonata*, il sistema di allerta è basato sull'utilizzo di trappole automatiche in grado di identificare a livello specifico gli esemplari dei due ditteri. In presenza di una rilevazione positiva, il sistema elabora un'analisi dei rischi per l'area interessata e

determina un livello di allerta sulla base del quale verrà intrapresa un'azione appropriata per arginare il pericolo di invasione.

Conclusioni

La famiglia Tephritidae comprende varie specie diffuse nel bacino del Mediterraneo considerate carpo-faghe primarie di numerose colture; la lotta nei loro confronti si basa spesso sull'utilizzo di insetticidi di contatto, sebbene siano disponibili mezzi di intervento eco-compatibili (Yasin *et al.*, 2014). Tra di esse destano particolare preoccupazione, perché considerate ad elevato rischio di introduzione in Europa, varie specie di *Bactrocera* (*B. zonata*, *B. invadens*, *B. cucurbitae*) e di *Dacus* (*D. ciliatus*), alcune già presenti in Nord Africa o in Medio Oriente (CABI, 2014a e b).

Lo sviluppo di un sistema di monitoraggio avanzato e automatico potrà risultare uno strumento essenziale in diversi Paesi del Mediterraneo, per favorire strategie di lotta eco-compatibili basate sulla riduzione di impiego delle sostanze chimiche di sintesi, come pure un metodo di allerta nei confronti dell'attività di specie invasive.

Ringraziamenti

Questa pubblicazione è stata realizzata con il supporto finanziario dell'Unione europea nell'ambito del Programma ENPI CBC Bacino del Mediterraneo.

Bibliografia

CABI, 2014a - Invasive Species Compendium. *Bactrocera zonata* [WWW document] URL <http://www.cabi.org/isc/datasheet/17694>. Cited 12 May 2014.

CABI, 2014b - Invasive Species Compendium. *Dacus ciliatus* [WWW document] URL <http://www.cabi.org/isc/datasheet/17682>. Cited 12 May 2014.

Pontikakos C.M., Tsiligiridis T.A., Yialouris C.P., Kontodimas D.C., 2012 - Pest management control of olive fruit fly (*Bactrocera oleae*) based on a location-aware agro-environmental system. Comp. Electronics Agric. 87: 39–50.

Sciarretta A., Trematerra P., 2014 - Geostatistical tools for the study of insect spatial distribution: practical implications in the integrated management of orchard and vineyard pests. Plant Protect. Sci. 50 (2): 97-110.

Tabilio M.R., Guarino F., Vona S., Maurello S., Sciarretta A., 2014 - Identificazione delle aree di aggregazione degli adulti di *Ceratitis capitata* e razionalizzazione degli interventi di lotta. Atti Giornate Fitopatol. I: 113-120.

Yasin S., Rempoulakis P., Nemny-Lavy E., Levi-Zada A., Tsukada M., Papadopoulos N.T., Nestel D., 2014 - Assessment of lure and kill and mass-trapping methods against the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi), in desert-like environments in the Eastern Mediterranean. Crop Protection 57: 63-70.

Attività insetticida e caratterizzazione molecolare di un isolato di *Bacillus thuringiensis* efficace su larve di *Ceratitis capitata* (Wied.)

L. Ruiu, G. Falchi, I. Floris, M.G. Marche, M.E. Mura, A. Satta

Dipartimento di Agraria, Università di Sassari, Via E. de Nicola, 07100 Sassari, Italy. E.mail: lucaruiu@uniss.it

Introduzione

L'attività insetticida del batterio entomopatogeno *Bacillus thuringiensis* Berliner è tipicamente legata all'azione di specifiche tossine proteiche prodotte sia in fase vegetativa (es.: Vip) sia in fase di sporulazione (es.: Cry e Cyt). Nell'ambito dell'ampia varietà di ceppi di *B. thuringiensis* una altrettanto ampia variabilità nelle tossine prodotte è associata a ciascun ceppo che manifesta così differenti gradi di specificità e virulenza nei confronti di diversi insetti target (Vega e Kaya, 2012). Le più recenti acquisizioni metodologiche sotto il profilo della caratterizzazione molecolare permettono di arricchire considerevolmente le conoscenze sul meccanismo di azione di specifici isolati nei confronti di determinati insetti target (Pigott e Ellar, 2007).

Vengono qui riportati i risultati di un lavoro di caratterizzazione molecolare mediante approccio combinato genomico e proteomico di un isolato di *B. thuringiensis* attivo su larve della mosca mediterranea delle frutta *Ceratitis capitata* (Wied.).

Materiali e metodi

L'isolato microbico, identificato morfologicamente e geneticamente come *B. thuringiensis*, è stato selezionato attraverso un programma di screening di circa 300 differenti isolati provenienti da diverse aree geografiche del mediterraneo e saggiati per l'attività insetticida su larve e adulti di *C. capitata* (Floris *et al.*, 2007).

La caratterizzazione dell'attività insetticida larvale si è basata su uno studio finalizzato a saggiare sull'insetto target diverse frazioni ottenute da colture batteriche dell'isolato di riferimento. Attraverso i biosaggi svolti mediante somministrazione dei preparati microbici per ingestione, oltre agli effetti letali sono stati determinati gli effetti di concentrazioni sub-letali sullo sviluppo pre-immaginale (durata dello sviluppo, peso pupale, sfarfallamenti) (Ruiu *et al.*, 2006). I biosaggi sono stati associati alla ricerca di possibili endotossine prodotte dal batterio, sia attraverso l'amplificazione di specifiche regioni genomiche e plasmidiche del microrganismo, sia attraverso l'estrazione e la purificazione delle frazioni insetticide poi caratterizzate tramite la determinazione del profilo proteico mono (SDS-PAGE) e bidimensionale (2D-PAGE) e successiva digestione e analisi mediante LC-MS/MS delle bande e spot proteici principali (Gohar *et al.*, 2005).

Risultati e discussione

Colture sporulate del microrganismo hanno determinato effetti letali quando somministrate in adeguate concentrazioni ($> 10^8$ spore/gr di dieta), mentre se somministrate a concentrazioni inferiori hanno causato effetti sub-letali (aumento della durata di sviluppo larvale e pupale, riduzione delle dimensioni e del peso pupale, riduzione della percentuale di sfarfallamento).

Specifiche componenti parasporali, separate dalle spore e purificate in seguito alla lisi cellulare post-sporulazione, sono risultate tossiche per le larve più giovani. L'analisi proteomica della frazione tossica ha messo in evidenza l'assenza di specifiche proteine Cry rilevabili e la presenza di altre proteine (Fig. 1) come *chaperones* molecolari (GroEL), metalloproteasi, peptidasi ed altri enzimi, indicate in studi recenti come responsabili della tossicità osservata in alcune specie di insetti (Fedhila *et al.*, 2002; Harrison e Bonning, 2010; Joshi *et al.*, 2008).

Principali gruppi proteici rilevati

Molecular chaperone GroEL
Oligoendopeptidase F
Aldehyde dehydrogenases
Aminopeptidases
Zinc protease
Peptidase, M28 family
Peptidase, M42 family
Flotillin

Fig. 1 – Caratterizzazione proteomica della frazione batterica parasporale a cui è associata l'attività sugli insetti. A sinistra, spot proteici (2D-PAGE) sottoposti a idrolisi *in situ* e analisi mediante MALDI TOF e LC MS/MS. A destra, i principali gruppi di proteine identificati.

Bibliografia

- Fedhila S., Nel, P., Lereclus, D., 2002 - The InhA2 metalloprotease of *Bacillus thuringiensis* strain 407 is required for pathogenicity in insects infected via the oral route. *J. Bacteriol.* 184: 3296–3304.
- Floris I., Ruiu, L., Satta, A., Delrio, G., Ellar, D.J, Rubino, S., Paglietti, B., Loru, L., Verdinelli, M., 2007 - Researches on entomopathogenic bacteria and applications for fly pests control in a Mediterranean region (Sardinia, Italy). *IOBC-WPRS Bull.* 30: 159-163.
- Gohar M., Gilois, N., Graveline, R., Garreau, C., Sanchis, V., Lereclus, D., 2005 - A comparative study of *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus anthracis* extracellular proteomes. *Proteomics* 5: 3696–3711.
- Harrison R.L., Bonning, B.C., 2010 - Proteases as insecticidal agents. *Toxins* 2: 935-953
- Joshi, M.C., Sharma, A., Kant, S., Birah, A., Gupta, G.P., Khan, S.R., Bhatnagar, R., Banerjee, N., 2008 - An insecticidal GroEL protein with chitin binding activity from *Xenorhabdus nematophila*. *J Biol Chem.* 283: 28287-96.
- Pigott C.R., Ellar, D.J., 2007. Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 71, 255–281.
- Ruiu L., Delrio, G., Ellar, D.J., Floris, I., Paglietti, B., Rubino, S., Satta, A., 2006 - Lethal and sublethal effects of *Brevibacillus laterosporus* on the housefly (*Musca domestica*). *Entomol. Exp. Appl.* 118: 137–144.
- Vega F.E., Kaya, H.K., 2012 - *Insect Pathology*. Second ed. Elsevier Inc.

Il presente studio è stato finanziato da Sardegna Ricerche, Progetto IndBase, Aiuti per Progetti di Ricerca e Sviluppo 2012 (Biocepest Srl), POR FESR SARDEGNA 2007-2013.

Prove di controllo biologico dei parassiti delle castagne per mezzo di nematodi entomopatogeni

D. Leone¹, M. Clausi¹, M.T. Vinciguerra¹, E. Tarasco²

¹ *Dipartimento di Biologia Animale “M. La Greca”, Università di Catania, via Androne 81, 95124, Catania, Italy; e-mail: mclausi@unict.it*

² *Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti (DiSSPA), Università degli Studi di Bari “A. Moro”, via Amendola 165/A, 70125, Bari, Italy*

Introduzione

Tra gli insetti vi sono numerosi parassiti che possono causare danni alle castagne, riducendone la qualità e il valore commerciale. Da uno studio condotto in Sicilia (Vinciguerra e Clausi, 2006) gli insetti parassiti delle castagne nel territorio etneo risultano appartenere ad alcune specie di Coleotteri Curculionidi: *Curculio elephas* (Gyll.) e *Curculio glandium* (Marsh.) (quest'ultimo maggiormente presente nelle ghiande ma occasionalmente anche nelle castagne), e a Lepidotteri Tortricidi: *Cydia splendana* (Hb.) *Cydia fagiglandana* (Zel.) e *Pammene castanicola* (Trematerra), quest'ultima specie descritta recentemente (Trematerra e Clausi, 2009) e al momento segnalata solo in Sicilia. Al fine di individuare metodi di lotta biologica efficaci contro questi insetti, abbiamo condotto dei test per trovare le specie di nematodi entomopatogeni (NEP) più virulente nei loro confronti.

Materiali e metodi

E' stata saggiata in laboratorio la capacità infettiva di 17 ceppi di nematodi entomopatogeni (13 autoctoni – 12 isolati in Sicilia e uno in Puglia – e 4 commerciali), appartenenti alle specie di *Steinernema feltiae*, *S. kraussei*, *S. carpocapsae*, *Heterorhabditis bacteriophora* e *H. megidis*, nei confronti dei parassiti delle castagne *Curculio elephas*, *C. glandium*, *Pammene castanicola*, *Cydia splendana* e *C. fagiglandana*, rinvenuti in alcuni castagneti dell'Etna. Sono state effettuate in laboratorio 2 prove sperimentali: nella prima tutti i ceppi di NEP sono stati utilizzati in prove di mortalità su larve di *C. elephas* e di *C. glandium*. Successivamente i ceppi di NEP che hanno dimostrato le maggiori capacità patogene nei confronti dei curculionidi sono stati utilizzati per ulteriori test di mortalità contro i tortricidi.

Risultati e discussione

Gli esperimenti hanno dimostrato che specie diverse di NEP hanno azione patogena differente nei confronti dello stesso insetto, ma anche ceppi diversi della stessa specie di NEP presentano diversa virulenza. Il migliore risultato si è ottenuto col ceppo ESA di *Steinernema feltiae* nei confronti di *P. castani cola*; buoni risultati si sono avuti anche con *S. feltiae* ceppi EPP e EMM1, *Steinernema kraussei* ceppo EMM2 e *Heterorhabditis bacteriophora* ceppo BAL1.

Conclusioni

I risultati del lavoro forniscono importanti informazioni circa la possibilità di utilizzare i nematodi entomopatogeni quali agenti di controllo per i parassiti delle castagne. I test hanno mostrato che la capacità infettiva di uno stesso ceppo di NEP è spesso differente nei confronti delle specie target e anche che i diversi ceppi hanno una diversa capacità di infettare la stessa specie di insetto. I ceppi che hanno mostrato la maggiore virulenza nei confronti delle specie bersaglio appartengono a *Steinernema feltiae*, *Heterorhabditis megidis* e a *H. bacteriophora*.

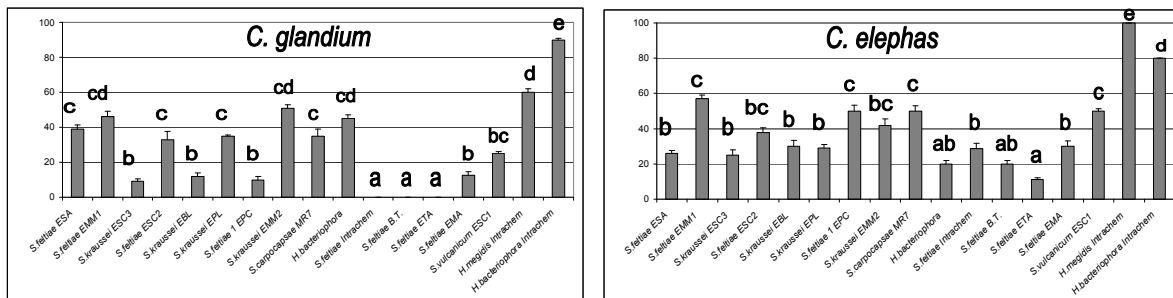


Figura 1 – Prove di mortalità larvale: 17 ceppi di nematodi entomopatogeni sono stati utilizzati nei confronti dei parassiti delle castagne *Curculio glandium* e *C. elephas* (le colonne con le stesse lettere non sono statisticamente differenti, ANOVA, test di Tukey, $p \leq 0.5$)

Bibliografia

- Trematerra P., Clausi M., 2009 – *Pammene castanicola* sp.n. a new Lepidoptera Tortricidae from Sicily. *Boll. Zool. agr. Bachic.*, 41 (2): 59-64.
- Vinciguerra M.T., Clausi M., 2006 – *Biological control of chestnut insect pests by means of entomopathogenic nematodes*. - *Adv. Hort. Sci.*, 20:40-44.

Voltinismo e comportamento riproduttivo di *Tomicus destruens* in Sardegna

A. Lentini, M. Coinu, P. Luciano

Università degli Studi di Sassari. Dipartimento di AGRARIA, Sezione di Patologia Vegetale ed Entomologia. Viale Italia 39, 07100 Sassari, email: lentini@uniss.it

Introduzione

Tomicus destruens (Wollaston) (Coleoptera Curculionidae) è il fitofago più dannoso ai pini nel bacino del Mediterraneo. Il suo ciclo biologico presenta aspetti non completamente chiariti circa il numero di generazioni e il comportamento riproduttivo. Presumibilmente le discordanze osservate dai diversi autori sono attribuibili alle diverse condizioni climatiche del suo ampio areale di distribuzione. In Sardegna, nel periodo 2010-2013 in impianti di pino d'Aleppo realizzati in agro di Alghero, è stato studiato il voltinismo dello scoltide e il comportamento riproduttivo delle sue femmine.

Materiali e Metodi

L'epoca degli attacchi è stata definita predisponendo in campo mensilmente tronchi esca. Il voltinismo è stato studiato ponendo da ottobre porzioni di tronchi infestati in gabbie tenute in pieno campo sotto una tettoia; all'interno di ciascuna di esse alla comparsa dei primi adulti neosfarfallati sono stati inseriti piantine di pino in vaso e tronchi non infestati e successivamente verificata l'apertura di gallerie di riproduzione in questi ultimi.

Il comportamento riproduttivo è stato indagato da ottobre 2012 a giugno 2013 inserendo in tre gabbie una porzione di tronco attaccato ed una indenne che dopo 30 giorni sono state a loro volta poste in gabbie diverse con un nuovo tronco non infestato, raddoppiando il numero di gabbie ad ogni sostituzione. Su tutti i tronchetti è stato poi conteggiato in laboratorio il numero di gallerie materne.

Risultati

La fase riproduttiva dell'insetto è iniziata sempre nella prima settimana di ottobre ed è proseguita ininterrottamente fino ai primi di maggio. Gli attacchi non sono però apparsi costanti nel tempo, infatti la massima intensità è stata raggiunta in ottobre-novembre e la minima nel mese di febbraio (Fig. 1).

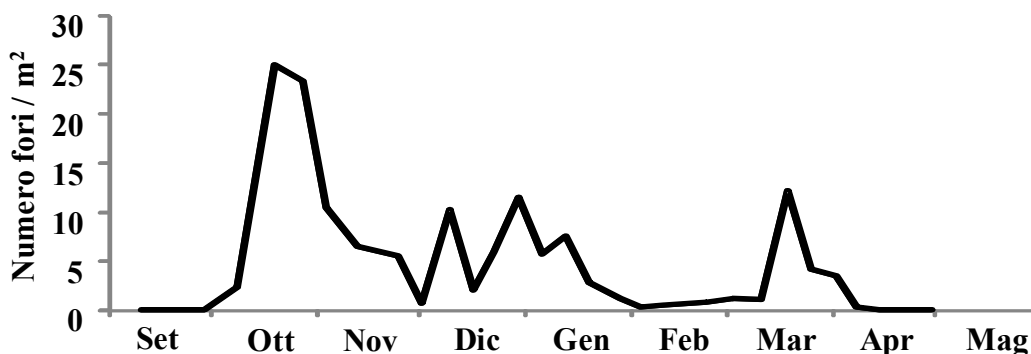


Figura 1. Andamento dell'attacco di *Tomicus destruens* nei diversi mesi dell'anno espresso come densità di fori d'ingresso per m² di corteccia di pino (Alghero, 2010-2011).

La fase di dispersione degli adulti immaturi di *T. destruens* ha avuto inizio a fine marzo con un picco annuale di sfarfallamento a metà maggio. Gli adulti sfarfallati più precocemente, sviluppatasi dalle uova deposte a ottobre, non sono stati in grado di maturare le gonadi e ovideporre prima della stasi estiva. Le femmine, nell'arco della loro vita, hanno costruito fino a 4 gallerie riproduttive. Dopo una prima ovideposizione, completata entro ottobre, una parte di esse (34,8%) in novembre si è spostata su altri tronchi per dar luogo ad una seconda covata. Il 13,4% delle femmine ha effettuato una terza colonizzazione prevalentemente tra dicembre e gennaio mentre solo il 2,5% ha compiuto una quarta ovideposizione in aprile (Tab. 1).

Tabella 1. Sistemi riproduttivi di *Tomicus destruens* costruiti da femmine nelle diverse fasi di ovideposizione. I valori che nella stessa colonna sono seguiti da lettere diverse presentano differenze statisticamente significative (Alghero, 2012-2013).

	Numero	lunghezza	Tratto fertile	Nicchie di ovideposizione
	n./m ² ± err. st.	cm ± err. st.	cm ± err. st.	n. ± err. st.
I covata	218,62 ± 10,35 a	5,46 ± 0,25	3,31 ± 0,25 b	47,20 ± 2,70 a
II covata	83,83 ± 21,84 b	6,84 ± 0,49	4,76 ± 0,41 ab	54,53 ± 4,64 a
III covata	26,17 ± 5,60 c	7,31 ± 0,47	4,85 ± 0,40 a	34,80 ± 3,04 b
IV covata	9,13 ± 5,22 c	6,86 ± 0,82	4,45 ± 0,76 ab	37,00 ± 4,99 ab
	F(3,10) = 67,52	F(3,98) = 2,36	F(3,98) = 3,07	F(3,98) = 6,42
	P = 0,0000	P = 0,0761	P = 0,0313	P = 0,0005

Conclusioni

I risultati ottenuti indicano che in Sardegna *T. destruens* svolge una sola generazione all'anno con adulti in fase riproduttiva presenti da ottobre sino alla prima metà di maggio. I dati raccolti evidenziano come le femmine possano compiere fino a quattro successive covate. Le larve fanno la loro comparsa a metà ottobre e sono presenti fino alla prima metà di giugno mentre le pupe iniziano a formarsi a gennaio e sono state reperite per tutto giugno. Gli adulti immaturi iniziano ad abbandonare i tronchi a marzo sebbene i più precoci possano sfarfallare già a fine gennaio e stazionare dentro la corteccia in attesa di temperature adatte al volo.

Bibliografia

- Faccoli M., Battisti A., Masutti L.. 2005a. - Phenology of *Tomicus destruens* (Wollaston) in northern Italian pine stands, pp. 185-193, Entomological research in Mediterranean forest ecosystems. INRA Editions, Versailles, France.
- Luciano P., 2009 – Problematiche fitosanitarie e difesa delle pinete della Sardegna. I Georgofili. Quaderni 2009-IV: 53-69.
- Monleón A., Blas M., Riba J. M., 1996. - Biology of *Tomicus destruens* (Wollaston, 1865) (Coleoptera: Scolytidae) in the Mediterranean forest. Elytron 10: 161-167.
- Nanni C., Tiberi R., 1997. *Tomicus destruens* (Wollaston): - biology and behaviour in Central Italy, pp. 131-134. In J. C. Gregoire, A. M. Liebhold, F. M. Stephen, K. R. Day and S. M. Salom [eds.], Proceedings, Integrating Cultural Tactics into the Management of Bark Beetle and Reforestation Pests. USDA Forest Service (GTR-NE-236).
- Sabbatini Peverieri G., Faggi M., Marziali L., Tiberi R., 2008. - Life cycle of *Tomicus destruens* in a pine forest of central Italy. Bulletin of Insectology, 61. 337-342

Applicazione del laser scanner terrestre per la valutazione della condizione delle chiome in *Quercus suber* L.¹

G. Pellizzaro², R. Ferrara², A. Ventura², A. Arca², P. Masia², C.S. Cossu³, M. Verdinelli³

Consiglio Nazionale delle Ricerche, Traversa La Crucca 3, 07100 Sassari

² Istituto di Biometeorologia, g.pellizzaro@ibimet.cnr.it

³ Istituto per lo Studio degli Ecosistemi, m.verdinelli@ise.cnr.it

Introduzione

Le reti di monitoraggio permanente delle aree forestali prevedono osservazioni sullo stato della chioma degli alberi e sulle popolazioni degli insetti defogliatori. I metodi di rilevamento di tipo tradizionale comportano tuttavia un notevole dispendio di risorse e risultano spesso non idonei a descrivere le variazioni del danno su scale spaziali e temporali più ampie. Un approccio complementare alle osservazioni tradizionali potrebbe essere l'applicazione di moderni strumenti di rilevamento a distanza quali il laser scanner terrestre (TLS) basato sulla tecnologia LIDAR (Light Detection and Ranging; o Laser Imaging Detection and Ranging) che permette di determinare la distanza di un oggetto o di una superficie utilizzando un impulso laser. In particolare, il TLS è uno strumento che consente la digitalizzazione, rapida e precisa di oggetti e di porzioni di territorio di qualsiasi forma e dimensione sotto forma di nuvole di punti georeferenziati e permette, in ultima analisi, di rappresentare tridimensionalmente gli oggetti rilevati.

Recentemente sono stati pubblicati numerosi studi sull'applicazione del TLS nel settore forestale (Dassot *et al.*, 2011) parte dei quali sono finalizzati alla caratterizzazione della struttura delle piante (Henning *et al.*, 2006; Bienert *et al.* 2007; García *et al.*, 2011). La possibilità di ottenere immagini tridimensionali permette sia di fornire informazioni più dettagliate sulla struttura delle piante rispetto alle tradizionali misure in campo, sia di eseguire analisi estensive mediante operazioni di *post-processing*, una volta sviluppati specifici metodi automatici o semiautomatici di elaborazione dei dati.

Allo stato attuale, mentre sono disponibili diverse informazioni sull'uso di TLS su boschi di conifere (Kankare *et al.*, 2013; Srinivasan *et al.*, 2014), sono ancora molto scarse le applicazioni su latifoglie mediterranee (caratterizzate da elevata eterogeneità e irregolarità) e sull'uso di tale tecnologia per la definizione dello stato di salute delle chiome.

Obiettivo del presente lavoro è quello di illustrare i primi risultati relativi alla valutazione del possibile impiego di questa tecnica per la stima delle condizioni delle chiome in boschi di *Quercus suber* L. in presenza di eventuali attacchi di fillofagi.

Materiali e metodi

Le osservazioni sono state condotte nel campo collezione dell'azienda sperimentale "Antonio Milella" dell'Università di Sassari (Or). Sono state eseguite una serie di scansioni ad alta risoluzione con TLS allo scopo di verificare la capacità del sistema di apprezzare le variazioni nel volume della chioma di piante di sughera dovute all'attacco di larve di *Malacosoma neustrium* (L.). A tal fine 3 piante sono state scelte come testimone mentre altre 3 sono state infestate artificialmente con larve di III-IV età allevate in condizioni di laboratorio. Per ogni pianta sono state eseguite 4 scansioni, una per ogni direzione cardinale principale. Attraverso la fusione delle nuvole di punti generate da ogni singola scansione è stata prodotta una nuvola di punti finale rappresentante il singolo albero. Tale nuvola finale è stata sottoposta a una successiva modellazione tridimensionale tramite un approccio basata sull'uso di voxel, ovvero di pixel tridimensionali. Infine, è stato sviluppato un algoritmo di segmentazione semi-automatico per il riconoscimento e la separazione del materiale legnoso dalla massa verde.

¹ Ricerca finanziata dalla Regione Autonoma della Sardegna, L.R. n. 7/2007, annualità 2010, CRP 24480

Risultati e discussione

I primi risultati ottenuti indicano che l'algoritmo proposto consente una semiautomatica e rapida elaborazione dei dati raccolti e permette di discriminare le nuvole di punti riferibili alla parte legnosa da quelli relativi alla chioma (Fig.1). La discriminazione fra chioma e parte legnosa permette quindi di misurare in modo agevole sia i parametri strutturali della piante (altezza, DBH, volumi legnosi ecc.) sia alcune caratteristiche della chioma (grado di copertura, volume totale, percentuale spazi vuoti sul totale e su singole sezioni di chioma).

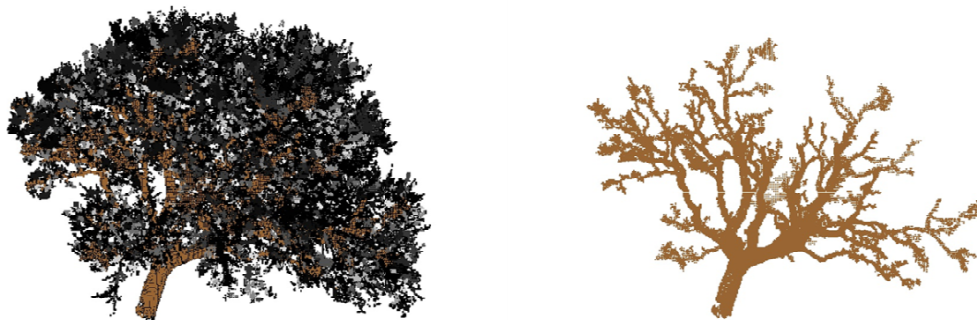


Figura 1. Esempio di separazione delle parti legnose all'interno della chioma di una pianta di *Quercus suber*.

Conclusioni

I risultati ottenuti dimostrano che la tecnologia TLS presenta buone potenzialità applicative anche per le formazioni boschive di latifoglie. Sarà necessario approfondire la capacità del sistema di stimare l'entità della defogliazione e valutare la sua applicabilità su formazioni forestali naturali e a scale spaziali più estese.

Bibliografia

- Dassot M., Constant T., Fournier M., 2011 - The use of terrestrial LiDAR technology in forest science: application fields, benefits and challenges. *Annals of Forest Science*. 68: 225-244.
- Henning J.G., Radtke P.J., 2006 - Ground-based laser imaging for assessing three-dimensional forest canopy structure. *Photogramm Eng Remote Sens*. 72: 1349-1358
- García M., Danson, F.M., Riaño D., Chuvieco E., Ramirez F.A., Bandugula V., 2011 - Terrestrial laser scanning to estimate plot-level forest canopy fuel properties. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf*. 13: 636-645.
- Kankare V., Holopainen M., Vastaranta M., Puttonen E., Yu X., Hyypä J., Vaaja M., Hyypä H., Alho P., 2013 - Individual tree biomass estimation using terrestrial laser scanning. *ISPRS J. Photogramm. Remote Sens*. 75: 64-75.
- Srinivasan S., Popescu S.C., Eriksson M., Sheridan R.D., Ku N.W., 2014 - Multi-temporal terrestrial laser scanning for modeling tree biomass change. *Forest Ecology and Management* 318: 304-317

***Thyreophagus corticalis*: vettore di isolati ipovirulenti di *Cryphonectria parasitica* in castagneti italiani**

S. Simoni¹, R. Nannelli¹, P.F. Roversi¹, T. Turchetti², M. Bouneb¹

¹ CRA-ABP (Consiglio per la Ricerca e Sperimentazione in Agricoltura - Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia), via di Lanciola 12/a, 50125 Firenze, Italia. E-mail: sauro.simoni@entecra.it

² CNR-IPP Consiglio Nazionale di Ricerca - Istituto di Protezione delle Piante, Sesto Fiorentino, Firenze, 50019 Italy

Introduzione

La diffusione naturale dell'ipovirulenza in *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr., agente del cancro della corteccia del castagno, ha determinato il recupero spontaneo dei castagneti *Castanea sativa* (Mill) da frutto e di giovani impianti in Italia e in altri Paesi europei. Le modalità di diffusione dell'ipovirulenza sono ancora poco note; tra queste viene considerato il ruolo di diverse specie di acari corticicoli, frequentemente associati ai cancri, nella propagazione degli isolati ipovirulenti (Turchetti *et al.*, 2008; Robin *et al.*, 2010).

In precedenti studi si è visto che pellets fecali escrete da acari allevati su *C. parasitica* contenevano micelio vitale (Nannelli *et al.*, 1998; Nannelli e Turchetti, 2002). Inoltre, quando questi acari venivano allevati sul ceppo ipovirulento, le nuove colonie derivanti dai pellets fecali contenevano dsRNA virale. Allo scopo di implementare tali conoscenze, nel presente contributo, si è valutato: (1) la capacità di *Thyreophagus corticalis* (Mich.) (Acari, Sarcoptiformes, Acaridae) di diffondere l'ipovirulenza quando venga immesso direttamente su cancri indotti da infezioni artificiali con ceppo virulento; (2) l'influenza che l'ingestione e la 'digestione' in questa specie di acari può esercitare sulla morfologia e la virulenza del miceli ingeriti di *C. parasitica*.

Materiali e metodi

Due isolati di *C. parasitica* sono stati impiegati nelle colture monoxeniche: uno virulento, gruppo VC1, ed uno mutante, ItV5, ipovirulento (Ith2) contenente dsRNA virale (Nannelli e Turchetti, 1999).

Gli esemplari di *T. corticalis* utilizzati nello studio provenivano da allevamenti generati da acari raccolti su cortecce di castagno e mantenuti su micelio derivato da isolati (ItV5, ItH2) di *C. parasitica*. La presenza del dsRNA virale è stata determinata prima degli esperimenti in campo e laboratorio. L'ipovirulenza trasmessa dagli acari è stata valutata in campo su polloni di castagno (Monte Senario, Firenze), tramite isolamento e caratterizzazione delle colonie ottenute dai cancri artificialmente indotti. Al fine di escludere l'effetto di propaguli fungini aderenti, esternamente alla massa corporea degli acari e veicolati, sono state considerate le colonie ottenute da semine di pellets fecali degli acari sul substrato semiselettivo per *C. parasitica*. L'effetto di eventuali azioni dovute al passaggio nel tratto intestinale degli acari è stato valutato caratterizzando sia la presenza del dsRNA virale nelle colonie sviluppatesi da tali particelle sia la morfologia delle colonie derivanti.

Risultati e discussione

Le inoculazioni artificiali con ceppi virulenti sulle quali venivano successivamente trasferiti acari corticicoli della specie *T. corticalis* allevati su isolati ipovirulenti, dopo 18 mesi dall'inoculazione, hanno prodotto cancri simili a quelli ottenuti dalle infezioni trattate con il micelio dei ceppi ipovirulenti. Già dopo un anno dall'inoculazione era possibile riscontrare lo sviluppo massimo delle aree dei cancri. Le inoculazioni artificiali con colture ottenute da pellets fecali di isolati virulenti, hanno causato la morte dei polloni infettati, al contrario, per gli ipovirulenti si è riscontrata la completa sopravvivenza dei polloni inoculati con le stesse modalità. Queste prove hanno dimostrato che l'ingestione del micelio e la breve permanenza nell'intestino degli acari, non generano alcuna

influenza sulla vitalità e sulle caratteristiche morfologiche in ceppi virulenti ed ipovirulenti di *C. parasitica*.

Conclusioni

In natura, il dsRNA virale potrebbe essere trasportato con frammenti di micelio fungino aderente al corpo degli acari e/o ingerito dagli acari stessi e poi trasmesso agli isolati virulenti, causandone la conversione. In laboratorio, tutti i pellets fecali raccolti da acari allevati su ceppi ipovirulenti e virulenti, inoculati su terreni semi-selettivi, hanno dato luogo a colture di *C. parasitica* con caratteri morfologici simili e virulenza analoga a quella delle colture originali. Le infezioni artificiali su polloni ed effettuate con isolati derivati da pellets fecali hanno evidenziato che il micelio, durante il passaggio attraverso il canale digerente degli acari, non viene minimamente influenzato per la virulenza in entrambi i ceppi in esame. Questi risultati evidenziano che *T. corticalis*, acaro frequentemente associato al cancro corticale del castagno, può contribuire al mantenimento e alla diffusione dell'ipovirulenza.

In generale, nonostante la mobilità limitata, gli acari corticicoli possono essere trasportati dal vento o dallo stem-flow lungo il tronco e tra alberi vicini; l'azione di tali organismi, insieme ad altri agenti biotici, può essere considerata importante nella dispersione dell'ipovirus nell'ecosistema castagneto (Hogan e Griffin, 2008; Brusini e Robin, 2013).

Bibliografia

- Brusini J., Robin C., 2013 - Mycovirus transmission revisited by in situ pairings of vegetatively incompatible isolates of *Cryphonectria parasitica*. J. Virol. Methods 187(2): 435-442.
- Hogan E.P., Griffin G.J., 2008 - Importance of *Cryphonectria parasitica* stromata production and intermediate pigmented isolates in spread of *Cryphonectria hypovirus 1* on grafted American chestnut trees. Forest Pathol. 38: 302-313.
- Nannelli R., Turchetti T., 1999 - Mites as carriers of hypovirulent strains of the chestnut blight fungus (*Cryphonectria parasitica*). Redia 82: 89-99.
- Nannelli R., Turchetti T., 2002 - Interazioni tra *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr. e acari corticicoli micofagi nel cancro della corteccia del castagno. Atti del XIX Congresso Nazionale italiano di Entomologia, Catania, 10-15 Giugno 2002, Accademia Nazionale italiana di Entomologia (Ed.), pp 1345-1349.
- Nannelli R., Turchetti T., Maresi G., 1998 - Corticolous mites (acari) as potential vectors of *Cryphonectria parasitica* (Murr.) Barr hypovirulent strains. Int. J. Acarol. 24(3): 237-244.
- Robin C., Lanz S., Soutrenon A., Rigling D., 2010 - Dominance of natural over released biological control agents of the chestnut blight fungus *Cryphonectria parasitica* in south-eastern France is associated with fitness-related traits. Biol. Control 53: 55-61.
- Turchetti T., Ferretti F., Maresi G., 2008 - Natural spread of *Cryphonectria parasitica* and persistence of hypovirulence in three Italian coppiced chestnut stands. Forest Pathol. 38(4): 227-243.

Prima segnalazione europea di *Pityophthorus juglandis* (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) e del patogeno associato *Geosmithia morbida* (Ascomycota: Hypocreales)

M. Faccoli¹ L. Montecchio²

¹ *Dipartimento DAFNAE, Università di Padova*

² *Dipartimento TeSAF, Università di Padova*

Introduzione

Nell'inverno 2013-2014 varie piantagioni di noce nero (*Juglans nigra*) presenti in provincia di Vicenza (Bressanvido, Thiene, Schio) sono state trovate infestate dal coleottero scolitide *Pityophthorus juglandis* Blackman (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) e infette dal “cancro rameale del noce”, una fra le malattie più gravi a carico dei noci causata dal fungo ascomicete *Geosmithia morbida* Kolarik, Freeland, Utley & Tisserat. Il ritrovamento rappresenta la prima segnalazione europea sia per l'insetto vettore che per il fungo patogeno (Montecchio e Faccoli, 2014), entrambi originari degli Stati Uniti sud-occidentali e del Messico settentrionale.

Ciclo biologico e sintomi

Negli Stati Uniti la malattia interessa varie specie di noci – incluso l'euro-asiatico *J. regia* – colpendo alberi di tutte le età, indipendentemente dai contesti ambientali (piantagioni, verde urbano, formazioni naturali). In primavera gli adulti dello scolitide sfarfallano da piante infette imbrattati di propaguli del fungo e si spostano in volo su noci sani – ma solitamente indeboliti per varie cause – dove riprodursi sotto le cortecce. Gli adulti di *P. juglandis* sono piccoli (1,5 - 1,9 mm) e generalmente cercano cortecce sottili e facili da perforare sotto le quali depongono le uova. In giovani rami e rametti della chioma scavano quindi piccoli (meno di 1 mm di diametro) ma numerosi fori, che comunicano con una rete di gallerie floematiche, sia materne che larvali, che costituiscono il sistema riproduttivo dello scolitide. Basandosi sulla letteratura disponibile, l'insetto dovrebbe compiere almeno due generazioni all'anno con un primo volo in primavera (costituito da adulti che hanno trascorso l'inverno sotto le cortecce degli alberi attaccati l'estate precedente) e un secondo volo in estate (che avvierà la seconda generazione destinata a svernare). L'azione di scavo dell'insetto mette il fungo patogeno in contatto coi tessuti floematici della pianta ospite determinandone l'infezione. Da qui il fungo procederà all'invasione dei tessuti vegetali determinando la formazione di cancri corticali che si espanderanno anche dopo lo sfarfallamento dei nuovi adulti, causando il disseccamento progressivo della chioma e poi la morte dell'intera pianta. Nel tempo, i cancri progrediscono infatti fino a interessare l'intera circonferenza dei rami colpiti. La disidratazione che ne consegue causa una superficiale fessurazione della corteccia, viene interrotto il trasporto di linfa alla chioma e si verifica la morte della porzione distale della parte colpita. Con l'avanzamento del cancro verso il basso, tutta la parte epigea risulterà disseccata e la pianta morirà nel giro di 3 - 4 anni. Poiché i punti d'ingresso del fungo sono localizzati in corrispondenza dei numerosissimi fori d'ingresso dell'insetto, sulla corteccia vengono inizialmente prodotte decine di cancri sottocorticali solitamente nei rami di piccole dimensioni, ma anche nelle branche e lungo il fusto. Di qui la denominazione americana “Thousand cankers disease”, ovvero malattia dei mille cancri.

Fonti d'infezione e meccanismi di dispersione

A breve distanza il fungo è veicolato dagli adulti di *P. juglandis* che si spostano in volo da alberi infetti, in cui si sono sviluppati, verso alberi sani presenti nelle vicinanze. Le piccolissime dimensioni degli adulti consentono tuttavia anche una loro dispersione passiva tramite il vento che può diffonderli anche per decine di chilometri. Su lunghe distanze insetto vettore e fungo patogeno possono essere inoltre veicolati mediante il trasporto di ramaglia, tronchi e semilavorati di noce con

corteccia, materiali di frequente importazione dagli Stati Uniti. Non è inoltre da escludere l'ingresso in Europa mediante materiale vivaistico di origine statunitense. Nell'ultimo decennio sia il fungo che l'insetto hanno progressivamente invaso tutta la costa occidentale degli Stati Uniti, e più recentemente anche parte degli stati orientali. In questo caso la principale via di diffusione è rappresentata dal commercio fra stati di legna da ardere costituita da ramaglia di risulta dei processi di lavorazione delle piantagioni di noce nero. Nella maggior parte dei casi si tratta di rami freschi e non scortecciati infestati dallo scolitide e infettati dal patogeno. Per tale ragione in molti stati americani è stato vietato il commercio di legna da ardere che contenga noce, e imposta la quarantena che è tuttavia solo interna ai confini nazionali e consente l'esportazione verso altri paesi o continenti. Dato il recente rinvenimento in Italia, tali restrizioni non sono ancora state definite a livello europeo. Attualmente non esiste pertanto alcuna restrizione nell'importazione e nel commercio di legno di noce in Europa, che può essere liberamente importato da aree infette. La futura diffusione della malattia sia su lunghe che brevi distanze è perciò molto probabile. A oggi non sono note efficaci misure di controllo diretto del vettore o del patogeno. Negli USA l'unica forma di contrasto alla diffusione della malattia si avvale di norme restrittive del trasporto di materiale dai focolai d'infezione.

Conclusioni

In vari Stati americani il *P. juglandis* e il cancro rameale stanno seriamente minacciando la sopravvivenza e la produttività delle piantagioni di noce, con gravi danni alle economie locali e nazionali. L'importanza del noce in Italia – e più in generale in Europa – è indiscutibile, poiché tradizionalmente presente nelle nostre campagne con finalità multiple e impiegato come specie ornamentale, da legno e da frutto. Il recente rinvenimento in Veneto sia del fungo patogeno sia del suo insetto vettore prospetta perciò nuovi e preoccupanti scenari sulle sorti di molte piantagioni di noce che negli ultimi anni si sono ampiamente diffuse in Europa anche grazie ad incentivi comunitari del recente passato. In tale contesto appare dunque fondamentale l'attuazione di specifici programmi di controllo di questa nuova minaccia fitosanitaria, basati su adeguate conoscenze scientifiche, difficilmente trasferibili dall'esperienza statunitense dove sono presenti diverse piante ospiti e diversi contesti ambientali. Allo stato attuale, la pericolosità della malattia e la sua velocità di diffusione suggeriscono un suo attento monitoraggio nei vari contesti colturali (piantagioni da legno e da frutto, arboreti, parchi e giardini) in cui i noci sono presenti del nostro Paese. In questa fase iniziale, l'informazione e la formazione delle diverse figure professionali coinvolte sia nella nocicoltura da legno e da frutto sia nel commercio di piante e legno di noce (vivaisti, tecnici, proprietari, terzisti, segherie) assumono un ruolo primario nel contribuire all'identificazione e alla pronta segnalazione di nuovi focolai.

Bibliografia

Montecchio L., Faccoli M., 2014. First record of Thousand Cankers Disease *Geosmithia morbida* and walnut twig beetle *Pityophthorus juglandis* on *Juglans nigra* in Europe. Plant Disease. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-10-13-1027-PDN>. In press.

Analisi delle dinamiche di metapopolazioni di *Lymantria dispar* L. in Sardegna

A. Bodini¹, G. Gilioli², R. Mannu³, P. Luciano³

¹ CNR-IMATI “Enrico Magenes”, Via E. Bassini 15, 20133 Milano, E-mail: antonella.bodini@mi.imati.cnr.it ;

² Università di Brescia, Dipartimento di Medicina Molecolare e Traslazionale, Viale Europa 11, 25121 Brescia, E-mail: gianni.gilioli@unibs.it ;

³ Università di Sassari, Dipartimento di Agraria, Sezione di Patologia Vegetale ed Entomologia, Viale Italia 39, 07100 Sassari, E-mail: pluciano@uniss.it; rmannu@uniss.it .

Introduzione

Lymantria dispar L. (Lepidoptera Erebidae) è il principale fillofago delle foreste a sughera in Sardegna e causa, periodicamente, la completa defogliazione di vasti areali subericoli. Dal 1980 la densità dell’insetto è stata monitorata annualmente tramite una rete di monitoraggio composta da 282 stazioni permanenti dislocate su tutto il territorio regionale (Luciano e Prota, 1995; Luciano *et al.*, 2002). Le informazioni raccolte sono state utilizzate per la pianificazione di possibili interventi fitosanitari su larga scala. Sono stati sperimentati approcci statistici per la descrizione e previsione della dinamiche di metapopolazione di *L. dispar* sulla base dell’eterogeneità del territorio, della frequenza e gravità delle infestazioni.

Materiali e metodi

In ogni stazione si sono rilevate informazioni geografiche, vegetazionali e di abbondanza di popolazione di *L. dispar* (espressa come numero di ovature per 40 piante). I dati disponibili sono stati utilizzati per (i) stimare i parametri di un modello di metapopolazione (Hanski, 1994), (ii) valutare la possibilità di prevedere la dinamica di innesco e propagazione degli outbreak (Kulldorff, 2001), (iii) spiegare i diversi pattern di dinamica in funzione delle caratteristiche ambientali (Cocco *et al.*, 2010) considerando approcci quantitativi della landscape ecology.

Risultati e discussione

La distribuzione discontinua della risorsa vegetale e i dati di abbondanza di popolazione hanno permesso di descrivere la dinamica temporale della presenza del fillofago tramite un modello di metapopolazione spazialmente esplicito, l’Incidence Function Model, modificato per tener conto della periodicità della dinamica di popolazione e degli outbreak (Gilioli *et al.*, 2012). Il modello è stato in grado di approssimare la dinamica delle infestazioni, sebbene le incidenze stimate siano in genere più basse di quelle osservate. Nella seconda fase del lavoro si sono utilizzati metodi statistici applicati all’epidemiologia per l’individuazione sia retrospettiva che prospettica degli outbreak. In particolare, è stata applicata una versione spazio-temporale della Scan Statistic, che necessita solo di dati di abbondanza del fillofago (Kulldorff, 2001). Il metodo ha messo in luce la difficoltà d’individuare modelli regolari di progressione locale e propagazione spaziale dell’infestazione. Allo stesso tempo metodi di landscape ecology hanno rivelato che la complessità della dinamica di popolazione non è riconducibile al semplice effetto di determinanti ambientali, rendendo necessarie spiegazioni che tengano conto di altri fattori, incluse le interazioni competitive e multitrofiche e le modalità di gestione delle risorse forestale.

Conclusioni

I metodi proposti consentono d’interpretare gli elementi essenziali della dinamica di metapopolazioni di *L. dispar* a partire da un set limitato di assunzioni sulla popolazione e l’habitat in cui è inserita. E’ stato inoltre possibile descrivere il trend temporale della dinamica di popolazione, anche se questo trend nell’ultimo periodo è stato alterato da una serie d’interventi di

lotta microbiologica effettuati su larga scala. E' stata anche messa in luce la complessità della dinamica di innesco e propagazione degli outbreak. Lo sviluppo di strumenti previsionali accurati, che possano essere di supporto tempestivo alla presa di decisioni richiede, pertanto, un affinamento dei metodi per una descrizione più puntuale delle componenti della dinamica di popolazione del fillofago e delle interazioni ecologiche del sistema.

Bibliografia

- Cocco A., Cossu A.Q., Erre P., Nieddu G., Luciano P., 2010 - Spatial analysis of gypsy moth populations in Sardinia using geostatistical and climate models. *Agr. Forest Entomol.* 12 (4): 417-426.
- Gilioli G., Bodini A., Cocco A., Lentini A., Luciano P., 2012 - Analysis and modelling of *Lymantria dispar* (L.) metapopulation dynamics in Sardinia. *IOBC wprs Bull.* Vol. 76: 163-170.
- Hanski I., 1994 - A practical model of metapopulation dynamics. *J. Anim. Ecol.* 63: 151-162.
- Kulldorff M., 2001 - Prospective time periodic geographical disease surveillance using a scan statistic. *Journal of the Royal Statistical Society: Series A*, 164 (1) 61-72.
- Luciano P., Lentini A., Giannasi M.P., Brundu G., 2002 – La previsione delle infestazioni nelle sugherete della Sardegna. In: *Il monitoraggio fitosanitario delle foreste. Quaderno ARSIA 2/2002: 67-73.*
- Luciano P., Prota R., 1995 - Insect pests in Sardinian cork-oak forests. *IOBC wprs Bull.* 18 (6) 1995: 1-7.



ISE-CNR (Sassari)

ISBN: 978-88-97934-04-2

ENTI PROMOTORI

Accademia Nazionale Italiana di Entomologia (Presidente Prof. Romano Dallai)

Società Entomologica Italiana (Presidente Prof. Francesco Pennacchio)

ENTE PATROCINATORE

Università degli Studi di Sassari (Magnifico Rettore Prof. Attilio Mastino)

COMITATO SCIENTIFICO

Prof. Romano Dallai	Presidente Accademia Naz. Ital. Entomologia
Prof. Francesco Pennacchio	Presidente Società Entomologica Italiana
Prof. Alberto Alma	Università degli Studi di Torino
Prof. Andrea Battisti	Università degli Studi di Padova
Prof. Marco Bologna	Università degli Studi Roma Tre
Prof. Pietro Brandmayr	Università degli Studi della Calabria
Prof. Stefano Colazza	Università degli Studi di Palermo
Prof. Piero Cravedi	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Prof.ssa Anna Maria Fausto	Università degli Studi della Toscana
Prof.ssa Barbara Giordana	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Prof. Santi Longo	Università degli Studi di Catania
Prof. Stefano Maini	Università degli Studi di Bologna
Dott. Michele Maroli	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Prof. Alessandro Minelli	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Dott. Roberto Nannelli	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Dott. Roberto Poggi	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia
Dott. Pio Federico Roversi	CRA-ABP, Firenze
Prof. Stefano Turillazzi	Università degli Studi di Firenze
Prof. Augusto Vigna Taglianti	Accademico Accademia Naz. Ital. Entomologia

COMITATO ORGANIZZATORE

Il Comitato organizzatore è composto dagli entomologi docenti dell'Università di Sassari:

Prof. Pietro Luciano (Presidente)	Prof. Andrea Lentini
Prof.ssa Marcella Carcupino	Prof. Roberto A. Pantaleoni
Prof. Achille Casale	Dott. Luca Ruiu
Prof. Gavino Delrio	Prof. Alberto Satta
Prof. Ignazio Floris	Dott. Roberto Mannu (Servizi multimediali)

ENTI SOSTENITORI



REGIONE AUTÒNOMA DE SARDIGNA
REGIONE AUTONOMA DELLA SARDEGNA



PROVINCIA DI NUORO



Comune di Orroesi



Comune di Nuoro



Fondazione
Banco di Sardegna



Camera di Commercio
Nuoro



CONSORZIO



Istituto per lo Studio
degli Ecosistemi - CNR



Ente Foreste della Sardegna



ISTITUTO
ETNOGRAFICO
DELLA SARDEGNA



CORPO FORESTALE
E DI VIGILANZA AMBIENTALE

SPONSOR



COLDIRETTI
FORZA AMICA DEL PAESE



FEITM



VALENT BIOSCIENCES
CORPORATION



CANTINA
DORGALI



CANTINA DEL VERMENTINO MONTI



GOSTOLAI
VINI DI OLIANA



DORGALI
PASTORI



Cantina Gallura



ELI PINNA
SAPERE SARDO



Casafficio
Oliena
Cooperativa Agricola
Rinascita



FATTORIE
GENNARGENTU



CANTINA OLIANA



APICOLTURA BIOLOGICA
Luja
Floriana Giuliano