



ATTI
DELLA
ACCADEMIA
NAZIONALE ITALIANA
DI ENTOMOLOGIA

RENDICONTI
Anno LXII
2014



ATTI
DELLA
ACCADEMIA
NAZIONALE ITALIANA
DI ENTOMOLOGIA

RENDICONTI
Anno LXII
2014



CEREBRO FAVCIBVS VTERO
AB ORBIS ORIGINE
TENENT

ISSN 0065-0757

Direttore Responsabile: *Prof. Romano Dallai*
Presidente Accademia Nazionale Italiana di Entomologia

Coordinatore della Redazione: *Dr. Roberto Nannelli*

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

INDICE

Rendiconti

Consiglio di Presidenza	Pag. 5
Elenco degli Accademici	» 6
Verbali delle adunanze del 21-22 febbraio 2014	» 9
Verbali delle adunanze del 12 giugno 2014	» 17
Verbali delle adunanze del 14-15 novembre 2014	» 23

Commemorazioni

MARIO SOLINAS, GIORGIO NUZZACI – <i>Luigi De Marzo (1947-2013)</i>	» 33
ERIC CONTI, FRANCESCO PENNACCHIO – <i>Ferdinando Bin</i>	» 47

Lecture

PIETRO BRANDMAYER, ROBERTO PIZZOLOTTO – <i>Gli insetti come biondicatori</i>	» 63
GAVINO DELRIO – <i>La diatriba fra F. Silvestri e A. Berlese sulla lotta naturale e artificiale contro la mosca delle olive ed evoluzione di queste tecniche di lotta</i>	» 81

Tavola Rotonda su:

GESTIONE SOSTENIBILE DI PIANTE ALIENE INVASIVE MEDIANTE I LORO NEMICI NATURALI

ALESSANDRA PAOLINI, MASSIMO CRISTOFARO, FRANCESCA LECCE, FRANCESCA DI CRISTINA, ALESSIO DE BIASE, SILVIA BELVEDERE, GLORIA ANTONINI, CARLO TRONCI, LINCOLN SMITH – <i>Ceratapion basicorne (Illiger) (Coleoptera: Curculionidae): biosaggi di laboratorio e campo per valutarne la specificità fisiologica come agente di controllo di Centaurea solstitialis L. (Asteraceae: Cardueae)</i>	» 91
URS SCHAFFNER, SUZANNE LOMMEN, HEINZ MÜLLER-SCHÄRER – <i>The EU COST Action SMARTER - a European-wide approach for a sustainable management of common ragweed, Ambrosia artemisiifolia</i>	» 97
ENRICO DE LILLO – <i>Acari Eriophyoidea: alcune caratteristiche rilevanti per il controllo biologico delle piante infestanti</i>	» 101
PAOLO AUDISIO, GLORIA ANTONINI – <i>Traiettorie evolutive e diagnostica di specie criptiche in coleotteri fitofagi specializzati</i>	» 107
ALESSIO DE BIASE, ENZO COLONNELLI, SILVIA BELVEDERE, ALESSANDRA LA MARCA, MASSIMO CRISTOFARO, LINCOLN SMITH – <i>Molecular studies on the species complex of Trichosirocalus horridus in the biological control of carduinae weeds</i>	» 115
MAURIZIO VURRO – <i>Funghi patogeni e insetti nella lotta biologica alle piante infestanti: opportunità, limiti e prospettive d'impiego congiunto</i>	» 121

Seminario in onore di Mario Coluzzi

MICHELE MAROLI, ANNA MARIA FAUSTO – <i>Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals - Introductory note</i>	» 131
PETR VOLF – <i>Leishmania development in sand flies and main aspects of this parasite-vector interaction</i> ..	» 135
ANNAPAOLA RIZZOLI – <i>Factors affecting the geographical distribution of Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) and its transmitted pathogens in Europe</i>	» 141
ALESSANDRA DELLA TORRE – <i>The cryptic complexity of malaria vectors in Africa: from Anopheles gambiae chromosomal forms to Anopheles coluzzii</i>	» 149
ROBERTO ROMI – <i>Two probable autochthonous introduced malaria cases in Italy in 2009 and 2011 and the risk of sporadic local transmission</i>	» 153
GIOIA CAPELLI, SIMONE MARTINI, SARA CARLIN, STEFANIA CAZZIN, SILVIA CIOCCHETTA, PAOLO MULATTI, MATTEO MAZZUCATO, MANLIO PALEI, FRANCESCA RUSSO, SILVIA RAVAGNAN, STEFANO MARANGON, FABRIZIO MONTARSI – <i>The importance and significance of entomological monitoring for new and old pathogens transmitted by Culicidae</i>	» 159
MARIA GOFFREDO – <i>Culicoides in Italy: highlights on Bluetongue and Schmollenberg vectors</i>	» 165
FABRIZIO MONTARSI, ANDREA DRAGO, MARCO DAL PONT, NICOLA DELAI, SARA CARLIN, STEFANIA CAZZIN, SILVIA CIOCCHETTA, DANIELE ARNOLDI, FREDERIC BALDACCHINO, ANNAPAOLA RIZZOLI, FRANCESCA RUSSO, GIOIA CAPELLI – <i>Current knowledge on the distribution and biology of the recently introduced invasive mosquito Aedes koreicus (Diptera: Culicidae)</i>	» 169

Tavola Rotonda su:

INSETTI VETTORI DI AGENTI FITOPATOGENI

ASSUNTA BERTACCINI – <i>Stato delle conoscenze sulle malattie dovute a procarioti fitopatogeni</i>	» 177
DOMENICO BOSCO – <i>Xylella fastidiosa: vettori accertati e potenziali in America e in Europa</i>	» 187

GIUSEPPE E. MASSIMINO COCUZZA, SEBASTIANO BARBAGALLO – <i>Vettori di malattie degli agrumi: stato attuale delle conoscenze e problemi emergenti</i>	Pag. 193
ROSEMARIE TEDESCHI – <i>Vettori di agenti fitopatogeni: nuove acquisizioni sul comportamento per lo studio dell'epidemiologia e la gestione</i>	» 203
VALERIO MAZZONI, ANDREA LUCCHI – <i>Dieci anni di studi sulla comunicazione vibrazionale in <i>Sca-phoideus titanus</i>: dalla teoria alla pratica</i>	» 209
NICOLA MORI, FRANCESCO PAVAN – <i>Strategie di controllo dei vettori associati ai giallumi della vite</i>	» 215

ANNO ACCADEMICO

2014

CONSIGLIO DI PRESIDENZA

PRESIDENTE

DALLAI Prof. Dott. Romano

(confermato)

VICE-PRESIDENTE

GIORDANA Prof. Dott.sa Barbara

(confermato)

SEGRETARIO

CRAVEDI Prof. Dott. Piero

(confermato)

TESORIERE

NANNELLI Dott. Roberto

(confermato)

ELENCO DEGLI ACCADEMICI

ACCADEMICI EMERITI

ARZONE Prof. Dott. Alessandra	- Torino	1984
BARONIO Prof. Piero	- Bologna	2001 - 2012
BOLCHI SERINI Prof. Dott. Graziella (*)	- Milano	1986 - 2003
BONVICINI PAGLIAI Prof. Dott. Anna	- Modena	1983 - 2001
BRIOLINI Prof. Dott. Giovanni	- Bologna	1977 - 1982
COVASSI Dott. Marco Vittorio	- Firenze	1983 - 1997
DALLAI Prof. Dott. Romano	- Siena	1979 - 1982
FRILLI Prof. Dott. Franco	- Udine	1978 - 1982
GALVAGNI Dott. Antonio	- Rovereto (TN)	- 2007
MASUTTI Prof. Dott. Luigi	- Padova	1972 - 1977
MELLINI Prof. Dott. Egidio	- Bologna	1962 - 1972
MINEO Prof. Dott. Giovanni	- Palermo	1986
MONACO Prof. Dott. Raffaele	- Bari	1985
OSELLA Prof. Dott. Giuseppe Bartolomeo	- L'Aquila	1983 - 1997
PEGAZZANO Prof. Dott. Fausta	- Firenze	1986 - 2005
PRINCIPI Prof. Dott. Maria Matilde	- Bologna	1953 - 1960
RIVOSACCHI Prof. Dott. Leo	- Roma	1987 - 2003
SANTINI Prof. Dott. Luciano	- Pisa	1993 - 2000
SOLINAS Prof. Dott. Mario	- Perugia	1978
ZANGHERI Prof. Dott. Sergio	- Padova	1970 - 1977

ACCADEMICI ORDINARI

ALMA Prof. Dott. Alberto	- Torino	2007 - 2013
BARBAGALLO Prof. Dott. Sebastiano	- Catania	1982
BATTISTI Prof. Andrea	- Padova	2010 - 2014
BIN Prof. Dott. Ferdinando (**)	- Perugia	1998 - 2002
BINAZZI Dott. Andrea	- Firenze	1998 - 2012
BOLOGNA Prof. Marco	- Roma	2001 - 2008
BRANDMAYR Prof. Dott. Pietro	- Rende (CS)	2005 - 2014
BULLINI Prof. Dott. Luciano	- Roma	1986
CASALE Prof. Dott. Achille	- Sassari	1996 - 2002
CRAVEDI Prof. Dott. Piero	- Piacenza	1999 - 2005
DELRIO Prof. Dott. Gavino	- Sassari	1989 - 2000
GASPERI Prof. Dott. Giuliano	- Pavia	2005 - 2013
GIORDANA Prof. Dott. Barbara	- Milano	1997 - 2003
GIROLAMI Prof. Dott. Vincenzo	- Padova	1993 - 2004
LONGO Prof. Dott. Santi	- Catania	1993 - 2000
LUCIANO Prof. Dott. Pietro	- Sassari	2009 - 2014
MAINI Prof. Dott. Stefano	- Bologna	2005 - 2014
MALVA Dott. Carla	- Napoli	2001 - 2011
MAROLI Prof. Dott. Michele	- Roma	2003 - 2010
MAZZINI Prof. Dott. Massimo	- Viterbo	2000
MINELLI Prof. Dott. Alessandro	- Padova	1986 - 1993
NANNELLI Dott. Roberto	- Firenze	1998 - 2005
NUZZACI Prof. Dott. Giorgio	- Bari	1988 - 1994

(*) † 23 febbraio 2014.

(**) † 9 aprile 2014.

OLMI Prof. Dott. Massimo	- Viterbo	2002 - 2013
PENNACCHIO Prof. Dott. Francesco	- Napoli	2001 - 2007
POGGI Dott. Roberto	- Genova	1989 - 1999
RAGUSA DI CHIARA Prof. Dott. Salvatore	- Palermo	1993 - 2000
RAPISARDA Prof. Dott. Carmelo	- Catania	2005 - 2012
ROTUNDO Prof. Dott. Giuseppe	- Campobasso	1999 - 2010
ROVERSI Prof. Pio Federico	- Firenze	2008
SBORDONI Prof. Dott. Valerio	- Roma	1986
SÜSS Prof. Dott. Luciano	- Milano	1987 - 1993
TRANFAGLIA Prof. Dott. Antonio	- Potenza	1993 - 1999
TRIGGIANI Prof. Oreste	- Bari	2001 - 2012
TURILLAZZI Prof. Dott. Stefano	- Firenze	1989 - 2000
VIGNA TAGLIANTI Prof. Dott. Augusto	- Roma	1986 - 1994

ACCADEMICI ONORARI

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

ACCADEMICI STRAORDINARI

AUDISIO Prof. Paolo Aldo	- Napoli	2004
BIONDI Prof. Maurizio	- L'Aquila	2012
CERVO Prof. Rita	- Firenze	2012
COBOLLI Prof. Marina	- Roma	2001
COLAZZA Prof. Dott. Stefano	- Palermo	2013
CRISTOFARO Dott. Massimo	- Roma	2014
DACCORDI Dott. Mauro	- Verona	1990
DE LILLO Prof. Dott. Enrico	- Bari	2011
DI PALMA Prof. Antonella	- Foggia	2014
FAUSTO Prof. Dott. Anna Maria	- Viterbo	2011
FLORIS Prof. Dott. Ignazio	- Sassari	2011
FRATI Prof. Francesco	- Siena	2012
GARGIULO Prof. Dott. Giuseppe	- Bologna	2013
GERMINARA Prof. Giacinto Salvatore	- Foggia	2014
ISIDORO Prof. Dott. Nunzio	- Ancona	2013
MASSA Prof. Dott. Bruno	- Palermo	2011
NAZZI Prof. Francesco	- Udine	2012
PELLIZZARI Prof. Dott. Giuseppina	- Padova	2011
RUSSO Prof. Dott. Agatino	- Catania	2011
ZAPPAROLI Prof. Marzio	- Viterbo	2012

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

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 21 - 22 FEBBRAIO 2014

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

SEDUTA PUBBLICA

Venerdì 21 febbraio 2014, alle ore 15:00, a Firenze Cascine del Riccio via Lanciola 12/A, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta Pubblica.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: R. DALLAI;

Ordinari: A. BINAZZI, P. CRAVEDI, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI;

Straordinari: P.A. AUDISIO, A. BATTISTI, M. BIONDI, P. BRANDMAYR, R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A.M. FAUSTO, P. LUCIANO, S. MAINI, B. MASSA, F. NAZZI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, L. MASUTTI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, L. SANTINI, M. SOLINAS, S. ZANGHERI; *Ordinari:* A. ALMA, S. BARBAGALLO, M.A. BOLOGNA, A. CASALE, G. DELRIO, G. GASPERI, B. GIORDANA, S. LONGO, C. MALVA, M. MAZZINI, A. MINELLI, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPISARDA, V. SBORDONI, L. SÜSS; *Straordinari:* M. COBOLLI, M. DACCORDI, I. FLORIS, F. FRATI, G. GARGIULO, N. ISIDORO, G. PELLIZZARI, A. RUSSO, M. ZAPPAROLI.

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

Il tema della Tavola Rotonda verte su:

“Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali”

Il Presidente Romano DALLAI apre la Seduta Pubblica e invita l'Accademico Enrico DE LILLO a coordinare i lavori.

Si susseguono gli interventi:

- Accademico Giorgio NUZZACI: introduzione
- Dr. Massimo CRISTOFARO - ENEA C.R.Casaccia - *Ceratapion basicorne (Illiger) (Coleoptera: Curculionidae): biosaggi di laboratorio e campo per valutarne la specificità fisiologica come agente di controllo di Centaurea solstitialis L. (Asteraceae: Carduinae)*
- Dr. Urs SCHAFFNER - CABI, Delémont, Svizzera - *Ambrosia problems and the related COST Action SMARTER ('Sustainable management of Ambrosia artemisiifolia in Europe')*
- Accademico Enrico DE LILLO - Università degli Studi Aldo Moro di Bari - *Acari Eriophyoidea: alcune caratteristiche rilevanti per il controllo biologico delle piante infestanti*
- Accademico Paolo AUDISIO - Università di Roma La Sapienza - *Evidenze molecolari, morfologiche e bionomiche nella diagnostica di specie criptiche di coleotteri fitofagi specializzati*

- Dr. Alessio DE BIASE - Università di Roma La Sapienza - *Indagini molecolari sul complesso di specie di Trichosirocalus horridus nel controllo biologico di Carduinae infestanti*
- Dr. Maurizio VURRO - CNR, Bari - *Agenti patogeni e insetti nella lotta biologica alle piante infestanti: opportunità, limiti e prospettive d'impiego congiunto*

Segue un'interessante discussione coordinata dall'Accademico Enrico De Lillo, al termine della quale la Seduta si conclude alle ore 18:15.

I testi delle relazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2014 dell'Accademia.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA ORDINARIA

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

Sabato 22 febbraio 2014 alle ore 09:30, presso la propria sede in via Lanciola 12/A, Firenze, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Ordinaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: M.V. COVASSI, R. DALLAI, L. MASUTTI, L. SANTINI; M. SOLINAS.

Ordinari: A. BINAZZI, M. BOLOGNA, P. CRAVEDI, B. GIORDANA, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI;

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, S. ZANGHERI; *Ordinari:* A. ALMA, S. BARBAGALLO, A. CASALE, G. DELRIO, G. GASPERI, S. LONGO, C. MALVA, M. MAZZINI, A. MINELLI, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPI SARDA, V. SBORDONI, L. SÜSS;

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (16 novembre 2013)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Esame e approvazione conto consuntivo anno finanziario 2013
- 4) Premio Osella
- 5) Varie ed eventuali

- 1) APPROVAZIONE DEL VERBALE SEDUTA PRECEDENTE (16 NOVEMBRE 2013)

Viene esaminato il verbale della Seduta Ordinaria di sabato 16 novembre 2013, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici.

Il verbale viene approvato all'unanimità.

- 2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente Romano DALLAI comunica che è stato istituito un accordo di collaborazione fra la nostra Accademia e la Società Entomologica Italiana riguardante piani annuali di attività scientifiche ed editoriali la cui programmazione dovrà essere annualmente approvata dai rispettivi

Organi Direttivi entro il 31 dicembre dell'anno precedente. Il piano finanziario andrà concordato tendendo ad una equa ripartizione degli oneri, ma non necessariamente per tutte le voci di spesa.

Il Presidente sottolinea l'importanza di organizzare incontri scientifici, anche presso sedi diverse da quelle dell'Accademia. A tal proposito ricorda la Giornata culturale sui "Contributi alla conoscenza dei Polineotteri basali" che si è tenuta l'11 ottobre scorso a Firenze, e un'altra Giornata di studio in onore dell'Accademico Mario COLUZZI che gli Accademici Michele MAROLI e Anna Maria FAUSTO stanno organizzando a Roma per il prossimo ottobre. Quest'ultima riguarderà "Artropodi vettori di malattie dell'uomo e degli animali domestici". Gli eventi organizzati in sedi diverse che Firenze sono ritenuti particolarmente opportuni per far conoscere e valorizzare l'attività dell'Accademia.

L'Assemblea prende atto dell'accordo di collaborazione con la Società Entomologica Italiana e concorda sull'impegno a incrementare l'attività culturale, anche in altre sedi.

Il Presidente rende noto che, a norma dell'art. 7 del regolamento, la disponibilità di posti nelle diverse categorie di Accademici al 30 aprile 2014 è la seguente:

- per Accademico Ordinario posti liberi 4;
- per Accademico Straordinario posti liberi 9;

3) ESAME E APPROVAZIONE CONTO CONSUNTIVO ANNO FINANZIARIO 2013

Il Presidente invita il Tesoriere NANNELLI a presentare il Conto consuntivo per l'anno finanziario 2013.

Il Tesoriere fa presente che il 6 febbraio scorso si è riunito presso il Dipartimento di Biologia Evoluzionistica dell'Università di Firenze il Collegio dei Revisori dei Conti per l'analisi e l'approvazione del Bilancio preventivo 2014 e il Conto consuntivo 2013.

Il Tesoriere illustra quindi all'Assemblea i principali capitoli del Conto consuntivo evidenziando la modesta disponibilità finanziaria dell'Accademia, determinata anche dal mancato rimborso da parte del MIPAAF di spese sostenute per lo svolgimento delle Tavole Rotonde di febbraio e giugno, in quanto i decreti economici sono stati ratificati dalla dirigenza ministeriale successivamente allo svolgimento degli eventi, nonostante che la richiesta di finanziamento fosse stata regolarmente presentata nel dicembre 2012. Sul bilancio 2013 è anche gravato il saldo del pagamento IVA relativo alla fatturazione dei servizi forniti per il Congresso IUSI, svoltosi a Montecatini in agosto 2012.

Completata l'illustrazione e non essendovi richieste di ulteriori dettagli, il Presidente pone in votazione il Conto consuntivo 2013 che viene approvato all'unanimità e che verrà conservato agli atti.

Il Tesoriere informa l'Assemblea che nel mese di gennaio è stata presentata al MIPAAF regolare richiesta di finanziamento per il 2014 relativamente all'organizzazione delle previste Tavole Rotonde. Analoga richiesta è stata presentata, all'inizio di febbraio, al Ministero per i Beni e le Attività Culturali per l'ottenimento di un contributo finanziario a sostegno dell'attività culturale ordinaria dell'Accademia.

4) Premio Osella

Su invito del Presidente l'Accademico Piero CRAVEDI, componente dell'apposita Commissione giudicatrice composta anche dagli Accademici Barbara GIORDANA e Roberto POGGI, riferisce che la Commissione ha concluso i lavori il 10 gennaio 2014. Sono state esaminate le tre domande pervenute all'Accademia rispettivamente dai Dottori:

- Marco GOTTARDO del Dipartimento di Scienze della Vita dell'Università degli Studi di Siena, presentato dagli Accademici Romano DALLAI e Roberto NANNELLI;
- Giuseppe MAZZA del CRA-ABP, Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia di Firenze, presentato dagli Accademici Pio Federico ROVERSI e Roberto NANNELLI;
- Matteo MONTAGNA del Centro Interdipartimentale di Studi Applicati per la Gestione Sostenibile e la Difesa della Montagna(Dipartimento di Scienze Agrarie e Ambientali-

Produzione, Territorio, Agroenergia, Università degli Studi di Milano), presentato dagli Accademici Santi LONGO e Alessandro MINELLI.

Nel non facile confronto fra i candidati, tutti giudicati meritevoli di un giudizio molto positivo, la Commissione ha ritenuto di privilegiare la maggiore ampiezza di interessi dimostrata dal dott. Giuseppe MAZZA che viene dunque proposto come vincitore del “Premio Marco Osella 2014”.

Segue una breve discussione dalla quale emerge la notevole difficoltà che giovani scientificamente già ben preparati incontrano nel trovare una sistemazione come strutturati nel settore dell’Entomologia.

Il Presidente proclama quindi il dott. Giuseppe MAZZA vincitore del “Premio Marco Osella 2014”.

L’Accademia provvederà a formalizzare l’iscrizione del vincitore al prossimo XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia e lo inviterà a inviare il riassunto del suo contributo scientifico. Il diploma del Premio verrà consegnato al vincitore a Orosei durante il Congresso.

5) Varie ed eventuali

Nessuna.

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

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

SEDUTA PUBBLICA

Alle ore 10:30 il Presidente prof. Romano DALLAI dichiara aperta la Seduta Pubblica.

Oltre agli Accademici Ordinari ed Emeriti, presenti all’Assemblea Ordinaria, partecipano gli Accademici Straordinari e altri studiosi e ricercatori ospiti dell’Accademia.

Il Presidente Romano DALLAI invita l’Accademico Straordinario Pietro BRANDMAYR a presentare la lettura dal titolo:

Gli insetti come indicatori ambientali

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

Il Presidente invita poi gli Accademici Mario SOLINAS e Giorgio NUZZACI a presentare i loro contributi alla commemorazione dell’Accademico Luigi DE MARZO.

I testi della lettura e delle commemorazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2014.

La Seduta è tolta alle ore 11:25.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA PLENARIA

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

Sabato 22 febbraio 2014 alle ore 11:30, a Firenze Cascine del Riccio, via Lanciola 12/A come da convocazione del Presidente iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: M.V. COVASSI, R. DALLAI, L. MASUTTI, L. SANTINI; M. SOLINAS.

Ordinari: A. BINAZZI, M.A. BOLOGNA, P. CRAVEDI, B. GIORDANA, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI;

Straordinari: P.A. AUDISIO, A. BATTISTI, M. BIONDI, P. BRANDMAYR, R. CERVO, M. COBOLLI, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G. GARGIULO, N. ISIDORO, P. LUCIANO, S. MAINI, B. MASSA, F. NAZZI, M. ZAPPAROLI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, G. BOLCHI SERINI, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, S. ZANGHERI; *Ordinari:* A. ALMA, S. BARBAGALLO, A. CASALE, G. DELRIO, G. GASPERI, S. LONGO, C. MALVA, M. MAZZINI, A. MINELLI, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPISARDA, V. SBORDONI, L. SÜSS, O. TRIGGIANI; *Straordinari:* M. DACCORDI, I. FLORIS, G. PELLIZZARI SCALTRITI, A. RUSSO.

Viene discusso il seguente Ordine del giorno:

- 1) Approvazione dei verbali delle sedute precedenti (15-16 novembre 2013)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Proclamazione e consegna Diplomi ai nuovi Accademici Straordinari (Stefano COLAZZA, Giuseppe GARGIULO e Nunzio ISIDORO)
- 4) XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Orosei, 9-14 giugno 2014)
- 5) Fauna d'Italia
- 6) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE DEI VERBALI DELLE SEDUTE PRECEDENTI (15-16 NOVEMBRE 2013)

Vengono esaminati i verbali della Seduta Pubblica di venerdì 15 novembre 2013 e dell'Assemblea Plenaria di sabato 16 novembre 2013, già inviati a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici.

I verbali vengono approvati all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente Romano DALLAI comunica che è stato istituito un accordo di collaborazione tra l'Accademia e la Società Entomologica Italiana, riguardante piani di attività scientifiche ed editoriali.

Il Presidente invita quindi l'Accademico Francesco PENNACCHIO, in qualità di Presidente della Società Entomologica Italiana a riferire in merito all'attività editoriale.

L'Accademico PENNACCHIO aggiorna l'assemblea sullo stato attuale della nuova rivista di Entomologia, avviata nel marzo del 2013. Al momento sono stati pubblicati 8 lavori nello scorcio del 2013, sono già pronti 6 lavori per la pubblicazione nel 2014, mentre 7 sono al momento in valutazione. Fino ad ora sono stati respinti 7 lavori.

Si prevede di dare spazio a lavori che verranno presentati al prossimo Congresso Nazionale di Orosei, possibilmente in un numero speciale.

Su invito del Presidente l'Accademico Stefano TURILLAZZI riferisce che è in fase di organizzazione il settimo Corso di Allergologia.

Mentre un altro argomento sta suscitando interesse ed è lo studio degli insetti come fonte di cibo umano per cui potrebbe essere oggetto di una prossima iniziativa culturale.

Il Presidente chiede all'Accademico Roberto NANNELLI di illustrare la situazione relativa alle pubblicazioni dell'Accademia.

L'Accademico NANNELLI riferisce che: la preparazione del volume degli Atti e Rendiconti dell'Accademia, anno 2013, è quasi ultimata e probabilmente entro la fine del mese di marzo il volume verrà pubblicato; con i contributi scientifici delle Tavole Rotonde dovrebbero essere realizzate due monografie.

La vendita del libro "Allergologia e dermatologia entomologiche – Seconda edizione aggiornata 2013" recentemente pubblicato, nonostante il manifestato interesse da parte di tre case farmaceutiche all'acquisto di un certo numero di copie, solo una ditta ha formalizzato l'acquisto di 18 copie del volume. Poiché è prevista per il mese di maggio l'organizzazione del "VII Corso di Allergologia e Dermatologia entomologiche" per medici specialisti si pensa di attivare un'azione promozionale di vendita nella sede del Corso, a tale riguardo anche un'altra ditta farmaceutica sponsor dell'evento si è detta disponibile all'acquisto di 100 copie.

Il Presidente comunica che l'apposita Commissione giudicatrice per il Premio Osella 2014, composta dagli Accademici Piero CRAVEDI, Barbara GIORDANA e Roberto POGGI ha concluso i lavori designando come vincitore il dott. Giuseppe MASSA. L'Accademia provvederà a formalizzare l'iscrizione del vincitore al prossimo XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia e lo inviterà a inviare il riassunto del suo contributo scientifico.

3) PROCLAMAZIONE E CONSEGNA DIPLOMI NUOVI ACCADEMICI STRAORDINARI.

Il Presidente consegna i Diplomi di Accademico Straordinario ai neonominati Stefano COLAZZA, Giuseppe GARGIULO e Nunzio ISIDORO.

L'Assemblea si congratula con i nuovi Accademici Straordinari, accogliendoli con un caloroso applauso.

4) XXIV CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA (OROSEI 9-14 GIUGNO 2014)

L'accademico Pietro LUCIANO riferisce sullo stato dell'organizzazione del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. Inizialmente evidenzia che sono pervenuti i riassunti di poco più di 150 contributi scientifici e comunica che il Comitato scientifico in accordo con il Comitato organizzatore, dato il ritardo con cui si è avviata l'organizzazione del Congresso, ha deciso di prorogare i termini di presentazione dei contributi al 7 marzo e delle iscrizioni senza penalizzazioni al 31 dello stesso mese.

Ha quindi illustrato come si intenda dare pubblicità ai contenuti del Congresso.

I contributi scientifici saranno resi disponibili direttamente nel sito del Congresso e dovranno essere inviati entro il 15 maggio.

Gli estensori delle letture plenarie e delle comunicazioni orali dovranno far pervenire un ampio estratto delle stesse (2 pagine) insieme ad un brevissimo riassunto di 8 righe da inserire all'interno del programma a stampa.

I poster dovranno essere predisposti secondo un format prestabilito dato che si ha intenzione di pubblicare un e-book con ISBN.

Tutti i contributi saranno pubblicati sul sito del Congresso già alcuni giorni prima dell'apertura al fine di favorirne la conoscenza preliminare ed eventualmente di dare l'opportunità a chi non potesse intervenire al Congresso d'interloquire via mail o via forum con gli autori.

Non è prevista la stampa degli Atti del Congresso ma sarà cura del Comitato Scientifico selezionare i migliori contributi di ciascuna sessione e proporli per la pubblicazione in "Special issue" su una rivista ISI/IF che sarà individuata dai referenti scientifici di ciascuna sessione.

Per quanto riguarda la partecipazione, egli ha voluto sottolineare che il Comitato organizzatore si sta adoperando per rendere il più economico possibile il viaggio per la sede congressuale

(ha ad esempio ottenuto particolari sconti tariffari dalle agenzie di autonoleggio operanti presso gli aeroporti sardi) e il soggiorno dei congressisti (si sono richiesti contributi a diverse Istituzioni locali e organizzazioni di categoria). Si spera di ottenere sostegni in misura tale da poter favorire la massima partecipazione di giovani studiosi.

5) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente l'Accademico Augusto VIGNA TAGLIANTI riferisce sulla situazione del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia (CSFI), già presentata nella ampia e dettagliata relazione all'Assemblea di sabato 8 giugno 2013 e ripresa il 16 novembre 2013. Rispetto a queste relazioni non ci sono novità di rilievo, se non che il Comitato rimane in attesa di un incontro (già richiesto e sollecitato più volte) con il Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM). Sulla base dell'Atto di Intesa tra il MATTM ed il CSFI dell'aprile 2002, rinnovato nel 2008, entro il 2012 erano stati pubblicati i due volumi previsti della Collana Fauna d'Italia. Da alcuni recenti incontri informali, si evince tuttavia una posizione ministeriale negativa sull'eventuale rinnovo dell'Atto di Intesa e sulla prosecuzione della Collana stessa.

Nel frattempo è stato consegnato al Comitato il volume Cetacea della Collana Fauna d'Italia (editori Luigi Cagnolaro, Bruno Cozzi, Giuseppe Notarbartolo di Sciarra e Michela Podestà) che sarà pubblicato direttamente dall'Editore Calderini-Il Sole 24 Ore e che è attualmente in fase di revisione (referente interno Marco Oliverio).

Altri volumi sono in stato avanzato di preparazione o praticamente pronti, come quelli relativi ai Tunicati Ascidiacei (R. Brunetti, F. Mastrototaro) (referente interno Sandro Minelli), ai Rotiferi marini (G. Melone, W. De Smet, D. Fontaneto, F. Leasi, C. Ricci) (referente interno Marco Curini-Galletti) ed agli Imenotteri Sinfiti (Fausto Pesarini) (referente interno Sandro Minelli).

È stato formalizzato nel frattempo l'incarico al CSFI di seguire a livello scientifico la pubblicazione del testo allegato alle tavole della Iconografia dei Passeriformi, che saranno pubblicate dal MATTM tramite ISPRA. Le tavole di alta qualità sono state preparate da Lorenzo Sternini, il testo da Enrico Calvario ed Alessandro Montemaggiori (referente per il CSFI Bruno Massa). Sempre per ISPRA, il CSFI ha infine partecipato a procedura negoziata per il "Servizio di revisione ed integrazione delle schede di monitoraggio ex-art.17 della Direttiva Habitat relative alle specie di interesse comunitario di invertebrati presenti in Italia", che ha dato luogo alla pubblicazione di uno specifico volume sulle specie e sugli habitat di interesse comunitario in Italia, in cui il CSFI ha partecipato alla stesura del capitolo sugli invertebrati terrestri e d'acqua dolce, a cura di Fabio Stoch e Augusto VIGNA TAGLIANTI.

Il CSFI sta infine cercando altre strade per ottenere contributi per la prosecuzione della Collana, ed ha investito del problema le stesse Società Scientifiche patrocinanti, Unione Zoologica Italiana (che già ha provveduto per il 2014) ed Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, cui è stata richiesta la riattivazione dello specifico contributo annuo.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Bruno MASSA fornisce ulteriori informazioni sul volume della serie Iconografia dedicato ai passeriformi. Il testo è stato realizzato da A. Montemaggiori e E. Calvario, un ottimo contributo di divulgazione scientifica. Tuttavia c'è stato un equivoco tra autori e Ministero, per cui gli autori hanno realizzato un testo che andrà sistemato a fronte delle tavole (già pronte e realizzate per conto del Ministero), ma il Ministero ha previsto la stampa delle tavole in folio, quindi separate dal testo. Bisognerà trovare una soluzione logica.

Per quanto riguarda la serie della Fauna d'Italia sembra opportuno un intervento dei presidenti di Accademia e UZI, come proposto dall'Accademico A. VIGNA TAGLIANTI, per fare chiarezza sui futuri rapporti tra il Comitato Fauna e il Ministero.

6) VARIE ED EVENTUALI

Il Presidente Romano DALLAI dà la parola all'Accademico AUDISIO, che presenta all'Assemblea un volume appena edito dal Centro Nazionale per la Biodiversità Forestale "Bosco Fontana" (Verona/Mantova), e intitolato "Gli Artropodi italiani in Direttiva habitat: biologia,

ecologia, riconoscimento e monitoraggio”. Il volume tratta per la prima volta in modo unitario e critico tutte le procedure di monitoraggio delle specie di Artropodi inclusi negli allegati della Direttiva Europea Habitat, che impone a tutti gli stati membri UE dei rigorosi adempimenti periodici di screening e monitoraggio delle specie protette presenti in ciascun Paese. Il volume dovrebbe quindi rappresentare una vera e propria linea-guida operativa per le azioni tecnico-scientifiche nazionali da svolgere sugli Artropodi italiani, in ottemperanza delle normative Europee, nel campo della conservazione delle risorse naturali. Il volume viene quindi distribuito gratuitamente a tutti gli Accademici interessati.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Marco A. BOLOGNA illustra brevemente il progetto LIFE MIPP - Monitoring of insects with Public Participation- a cui partecipano anche altri due membri della Accademia, Paolo AUDISIO e Pio Federico ROVERSI.

Il progetto LIFE MIPP (www.lifemipp.eu) di durata quinquennale (2012-2017) presenta tre principali obiettivi:

- 1) sviluppare e testare metodi innovativi di monitoraggio di 5 coleotteri saproxilici inclusi nella Direttiva Habitat, di cui tre Cerambycidae e due Scarabaeoidea (*Morimus asper/ funereus*, *Rosalia alpina*, *Cerambyx cerdo*, *Lucanus cervus*, *Osmoderma eremita*), in cinque aree protette gestite dal Corpo Forestale dello Stato (le Foreste Casentinesi, Castel di Sangro, Bosco della Fontana, la Foresta di Tarvisio e il Bosco della Mesola).
- 2) Un'attività di Citizen Science, con la creazione di un database nazionale di dati di presenza di 10 specie di insetti protetti dalla Direttiva Habitat attraverso l'acquisizione di segnalazioni da parte dei cittadini.
- 3) La divulgazione di tematiche quali Rete Natura 2000, il monitoraggio di specie di insetti protette, l'importanza della presenza del legno morto e delle specie saproxiliche negli ecosistemi forestali attraverso attività nelle scuole, giornate con il pubblico, e partecipazione ai principali canali media (stampa, radio, programmi televisivi e radiofonici). Uno dei metodi più innovativi del progetto è l'addestramento di un cane "molecolare" per la ricerca di *Osmoderma eremita*, cane definito appunto "Osmodog", primo caso europeo di cane addestrato per la ricerca di una specie animale da tutelare.

Alla fine della presentazione del progetto, l'Accademico Marco A. BOLOGNA chiede ai presenti una partecipazione attiva nella diffusione del progetto presso i colleghi e gli studenti delle relative sedi universitarie e di centri di ricerca, nonché nella raccolta di dati sul campo.

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

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 12 GIUGNO 2014

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

Il giorno 12 giugno 2014 alle ore 17:30 presso l'Hotel Marina Resort di Orosei (NU) sede del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria alla presenza degli Accademici:

Emeriti: R. DALLAI, L. MASUTTI, M. SOLINAS.

Ordinari: A. ALMA, S. BARBAGALLO, A. CASALE, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, M. MAROLI, M. MAZZINI, R. NANNELLI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA.

Straordinari: A. BATTISTI, P. BRANDMAYR, R. CERVO, A.M. FAUSTO, I. FLORIS, P. LUCIANO, F. NAZZI, G. PELLIZZARI, A. RUSSO, M. ZAPPAROLI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOCCHI, L. SANTINI, L. SÜSS, O. TRIGGIANI, S. ZANGHERI. *Ordinari:* M.A. BOLOGNA, S. LONGO, C. MALVA, G. NUZZACI, S. RAGUSA DI CHIARA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Straordinari: P.A. AUDISIO, S. COLAZZA, M. DACCORDI, E. DE LILLO, S. MAINI, B. MASSA.

Viene discusso il seguente Ordine del Giorno:

- 1) Approvazione del verbale delle sedute precedenti (21 e 22 febbraio 2014)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Consegna attestato Premio Osella 2014
- 4) Pubblicazioni dell'Accademia
- 5) Richiesta finanziamenti e Attività culturale 2015
- 6) Fauna d'Italia
- 7) Varie ed eventuali

- 1) APPROVAZIONE DEI VERBALI DELLE SEDUTE PRECEDENTI (21 E 22 FEBBRAIO 2014)

Vengono esaminati i verbali dell'Assemblea Plenaria del 22 febbraio 2014 e delle Sedute Pubbliche del 21 e 22 febbraio 2014, già inviati a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici. I verbali vengono approvati all'unanimità.

- 2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente Romano DALLAI comunica che:

- Nei giorni 22 e 23 maggio 2014 si è tenuto a Faenza il VII Corso di Allergologia e Dermatologia Entomologiche; anche questa volta la manifestazione ha riscosso un buon successo con ampia partecipazione di medici allergologi e dermatologi fino a coprire tutti i posti programmati dall'organizzazione. Nella prima sessione di giovedì 22 maggio, dedicata alla parte zoologica, la docenza è stata curata dagli Accademici Stefano TURILLAZZI, Rita CERVO, Pio Federico ROVERSI, Michele MAROLI e Roberto NANNELLI. Per lo svolgimento del Corso L'Accademia percepirà un compenso di 2000 Euro (IVA compresa).
- Su invito del Presidente, l'Accademico Michele MAROLI illustra ai presenti il programma scientifico dell'evento culturale dal titolo "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals" che verrà organizzato a Roma in onore dell'accademico Mario COLUZZI. L'evento si

terrà Venerdì 3 ottobre 2014, ore 10:30, presso l'Istituto di Zoologia, Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Charles Darwin dell'Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Viale dell'Università, Roma e sarà aperto con una breve "Introductory note" degli accademici A.M. FAUSTO e M. MAROLI. I relatori che hanno accettato di partecipare alla giornata sono:

- P. VOLF (Prague) - *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions
- A.P. RIZZOLI (S. Michele all'Adige, TN) - Driving forces for changes in geographical distribution of *Ixodes ricinus* ticks in Europe
- A. DELLA TORRE (Rome) - The cryptic complexity of malaria vectors in Africa: from *Anopheles gambiae* chromosomal forms to "*Anopheles coluzzi*"
- R. ROMI (Rome) - Probable autochthonous introduced malaria cases in Italy in 2009-2011 and the risk of local vector-borne transmission
- G. CAPELLI (Padua) - The importance and significance of entomological monitoring for new and old pathogens transmitted by Culicidae
- M. GOFFREDO (Teramo) - *Culicoides* in Italy: highlights on Bluetongue and Schmallenberg vectors.
- F. MONTARSI (Padua) - Current knowledge on the distribution and biology of the recently introduced invasive mosquito *Aedes koreicus*

L'Accademico MAROLI fa presente che sarà richiesto un piccolo contributo all'Accademia per le spese di un "light lunch" da servire ai partecipanti. Inoltre informa che presto verrà predisposta una locandina con richiesta di iscrizione da inviare agli Accademici, ai soci della Società di Entomologia Italiana e ad altre istituzioni potenzialmente interessate all'evento.

Chiesta e ottenuta la parola la Vice Presidente Barbara GIORDANA informa che la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), in previsione dell'ulteriore aumento della popolazione mondiale dagli attuali 7 a 9 miliardi entro il 2050, ha pressantemente sottolineato, nel corso della International Conference tenutasi a Roma nel 2013, la necessità ormai ineludibile di reperire nuove risorse per "nutrire il pianeta". La migliore fonte alternativa viene individuata negli insetti, sia come "food", ovvero cibo per gli umani laddove la cultura locale lo permette, che come "feed", cioè come principale additivo proteico nei mangimi animali. Sulla complessa natura della produzione di insetti destinati alla "Entomofagia", e sulle sue importanti ricadute ambientali e sociali, sono già da alcuni anni attive diverse iniziative in alcuni Paesi europei, che hanno anche ottenuto un rilevante finanziamento dalla Comunità Europea a sostegno di un articolato progetto di ricerca. Inoltre, lo scorso maggio a Wageningen (Olanda) ha avuto luogo la prima International Conference "Insects to Feed the World". Come già anticipato nella scorsa Assemblea di febbraio dagli Accademici S. TURILLAZZI e P.A. AUDISIO, diverse iniziative sono previste quest'anno anche in Italia, in varie sedi, finalizzate a presentare l'impegno anche italiano sull'Entomofagia nell'ambito di EXPO 2015. È indubbio il compito primario della comunità degli Entomologi in questo orientamento planetario promosso dalla FAO, destinato a rivoluzionare il problema delle risorse alimentari: le scelte delle specie più adatte allo scopo, le modalità di allevamento, i marcatori di qualità del processo di allevamento e del prodotto finale destinato alla trasformazione in farine, sono tutti problemi che richiedono competenze specifiche altamente qualificate. È molto importante che le prossime iniziative che si intende intraprendere in Italia siano rese note, in modo da poter coinvolgere tutti gli entomologi interessati in auspicabili progetti di ricerca e potenziali finanziamenti futuri.

Il Presidente informa l'Assemblea che a seguito dell'accettazione informale, da parte dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia e della Società Entomologica Italiana, dell'invito a organizzare in Italia il prossimo XI European Congress of Entomology, sono stati fatti ulteriori sforzi organizzativi per la preparazione di un documento propositivo da presentare a York il prossimo agosto, in occasione del X European Congress of Entomology. Tale documento verrà presentato dall'Accademico F. PENNACCHIO e prevede come sede del congresso Napoli, se non ci saranno eventuali altre proposte nelle prossime settimane da prendere in considerazione.

Su invito del Presidente l'Accademico Andrea BATTISTI comunica la disponibilità preliminare a organizzare il prossimo Congresso Nazionale Italiano di Entomologia a Padova. Sarà la

XXV edizione e presumibilmente si terrà a giugno o a settembre del 2016 per essere sufficientemente distanziato da altri Congressi in fase di organizzazione. A breve verranno definite le prime indicazioni organizzative.

3) CONSEGNA ATTESTATO PREMIO OSELLA 2014

Il Presidente consegna al dott. Giuseppe MAZZA, del CRA-ABP Centro di Ricerche per l'Agrobiologia e la Pedologia di Firenze vincitore del Premio Marco Osella 2014, il relativo attestato. Nell'ambito del XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia di Orosei attualmente in svolgimento il dott. Giuseppe MAZZA ha presentato una comunicazione orale (nella VI sessione - Insetti e microorganismi: un'associazione multifunzionale) dal titolo: Analisi del comportamento sociale e riproduttivo dei maschi sterili di *Rhynchophorus ferrugineus*. Implicazioni per il controllo biologico con agenti entomopatogeni.

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

4) PUBBLICAZIONI DELL'ACCADEMIA

Il Presidente invita l'Accademico Roberto NANNELLI, responsabile ufficiale a riferire in merito all'attività editoriale dell'Accademia.

L'Accademico Roberto NANNELLI rende noto che: nel mese di marzo sono stati pubblicati il volume degli Atti e Rendiconti dell'Accademia, Anno LXI, 2013 e i due volumetti della collana Tavole Rotonde sui maggiori problemi riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia, Monografia XXIV: "Salute degli Alveari e controllo di cocciniglie invasive: l'evoluzione della ricerca entomologica" e Monografia XXV: "Il Punteruolo rosso delle palme: nuove acquisizioni e possibilità di controllo demografico". Le pubblicazioni sono state inserite come PDF sul sito dell'Accademia e alcune copie cartacee saranno distribuite agli Accademici in occasione della prossima Assemblea di novembre.

5) RICHIESTA FINANZIAMENTI E ATTIVITÀ CULTURALE 2015

Su invito del Presidente il Tesoriere Roberto NANNELLI informa che la richiesta annuale di finanziamento al MIPAAF è stata presentata, come al solito nel mese di febbraio, e modificata in più riprese sulla base dei suggerimenti del funzionario ministeriale con cui eravamo in contatto. Alla metà di marzo è pervenuta una comunicazione che la procedura per la richiesta di contributi è stata cambiata con un decreto emesso dal MIPAAF alla fine del mese di febbraio. Con il nuovo decreto la richiesta di contributo deve essere formulata secondo la procedura a bando, con relativa modulistica, da presentare al MIPAAF due mesi prima dell'evento programmato. Il MIPAAF si riserva di finanziare l'evento sulla base del punteggio espresso da un'apposita commissione. La complessità della procedura fa pensare ad una forte contrazione dei finanziamenti da elargire.

Il Presidente richiama l'attenzione sulla attività culturale del prossimo novembre e dell'anno 2015.

Il programma già approvato prevede per il pomeriggio di venerdì 14 novembre una Tavola Rotonda coordinata dall'Accademico Alberto ALMA su "Insetti vettori di malattie delle piante" e per sabato 15 novembre una prima lettura dell'Accademico Nunzio ISIDORO su "Ultrastrutture di sensilli e ghiandole" e una seconda lettura dell'Accademico Gavino DELRIO su "Una vecchia diatriba dell'Entomologia: Berlese versus Silvestri".

Per incrementare l'attività culturale, il Presidente comunica che, sulla base dell'Accordo di Collaborazione sottoscritto in febbraio fra Accademia Nazionale Italiana di Entomologia e Società Entomologica Italiana, l'incontro previsto per novembre si articolerà su tre giorni, sotto forma di Giornate Culturali, con inizio nel primo pomeriggio di giovedì 13 e conclusione dei lavori nella mattinata del sabato 15 novembre. Il programma scientifico prevede, oltre alle già citate

Tavola Rotonda e Letture, altre sessioni relative alle interazioni fra insetti e microrganismi. Gli Accademici Andrea BATTISTI e Francesco PENNACCHIO raccoglieranno proposte in tal senso per elaborare un programma scientifico di massima entro la fine di luglio. Per potere coprire in parte i costi organizzativi, si prevede di definire una contenuta quota di iscrizione.

L'Assemblea si esprime favorevolmente in merito alla proposta e il Presidente invita gli Accademici Francesco PENNACCHIO e Andrea BATTISTI a predisporre un programma delle nuove Giornate Culturali proposte.

Per le prossime Sedute Pubbliche è doveroso prevedere le commemorazioni degli Accademici Graziella SERINI e Ferdinando BIN recentemente scomparsi.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Francesco PENNACCHIO si impegna a tenere una lettura commemorativa dell'Accademico Ferdinando BIN che potrà essere tenuta nel prossimo novembre in accordo con gli allievi del prof. BIN.

Per la commemorazione dell'Accademica Graziella SERINI l'Accademico Luciano SÜSS, assente giustificato, ha comunicato la sua disponibilità. Tale commemorazione verrà inserita nelle Adunanze del febbraio 2015.

Il programma delle attività culturali del 2015 rimarrà sostanzialmente quello approvato nell'Assemblea Plenaria del 16 novembre 2013 con le integrazioni che verranno ripresentate all'Assemblea nell'Adunanza del prossimo novembre.

6) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente, prende la parola l'Accademico Marzio ZAPPAROLI, Segretario Tesoriere del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia (CSFI) il quale, in assenza dell'Accademico M.A. BOLOGNA, Coordinatore del Comitato stesso, in missione all'estero, riferisce quanto segue:

a. *attività interna:*

- il 31 marzo 2014, il Prof. Augusto VIGNA TAGLIANTI, dopo 14 anni di appassionato lavoro, ha rassegnato le proprie dimissioni dall'incarico di Coordinatore del CSFI; il Comitato ha preso atto di questa decisione con rammarico ma, comprendendone i motivi, l'accetta, ringraziando calorosamente Augusto VIGNA TAGLIANTI per l'impegno profuso e i più che positivi risultati ottenuti in tutti questi anni;
- nell'aprile successivo, dopo attenta riflessione, il Prof. Marco Alberto BOLOGNA, offre la propria disponibilità a ricoprire l'incarico rimasto vacante e, nella riunione telematica del 9 maggio 2014, viene eletto all'unanimità Coordinatore del CSFI per il periodo 2014-2017;

b. *attività editoriale:*

- nel gennaio u.s. è stato consegnato al Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare (MATTM) il testo, a cura di E. CALVARIO ed A. MONTEMAGGIORI, che accompagnerà le tavole dell'Iconografia dei Passeriformi preparate da L. STARNINI; si ricorda che il CSFI venne incaricato da ISPRA di seguire a livello scientifico la preparazione del suddetto testo (referente Prof. Bruno MASSA); l'opera sarà pubblicata tramite ISPRA;
- alla fine di marzo c.a. è stato consegnato all'Editore Calderini-Il Sole 24 Ore il manoscritto del volume della Collana Fauna d'Italia dedicato ai Rotiferi marini (autori G. MELONE, W. DE SMET, D. FONTANETO, F. LEASI, C. RICCI; referente interno prof. M. CURINI-GALLETTI); l'opera è attualmente in fase di valutazione presso l'Editore;
- a maggio l'Editore Calderini – il Sole 24 Ore, ha consegnato al CSFI e ai curatori (L. CAGNOLARO, B. COZZI, G. NOTARBARTOLO DI SCIARA, M. PODESTÀ) le bozze della prima parte del volume della Collana Fauna d'Italia dedicato ai Cetacea; il XLIX della collana, il IV della serie dedicata ai Mammiferi; si ricorda che il volume sarà pubblicato direttamente dall'Editore Calderini-Il Sole 24 Ore, si auspica prima dell'inizio delle ferie estive;
- in giugno è stato chiesto alla Casa Editrice Calderini-Il Sole 24 Ore un incontro per fare il punto della situazione relativamente alla Collana Fauna d'Italia: si prevede che tale incontro possa avvenire nel luglio p.v.;

c. rapporti con le istituzioni:

- nello scorso mese di maggio, immediatamente dopo l'elezione del nuovo Coordinatore, si è ancora cercato di riprendere i contatti con il MATTM; da alcuni incontri informali avvenuti in occasioni diverse con collaboratori della Dirigente della Div. II - Tutela della biodiversità, D.G. per la Protezione della Natura e del Mare, Dott.ssa M.C. GIARRATANO, si conferma la posizione negativa del Ministero in questione, in particolare sull'eventuale seguito dell'Atto di Intesa dell'aprile 2002, rinnovato nel 2008, e sulla prosecuzione della Collana Fauna d'Italia stessa sotto la sua egida; non ostante le ripetute richieste, il MATTM continua a manifestare la sua indisponibilità a incontrare il CSFI;
- sempre nel maggio u.s., allo scopo di trovare nuove fonti di finanziamento per la Collana Fauna d'Italia, il CSFI ha chiesto e ottenuto un incontro con il Dott. Alessandro BOTTACCI, capo dell'Ufficio per la Biodiversità del Corpo Forestale dello Stato (CFS); con l'occasione sono state illustrate le finalità del CSFI, la sua pluriennale attività, la situazione attuale e la proposta di dar luogo ad un atto d'intesa principalmente finalizzato alla pubblicazione di volumi della Fauna d'Italia; il CFS ha espresso interesse per la collana e per le altre iniziative del CSFI, riconoscendone il valore scientifico e culturale, impegnandosi a presentare ai Dirigenti superiori la nostra richiesta; auspichiamo di avere una risposta nelle prossime settimane;
- è in fase di preparazione un incontro con l'Agenzia Regionale Parchi della Regione Lazio che, da primi informali contatti, sembra anch'essa interessata a sostenere finanziariamente la Collana Fauna d'Italia;
- altre attività del CSFI in questo ultimo periodo sono state la partecipazione al terzo incontro del Comitato Tecnico-scientifico del Network Nazionale della Biodiversità presso il MATTM (Roma, 15 maggio 2014) e la valutazione, su richiesta del MATTM, di progetti di ricerca su specie in Direttiva Habitat, per la possibilità di prelievo o manipolazione in deroga al DPR 357/97.

7) VARIE ED EVENTUALI

L'Accademico Francesco PENNACCHIO, Presidente della Società Entomologica Italiana, informa che sul sito ufficiale della SEI è disponibile una piattaforma che può essere utilizzata per videoconferenze, web TV ed e-learning. Pertanto, sarebbe auspicabile un suo uso per intensificare gli incontri culturali telematici fra persone che condividono specifici interessi. Gli interessati possono accedere al servizio facendone richiesta attraverso le modalità riportate sul sito web.

La seduta dell'Assemblea Plenaria è tolta alle ore 18:45

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

Assemblea ORDINARIA

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

Il giorno 12 giugno 2014 alle ore 18:50 il Presidente apre la seduta alla presenza degli Accademici:

Emeriti: R. DALLAI, L. MASUTTI, M. SOLINAS.

Ordinari: A. ALMA, S. BARBAGALLO, A. CASALE, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, M. MAROLI, M. MAZZINI, R. NANNELLI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, C. RAPISARDA.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, M.V. COVASSI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, L. SANTINI, S. ZANGHERI. *Ordinari:* M.A. BOLOGNA, S. LONGO, C. MALVA, G. NUZZACI, S. RAGUSA DI CHIARA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, L. SÜSS, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Viene discusso il seguente O.d.g.:

- 1) Approvazione del verbale della seduta precedente (22 febbraio 2014)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Varie ed eventuali

1) APPROVAZIONE DEL VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (22 FEBBRAIO 2014)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea Ordinaria del 22 febbraio 2014, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente comunica che:

- a norma dello Statuto (Articoli 12 e 13) e del Regolamento (Art. 7), a fronte di 4 posti disponibili per Accademico Ordinario e 9 posti per Accademico Straordinario, sono pervenute entro il 30 aprile 2014 le seguenti proposte per nuovi Accademici per essere votate nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2014:
 - Tre proposte per Accademico Straordinario per i professori: Massimo CRISTOFARO presentato dagli Accademici Augusto VIGNA TAGLIANTI, Marco Alberto BOLOGNA e Pio Federico ROVERSI;
 - Antonella DI PALMA presentata dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Mario SOLINAS e Giuseppe ROTUNDO;
 - Salvatore GERMINARA presentato dagli Accademici Giuseppe ROTUNDO, Stefano TURILLAZZI e Pio Federico ROVERSI.
 - Una proposta per nuovo Accademico Ordinario che riguarda l'Accademico Straordinario Paolo Aldo AUDISIO presentato dagli Accademici Augusto VIGNA TAGLIANTI, Marco Alberto BOLOGNA e Francesco PENNACCHIO.

3) VARIE ED EVENTUALI.

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Ordinaria è tolta alle ore 19:05

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

VERBALI DELLE ADUNANZE DEL 14 - 15 NOVEMBRE 2014

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

SEDUTA PUBBLICA

Venerdì 14 novembre 2014 alle ore 14:30, a Firenze Cascine del Riccio Via Lanciola 12/A, come da convocazione del Presidente, iniziano i lavori della Seduta Pubblica.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: M.V. COVASSI, R. DALLAI, L. MASUTTI, L. SANTINI.

Ordinari: A. ALMA S. BARBAGALLO, A. BATTISTI, P. BRANDMAYR, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, P. LUCIANO, M. MAROLI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, F. PENNACCHIO, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI.

Straordinari: R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, N. ISIDORO, B. MASSA, F. NAZZI, A. RUSSO.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, A.M. BONVICINI PAGLIAI, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, M. SOLINAS, S. ZANGHERI. *Ordinari:* A. BINAZZI, M.A. BOLOGNA, A. CASALE, S. MAINI, C. MALVA, M. MAZZINI, A. MINELLI, M. OLMI, R. POGGI, L. SÜSS, O. TRIGGIANI, A. VIGNA TAGLIANTI. *Straordinari:* P.A. AUDISIO, M. BIONDI, M. DACCORDI, A.M. FAUSTO, I. FLORIS, F. FRATI, G. GARGIULO, G. PELLIZZARI, M. ZAPPAROLI.

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

Il tema della Tavola Rotonda verte su:

Insetti vettori di agenti fitopatogeni

Il Presidente Romano DALLAI apre la seduta Pubblica e invita l'Accademico Alberto ALMA a coordinare i lavori.

– Accademico Alberto ALMA: *Introduzione*

Si susseguono gli interventi:

- Giovanni Paolo MARTELLI (Università di Bari) - *“Appunti su virosi della vite trasmesse da vettori aerei”*
- Assunta BERTACCINI (Università di Bologna) - *“Stato delle conoscenze sulle malattie dovute a procarioni fitopatogeni”*
- Domenico BOSCO (Università di Torino) - *“Xylella fastidiosa: vettori accertati e potenziali in America e in Europa”*
- Giuseppe COCUZZA (Università di Catania) - *“Vettori di malattie degli agrumi: stato attuale delle conoscenze e problemi emergenti”*
- Rosemarie TEDESCHI (Università di Torino) - *“Vettori di agenti fitopatogeni: nuove acquisizioni sul comportamento per lo studio dell'epidemiologia e la gestione”*
- Valerio MAZZONI (CRI - Fondazione Edmund Mach) - *“Dieci anni di studi sulla comunicazione vibrazionale in Scaphoideus titanus: dalla teoria alla pratica”*
- Nicola MORI (Università di Padova) - *“Strategie di controllo ecosostenibile dei vettori associati ai giallumi della vite”*

Segue un'interessante discussione, al termine della quale la Seduta si conclude alle ore 17:30. I testi delle relazioni verranno pubblicati sugli Atti-Rendiconti 2014 dell'Accademia

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA PLENARIA

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

Sabato 15 novembre 2014 alle ore 09:30, a Firenze Cascine del Riccio, Via Lanciola 12/A, come da convocazione del Presidente iniziano i lavori dell'Assemblea Plenaria.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: M.V. COVASSI, R. DALLAI, L. MASUTTI, L. SANTINI, M. SOLINAS.

Ordinari: S. BARBAGALLO, A. BATTISTI, A. BINAZZI, M.A. BOLOGNA, P. BRANDMAYR, A. CASALE, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, P. LUCIANO, S. MAINI, C. MALVA, M. MAROLI, M. MAZZINI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, M. OLMI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Straordinari: P.A. AUDISIO, R. CERVO, S. COLAZZA, E. DE LILLO, A.M. FAUSTO, F. FRATI, G. GARGIULO, N. ISIDORO, B. MASSA, F. NAZZI, A. RUSSO, M. ZAPPAROLI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, S. ZANGHERI. *Ordinari:* A. MINELLI, L. SÜSS. *Straordinari:* M. DACCORDI, G. PELLIZZARI.

Viene discusso il seguente Ordine del Giorno:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (12 giugno 2014)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Proclamazione e consegna Diplomi nuovi Accademici Ordinari (Andrea BATTISTI, Pietro BRANDMAYR, Pietro LUCIANO, Stefano MAINI)
- 4) XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia (Orosei - Nu, 9-14/06/2014)
- 5) Fauna d'Italia
- 6) Programma definitivo delle Sedute pubbliche per l'Anno Accademico 2015
- 7) Varie ed eventuali

- 1) APPROVAZIONE DEL VERBALE DELLA SEDUTA PRECEDENTE (12 GIUGNO 2014)

Viene esaminato il verbale della Seduta Plenaria del 12 giugno 2014, già inviato a suo tempo per posta elettronica agli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

- 2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE

Il Presidente ricorda che si sono appena concluse, presso la sede dell'Accademia a Firenze, la Giornata Culturale di giovedì 13 novembre, su "Le interazioni fra insetti e microrganismi" e il Workshop di venerdì 14 novembre organizzato congiuntamente dalla Società Entomologica Italiana, sezione Agraria, e dalla Società Italiana di Patologia Vegetale su "Interazioni funghi-insetti nelle piante". Ai due eventi ha partecipato un pubblico numeroso di ricercatori. Gli argomenti trattati hanno consentito di evidenziare settori di ricerca particolarmente promettenti e di consolidare i rapporti di collaborazione fra la nostra Accademia, la Società Italiana di Entomologia e la Società Italiana di Patologia Vegetale. Il Presidente sottolinea l'importanza di arricchire l'attività culturale con tali eventi che si aggiungono all'ordinaria programmazione dell'Accademia e consentono di intensificare i rapporti con altre istituzioni scientifiche.

In occasione del XV Congresso dell'Associazione Italiana per lo Studio degli Artropodi Sociali e Presociali (A.I.S.A.S.P.), che si è tenuto a Reggio Emilia il 18 e 19 settembre scorso, è stata eletta, come nuovo Presidente, l'Accademica Straordinaria Rita CERVO. Il Presidente si congratula con la neo eletta per il prestigioso incarico.

Il 3 ottobre scorso, a Roma si è svolta la Giornata di Studio "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals" in onore dell'Accademico Mario COLUZZI mancato nell'ottobre 2012. L'evento è stato organizzato dagli Accademici Michele MAROLI e Anna Maria FAUSTO presso il Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Charles Darwin dell'Università degli Studi di Roma "La Sapienza". Le relazioni sono state molto apprezzate dal numeroso e qualificato pubblico che ha partecipato.

Nel mese di ottobre si è tenuta a Milano una Giornata di Studio sulle opportunità economiche degli allevamenti di insetti per alimentazione animale e umana. Il Presidente invita la Vice Presidente Barbara GIORDANA a riferire su tale interessante e importante convegno. La Vice Presidente informa che: sullo sviluppo dell'utilizzo degli insetti come base per mangimi animali (feed) o direttamente per l'alimentazione umana (food), già affrontato da tempo in diversi Paesi europei, si stanno ora muovendo diverse iniziative anche in Italia, come già anticipato nelle riunioni dell'Accademia di febbraio e giugno di quest'anno. Il 16 ottobre scorso, la Società Umanitaria a Milano ha promosso un evento dal titolo "Nutrire il pianeta con nuove fonti sostenibili – L'insetto nel piatto", articolato in una mattina di interventi programmati e in un incontro pomeridiano su tavoli tematici. Il primo degli interventi programmati ha illustrato le numerose ragioni che hanno portato la FAO a promuovere a livello globale la necessità, tassativa per uno sviluppo sostenibile del pianeta, di sostituire le proteine animali attualmente utilizzate per l'alimentazione con proteine di insetti. Gli interventi successivi hanno messo in evidenza una serie di urgenze che devono essere affrontate anche in Italia, quali: la formazione di un network scientifico per la promozione di ricerche sulle criticità legate alla produzione di insetti su larga scala; lo sviluppo di una adeguata cornice interculturale che, sulla base del tradizionale uso alimentare di insetti in molte culture, che verrà senza dubbio evidenziato nel corso di EXPO 2015, ne faciliti l'accettazione nel mondo occidentale; l'approfondimento dei problemi riguardanti la sicurezza alimentare; lo sviluppo di adeguati quadri normativi per la regolamentazione dell'utilizzo di insetti. Nel pomeriggio ha avuto luogo una ampia discussione su diversi tavoli tematici, e sulla base delle osservazioni emerse nel corso del dibattito sono state identificate da parte degli organizzatori della giornata (Società Umanitaria e Università Cattolica di Piacenza) cinque aree tematiche da sviluppare nell'ambito di opportuni gruppi di lavoro. Una di queste aree, di specifico interesse per gli entomologi, si intitola "Allevamento di insetti commestibili: ricerca, opportunità e cautele", ed è coordinata dal prof. Mario COLOMBO (Università di Milano) e dal prof. Roberto VALVASSORI (Università dell'Insubria), che possono essere contattati dagli entomologi interessati.

Chiesta e ottenuta la parola l'Accademico Francesco PENNACCHIO interviene sull'argomento informando che la Società Entomologica Italiana ha ricevuto richiesta di costituzione di un gruppo di lavoro su questa tematica e metterà a disposizione il sito web e la piattaforma elettronica per facilitare lo svolgimento dei lavori di redazione di un documento alla cui stesura potranno partecipare tutte le persone interessate.

Su invito del Presidente L'Accademico Francesco PENNACCHIO riferisce inoltre in merito alla situazione della rivista "Entomologia". La rivista ha prodotto due numeri per il 2014, per un numero complessivo di lavori che si prevede di 15. Il percorso non semplice di avvio e consolidamento sembra avere intrapreso la direzione giusta, ma è necessario che la nostra comunità scientifica si faccia carico di promuovere ulteriormente questa nuova rivista lanciata congiuntamente dall'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia e la Società Entomologica Italiana.

L'Accademico Francesco PENNACCHIO prosegue poi fornendo informazioni sull'organizzazione del prossimo Congresso Europeo di Entomologia a Napoli nel 2018. Nel corso del X European Congress of Entomology, tenuto a York (UK) nel mese di agosto del 2014, il Presidium ECE ha deciso di accettare all'unanimità la candidatura Italiana per l'organizzazione del prossimo Congresso Europeo, che si terrà a Napoli dal 2 al 6 luglio del 2018. L'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia e la Società Entomologica Italiana promuoveranno congiuntamente l'or-

ganizzazione di questo importante evento e si avvarranno, per tutta la parte logistica, dei servizi forniti dalla Event Planet S.r.l., con la quale è in via di definizione un contratto di collaborazione che verrà sottoscritto a breve. Nel corso del 2015, sarà necessario avviare la costituzione formale del Comitato Scientifico dell'XI ECE 2018.

Su invito del Presidente, il Tesoriere Roberto Nannelli riferisce che, come era stato annunciato nell'Assemblea dello scorso giugno, nel mese di marzo è stato pubblicato il volume degli Atti e Rendiconti dell'Accademia relativamente all'attività del 2013. Con il parziale finanziamento del MIPAAF sono state realizzate anche due monografie della collana Tavole Rotonde sui maggiori problemi riguardanti l'Entomologia Agraria in Italia, Monografia XXIV: "Salute degli Alveari e controllo di cocciniglie invasive: l'evoluzione della ricerca entomologica" e Monografia XXV: "Il Punteruolo rosso delle palme: nuove acquisizioni e possibilità di controllo demografico". Le pubblicazioni insieme al volume degli Atti 2013, sono state inserite come PDF sul sito dell'Accademia e alcune copie cartacee sono disponibili per gli Accademici presenti.

A partire da gennaio inizierà la preparazione del volume degli Atti con l'attività culturale 2014, ma non avendo ricevuto dal MIPAAF nessun finanziamento, nemmeno come forma di rimborso, non sarà possibile preparare nuove monografie.

3) PROCLAMAZIONE E CONSEGNA DIPLOMI AI NUOVI ACCADEMICI ORDINARI (ANDREA BATTISTI, PIETRO BRANDMAYR, Pietro LUCIANO, Stefano MAINI)

Il Presidente consegna i Diplomi di Accademico Ordinario ai neonominati Andrea BATTISTI, Pietro BRANDMAYR, Pietro LUCIANO, Stefano MAINI.

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

4) XXIV CONGRESSO NAZIONALE ITALIANO DI ENTOMOLOGIA (OROSEI 2014)

L'Accademico Pietro LUCIANO, su invito del Presidente fornisce informazioni sul XXIV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia che si è tenuto ad Orosei (NU) dal 9 al 14 giugno 2014.

Al Congresso hanno partecipato 212 ricercatori e studiosi provenienti dalle Università italiane e dai maggiori Centri pubblici di ricerca entomologica; circa il 50% dei convenuti erano giovani ricercatori in buona parte precari.

Probabilmente per i costi di trasferimento in Sardegna e/o per le limitate risorse oggi disponibili si è registrata una flessione nel numero complessivo dei partecipanti rispetto agli ultimi due Congressi tenuti ad Ancona (1999) e Genova (2011), ai quali sono intervenuti rispettivamente 244 e 299 ricercatori.

Il Congresso è stato preceduto dal 5° Meeting internazionale delle Scuole di Dottorato in Insect Science al quale hanno partecipato 77 giovani provenienti da Università della Francia, dell'Inghilterra, del Belgio, del Lussemburgo e dell'Italia.

Le attività congressuali sono state arricchite dalle relazioni di alcuni studiosi stranieri che hanno apportato contributi originali e innovativi.

Il Congresso si è articolato in sessioni plenarie e parallele per dare spazio a 85 fra letture plenarie e comunicazioni orali e all'illustrazione di 137 poster.

La tematica congressuale "Interazioni fra insetti, ambiente e mezzi di controllo" è stata suddivisa in quattro filoni per ciascuno dei quali si riporta il numero delle comunicazioni orali e dei poster:

- Specie alloctone e cambiamenti climatici. Sistematica e Biogeografia (comunicazioni n. 10, poster n. 24)
- Protezione integrata e post-raccolta (comunicazioni n. 19, poster n. 38)
- Interazioni fra insetti e salute dell'uomo e degli animali (comunicazioni n. 8, poster n. 22)
- Interazioni: strutture, funzioni, ecologia (comunicazioni n. 38, poster n. 53)

I riassunti delle comunicazioni orali e i poster sono stati pubblicati in due e-book nel sito del Congresso (www.cnie24.it); gli atti riportano ciascuno un codice ISBN che ne permette il riconoscimento internazionale; i due e-book sono integralmente scaricabili e quindi disponibili per la comunità scientifica.

A contorno dei lavori congressuali:

- è stata predisposta una Mostra sull'Apicoltura in Sardegna, tenuta aperta dal 7 al 20 giugno in un locale del centro storico di Orosei; ai visitatori sono stati offerti campioni di mieli e una brochure a stampa sui "Mieli di Sardegna";
- con lo scopo di coinvolgere i cittadini residenti sulle tematiche congressuali, si è tenuta, presso la Sala consiliare del Comune di Orosei, una conferenza pubblica sul tema "Aiutatemi! Ho la casa invasa da insetti" tenuta dal Dott. M. MAROLI;
- è stata compiuta una visita ai musei della città di Nuoro;
- si è svolta la prevista escursione naturalistica nel Supramonte di Orgosolo.

Dopo il dettagliato rapporto, il Presidente ringrazia l'Accademico Ordinario Pietro Luciano per l'elevato risultato scientifico del Congresso e per il suo encomiabile impegno organizzativo.

5) FAUNA D'ITALIA

Su invito del Presidente, l'Accademico Marco A. BOLOGNA, Presidente del Comitato Scientifico per la Fauna d'Italia, prende la parola e riferisce.

La situazione editoriale è assai grave: dopo la pubblicazione dell'ultimo volume degli Orthoptera, a cura dell'Accademico B. MASSA *et al.*, l'Editore Calderini non ha ancora provveduto alla stampa del volume sui Cetacei, a cura del compianto prof. CAGNOLARO *et al.*, previsto per novembre, ma in probabile uscita a gennaio, poiché le terze bozze sono già state riviste dagli autori. Nella disponibilità del Comitato c'è un volume sui Rotiferi marini a cura di G. MELONE *et al.*, non ancora consegnato per motivi di prudenza dovuti alla situazione editoriale (vedi successivamente). È inoltre in preparazione un volume sugli Ascidiacei.

Il Comitato Scientifico ha ripetutamente, ma inutilmente, cercato di avere un incontro chiarificatore con l'Editore, che nel frattempo ha cambiato proprietà, da Sole24Ore a New Business Media. Finora, nonostante i numerosi solleciti, non si è avuta alcuna risposta positiva. Nel frattempo, in modo informale, è stato contattato un collega entomologo, l'Avv. Alberto BALLERIO di Brescia che, sensibile alle problematiche della Fauna d'Italia, ha voluto generosamente mettere a disposizione le sue competenze legali istruendo la pratica e rendendosi pronto a contattare formalmente l'Editore. Nel frattempo si è cercato di riattivare le fonti di finanziamento per la stampa da parte del MATTM e da altri enti, ma senza successo.

Ogni azione tendente a chiarire la situazione di stallo con la casa editrice, inadempiente sull'obbligo di pubblicare annualmente volumi della Fauna, e l'eventuale ricerca di un nuovo Editore, verrà attuata dopo ulteriore attenta ponderazione da parte del Comitato e comunque dopo la stampa del volume dei Cetacei.

6) PROGRAMMA DEFINITIVO DELLE SEDUTE PUBBLICHE PER L'ANNO ACCADEMICO 2015

Il Presidente conferma che nel 2015 le Adunanze dell'Accademia si terranno a Firenze il 20 e 21 febbraio, il 12 e 13 giugno e il 13 e 14 novembre.

- Nella Seduta Pubblica di venerdì 20 febbraio è prevista una Tavola Rotonda su "Evoluzione dell'Acarologia nell'ecosistema agrario" coordinata dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Salvatore RAGUSA DI CHIARA e Roberto NANNELLI.
- Nella Seduta Pubblica di sabato 21 febbraio è prevista la lettura del prof. Haralabos TSOLAKIS dell'Università di Palermo su "La sistematica dei Phytoseiidae: cenni storici, situazione attuale e prospettive di sviluppo". In tale occasione è prevista anche la commemorazione

dell'Accademico Emerito Graziella BOLCHI SERINI da parte dell'Accademico Ordinario Luciano SÜSS.

- Nella Seduta Pubblica di venerdì 12 giugno è prevista la Tavola Rotonda su “Tecniche di lotta ed eradicazione di fitofagi di interesse forestale” coordinata dagli Accademici Pietro LUCIANO, Andrea BATTISTI, Alberto ALMA e Pio Federico ROVERSI.
- in occasione delle Adunanze di sabato 13 giugno è prevista una Seduta Pubblica in cui l'Accademico Straordinario Nunzio ISIDORO terrà una lettura su “Ultrastrutture di sensilli e ghiandole”.
- Nella Seduta Pubblica di venerdì 13 novembre è prevista la Tavola Rotonda su “La statistica nella ricerca entomologica: dall'analisi inferenziale ai modelli previsionali” coordinata dall'Accademico Straordinario Maurizio BIONDI.
- In occasione delle Adunanze di sabato 14 novembre è prevista una Seduta pubblica in cui l'Accademico Straordinario Maurizio BIONDI terrà una lettura su “Il fenomeno dell'endemismo nell'entomofauna italiana: stato dell'arte, conservazione, gestione”.

Il Presidente richiama l'attenzione sull'esigenza di una programmazione pluriennale dell'attività culturale dell'Accademia e invita a proporre argomenti da trattare nel 2016. Segue una partecipata discussione da cui emerge l'interesse per alcune iniziative. Per febbraio gli Accademici Gavino DELRIO e Giuseppe ROTUNDO forniscono la disponibilità a organizzare una Tavola Rotonda sulla mosca delle olive.

Gli Accademici Giorgio NUZZACI e Sebastiano BARBAGALLO si dichiarano interessati a presentare una lettura sugli insetti vettori di *Xylella fastidiosa*, batterio che in questo periodo sta danneggiando gli olivi in Puglia e comporta un elevato rischio anche per molte altre piante.

Nel periodo dal 20 al 24 giugno 2016 è previsto a Padova il XXV Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. A questo proposito, su invito del Presidente, è intervenuto l'Accademico Andrea BATTISTI che ha mostrato la sede del Congresso e fornito indicazioni preliminari sulla sua organizzazione.

L'Accademico Paolo Aldo AUDISIO richiama l'attenzione sui rischi per l'apicoltura derivanti dalla presenza del Coleottero *Aethina tumida*, segnalata in Regioni dell'Italia meridionale e in Sicilia, che potrebbero essere esaminati nelle Sedute Pubbliche di novembre.

7) Varie ed eventuali

Nessuna

La seduta dell'Assemblea Plenaria è tolta alle ore 10:10

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

SEDUTA PUBBLICA

Sabato 15 novembre 2014 alle ore 10:15 il Presidente Romano DALLAI dichiara aperta la Seduta Pubblica.

Oltre agli Accademici presenti all'Assemblea Plenaria partecipano anche altri numerosi studiosi ospiti dell'Accademia.

Il Presidente dà la parola all'Accademico Ordinario Gavino DELRIO per la lettura: “*La diatriba tra Antonio Berlese e Filippo Silvestri sulla lotta artificiale e naturale contro la mosca delle*

olive ed evoluzione di queste tecniche di lotta". Segue una breve discussione con alcuni interventi, al termine della quale il Presidente ringrazia il relatore e coloro che sono intervenuti.

Il Presidente dà successivamente la parola all'Accademico Ordinario Francesco PENNACCHIO per la commemorazione dell'Accademico Ordinario Ferdinando BIN.

Il Presidente invita poi il prof. Eric CONTI dell'Università di Perugia a proseguire con il proprio contributo alla commemorazione dell'Accademico Ferdinando BIN.

Il testo della lettura e delle due commemorazioni verrà pubblicato sugli Atti-Rendiconti 2014. La Seduta è tolta alle ore 12:05.

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

ASSEMBLEA ORDINARIA

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

Sabato 15 novembre 2014 alle ore 12:05, a Firenze Cascine del Riccio, Via Lanciola 12/A, come da convocazione del Presidente iniziano i lavori dell'Assemblea Ordinaria.

Sono presenti gli Accademici:

Emeriti: M.V. COVASSI, R. DALLAI, L. MASUTTI, L. SANTINI, M. SOLINAS.

Ordinari: S. BARBAGALLO, A. BATTISTI, A. BINAZZI, M.A. BOLOGNA, P. BRANDMAYR, A. CASALE, P. CRAVEDI, G. DELRIO, B. GIORDANA, P. LUCIANO, S. MAINI, C. MALVA, M. MAROLI, M. MAZZINI, R. NANNELLI, G. NUZZACI, M. OLMI, F. PENNACCHIO, R. POGGI, S. RAGUSA DI CHIARA, C. RAPISARDA, G. ROTUNDO, P.F. ROVERSI, S. TURILLAZZI, A. VIGNA TAGLIANTI.

Hanno giustificato la propria assenza gli Accademici: *Emeriti:* A. ARZONE, P. BARONIO, G. BRIOLINI, F. FRILLI, A. GALVAGNI, E. MELLINI, G. MINEO, R. MONACO, G. OSELLA, F. PEGAZZANO, M.M. PRINCIPI, L. RIVOSECCHI, S. ZANGHERI. *Ordinari:* A. MINELLI, L. SÜSS.

Viene discusso il seguente Ordine del Giorno:

- 1) Approvazione verbale seduta precedente (12 giugno 2014)
- 2) Comunicazioni del Presidente
- 3) Esame e approvazione Bilancio preventivo a.f. 2015
- 4) Votazioni per elezione nuovo Accademico Ordinario
- 5) Votazioni per elezione nuovi Accademici Straordinari
- 6) Varie ed eventuali

- 1) APPROVAZIONE DEI VERBALI DELLA SEDUTA PRECEDENTE (12 GIUGNO 2014)

Viene esaminato il verbale dell'Assemblea Ordinaria del 12 giugno 2014, già inviato a suo tempo per posta elettronica a domicilio degli Accademici, che viene approvato all'unanimità.

- 2) COMUNICAZIONI DEL PRESIDENTE.

Il Presidente dichiara che non vi sono comunicazioni.

- 3) ESAME E APPROVAZIONE BILANCIO PREVENTIVO ANNO FINANZIARIO 2015

Su invito del Presidente, il Tesoriere Roberto NANNELLI informa che all'inizio del mese di novembre è stata predisposta una bozza di bilancio che è stata inviata per e-mail a ciascuno dei

componenti del Collegio dei Revisori dei Conti. Non essendo emersi rilevi è stato poi concordato con il Presidente del Collegio (Dr.ssa Adele DE LUCA) di ratificare il bilancio in una prossima riunione da tenere prima dell'Assemblea dell'Accademia del febbraio 2015, in cui dovrà essere ratificato anche il Bilancio consuntivo 2014.

Viene quindi presentata in Assemblea la bozza di bilancio con riserva di approvazione appena sarà possibile convocare il Collegio dei Revisori dei conti per la stesura del verbale e la ratifica definitiva.

Il Tesoriere illustra i diversi punti della bozza di Bilancio preventivo 2015 ed evidenzia l'esiguità delle risorse disponibili per l'attività culturale dell'Accademica.

L'unico finanziamento assicurato risulta essere quello del MIBAC che verrà impiegato per la pubblicazione del volume degli Atti e Rendiconti relativamente all'attività svolta nel 2014.

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

4) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVO ACCADEMICO ORDINARIO

A norma dello Statuto (Articoli 12 e 13) e del Regolamento (Art. 7), a fronte di 4 posti disponibili per Accademico Ordinario, è pervenuta entro il 30 aprile 2014 la seguente proposta per nuovo Accademico Ordinario per essere votata nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2014:

- Paolo Aldo AUDISIO presentato dagli Accademici Marco Alberto BOLOGNA, Augusto VIGNA TAGLIANTI e Francesco PENNACCHIO.

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

Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura dell'Accademico Straordinario Paolo Aldo AUDISIO. Come previsto dall'art. 12 l'Accademico, Marco Alberto BOLOGNA illustra all'Accademia i meriti scientifici e accademici del candidato.

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

5) VOTAZIONI PER ELEZIONE NUOVI ACCADEMICI STRAORDINARI

A norma dello Statuto (Articoli 12 e 13) e del Regolamento (Art. 7), a fronte di 9 posti per Accademico Straordinario, sono pervenute entro il 30 aprile 2014 le seguenti 3 proposte per nuovi Accademici Straordinari per essere votate nell'Assemblea Ordinaria di novembre 2014:

- prof. Massimo CRISTOFARO presentato dagli Accademici Augusto VIGNA TAGLIANTI, Pio Federico ROVERSI e Marco Alberto BOLOGNA
- prof. Antonella DI PALMA presentata dagli Accademici Giorgio NUZZACI, Mario SOLINAS e Giuseppe ROTUNDO
- prof. Giacinto Salvatore GERMINARA presentato dagli Accademici Giuseppe ROTUNDO, Stefano TURILLAZZI e Pio Federico ROVERSI

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

Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Massimo CRISTOFARO. Come previsto dall'art. 12 c.2, l'Accademico Marco Alberto BOLOGNA illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Massimo CRISTOFARO Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2014-2019.

Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura della prof. Antonella DI PALMA. Come previsto dall'art. 12 c.2 l'Accademico Giorgio NUZZACI illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Antonella DI PALMA Accademica Straordinaria dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2014-2019.

Viene portata in votazione a scrutinio segreto la candidatura del prof. Giacinto Salvatore GERMINARA. Come previsto dall'art. 12 c.2, l'Accademico Giuseppe ROTUNDO illustra all'Assemblea i meriti scientifici e accademici del candidato.

Il candidato raggiunge il quorum richiesto e il Presidente proclama Giacinto Salvatore GERMINARA Accademico Straordinario dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia per il quinquennio 2014-2019.

6) VARIE ED EVENTUALI

Nessuna

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

Il Segretario
Piero CRAVEDI

Il Presidente
Romano DALLAI

COMMEMORAZIONE

LUIGI DE MARZO (1947-2013)

MARIO SOLINAS (*) - GIORGIO NUZZACI (*)

(*) Accademici

Commemorazione tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 22 febbraio 2014.

MARIO SOLINAS

Ricordi di un amico e collaboratore

Luigi De Marzo, *Gino* per i familiari, amici e collaboratori, era una persona tranquilla e gioiosa, particolarmente educato e gentile, ordinato e determinato nei suoi programmi di lavoro e di studio ma sempre disponibile, generoso e pronto all'ascolto e all'accoglienza degli altri, modesto e rispettoso (specialmente dei più anziani) ma sempre schietto, libero e di rara onestà intellettuale. Come entomologo è sempre stato un naturalista-amatore degli insetti, anche da accreditato studioso-professionista e docente universitario di Entomologia agraria e forestale.

Conobbi Gino per caso e indirettamente, in occasione di una mia fugace visita a casa sua con suo fratello Carlo, col quale dividevamo da buoni amici avventure e disavventure assembleari sessantottine nell'Università di Bari: Carlo era docente presso il rinomato Istituto di Fisica di quell'Ateneo ed io in quello di Entomologia Agraria. Fu in quella occasione che, mentre Carlo era impegnato a parlare o sbrigare qualcosa con sua madre, guardando fuori nel terrazzino della cucina, fui attratto da un cospicuo numero di gabbie e gabbiette ricavate da contenitori recuperati di vario genere e di varia natura, sistemate su uno scaffale a muro, che mi fecero pensare subito ad una sorta di insettario di proporzioni modeste ma ben organizzato. Incuriosito non poco, mi avvicinai per vedere meglio e vidi che in quelle gabbiette c'erano insetti vivi in vari stadi di sviluppo, mentre poggiate a terra c'erano alcune cassette con terricci vari e alcuni boccaci con acqua fangosa. Prima di allontanarmi da quella cucina e da quel terrazzino-insettario, espressi a Carlo la



Foto 1 – Relazione al Convegno su “Cristoforo Colombo: effetti di una scoperta su agricoltura ed ecosistemi in Europa” (Università della Basilicata, Potenza, giugno 1992).



Foto 2 – Seduta di laurea Potenza, 1991.



Foto 3 - Alla scrivania di casa in atteggiamento di studio.

mia sorpresa e gli domandai se oltreché di Fisica egli si occupasse anche di insetti. Egli mi rispose sorridendo che non lui ma un suo fratello più giovane (Gino) coltivava tale hobby, procurando di conseguenza in quel terrazzino (oltre che in un bagnetto trasformato all'occorrenza in laboratorio fotografico per la ripresa, sviluppo e stampa di fotografie di insetti) un considerevole impiccio per la sua pazientissima madre.

Chiesi allora a Carlo di raccontarmi qualcosa di più di questo suo fratello entomologo dilettante, e così venni a sapere che a quell'epoca (primi anni settanta) Gino era studente universitario di Scienze Biologiche nell'Università di Bari ma, come perito industriale elettrotecnico, si stava preparando per partecipare ad un concorso per Tecnico coadiutore presso l'Istituto di Fisica dell'Università. Chiesi e ottenni da Carlo di invitare Gino a venirmi a trovare in Istituto di Entomologia, ed egli venne, anzi, perché avessimo più tempo per parlare e onde sfruttare al meglio l'occasione per conoscerci, egli accettò di buon grado di accompagnarmi in escursione sul Gargano, dove a quell'epoca stavo conducendo osservazioni biologiche e relative raccolte di materiale di studio sul Buprestide del leccio (*Coroebus florentinus*). Così ebbi presto modo di conoscere personalmente Gino e di rendermi conto anche "sul campo" della sua passione naturalistica e delle sue eccezionali capacità di approccio alle nostre ricerche entomologiche.

Si dava, tra l'altro, la felice coincidenza che anche per il nostro Istituto di Entomologia era stato bandito un posto per Tecnico coadiutore e stavano quasi per scadere i termini per la presentazione delle domande al concorso. Non sentivo personalmente alcun dubbio che la strada per Gino fosse quella degli studi entomologici, e che



Foto 4 – Raccolta Ditiscidi in natura (Febbraio 1979).

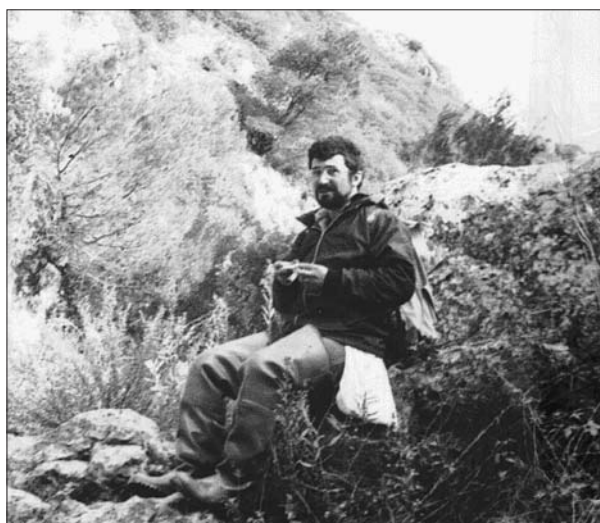


Foto 5 – Escursione entomologica sulla gravina di Palagianello (Primavera 1980)



Foto 6 – Raccolta entomologica a Policoro (Novembre 1981) in compagnia del Prof. Giuseppe Osella (primo a sinistra) e dell'amico collaboratore Fernando Angelini.

pertanto non si poteva lasciar perdere l'occasione che egli venisse a far parte dell'Istituto di Entomologia, per lasciarlo andare a sistemarsi sia pure onorevolmente presso un Istituto di Fisica. Ciò sarebbe stato un grave errore ed una sicura



Foto 7 – Bozzetto familiare con sua moglie, Signora Raffaella, il primogenito Angelo e la sorellina Maria Pia ancora nel seno materno (Marzo 1983).



Foto 8 – Con moglie e figli in occasione della Prima Comunione di Angelo e Maria Pia (17 maggio 1992).

perdita per lui personalmente e per l'Entomologia.

La mattina seguente andai subito a riferirne al mio Direttore d'Istituto, Prof. Domenico Roberti, il quale, dopo avermi ascoltato con particolare attenzione e vivo interesse, concludeva in pieno accordo con me che, nonostante a quel nostro posto a Concorso fossero state presentate tante domande, perfino da parte di neolaureati interni all'Istituto, non si poteva fare a meno di invitare a partecipare al Concorso un appassionato e capace entomologo amatore come quello fortunatamente incontrato in Luigi De Marzo.

Gino partecipò a quel Concorso e lo vinse con indiscutibile superiorità e naturalezza, come c'era da aspettarsi, tanto da lasciare pacificamente convinti anche gli altri concorrenti sulla obbiettività del verdetto della Commissione, come pure del prezioso acquisto per il nostro Istituto.

Gino cominciò a frequentare l'Istituto di Entomologia ancora prima che gli arrivasse la nomina ufficiale (gennaio 1973), confermando abbondantemente le nostre attese, in particolare durante le escursioni per osservazioni biologiche e raccolta di materiale in campo, come pure nella successiva attenta e ordinata sistemazione di quest'ultimo in laboratorio. Egli era sempre disponibile a collaborare come Tecnico alle attività didattiche e di ricerca dell'Istituto, ma non tralasciava nel tempo libero di portare avanti suoi personali studi e ricerche (anche con collaboratori esterni), soprattutto sulla biologia dei Coleotteri Ditisциdi, le cui acquisizioni, venimmo a sapere, erano già note e notevolmente apprezzate da un Coleotterologo di sicura competenza quale Giorgio Fiori.

Ma le mansioni effettive di Gino, che intanto si

era laureato a pieni voti in Biologia, non potevano e non dovevano limitarsi a quelle di un comune tecnico d'istituto. La qualità e il livello della sua collaborazione superava chiaramente i suoi compiti istituzionali e pertanto iniziammo ben presto ad associarlo come ricercatore a pieno titolo alle nostre ricerche, in particolare nel gruppo del sottoscritto e di Giorgio Nuzzaci, sia per impegnative osservazioni biologiche e raccolte di materiale in natura che per studi in laboratorio di etologia, morfologia funzionale, istologia e citologia in microscopia ottica ed elettronica.

Contemporaneamente egli continuava le sue raccolte ed osservazioni biologiche personali sui "suoi" Ditisциdi, senza escludere specie appartenenti ad altre famiglie di Coleotteri o anche ad altri Ordini, così come gli capitavano sottocchio e che stimolavano in qualche modo un suo eclettico interesse. Ma anche in queste ricerche personali egli non si limitava più alle indagini di una volta, bensì iniziava presto ad applicare le tecniche di indagine microscopiche ed ultramicroscopiche apprese e maturate nel citato gruppo di ricerca.

A questo punto sorgeva tra noi anche qualche difficoltà di intesa, specialmente al momento di rileggere criticamente un suo articolo personale da inviare alla stampa. Nel senso che Gino non sempre accettava volentieri di seguire interpretazioni e terminologie morfo-anatomiche precedentemente adottate da specialisti del gruppo in studio. Non accettava pacificamente, ad esempio, che la descrizione morfologica di un organo venisse fatta indicandone le varie parti coi termini già in uso tra specialisti del settore, specialmente se si trattava di termini tassonomici che non si riferivano chiaramente all'omologia dell'organo in que-

stione. Egli infatti, date le sue notevoli capacità di indagine al microscopio (ottico ed elettronico) e di documentazione d'immagini (micrografie e disegni alla camera lucida), ma soprattutto per la facilità con cui reperiva in natura nuovo materiale di confronto con altre specie e/o gruppi affini, trovava spesso inadatto un certo termine descrittivo in uso, mentre egli avrebbe preferito sostituirlo con un altro del linguaggio più comune, ciò anche per rendere la descrizione più semplice e più accessibile ai non specialisti. Tuttavia egli finiva sempre per accettare le nostre argomentazioni ed accogliere i nostri suggerimenti.

Il fatto è che Gino voleva sempre essere il più possibile concreto e concludente, e non gli andava di dedicare alle descrizioni verbali più tempo di quanto gli sembrava fosse necessario, specialmente in presenza di buone documentazioni di immagini.

E così, senza mai trascurare i suoi compiti "d'ufficio", né le ricerche in collaborazione in Istituto, continuava a portare avanti proficuamente una cospicua mole di lavoro scientifico personale. Ma su questo argomento riferirà appresso il collega Giorgio Nuzzaci.

Intanto maturavano e si aggiungevano ai suoi titoli scientifici anche importanti titoli didattici, per cui si andavano via via delineando per lui concrete possibilità di "carriera universitaria", benché egli personalmente desse assai minore importanza a questa che al lavoro di ricerca e/o all'attività didattica che pure lo affascinava per il semplice fatto di poter trasmettere agli studenti il suo entusiasmo per l'Entomologia. Detta carriera si è svolta con naturalezza e in tempi relativamente brevi: a poco più di dieci anni dalla Laurea egli fu chiamato dall'Università della Basilicata, come vincitore di Concorso per Professore di Seconda Fascia (1987), per la "Zoologia forestale, venatoria e acquicoltura", e pochi anni dopo (1994) la stessa Facoltà di Agraria lo chiamava, come vincitore di Concorso per Professore di Prima Fascia, a ricoprire la cattedra di "Zoologia generale forestale".

Ma quando l'aumento progressivo degli impegni burocratici e soprattutto del numero di lunghe riunioni accademiche di vario genere e a vari livelli, era diventato sempre meno conciliabile con i suoi "inderogabili" impegni di studi e ricerche entomologiche, prese la non facile ma ferma decisione di anticipare all'età di 62 anni (aprile 2009) il proprio pensionamento dall'Università, organizzandosi quindi un laboratorio personale dotato degli strumenti necessari (compreso un buon microscopio ottico) per le sue ricerche entomologiche in un'ampia cantina di casa sua.

Il suo ingresso nella nostra Accademia Nazionale

Italiana di Entomologia è relativamente recente (2007), su proposta degli Accademici Ordinari Giorgio Nuzzaci, Roberto Poggi e Antonio Tranfaglia, ma anche calorosamente sostenuto dalla preziosa stima del Presidente Baccio Baccetti, come questi ebbe a esplicitare un anno dopo (novembre 2008) nel congratularsi per la bella e ricca presentazione che Gino ci fece in questa Accademia su "Biodiversità della spermatoteca nei Coleotteri".

Il 5 maggio dell'anno scorso (2013), al ritorno a casa da un'escursione entomologica e mentre si accingeva a sistemare il materiale di studio appena raccolto, Gino De Marzo improvvisamente e prematuramente ci lasciava, passando a miglior vita con la serenità e naturalezza con cui aveva sempre vissuto.

Ma non posso e non voglio concludere questi ricordi senza un doveroso ringraziamento, oltreché a Gino personalmente per quello che egli è stato e per quello che ha fatto per noi amici e collaboratori e anche in Accademia, un sentito ringraziamento alla sua bella famiglia: la Signora Raffaella e i tre figli Angelo, Maria Pia e Annamaria, che con il loro premuroso e paziente affetto, gli hanno permesso quella serenità necessaria alla sua eccezionale e proficua dedizione allo studio e alle ricerche entomologiche, nonché a favorire la sua abituale generosa disponibilità a reperire e raccogliere in natura prezioso materiale entomologico per tanti altri studiosi anche tra noi qui presenti.

GIORGIO NUZZACI

Profilo scientifico del Prof. Luigi De Marzo

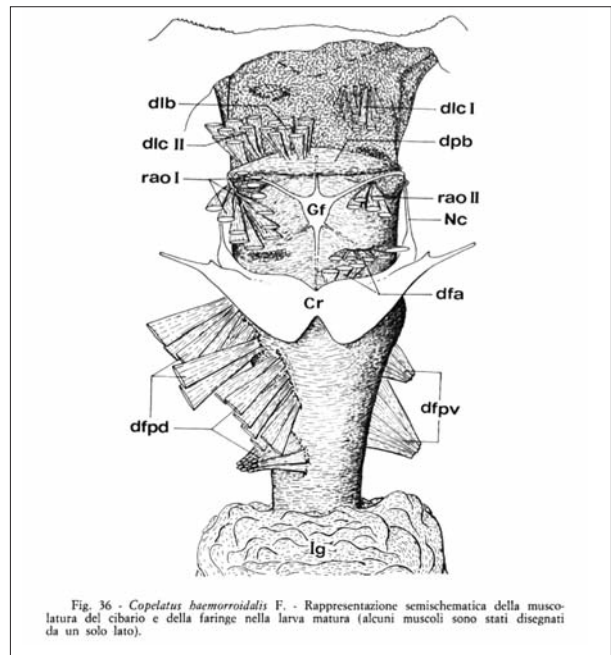
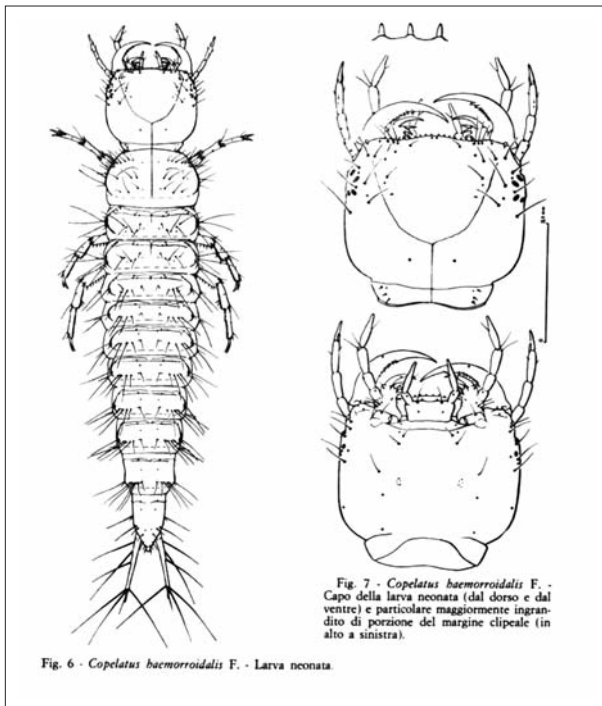
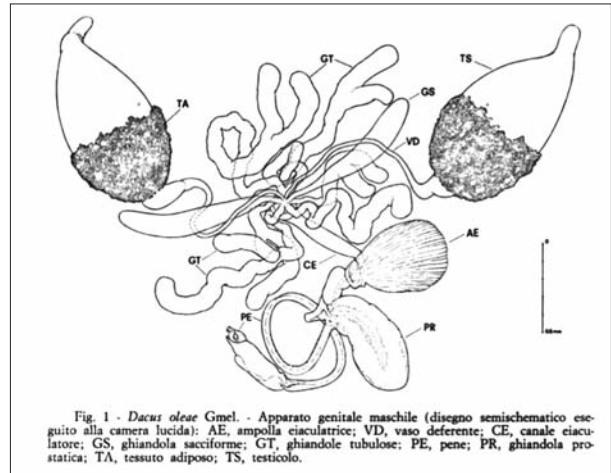
Credo che oggi l'Entomologia Italiana possa vantarsi di questo Autore per il lustro e i contributi originali, per metodo e per quantità di dati, resi noti nelle sue ricerche; molte condotte a casa in un laboratorio personale, gelosamente protetto, che gli consentiva tra un viaggio e l'altro, a causa degli impegni accademici, di immergersi in un mondo tutto suo: gli insetti.

Più che riportare date e citazioni ho preferito organizzare la lettura riprendendo da alcune sue pubblicazioni immagini rappresentative di quanto ha nel tempo pubblicato nei settori di morfologia funzionale, biologia generale, etologia e sistematica di gruppi di insetti con particolare attenzione ai Coleotteri, Tisanotteri e Lepidotteri.

Seguendo la sua crescita scientifica, iniziata nei primi anni 70, si possono citare numerose pubbli-

cazioni riguardanti i Ditiscidi che già da osservatore naturalista e studente di scienze aveva preso in considerazione, prima di prender contatto con l'ex Istituto di Entomologia Agraria.

In questa prima fase (dal 1973), sotto la guida del Prof. Roberti e con sollecitazioni dei Colleghi all'epoca presenti in istituto, produsse le prime ricerche morfologiche con le descrizioni dei diversi stadi larvali e, in particolare, pose attenzione alle diverse morfologie funzionali delle mandibole atte alla predazione nelle larve di numerose specie che erano allevate singolarmente per poterle illustrare in modo certo (pubblic. 1).



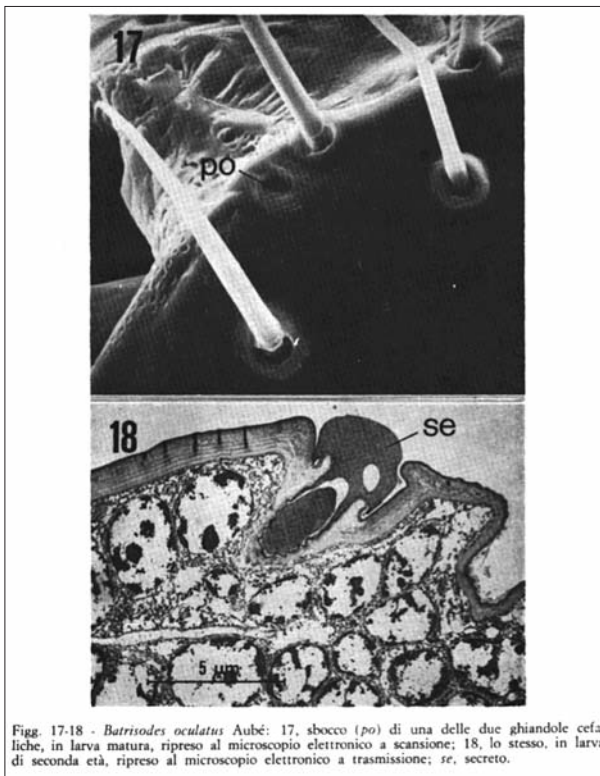
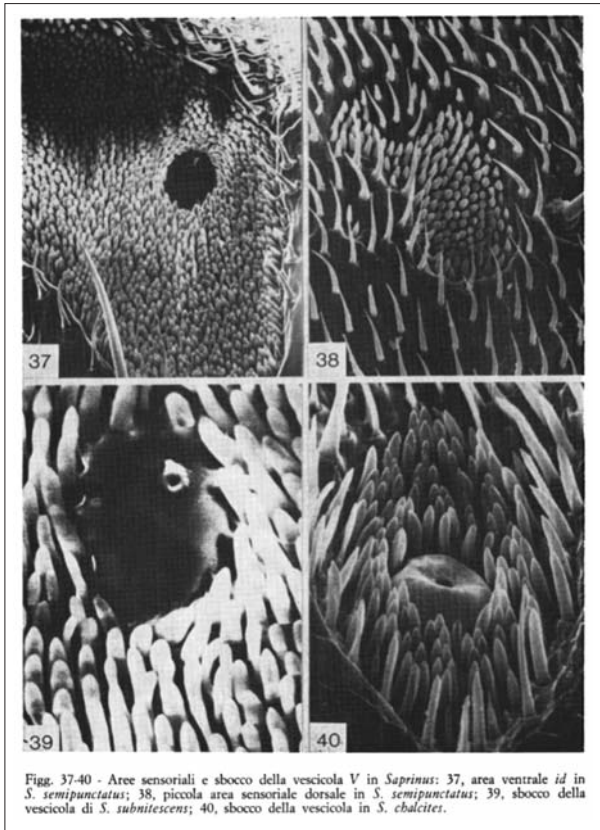
I primi lavori che affrontavano questa tematica sono stati condotti con il classico uso di microscopia luce e utilizzo di camera lucida. Successivamente, con disegni e microfotografie delle differenti sezioni trasversali delle mandibole volle dimostrare come ad altezze diverse si sviluppassero sistemi perfetti di coaptazione tra le creste longitudinali presenti sulle stesse in modo da realizzare, nel tratto distale una doccia e nel tratto prossimale un vero dotto per la conduzione dei fluidi alimentari verso il cibario (pubblic. 6, 8 - 11, ecc.). In questa fase di crescita scientifica il Prof. Roberti invitò De Marzo ad effettuare un confronto con i lavori del compianto Prof. Fiori; i suggerimenti e gli stimoli colti in queste circostanze gli consentirono di affinare metodi ed argomenti di ricerca.

Sono degli ultimi anni 70 alcuni lavori (pubblic. 7, 12, 13) condotti in collaborazione con Solinas e

con me volti alla descrizione, anche con tecniche di microscopia elettronica, delle ghiandole genitali accessorie del maschio della mosca delle olive e di altri territori ghiandolari; negli anni 80 produsse studi sull'anatomia e morfologia funzionale, anche con microfotografie di sezioni semi-fini del cranio di alcune specie di Ditiscidi, con la illustrazione semi-schematica del primo tratto dell'apparato digerente e la ricostruzione della muscolatura collegata alla faringe (pubblic. 14).

In seguito si interessò di aspetti di morfologia fine delle antenne di Isteridi e di alcune specie di Coleotteri di famiglie diverse, descrivendo alla scansione e alla trasmissione sensilli e territori ghiandolari, mappando in alcuni casi la loro differente presenza sugli antennomeri per specie ad ecologia diversa (pubblic. 20, 21, 30, 48, 79, 80).

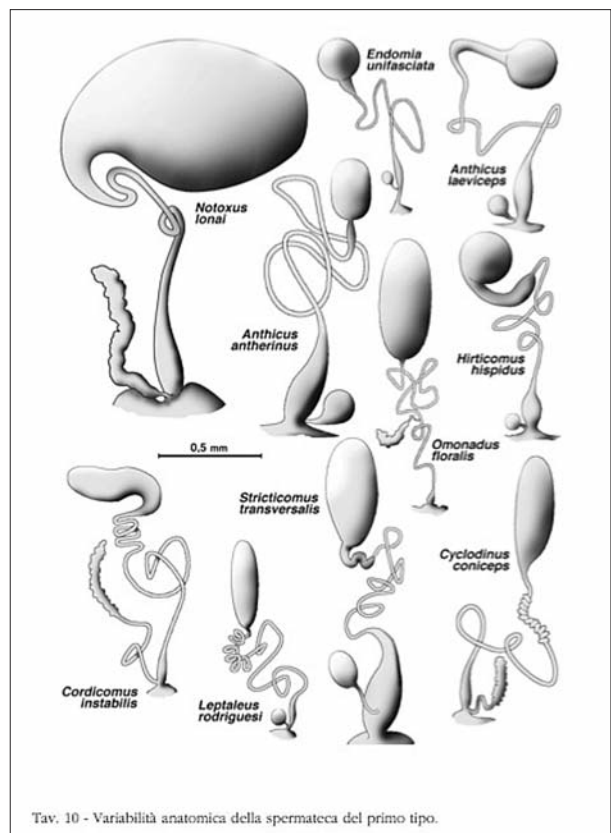
Numerose ricerche sulla sistematica dei coleotteri Leiodidae, in collaborazione con Angelini, portarono alla descrizione di molte specie nuove



per la scienza; i reperti provenivano da raccolte degli stessi Autori e da campioni, raccolti in più continenti e siti diversi, che altri Autori e Ricercatori avevano consegnato al museo di storia naturale di Ginevra. Le descrizioni sono state tutte realizzate con i disegni delle strutture dei genitali

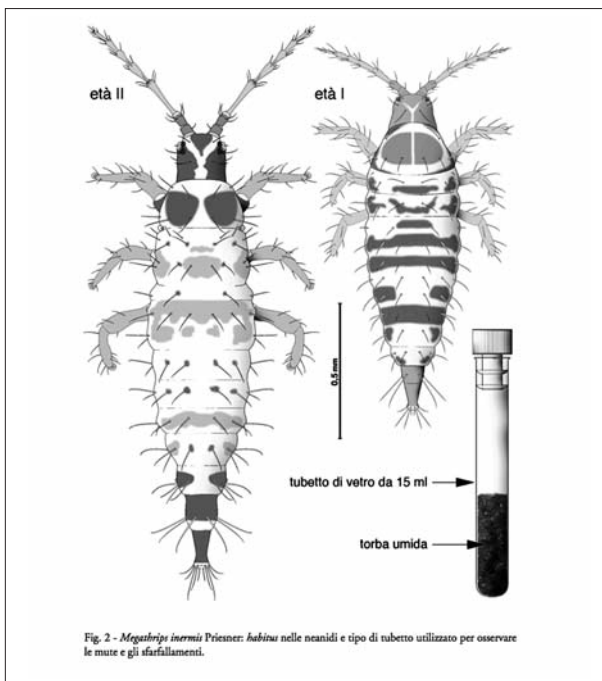
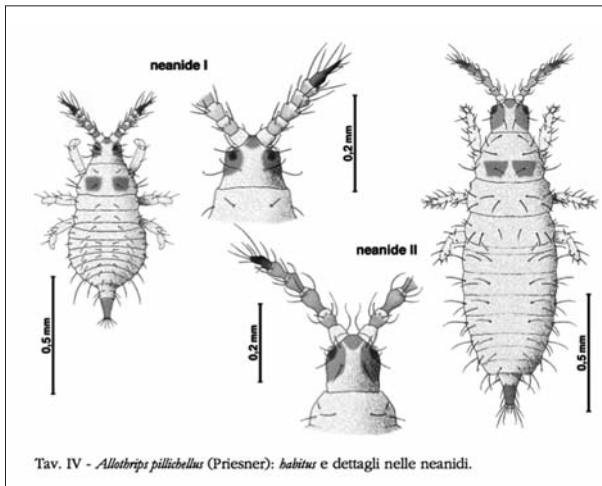
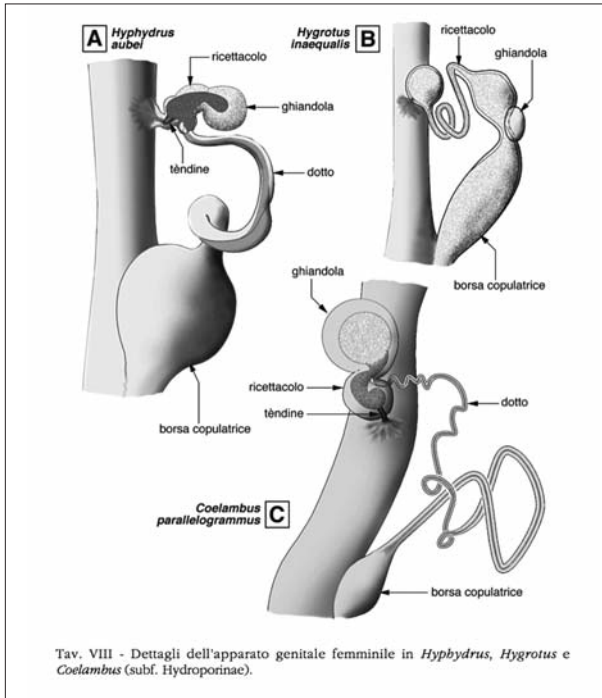
esterni e degli antenomeri, ottenuti con l'impiego di camera lucida (sono più di 30 citazioni elencate nella lista dal n. 16 al 108).

In coincidenza con il suo impegno didattico nella Facoltà di Agraria di Potenza, affrontò argomenti di ricerca attinenti agli interessi del settore agrario e che riguardavano faune di Coleotteri che contribuiscono alla degradazione di materiale organico diverso proveniente dall'attività agricola, in particolare vinaccia, ma anche di origine diversa come la *Poseidonia* che sui litorali pugliesi si deposita in grande quantità a seguito di mareggiate; reperì e descrisse larve di numerose famiglie procedendo ad allevamenti per i singoli reperti valutando anche il regime alimentare per specie detritivore e specie predatrici (pubblic. 123,124).

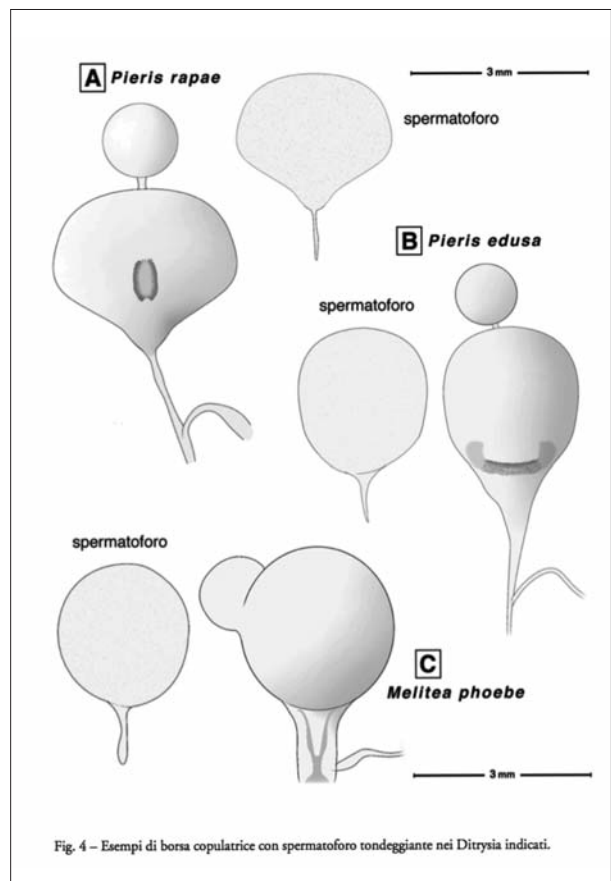
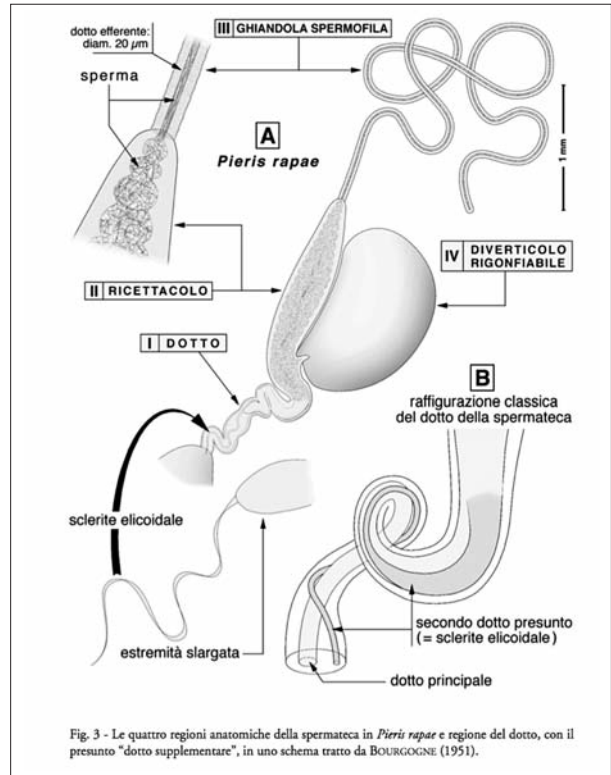


La adozione di nuove metodologie di rappresentazioni grafiche con applicazioni specifiche al computer gli consentirono di realizzare immagini digitali di gran pregio ed ottima efficacia (*self-explanatory*) di quanto voleva illustrare.

Venne adottato questo sistema descrittivo per lavori di biologia ed etologia di numerose specie di un altro grande gruppo sistematico, quello dei Tisanotteri; anche per questo gruppo volle illustrare strutture interne, con particolare attenzione a quelle destinate alla riproduzione (pubblic. 87, 104, 111 e successivi).



Il suindicato metodo venne adottato per numerose famiglie di Coleotteri e di Lepidotteri, i suoi numerosi contributi portarono alla descrizione di complessi apparati genitali e strutture ad essi collegate. Una pregevole sintesi delle sue ricerche in questo



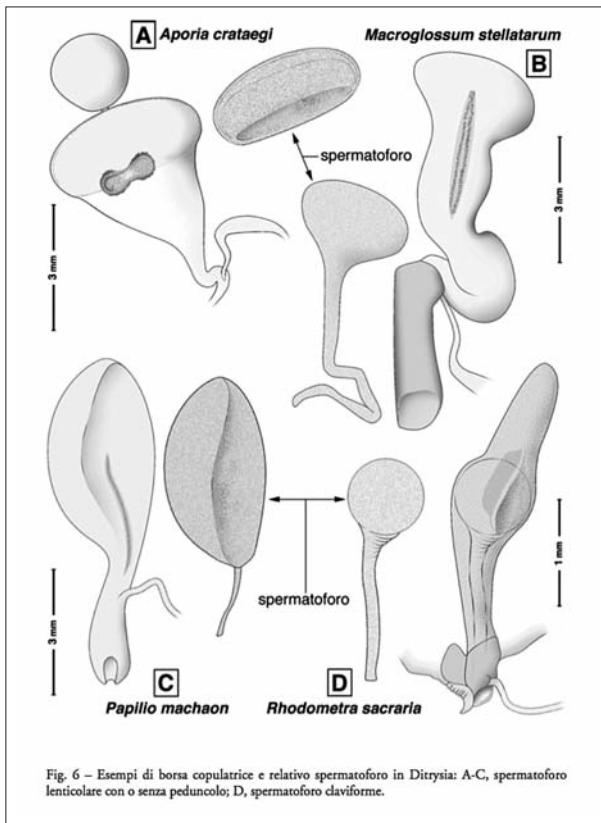
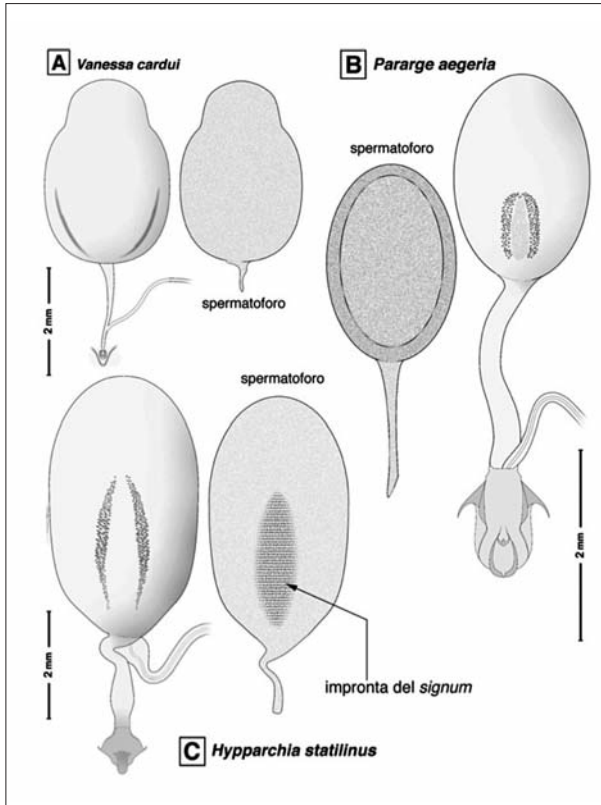


Fig. 6 - Esempi di borsa copulatrice e relativo spermatoforo in Ditrysia: A-C, spermatoforo lenticolare con o senza peduncolo; D, spermatoforo claviforme.

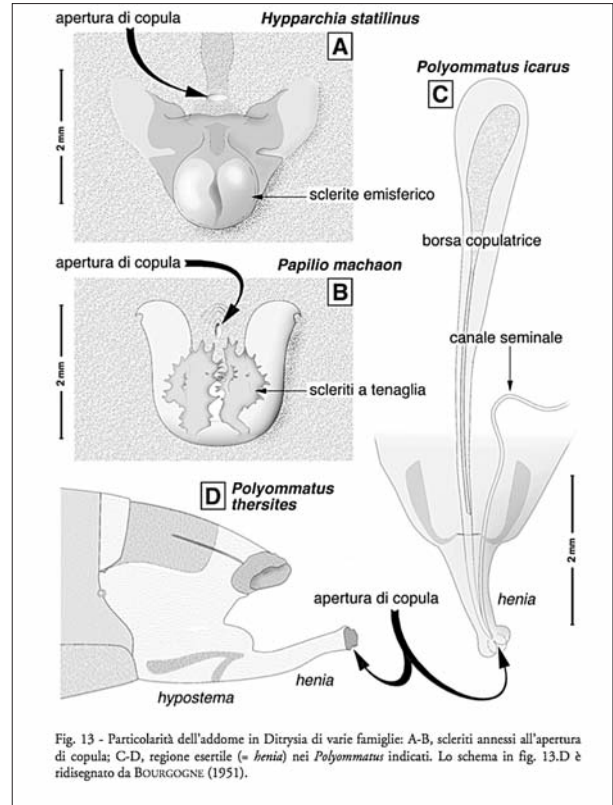


Fig. 13 - Particolarità dell'addome in Ditrysia di varie famiglie: A-B, scleriti annessi all'apertura di copula; C-D, regione eserile (= henia) nei Polyommatus indicati. Lo schema in fig. 13.D è ridisegnato da BOURGOGNE (1951).

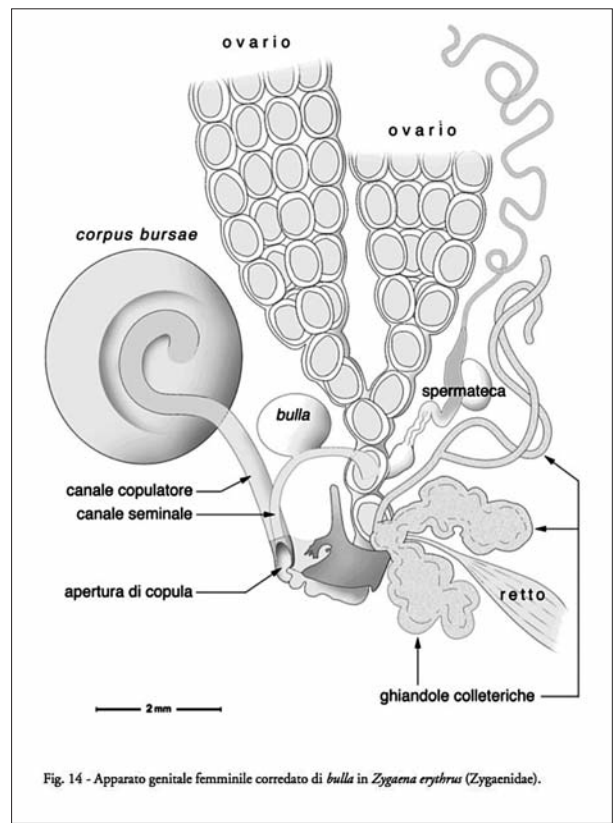


Fig. 14 - Apparato genitale femminile corredato di bulla in Zygaena erythrus (Zygaenidae).

settore, con interessanti considerazioni sugli spermatozoi e sui sistemi di conservazione ed utilizzazione degli stessi, fu presentata in quella memorabile relazione tenuta in una seduta dell'Accademia Nazionale italiana di Entomologia nel 2009 e che suscitò grande interesse ed apprezzamento per lo

spessore scientifico del contributo da lui prodotto (pubblic. 181).

Le sue ricerche, riguardanti aspetti sulle strutture implicate nelle attività riproduttive, si estesero su molti gruppi di Coleotteri e di Lepidotteri Ditrysia.

Nella sua lunga lista delle pubblicazioni compare al duecentesimo posto, come ultimo titolo, un ricordo di due illustri Entomologi a lui cari, il Prof. Giorgio Fiori ed il Prof. Vincenzo Lupo, pubblicato nel 2011 tra gli Atti dell'Accademia Nazionale italiana di Entomologia.

Successivamente sino al Maggio 2013 volle far conoscere, attraverso una diretta diffusione in rete, ben 19 note in cui illustrava anche con pregevoli rappresentazioni grafiche digitalizzate a colori, strutture anatomiche sugli apparati e sistemi collegati alla attività riproduttiva, estendendo le sue attenzioni oltre che ai Coleotteri, Tisanotteri e Lepidotteri anche ad Imenotteri Calcididi.

Le ultime osservazioni (in calce alla lista delle sue pubblicazioni) sono in attesa di essere pubblicate postume, avendole da tempo affidate alla redazione della rivista "Entomologica".

Sino alla fine ha dimostrato una frenetica ricerca di conoscenza nel minuto mondo della vita degli Insetti a cui dedicò gran parte della sua vita condizionando anche quella di chi gli era accanto.

Ciao Gino

BIBLIOGRAFIA¹

1. De Marzo L., 1973 - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. I. Note morfologiche sulle larve mature di sei specie del genere *Agabus* Leach. *Entomologica*, Bari, 9: 47-83.
2. De Marzo L., 1974a - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. II. Morfologia dei tre stadi larvali di *Melanodytes pustulatus* Rossi. *Entomologica*, Bari, 10: 57-80.
3. De Marzo L., 1974b - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. III. Note morfologiche sul primo e secondo stadio larvale di sei specie del genere *Agabus* Leach. *Entomologica*, Bari, 10: 81-108.
4. De Marzo L., 1976a - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. IV. Morfologia dei tre stadi larvali di *Copelatus haemorroidalis* F. *Entomologica*, Bari, 12: 89-106.
5. De Marzo L., 1976b - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. V. Note morfologiche sulle larve di tre specie del genere *Laccophilus* Leach. *Entomologica*, Bari, 12: 107-129.
6. De Marzo L., 1976c - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. VI. Studio per fini sistematici del comportamento dei caratteri delle mandibole nelle larve di alcune specie della subf. Colymbetinae. *Entomologica*, Bari, 12: 179-198.
7. De Marzo L., G. Nuzzaci & M. Solinas, 1976 - Aspetti anatomici, strutturali, ultrastrutturali e fisiologici delle ghiandole accessorie del maschio di *Dacus oleae* Gmel. in relazione alla maturità ed all'attività sessuale. *Entomologica*, Bari, 12: 213-240.
8. De Marzo L., 1977a - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. VII. Considerazioni sul significato evolutivo del comportamento dei caratteri delle mandibole nelle larve di alcune specie della subf. Dytiscinae. *Entomologica*, Bari, 13: 71-84.
9. De Marzo L., 1977b - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. VIII. Morfologia dei tre stadi larvali di *Oreodytes rivalis* Gyll. e *Hyphydrus aubei* Ganglb. e considerazioni sul comportamento di alcuni caratteri esoscheletrici nelle larve della subf. Hydroporinae. *Entomologica*, Bari, 13: 85-119.
10. De Marzo L., 1978a - Studio per fini sistematici del comportamento dei caratteri delle mandibole nelle larve di alcune specie della subf. Colymbetinae (Coleoptera, Dytiscidae). Nota preliminare. *Atti XI Congr. naz. ital. Entomol. Portici-Sorrento Maggio 1976*, pp. 73-83.
11. De Marzo L., 1978b - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. IX. Morfologia delle mandibole delle larve in alcune specie delle subff. Laccophilinae e Hydroporinae. Ipotesi sulla derivazione morfogenetica dei relativi modelli di mandibola. *Entomologica*, Bari, 14: 137-157.
12. De Marzo L., G. Nuzzaci & M. Solinas, 1978a - Aspetti anatomici, strutturali, ultrastrutturali e fisiologici delle ghiandole accessorie del maschio di *Dacus oleae* Gmel. in relazione alla maturità ed all'attività sessuale. Nota preliminare. *Atti XI Congr. naz. ital. Entomol. Portici-Sorrento Maggio 1976*, pp. 139-146.
13. De Marzo L., G. Nuzzaci & M. Solinas, 1978b - Studio anatomico, istologico, ultrastrutturale e fisiologico del retto e osservazioni etologiche in relazione alla possibile produzione di feromoni sessuali nel maschio di *Dacus oleae* Gmel. *Entomologica*, Bari, 14: 203-266.
14. De Marzo L., 1979 - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. X. Anatomia e funzionamento dell'apparato succhiante cibario-faringeo in alcune forme larvali delle subff. Dytiscinae, Colymbetinae, Laccophilinae e Hydroporinae. *Entomologica*, Bari, 15: 5-72.
15. Angelini F. & L. De Marzo, 1980 - Utilità di nuovi caratteri nella sistematica del genere *Agathidium* Panzer e loro impiego nella designazione di due sinonimi (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 16: 47-76.
16. Angelini F. & L. De Marzo, 1981a - Dati faunistici e tassonomici sugli *Agathidium* della Spagna con descrizione di due specie nuove (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 16: 121-137.
17. Angelini F. & L. De Marzo, 1981b - Reports of *Agathidium* from Himalaya: expeditions of Basel Natural History Museum and Prof. H. Franz (Coleoptera, Leiodidae). *Entomol. Basiliensis*, 6: 187-294.
18. Parenzan P. & L. De Marzo, 1981 - Una nuova trappola luminosa per la cattura di Lepidotteri e altri insetti ad attività notturna. *Inf. tore giovane entomol., suppl. Boll. Soc. entomol. ital.*, 99: 5-11.
19. De Marzo L., 1982 - Osservazioni morfologiche su alcuni modelli di spermateca di Rincoti e Coleotteri. *Mem. Soc. entomol. ital.*, 60: 155-161.
20. De Marzo L. & P. Vienna, 1982a - Osservazioni morfologiche e ultrastrutturali su particolari organi di senso delle clave antennali in Isteridi della subf. Sapriniinae (Coleoptera) e considerazioni sistematiche. *Entomologica*, Bari, 17: 54-78.
21. De Marzo L. & P. Vienna, 1982b - Osservazioni morfologiche e ultrastrutturali su un particolare apparato di senso delle clave antennali di Platysomini e Hololeptini (Coleoptera, Histeridae) e considerazioni sistematiche. *Entomologica*, Bari, 17: 79-91.

¹ Lista compilata personalmente da Luigi De Marzo nel gennaio 2013.

22. De Marzo L. & P. Vienna, 1982c - Studio morfologico della spermateca in Coleotteri Isteridi, con particolare attenzione alla tribù Saprinini. *Entomologica*, Bari, 17: 163-179.
23. De Marzo L. & S. Vit, 1982 - Note sulla presenza di *Batrisodes oculatus* Aubè (Coleoptera, Pselaphidae) in una grotta di Puglia. *Entomologica*, Bari, 17: 149-162.
24. De Marzo F. & T. Moleas, 1982 - I "moscerini" di Zapponeta (*Leptoconops irritans* Noè): notizie sulla biologia e sui metodi di lotta (Diptera, Ceratopogonidae). *Atti VIII Simp. naz. Protez. Natura, Bari Aprile 1979*, pp. 423-433.
25. De Marzo L., 1983a - Il "pettine prefaringeo" delle larve di Ditiscidi dei generi *Agabus* e *Ilybius*: variazioni morfologiche e ipotesi sulla funzione. Nota preliminare. *Atti XII Congr. naz. ital. Entomol.*, Roma 1980, vol. II, pp. 87-91.
26. De Marzo L., 1983b - Osservazioni sulla ovideposizione e sul ciclo larvale in *Mastigus pilifer* Kraatz (Coleoptera, Scydmaenidae). *Entomologica*, Bari, 18: 125-136.
27. Angelini F. & L. De Marzo, 1983a - Reports of *Agathidium* from Turkey (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 90: 47-95.
28. Angelini F. & L. De Marzo, 1983b - New species and records of the genus *Agathidium* Panzer 1797 from Nepal (Insecta: Coleoptera, Leiodidae). *Senckenberg. biol.*, 64: 157-173.
29. Angelini F. & L. De Marzo, 1983c - New species and records of *Agathidium* from Himalaya: expeditions of Basel Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae). *Entomol. Basiliensia*, 8: 153-164.
30. Angelini F. & L. De Marzo, 1983d - L' "organo di Hamann" delle antenne dei Coleotteri Leiodidi: variazioni morfologiche e importanza sistematica. Nota preliminare. *Atti XII Congr. naz. ital. Entomol.*, Roma 1980, vol. II, pp. 71-77.
31. Angelini F. & L. De Marzo, 1983e - Anisotomini nuovi o poco conosciuti reperiti in Nepal e Kashmir dal Prof. H. Franz (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 18: 5-16.
32. Angelini F. & L. De Marzo, 1983f - Revisione degli *Agathidium* di Nord Africa e Isole Canarie (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 18: 17-76.
33. De Marzo L. & S. Vit, 1983 - Le ghiandole antennali nei maschi di *Batrisus* Aubè e *Batrisodes* Reitter: variazioni morfologiche, istologia e valore tassonomico (Coleoptera, Pselaphidae). *Entomologica*, Bari, 18: 77-110.
34. Angelini F. & L. De Marzo, 1984a - Reports of *Agathidium* from Darjeeling: expedition 1978 of Geneva Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 76: 545-562.
35. Angelini F. & L. De Marzo, 1984b - *Agathidium* from India collected by Dr. Gy. Topál (Coleoptera, Leiodidae). *Ann. hist.-nat. Mus. natn. Hung. Budapest*, 76: 165-168.
36. Angelini F. & L. De Marzo, 1984c - Note sistematiche sugli *Agathidium* dell'Africa centrale con descrizione di tre specie nuove (Coleoptera, Leiodidae). *Fragmenta entomol.*, 17: 347-358.
37. Angelini F. & L. De Marzo, 1984d - Description of a new species of *Afroagathidium* Ang. & Peck from Ghana (Coleoptera, Leiodidae). - *Folia ent. Hung.*, 45: 21-23.
38. De Marzo L., 1985 - Morfologia delle larve e della pupa in *Mastigus pilifer* Kraatz (Coleoptera, Scydmaenidae). *Entomologica*, Bari, 19: 61-74 (1984).
39. Angelini F. & L. De Marzo, 1985a - Morfologia della larva matura e della pupa in *Agathidium varians* Beck (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 19: 51-60 (1984).
40. Angelini F. & L. De Marzo, 1985b - Reports of *Agathidium* from Central Nepal and North India: expeditions 1979 and 1981 of Geneva Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 92: 33-76.
41. Angelini F. & L. De Marzo, 1985c - Descrizione di una nuova specie e di una nuova sottospecie del genere *Agathidium* Panzer (Coleoptera, Leiodidae). *Boll. Soc. entomol. ital.*, 117: 172-177.
42. Angelini F. & L. De Marzo, 1985d - Descrizione di 13 specie nuove di Anisotomini dell'Asia sudorientale (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 19: 23-49 (1984).
43. Angelini F. & L. De Marzo, 1986a - *Agathidium* from India and Malaya: expedition of Geneva Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 93: 423-455.
44. Angelini F. & L. De Marzo, 1986b - *Agathidium* from North Pakistan: expedition 1983 of Geneva Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 93: 587-605.
45. Angelini F. & L. De Marzo, 1986c - Expeditions 1982, 1983 and 1984 of Geneva Natural History Museum in Nepal. Anisotomini (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 93: 827-873.
46. De Marzo L., 1987a - Anatomia degli apparati digerente e riproduttore in *Italodytes stammeri* Müller (Coleoptera, Carabidae). *Puglia Grotte*, Castellana-Grotte, 2: 5-16.
47. De Marzo L., 1987b - Osservazioni etologiche sulle larve di *Batrisodes oculatus* Aubé (Coleoptera, Pselaphidae). *Frustula entomol.*, 7/8: 501-506.
48. De Marzo L., 1987c - Organi erettili e ghiandole tegumentali specializzate nelle larve di *Batrisodes oculatus* Aubé (Coleoptera, Pselaphidae). *Entomologica*, Bari, 20: 125-145 (1985).
49. De Marzo L., 1987d - Studi sulle larve dei Coleotteri Ditiscidi. XI. Morfologia delle mandibole nelle larve di *Hydaticus exclamationis* Aubé e *Cybister* spp. dell'Africa centrale. *Entomologica*, Bari, 20: 31-37 (1985).
50. Angelini F. & L. De Marzo, 1987a - Notes on the genus *Stetholiodes* Fall with description of four new species (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 94: 3-15.
51. Angelini F. & L. De Marzo, 1987b - *Agathidium* and *Afroagathidium* dell'Africa centrale (Coleoptera, Leiodidae, Anisotomini). *Entomologica*, Bari, 20: 69-80 (1985).
52. Angelini F. & L. De Marzo, 1987c - Dati faunistici e tassonomici sugli *Agathidium* della Grecia con descrizione di due specie nuove (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 20: 5-30 (1985).
53. Angelini F. & L. De Marzo, 1987d - Chorological notes on the genus *Agathidium* Panzer 1797 from Nepal (Insecta: Coleoptera, Leiodidae). *Courier Forsch.-Inst. Senckenberg*, 93: 455-461.
54. De Marzo L. & A. N. Nilsson, 1987 - Morphological variation and fine structure of some head structures

- in larvae of Dytiscidae (Coleoptera). *Entomol. Basiliensia*, 11: 29-42.
55. De Marzo L., 1988a - Morfologia delle uova in alcuni Pselafidi. *Entomologica*, Bari, 21: 155-163 (1986).
56. De Marzo L., 1988b - Comportamento predatorio nelle larve di *Pselaphus heisei* Herbst (Coleoptera, Pselaphidae). *Atti XV Congr. naz. ital. Entomol., L'Aquila Giugno 1988*, pp. 817-824.
57. De Marzo L., 1988c - Costruzione della loggia pupale e del bozzolo negli Pselafidi (Coleoptera). Poster. *Atti XV Congr. naz. ital. Entomol., L'Aquila Giugno 1988*, pp. 1071-1072.
58. De Marzo L., 1988d - Lineamenti della fauna di Coleotteri e Lepidotteri del bosco di Policoro. *Mensili Cons. Reg. Basilicata*, 1988 (6/7), pp. 53-54.
59. De Marzo L., 1988e - Particolari sensilli antennali in *Italodytes stammeri* Müller (Coleoptera, Carabidae). *Atti XV Congr. naz. Speleol., Castellana-Grotte Sett. 1987*, pp. 861-867.
60. Angelini F. & L. De Marzo, 1988 - Anisotomini del Mediterraneo orientale e Iran con descrizione di una nuova specie (Coleoptera, Leiodidae). *Revue suisse Zool.*, 95: 277-288.
61. De Marzo L. & T. Moleas, 1988 - Anatomia degli apparati riproduttori maschili e femmine in *Monosteira uncostata* Muls. & Rey (Rhynchota, Tingidae). Poster. *Atti XV Congr. naz. ital. Entomol. L'Aquila, Giugno 1988*, pp. 1057-1058.
62. De Marzo L., 1989 - Morfologia della larva matura in alcuni Pselafidi (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 22: 155-163 (1987).
63. De Marzo L. & F. Porcelli, 1989 - Struttura delle aree sensoriali antennali in alcuni Bostrichidi (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 22: 87-95 (1987).
64. Angelini F. & L. De Marzo, 1989a - *Agathidium* from Nepal collected by Dr. A. Smetana, with description of a new species (Coleoptera, Leiodidae, Anisotomini). *Revue suisse Zool.*, 96: 25-31.
65. Angelini F. & L. De Marzo, 1989b - *Agathidium* from Thailand: expedition 1985 of the Geneva Natural History Museum (Coleoptera, Leiodidae, Anisotomini). *Revue suisse Zool.*, 96: 459-478.
66. Vit S. & L. De Marzo, 1989 - Description of the larva of *Leptomastax hypogaeus* Pirazzoli. *Archs Sci. Genève*, 42: 569-578.
67. De Marzo L., 1990 - Costruzione della loggia pupale e del bozzolo in alcuni Pselafidi (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 23 (1988): 161-169.
68. Angelini F. & L. De Marzo, 1990 - Anisotomini del Giappone (Coleoptera, Leiodidae). *Entomologica*, Bari, 23 (1988): 47-122.
69. De Marzo L. & A. N. Nilsson, 1990 - Structure of the "preoral comb" in larvae of European Agabini (Coleoptera, Dytiscidae). *Entomologica*, Bari, 23 (1988): 191-205.
70. De Marzo L., V. Romano & A. Tranfaglia, 1990 - Types of the female reproductive system in some scale insects (Homoptera: Coccoidea). *Proc. ISSIS-VI, Kraków 1990*, pp. 41-46.
71. De Marzo L., 1991a - Muscolatura e strutture annessi nel ricettacolo seminale dei Coleotteri. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, pp. 251-256.
72. De Marzo L., 1991b - Variabilità interspecifica della lunghezza degli spermatozoi in Coleotteri. Rassegna preliminare. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, pp. 245-250.
73. De Marzo L., 1991c - Note morfo-etologiche su *Cybocephalus rufifrons* Reitt., predatore di *Carulaspis minima* (Targ.-Tozz.) su Cipresso nel Sud d'Italia (Coleoptera: Cybocephalidae; Rhynchota: Diaspididae). Poster. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, p. 939.
74. De Marzo L., 1991d - Una singolarità funzionale della ghiandola spermofila in alcuni Curculionidi e Scolitidi (Coleoptera). Poster. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, p. 937.
75. De Marzo L., 1991e - Note di anatomia sui genitali interni in alcuni Pselafidi (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 24 (1989): 99-105.
76. De Marzo L., 1991f - Endosimbiosi batterica in *Paederus rubrothoracicus* Goeze (Coleoptera, Staphylinidae). *Entomologica*, Bari, 24 (1989): 145-150.
77. De Marzo L. & F. Porcelli, 1991a - Reperimento di fillosserine ovideponenti sotto follicoli di diaspini (Homoptera: Phylloxeridae & Diaspididae). Poster. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, p. 941.
78. De Marzo L. & F. Porcelli, 1991b - Metodo computerizzato di calcolo del volume di spermatozoi. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, pp. 503-511.
79. De Marzo L. & F. Porcelli, 1991c - Osservazioni sulla struttura dei sensilli antennali in alcuni Carabidi. Poster. *Atti XVI Congr. naz. ital. Entomol. Martina Franca, Sett. 1991*, p. 943.
80. De Marzo L. & F. Porcelli, 1991d - Dettagli strutturali dei chemiorecettori antennali in *Carpophilus hemipterus* (L.) e *C. humeralis* (F.) (Coleoptera, Nitidulidae). *Entomologica*, Bari, 24 (1989): 151-161.
81. De Marzo L. & N. Vovlas, 1991 - Strutture ed organi esoscheletrici in *Batrisodes oculatus* (Aubé) (Coleoptera, Pselaphidae). *Entomologica*, Bari, 24 (1989): 113-125.
82. De Marzo L., 1992 - Le ghiandole odorifere in *Formicomus pedestris* (Rossi) (Coleoptera Anthicidae). *Boll. Soc. ent. ital.*, 124: 12-16.
83. De Marzo L. & R. Spicciarelli, 1993 - Attacchi di *Tricoferus griseus* Fabr. ad agrumi in Basilicata e Puglia. *Inf.tore Fitopatol.*, fasc. 2: 63-64.
84. De Marzo L., F. Lops, S. Frisullo & V. Rossi, 1993 - Possible dissemination of *Spilocaea oleagina* conidia by insects (*Ectopsocus briggsi*). *Bull. MPU/EPPO*, 23: 389-391.
85. Angelini F. & L. De Marzo, 1993 - *Agathidium* from Sumatra, Java and Borneo (Coleoptera, Leiodidae, Anisotomini). *Revue suisse Zool.*, 100 (2): 425-493.
86. De Marzo L. & R. Marullo, 1993 - Presenza del parassitoide *Monoctonia pistaciaecola* in Basilicata e Puglia e sua biologia. *Inf.tore Fitopatol.*, fasc. 1: 55-57.
87. De Marzo L., 1994a - Osservazioni anatomiche sui genitali interni maschili in alcuni Ptilidi. *Entomologica*, Bari, 27 (1992): 107-115.
88. De Marzo L., 1994b - Dettagli strutturali dell'armatura genitale maschile in *Aleochara tristis* Grav. (Coleoptera Staphylinidae). *Mem. Soc. entom. ital.*, 72 (1993): 233-243.
89. Angelini F. & L. De Marzo, 1994 - Catalogue of the Agathidiini of Nepal with descriptions of new species (Coleoptera: Leiodidae). *Stuttgarter Beitr. Naturk.*, ser. A, 505: 1-53.
90. De Marzo L. & R. Pantaleoni, 1994 - Sulla presenza in Italia di *Aleuropteryx juniperi* Ohm e *Semidalis*

- pseudouncinata* Meinander (Neuroptera Coniopterygidae), predatori oligofagi di Coccoidei delle Cupressacee. *M.A.F., Convegno Lotta Biologica, Acireale 1991*, coord. G. Viggiani, Ed. Ist. Sper. Pat. Veg., Roma: 107-111.
91. De Marzo L., 1995a - Nuovi dati anatomici e citologici sul presunto simbiosoma dei Coleotteri Meliridi. *Entomologica*, Bari, 28 (1994): 77-91.
 92. De Marzo L., 1995b - Adattamenti morfologici nei Coleotteri. *Atti XVII Congr. naz. ital. Entomologia, Udine 13-18 Giugno 1994*, pp. 257-272.
 93. De Marzo L., 1995c - Simbiosi batterica in *Stenus comma peroculatus* Putz (Coleoptera: Staphylinidae). *Atti XVII Congr. naz. ital. Entomologia, Udine 13-18 Giugno 1994*, pp. 335-338.
 94. De Marzo L., 1995d - Variabilità morfologica degli spermatozeugmi nei Carabidi (Coleoptera). Poster. *Atti XVII Congr. naz. ital. Entomologia, Udine 13-18 Giugno 1994*, pp. 357.
 95. De Marzo L., 1995e - Catture di Crisidi (Hymenoptera) su Orchidee spontanee mediante una trappola viscosa. Poster. *Atti XVII Congr. naz. ital. Entomologia, Udine 13-18 Giugno 1994*, pp. 869.
 96. De Marzo L. & A. De Stradis, 1995a - Osservazioni morfologiche e istologiche sugli organi di endosimbiosi batterica nelle femmine delle Cleonine (Coleoptera, Curculionidae). *Entomologica*, Bari, 28: 37-44 (1994).
 97. De Marzo L. & A. De Stradis, 1995b - Nuove osservazioni morfologiche sulle sacche batteriche femminili nelle Cleonine (Coleoptera: Curculionidae). Poster. *Atti XVII Congr. naz. ital. Entomologia, Udine 13-18 Giugno 1994*, pp. 361-362.
 98. Angelini F. & L. De Marzo, 1995 - Agathidiini from Taiwan collected by Dr. Ales Smetana (Coleoptera, Leiodidae, Agathidiini). *Revue suisse Zool.*, 102: 175-255.
 99. De Marzo L., 1996 - Appunti sulla presenza di *Cybocephalus rufifrons* Reitter in Suditalia (Coleoptera, Cybocephalidae). *Entomologica*, Bari, 29 (1995): 135-147.
 100. Angelini F. & L. De Marzo, 1996 - *Agathidium* della Malacca, con descrizione di 13 specie nuove (Coleoptera Leiodidae Agathidiini). *Entomologica*, Bari, 29 (1995): 163-198.
 101. Porcelli F., L. De Marzo & A. Frigeri, 1996 - Proposed techniques for detection of chemosensilla on the antennae of adult Diaspididae (Homoptera, Diaspidoidea). *Atti XX Congr. Internaz. Entomol. Firenze*, agosto '96, p. 125.
 102. Porcelli F. & L. De Marzo, 1996 - A hypertext on predators of Diaspidids (Homoptera, Diaspidoidea). *Atti XX Congr. Internaz. Entomol. Firenze*, agosto '96, p. 787.
 103. Porcelli F., L. De Marzo, S. Frisullo & L. Sparapano, 1996 - Possible dissemination of *Sphaeropsis sapinia* (Fr.) Dyko et Sutton f.sp. *cupressus* Solel et al. (Deuteromycotina) by Psocoptera Psocomorpha in Italy. *Atti XX Congr. Internaz. Entomol. Firenze*, agosto '96, p. 314.
 104. De Marzo L., 1997 - Anatomia dei genitali interni e modalità di inseminazione in alcuni Coleotteri Anticidi. *Entomologica*, Bari, 30 (1996): 147-165.
 105. De Marzo L., 1997 - Appunti di storia naturale su uno Ptilide partenogenetico: *Ptinella mekura* Kubota (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 30 (1996): 185-195.
 106. Vovlas N. & L. De Marzo, 1997 - *Megarthus affinis* and *Sphaeridium scarabaeoides*, two new phoretic Coleoptera hosts of the microbiotic nematode *Coarctadera coarctata*. *Int. J. Nematology*, 7: 213-216.
 107. Angelini F. & L. De Marzo, 1998a - Supplement to the knowledge of the Agathidiini of Taiwan (Coleoptera, Leiodidae). *Rev. suisse Zool.*, 105: 125-138.
 108. Angelini F. & L. De Marzo, 1998b - Agathidiini from China, with description of 14 new species (Coleoptera, Leiodidae). *Rev. suisse Zool.*, 105: 351-373.
 109. De Marzo L., 1998a - Variabilità strutturale nelle "ali piumose" dei Coleotteri Ptilidi. Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 88.
 110. De Marzo L., 1998b - Obliterazione del secondo testicolo nelle Harpalinae (Coleoptera Carabidae). Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 89.
 111. De Marzo L., 1998c - Particolari dispositivi anatomici per il riempimento della spermateca nei Coleotteri. Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 90.
 112. De Marzo L., 1998d - Il secondo dotto spermatecale (inesistente) dei Coleotteri Ditiscidi. Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 91.
 113. De Marzo L., 1998e - Presentazione di documenti entomologici immessi sulla rete INTERNET. Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 159.
 114. De Marzo L., 1998 - Morfologia preimmaginale in *Cypha imitator* (Luze) (Coleoptera Staphylinidae Aleocharinae). *Entomologica*, Bari, 31 (1997): 197-205.
 115. De Marzo L., 1998 - Revisione anatomica della spermateca nei Ditiscidi. *Entomologica*, Bari, 31 (1997): 207-219.
 116. De Marzo L. & A. Tranfaglia, 1998 - Nuovi esempi di canale alimentare interrotto in Rincoti Coccoidei. Poster. *Atti XVIII Congr. naz. ital. Entomol., Maratea 21-26 giugno 1998*, p. 87.
 117. De Marzo L. & R. Pantaleoni, 1998 - Due Coniopterigidi predatori di cocciniglie del cipresso. *Inf.tore Fitopatol.*, fasc. 9, set 1998, pp. 11-14.
 118. De Marzo L., 1998 - Insetti dannosi alle coltivazioni di *Pleurotus eryngii*. *Agricoltura Ricerca*, 176: 77-78.
 119. De Marzo L., 1999 - La pineta di Metaponto e il Blastofago: una difficile convivenza. *Atti Conv. "La pineta litoranea metapontina"*, Bernalda, 31 mag 1997, pp. 59-61.
 120. Moleas T., F. Baldaccino, L. De Marzo & R. Spicciarelli, 1999 - Nota preliminare sulla presenza di ceratopogonidi ematofagi (Diptera) in Puglia e Basilicata. *Entomologica*, Bari, 32: 167-177.
 121. Arpaia S., L. De Marzo, G.M. Di Leo, M.E. Santoro, G. Mennella & J.J.A. van Loon, 2000 - Feeding behaviour and reproductive biology of Colorado potato beetle adults fed transgenic potatoes expressing the *Bacillus thuringiensis* Cry3B endotoxin. *Entomol. exp. appl.*, Amsterdam, 95: 31-37.
 122. De Marzo L., 2001 - Note anatomiche sui genitali interni femminili nelle Aphidiinae (Hymenoptera Braconidae). *Redia*, Firenze, 83 (2000): 133-139.
 123. De Marzo L., 2002 - Coleotterofauna dei depositi di *Posidonia*: morfologia larvale in alcune specie caratteristiche. *Ann. Museo civico St. nat. "G. Doria"*, Genova, 93 (2001): 461-471.
 124. De Marzo L., 2002 - Larve di coleotteri in detriti vege-

- tali di origine agricola: lineamenti morfologici e presenza stagionale (Polyphaga: 20 famiglie). *Entomologica*, Bari, 34 (2000): 65-131.
125. De Marzo L., 2002 - Appunti di storia naturale sul coleottero ripicolo *Carpelimus obesus* (Kiesenwetter) (Staphylinidae Oxytelinae). *Entomologica*, Bari, 35 (2001): 77-87.
126. De Marzo L., 2002 - Descrizione delle larve di *Nephus bisignatus* (Boheman) (Coleoptera Coccinellidae) reperite su *Planocossus vovae* (Nassonov) (Rhynchota Coccoidea Pseudococcidae) in Sud Italia. *Entomologica*, Bari, 35 (2001): 181-187.
127. Addante R. & L. De Marzo, 2002 - Reperti di *Ankothrips mavromoustakisi* Priesner in Sud Italia continentale (Thysanoptera Aeolothripidae). *Entomologica*, Bari, 35 (2001): 39-50.
128. De Marzo L. & S. Marotta, 2002 - Anatomy of the alimentary canal in female Coccoidea: an iconographic review. *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 33 (3): 77-83.
129. De Marzo L. & G. L. Rana, 2002 - Reperimento del coleottero micofago *Triplax rufipes* (Fabricius) (Coleoptera Erotylidae) in fungaie pugliesi di cardoncello. *Agricoltura Ricerca*, n. 188, fasc. lug/ago 2000, pp. 127-130.
130. De Marzo L. & G. L. Rana, 2003 - Note sul ciclo vitale del coleottero micofago *Triplax rufipes* (Fabricius) (Coleoptera Erotylidae), reperito in Puglia in fungaie di cardoncello. *Micologia Italiana*, Bologna, anno 31, fasc. 2, dic 2002.
131. De Marzo L., 2003 - Valutazione del numero di stadi larvali in *Meligethinus pallidulus* (Erichson) e in altre quattro specie di nitidulidi (Coleoptera). *Boll. Lab. Entomol. F. Silvestri*, Portici, 57 (2001): 103-111.
132. De Marzo L. & G. Ravazzi, 2003 - Note morfologiche su adulti e forme giovanili di *Allothrips pillichellus* (Priesner) con dati preliminari sul ciclo vitale (Thysanoptera Tubulifera). *Entomologica*, Bari, 36 (2002): 93-101.
133. De Marzo L., 2003 - Prove della partenogenesi in femmine di *Acritus nigricornis* (Hoffman) raccolte in Sud Italia (Coleoptera Histeridae). *Entomologica*, Bari, 36 (2002): 103-108.
134. De Marzo L., 2003 - Dettagli anatomici dei genitali interni in *Melanthrips fuscus* (Sulzer) e altri tisanotteri. *Entomologica*, Bari, 36 (2002): 109-119.
135. De Marzo L. & G. Ravazzi, 2003 - Descrizione di *Haplothrips* (*Trybomiella*) *mateolanus* n.sp. dei "calanchi" della Basilicata (Thysanoptera Phlaeothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 34: 429-434.
136. De Marzo L., 2004 - Dettagli etologici su *Melanthrips fuscus* (Sulzer) riguardo alla costruzione del bozzolo (Thysanoptera Aeolothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 36: 275-278.
137. De Marzo L., 2005 - Una peculiarità anatomica del dotto eiaculatore in *Monotoma* Herbst, 1793 (Insecta Coleoptera Rhizophagidae). *Naturalista siciliano*, serie IV, pp. 57-70.
138. De Marzo L., 2005 - Descrizione della larva matura di *Tychus pullus* Kiesenwetter, 1858 (Insecta Coleoptera Pselaphidae). *Naturalista siciliano*, Palermo, serie IV, pp. 71-75.
139. De Marzo L. & G. Ravazzi, 2005 - Segnalazione di tripidi nuovi per l'Italia peninsulare, con note tassonomiche (Thysanoptera Thripidae, Phlaeothripidae). *Entomologica*, Bari, 38 (2004): 103-114.
140. De Marzo L., 2005 - Note di biologia riproduttiva sul tenebrionide sabulicolo *Ammobius rufus* Lucas (Coleoptera). *Entomologica*, Bari, 38 (2004): 41-47.
141. De Marzo L., 2005 - Reperti di *Ceranisus menes* (Walker) in Sud Italia (Hymenoptera Eulophidae). *Entomologica*, Bari, 38 (2004): 127-133.
142. De Marzo L., 2005 - Sviluppo preimmaginale in *Euplectus sanguineus* Denny (Coleoptera Pselaphidae). *Entomologica*, Bari, 38 (2004): 75-81.
143. Porcelli F., De Marzo L., 2005 - Tattismi inattesi: spostamenti casuali o finalizzati? Il caso di *Corimalia tamarisci* (Gyllenhal) (Coleoptera Curculionidae) *Atti XX Congr. naz. ital. Entomol.*, Perugia-Assisi 13-18 Giugno 2005, p. 254.
144. De Marzo L., 2006 - Dettagli di morfologia larvale su *Paraphloeostiba gayndabensis* (Macleay) (Coleoptera Staphylinidae Omaliinae). *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 115-119.
145. De Marzo L., 2006 - Lunghezza degli spermatozoi in *Megathrips inermis* Priesner (Thysanoptera Phlaeothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 37 (2): 179-183.
146. De Marzo L., 2006 - Note bionomiche su *Compsothrips albosignatus* (O.M. Reuter) (Thysanoptera Phlaeothripidae). *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 79-87.
147. De Marzo L., 2006 - Note sullo sviluppo preimmaginale in *Drusilla italica* (Bernhauer) (Coleoptera Staphylinidae Aleocharinae). *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 211-220.
148. De Marzo L., 2006 - Nuove segnalazioni di Anthicidae in possesso di ghiandole mesosternali. *Naturalista siciliano*, Palermo, serie IV, 30 (1): 29-33.
149. De Marzo L., 2006 - Osservazioni bionomiche su *Bebelothrips latus* Buffa reperito in un bosco di querce della Puglia (Thysanoptera Urothripidae). *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 71-78.
150. De Marzo L., 2006 - Quantità di adulti di *Chirothrips manicatus* Haliday (Thysanoptera Terebrantia) valutata su pannocchie di *Arundo pliniana* Turra (Gramineae) in Basilicata. *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 99-107.
151. De Marzo L., Lorusso L., 2006 - Note bionomiche su *Megathrips inermis* Priesner reperito in Puglia (Thysanoptera Phlaeothripidae). *Entomologica*, Bari, 39 (2005): 109-114.
152. Paccagnini E., De Marzo L., Giusti F., Dallai R., 2006 - The aberrant spermatogenesis of the *Haplothrips simplex* (Buffa): Ultrastructural study. *Tissue & Cell*, 38: 117-186.
153. De Marzo L., 2007a - Ulteriori esempi di anomalia funzionale della ghiandola della spermateca in Coleotteri (Staphylinidae; Curculionidae; Scolytidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 38: 201-208.
154. De Marzo L., 2007b - Osservazioni di laboratorio sulla diapausa nelle neanidi di *Orothrips priesneri* (Titschack) (Thysanoptera Aeolothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 38: 219-223.
155. De Marzo L., 2007c - Una particolarità morfo-funzionale dei genitali femminili in *Bolothrips insularis* (Bagnall) (Thysanoptera Phlaeothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 39: 97-103.
156. De Marzo L., 2007d - Peculiarità anatomiche degli ovari in *Bebelothrips latus* Buffa (Thysanoptera Urothripidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 39: 105-112.
157. De Marzo L., Zanetti A., 2007 - Segnalazioni fauni-

- stiche italiane, 463. *Diestota guadalupensis* Pace, 1987 (Coleoptera Staphylinidae). *Boll. Soc. Entomol. ital.*, 139: 177.
158. De Marzo L., 2008a - Osservazioni anatomiche sull'apparato genitale femminile in tre eulofidi dell'eucalipto (Hymenoptera Chalcidoidea). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 39 (3): 185-192.
159. De Marzo L., 2008b - Reperimento del parassitoide *Closterocerus chamaeleon* (Girault) in Basilicata e Puglia (Hymenoptera Eulophidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 39 (3): 225-231.
160. De Marzo L., 2008c - Lunghezza degli spermatozoi rilevata in alcune aleocarine (Coleoptera Staphylinidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 40 (1): 1-8.
161. De Marzo L., 2008f - Note bionomiche su *Olibrus bicolor* (Fabricius) (Coleoptera Phalacridae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 40 (1): 45-50.
162. De Marzo L., 2008g - Dati sullo svernamento del parassitoide *Closterocerus chamaeleon* (Girault) in Basilicata e Puglia (Hymenoptera Eulophidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 40 (1): 95-98.
163. De Marzo L., 2008h - Ulteriori dati sulla presenza di *Leprosa milga* Kim & La Salle su eucalipto in Sud Italia (Hymenoptera Eulophidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 40 (2): 227-232.
164. De Marzo L., 2008i - Dettagli anatomici dell'apparato genitale femminile in *Malthodes parthenias* Kiesenwetter (Coleoptera Cantharidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 40 (2): 109-115.
165. De Marzo L., Ravazzi G., 2008l - Segnalazioni faunistiche italiane. 465-470 (Thysanoptera Urothripidae). *Boll. Soc. Entomol. ital.*, Genova, 139 (2007): 178-180.
166. De Marzo L., 2009a - Note anatomiche sulle ghiandole della seta degli Hydrophiloidea (Coleoptera Hydraenidae, Helophoridae, Hydrophilidae, Sphaeridiidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 269-279.
167. De Marzo L., 2009b - Osservazioni di morfologia funzionale sull'apparato genitale femminile di *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera Tortricidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 261-268.
168. De Marzo L., 2009c - Produzione di spermatozoi rilevata in *Actinopteryx fucicola* (Allibert) (Coleoptera Ptiliidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 319-324.
169. De Marzo L., 2009d - Aspetti morfologici della spermateca in *Diestota guadalupensis* Pace e altre Aleocharinae (Coleoptera Staphylinidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 57-73.
170. De Marzo L., 2009e - Una peculiarità anatomica dei genitali femminili in alcune Aleocharinae (Coleoptera Staphylinidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 51-55.
171. De Marzo L., 2009f - Ulteriori dati sul ciclo vitale del Tripide del cipresso, *Ankothrips mavromoustakisi* Priesner (Thysanoptera Aeolothripidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 35-39.
172. De Marzo L., 2009g - Reperti di calcidoidei dell'eucalipto in Basilicata e Puglia (Hymenoptera Eulophidae; Torymidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 5-17.
173. De Marzo L., 2009h - Durata della diapausa nelle neanidi di *Haplothrips simplex* (Buffa) (Thysanoptera Tubulifera). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 27-34.
174. De Marzo L., 2009i - Valutazione della fecondità in uno stafilinide di origine esotica: *Paraphloeostiba gayndahensis* (Macleay) (Coleoptera Staphylinidae Omaliinae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 19-26.
175. De Marzo L., 2009l - Valutazione in laboratorio del potenziale riproduttivo di *Ptinella mekura* Kubota (Coleoptera Ptiliidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 75-82.
176. De Marzo L., 2009m - Reperti di *Pezothrips kellyanus* (Bagnall) svernante su viburno in Sud Italia (Thysanoptera Thripidae). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 83-90.
177. De Marzo L., 2009n - Allestimento della cella pupale e del bozzolo nei Coleotteri: qualche dettaglio etologico (Polyphaga: 7 famiglie). *Entomologica*, Bari, 40 (2006-2007): 91-100.
179. De Marzo L., 2009o - Nuovi dati anatomici sulle ghiandole colleteriche dei Pleurosticti (Scarabaeoidea: Melolonthidae, Rutelidae, Dynastidae, Cetoniidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (1): 1-6.
180. De Marzo L., Ravazzi G., 2009p - Segnalazioni faunistiche italiane. 472. *Amphybolythrips knechteli* (Priesner, 1936) (Thysanoptera Urothripidae). *Boll. Soc. Entomol. ital.*, Genova, 139-140 (2008): 121.
181. De Marzo L., 2009q - Biodiversità della spermateca nei Coleotteri. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, Firenze, anno LVI (2008): 69-96.
182. De Marzo L., 2010a - Diversità anatomica della spermateca in alcune Paederinae (Coleoptera Staphylinidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 217-213.
183. De Marzo L., 2010b - Un particolare comportamento nelle giovani larve di *Rhagonycha fulva* (Scopoli) (Coleoptera Cantharidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 229-324.
184. De Marzo L., 2010c - Un particolare comportamento delle femmine ovideponenti di *Micropeplus fulvus* Erichson (Coleoptera Micropeplidae). *Boll. Zool. agr. Bachic.*, Milano, ser. II, 41 (3): 239-242.
185. De Marzo L., 2010d - Verifica del numero di età larvali in alcuni stafilinidi (Coleoptera). *Annali Museo civico St. nat. "G. Doria"*, Genova, 100: 649-670.
186. De Marzo L., 2010e - Studio sulla diversità anatomica della spermateca nei Coleotteri. *Entomologica*, Bari, 41: 13-76.
187. De Marzo L., 2010f - Osservazioni anatomiche sull'apparato genitale femminile in Dityrsia di 13 famiglie (Lepidoptera). *Entomologica*, Bari, 41: 77-111.
188. De Marzo L., 2011a - A further evaluation of the sperm length in aleocharines (Coleoptera Staphylinidae). *J. Entomological Acarological Res.*, ser. II, 42 (3): 117-124.
189. De Marzo L., 2011b - Some structural details of the hind wings detected in staphylinids of 7 subfamilies (Coleoptera). *J. Entomological Acarological Res.*, ser. II, 42 (3): 125-142.
200. De Marzo L., 2011c - Due eminenti Entomologi: Giorgio Fiori e Vincenzo Lupo. *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia*, Firenze, anno LVIII, (2010): 29-41.
201. De Marzo L., in stampa - *Thanatophilus* Entomologica
202. De Marzo L., in stampa - eulofidi Entomologica
203. De Marzo L., in stampa - Paederinae colleteriche Entomologica

COMMEMORAZIONE

FERDINANDO BIN

ERIC CONTI (*) - FRANCESCO PENNACCHIO (**)

(*) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Ambientali, Università degli Studi di Perugia.*

(**) *Dipartimento di Agraria, Laboratorio di Entomologia "E. Tremblay", Università degli Studi di Napoli "Federico II".*
Commemorazione tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 15 novembre 2014.

La giornata di primavera calma e radiosa in cui Nando Bin ci ha lasciati nella nostra tristezza terrena è intrisa di un simbolismo che rappresenta perfettamente la sua persona: semplice e con la cultura del bello. Quasi come se la Natura, che lui tanto amava, avesse voluto salutarlo con un caldo sorriso e accoglierlo con serenità nella sua bellezza infinita.

Chi ha avuto l'opportunità di conoscere Nando ha certamente apprezzato questi aspetti della sua personalità, che hanno gradevolmente illuminato il suo percorso di vita e i sentieri di noi che lo abbiamo incrociato. Ogni cosa che lui faceva era permeata da un'attenzione per i particolari importanti, con una costante tensione a perseguire il piacere derivante dalla soddisfazione di fare qualsiasi cosa al meglio, cercando di raggiungere un "bello essenziale", sobrio e condivisibile. Una propensione caratteriale che lo aveva portato ad amare molte forme di arte, e in modo particolare la musica, ma che spesso era anche fonte di insoddisfazione, quando l'imperfezione del nostro mondo lo portava a confrontarsi con difficoltà e barriere o vincoli insuperati ma non insuperabili e per questo, forse, per lui ancora più intollerabili.

Non è facile rendere in parole questa percezione piacevole della sua persona e del suo modo di essere, ma ripensando alle tante occasioni di vita in comune è possibile percepire, con una sensazione quasi fisica, questa sua costante attitudine che ha permeato la sua sfera personale e professionale. Chi poi ha avuto il privilegio di vivere la sovrapposizione fra questi due ambiti può certamente capire fino in fondo il senso di queste parole. Il piacere di una serata o di un viaggio, sempre molto gradevoli, con discussioni animate da curiosità per il nuovo, da spirito critico e da un'insaziabile esigenza di arrivare a sintesi semplici e illuminate di fenomeni complessi, fra i quali trovavano ampio

spazio anche quelli che i suoi piccoli insetti gli proponevano e che lui, fin da giovanissimo, aveva osservato con rigore e passione. In quest'ambito era costantemente alla ricerca di nuove idee, ed il tempo per perseguirle gli sembrava sempre poco, stimolato dalla continua esigenza di comprendere il come e il perché dei tanti affascinanti temi di studio da lui affrontati, ponendo altrettanta attenzione alla loro comunicazione alla comunità scientifica internazionale. Queste sue capacità facevano di lui un acuto ricercatore e un grande comunicatore, molto apprezzato da allievi e colleghi. A noi tutti ha lasciato un'eredità scientifica e umana di cui gli saremo sempre grati, sebbene, purtroppo, non sempre siamo stati capaci di goderne appieno. Qui vogliamo ripercorrere brevemente la vita di Nando Bin, per riabbracciare simbolicamente la sua figura scientifica e umana e riflettere sugli insegnamenti che ci ha dato, anche quelli che non siamo stati capaci di recepire completamente, e con la giusta riconoscenza a lui dovuta.

Il Professor Ferdinando Bin nacque a Genova l'8 febbraio 1941 e trascorse i primi anni dell'infanzia a Palazzolo sull'Oglio, in provincia di Brescia, finché la famiglia si trasferì a Piacenza al termine della II Guerra Mondiale. Fin da piccolo mostrò una grande passione per la campagna, le attività all'aria aperta, la natura nelle sue diverse espressioni e in particolare per l'Entomologia, passione che riusciva a coltivare anche attraverso l'appartenenza al movimento dei boy scout. Difficile immaginare cosa avranno pensato i suoi capi ed i compagni quando, verso la metà degli anni '50, il giovane Nando Bin andava in giro per l'appennino piacentino raccogliendo insetti, che poi spillava e riponeva nella calotta del cappello di scout. Non pochi entomologi hanno scoperto questa loro attitudine da ragazzi e, crescendo, hanno avuto la for-

tuna di poter trasformare quello che di fatto era una passione in una professione piacevole e gratificante, acquisendo una marcia in più proprio grazie a questo precoce interesse. Nando era uno di questi. Se poi la passione era affiancata da una continua ricerca della verità scientifica e attenzione ai dettagli, diventava facile avvicinarsi a quei livelli di perfezione ai quali Nando tendeva in tutto ciò che cercava di realizzare.

Dopo gli studi scientifici, Nando Bin si iscrisse alla Facoltà di Agraria dell'Università Cattolica del Sacro Cuore, a Piacenza, dove nel 1966 conseguì la Laurea in Scienze Agrarie, svolgendo una tesi in Entomologia sugli insetti pronubi del pero e del melo, sotto la guida del Professor Giorgio Domenichini e del Professor Mario Solinas, allora giovane assistente.

Lo stesso anno della laurea Nando Bin fu nominato assistente incaricato (Fig. 1) e nel 1971 assistente ordinario alla Cattedra di Entomologia, mantenendo questo ruolo all'Università Cattolica ancora per quattro anni, fino al trasferimento a Perugia. Durante il periodo "piacentino" iniziò i suoi primi viaggi all'estero. Nel 1971 trascorse quattro mesi in Canada, presso il Biosystematics Research Institute di Ottawa, grazie ad una borsa di studio del Canada Council. Probabilmente in questi anni maturò la sua passione per la sistematica degli Imenotteri Scelionidi, che lo portò a visitare le collezioni di numerosi musei europei e americani, e gli valse la qualifica, dal 1972, di membro tassonomista del Servizio Identificazione Entomofagi della I.O.B.C.

Nel 1975 Nando Bin iniziò la lunga fase "perugina" della sua carriera, come assistente ordinario



Fig. 1 - Ferdinando Bin a Piacenza nel 1967.

e, dal 1976, come aiuto della cattedra di Entomologia agraria, per poi diventare professore associato nel 1983 e professore ordinario nel 1990. Oltre ai numerosi impegni della didattica e della ricerca, Nando si trovò fin dall'inizio ad affrontare una serie di obblighi istituzionali legati alla gestione dell'Istituto di Entomologia agraria, per poi diventarne il Direttore per un lungo periodo, dal 1992 al 1999. Obblighi che Nando non amava particolarmente, ma ai quali per senso del dovere dedicava grande impegno e attenzione, non senza disapprovare le pecche del sistema e cercando di proporre costruttivamente delle alternative che secondo lui avrebbero potuto ridurre la viscosità e rendere il lavoro di gestione più semplice.

I numerosi impegni nella nuova sede non limitarono il suo desiderio di viaggiare e maturare nuove esperienze scientifiche. Nel 1977, Nando Bin svolse l'insegnamento di Entomologia Agraria presso l'Università Nazionale Somala di Mogadiscio e, inoltre, fornì consulenza scientifica nell'ambito del "Development Program" delle Nazioni Unite, relativamente a problemi di infestazioni di insetti delle derrate alimentari. Negli ultimi anni '70, e per i due decenni successivi, non si stancò mai di spostarsi per soddisfare la sua sete di conoscenza e incontrare nuovi colleghi. Le numerose visite a musei e a enti di ricerca, così come la partecipazione a congressi in tutti i continenti, furono affrontate da Nando con massima serietà, mantenendo la sua mente sempre pronta ad accogliere spunti interessanti, con l'obiettivo primario di avviare nuove collaborazioni e di promuovere idee da portare a frutto al rientro. E' impossibile dimenticare lo stato di eccitazione che lo accompagnava quando intravedeva la possibilità di ricerche congiunte con vecchi e nuovi amici.

Probabilmente una delle esperienze più importanti nell'evoluzione del suo pensiero scientifico la visse nel 1983, quando trascorse un periodo di sei mesi a College Station (TX, USA), presso il Department of Entomology della Texas A&M University. Questo periodo negli USA segnò l'inizio di una lunga e fruttuosa collaborazione con il collega ed amico Brad Vinson (Fig. 2), studioso di fama internazionale nel campo della fisiologia ed ecologia chimica degli insetti parassitoidi.

Nando parlava sempre con entusiasmo a noi giovani della sua importante esperienza americana e degli altri scambi scientifici internazionali che aveva perseguito con grande fermezza nonostante le molte difficoltà incontrate. Lo scout Ferdinando Bin lo ritroviamo anche qui, nella sua necessità di esplorare l'incognito, vivere esperienze di grande stimolo culturale, proporre nuove sfide a colleghi che potessero condividere il suo

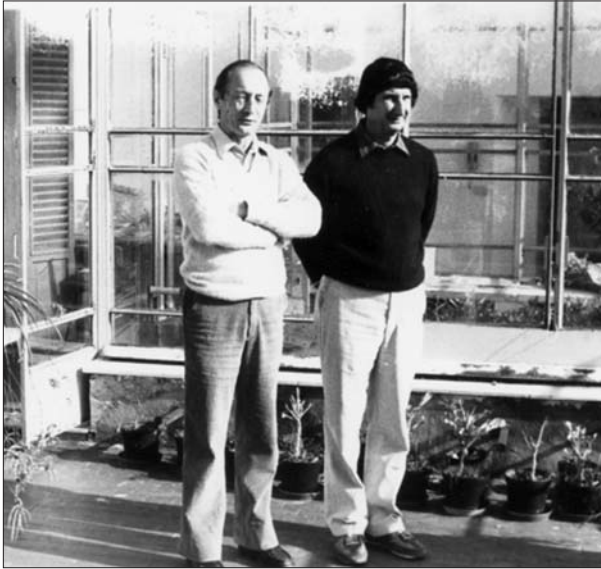


Fig. 2 – Con Brad Vinson a College Station nel 1983.

spirito intraprendente. Questo approccio alla conoscenza ha portato Nando Bin a riscuotere una grande stima da parte dei colleghi stranieri, e ha prodotto importanti frutti durante tutta la sua carriera, consentendo la realizzazione di numerosi progetti in collaborazione, il continuo scambio di studenti di dottorato, e l'arrivo di numerosi scienziati, attratti dalla sede di Perugia, come ad esempio Jeff Aldrich, Bob Luck, Joop van Lenteren e Guy Boivin.

Sicuramente le idee brillanti di Nando Bin, il rigore scientifico e la capacità di sintesi hanno fatto apprezzare la sua personalità scientifica a numerosi colleghi. Queste doti si ritrovano nelle pubblicazioni, dove si può inoltre apprezzare la sua abilità nel riassumere con schemi e disegni i risultati delle ricerche, rendendo semplici concetti complessi, in modo da renderli di immediata comprensione anche ai non specialisti del settore. Ma ciò che più risalta osservando la produzione scientifica di Nando Bin, sviluppatasi nell'arco di circa 50 anni, è la sua curiosità per il nuovo, che lo ha portato a muoversi agevolmente tra diverse tematiche di Entomologia applicata, spesso focalizzando l'attenzione sugli aspetti funzionali alla base dei tanti fenomeni biologici da lui studiati. Si può notare come già il giovane ricercatore, da solo oppure in collaborazione con colleghi più anziani, spaziava dai pronubi agli insetticidi, dagli imenotteri ooparassitoidi agli emitteri, dalla bio-etologia alla morfologia. Agli inizi degli anni settanta Nando cominciò a cimentarsi con successo nei suoi studi di sistematica, scegliendo un gruppo sicuramente complesso come quello

degli Imenotteri Scelionidi. Anche in questa scelta percepiamo la sua audacia nell'affrontare nuove sfide. Gli innumerevoli scambi con rinomati specialisti stranieri come Lubomir Masner, Norman Johnson, Paul Dessart e Andrew Polaszek hanno costantemente alimentato questo suo interesse, permettendogli di produrre numerosi contributi di pregio, molto apprezzati dalla comunità scientifica internazionale. La stima di cui Nando Bin godeva tra i colleghi sistematici è dimostrata anche dalle nuove specie di imenotteri parassitoidi a lui dedicate, come *Conostigmus nandobini* Dessart (1979), raccolto in Somalia nel 1977, e *Telenomus bini* Polaszek & Kimani (1990).

Questo periodo importante della sua attività di ricerca rappresentò una vera e propria finestra sul mondo meraviglioso della biodiversità degli insetti. Una fantastica moltitudine di strutture, la cui morfologia, utilissima per lo sviluppo di una solida sistematica del gruppo da lui scelto, lo stuzzicava a cercare di comprendere le possibili funzioni nascoste dietro questi piccoli dettagli. Un "sistematico funzionale", che spesso esprimeva ai suoi colleghi il suo insaziabile desiderio di comprendere la funzione ecologica e comportamentale delle tante strutture che trovava nei suoi insetti minuti, ma non per questo meno complessi.

Come molti entomologi "di razza", partendo dallo studio della sistematica di un gruppo di insetti si è spinto in modo crescente verso gli aspetti biologici più significativi, rendendo, così, i suoi sforzi di classificazione pregni di un significato particolare. Lo studio degli Scelionidi rappresentò una generosa fonte di stimoli e tracciò nella mente di Nando due rivoli paralleli, a volte convergenti, che presto diventarono due fiumi in piena, grazie anche alla sua capacità di scegliersi collaborazioni fruttuose e stimolanti. Collaborazioni con colleghi di fama internazionale e attività molto proficue svolte con giovani allievi, quali Stefano Colazza e Nunzio Isidoro, che negli anni hanno dimostrato come l'intuito di Nando Bin fosse molto acuto anche nel saper riconoscere ricercatori promettenti, guidandoli in un solido percorso di crescita che li ha portati a raggiungere brillanti risultati.

Prendono, quindi, il via in questo periodo due importanti filoni di ricerca sugli ooparassitoidi: la morfologia funzionale, che ha visto lo sviluppo pionieristico della microsopia elettronica a Perugia, l'etologia e l'ecologia chimica. Questi temi di studio lo accompagneranno per tutti gli anni futuri, caratterizzandone gran parte della produzione scientifica e conducendo alla formazione di validi gruppi di ricerca, i cui componenti

sono attualmente distribuiti in diversi Atenei nazionali.

Le indagini morfologiche sulle antenne di *Trissolcus basalis*, abbinate alle osservazioni sul comportamento sessuale, lo portarono a dimostrare, per la prima volta, la presenza di diversi tipi di ghiandole antennali in entrambi i sessi del parassitoide, probabilmente utilizzate per produrre, tra l'altro, feromoni sessuali utilizzati durante il corteggiamento. L'impegno di Nando e dei suoi collaboratori ha consentito la produzione di importanti pubblicazioni sulla morfologia funzionale e sull'ultrastruttura di sensilli e ghiandole antennali non soltanto di ooparassitoidi, ma anche di Aculeati, contribuendo in modo sostanziale agli studi sull'ultrastruttura antennale degli imenotteri e gettando le fondamenta per future ricerche sulla funzione di questi organi emittenti, le ghiandole, e riceventi, i sensilli antennali.

Gli studi sul comportamento di selezione dell'ospite in *Trissolcus* spp. hanno rappresentato la rampa di lancio per numerose ricerche sull'etologia e sull'ecologia chimica di questi e di altri parassitoidi, condotte insieme a collaboratori e numerosi dottorandi, nell'ambito di progetti nazionali e internazionali. Queste ricerche, che si sono susseguite nell'arco di più di venti anni, hanno aperto scenari, allora sconosciuti per gli scelionidi, sulle interazioni tri-trofiche pianta-ospite-parassitoide. In particolare è stato possibile dimostrare la capacità delle piante di difendersi dall'attacco delle cimici chiedendo "aiuto" agli ooparassitoidi nemici delle cimici stesse, mediante l'emissione di specifici segnali odorosi, i sinomoni indotti da ovideposizione. Queste ricerche innovative, insieme ad altri studi di ecologia chimica e comportamentale, continuano tuttora a Palermo e Perugia: i semi culturali di Nando continuano a dare frutti anche dopo la sua scomparsa.

Dopo esserci soffermati sui capisaldi dell'attività scientifica di Nando Bin non possiamo non menzionare almeno una parte degli altri interessi scientifici ai quali egli è riuscito a dedicare il suo tempo. Grazie ad un continuo scambio con diversi colleghi e collaboratori, Nando si è mosso agevolmente su vari aspetti delle associazioni ospite-parassitoide, della bio-ecologia di eterotteri e lepidotteri e dei rispettivi parassitoidi, della valutazione dei danni alle colture, dell'efficacia del controllo biologico esercitato da scelionidi e da parassitoidi appartenenti ad altri gruppi tassonomici. In particolare, è nel controllo biologico classico che meglio si è espressa la parte più vicina agli aspetti applicativi dell'attività di Nando Bin, attraverso il coordinamento di progetti finalizzati all'introduzione di entomofagi e la divulgazione

in riviste specializzate. Anche la divulgazione attraverso la stampa ordinaria è stata affrontata con successo, spiegando in modo efficace l'idea che si possono difendere le colture dagli insetti utilizzando insetti loro nemici. Ricerche applicate e divulgazione efficace, quindi, che hanno dato a Nando, nel corso degli anni, notevole visibilità sia a livello nazionale che locale, per il suo interesse verso le problematiche del territorio umbro (Fig. 3).



Fig. 3 – A Perugia nel 1988, durante la distribuzione in campo di ovature parassitizzate per un progetto di controllo biologico.

Per Nando la ricerca e la didattica erano intimamente collegate. Era insito nel suo spirito il bisogno di trasferire con l'insegnamento non soltanto le conoscenze scientifiche, ma anche i principi etici della tutela ambientale che, secondo lui, dovevano diventare la regola per i futuri operatori del settore. Piuttosto che una preparazione nozionistica, agli studenti chiedeva la capacità di comprendere i meccanismi e le interazioni tra i diversi sistemi. Come per lo scienziato, anche per il docente le nozioni rappresentavano soltanto le fondamenta, sia pure importantissime, su cui elaborare ulteriori e più gratificanti sforzi intellettuali per comprendere il come e il perché di un fenomeno. Da qui l'energia spesa da Nando nel preparare innumerevoli schemi biologici e morfologici a scopo didattico, che i suoi studenti hanno conosciuto e apprezzato per decenni. Questa sua spiccata propensione alla rappresentazione didattica gli ha consentito di dare un contributo prezioso

alla preparazione dell'Atlante Entomologico, utilizzato con grande successo da diverse generazioni di studenti. La sua abilità nel comunicare i segreti e il fascino del mondo degli insetti era apprezzata non solamente dagli studenti ma anche dai colleghi non entomologi, i quali lo ascoltavano incuriositi grazie alla sua capacità di rendere interessanti anche argomenti noiosi o ostici per i non addetti ai lavori. Per raggiungere questi obiettivi ricorreva volentieri a disegni eseguiti di suo pugno o anche a fumetti affidati a mani più esperte, ma sempre sotto la sua diretta guida (Fig. 4).

Noi, suoi allievi, dobbiamo sentirci riconoscenti nei confronti di Nando Bin perché, grazie a lui e ai suoi rapporti con colleghi americani ed europei, abbiamo avuto la possibilità di vivere delle esperienze formative fondamentali nei laboratori di importanti strutture di ricerca, sotto la guida di scienziati di fama internazionale. Una formazione che lui ha garantito a tutti noi con grande naturalezza, senza che noi stessi ci rendessimo conto dell'eccezionalità di questa occasione, non proprio ovvia in quegli anni.

L'impegno di Nando nella formazione dei giovani collaboratori era perfettamente in sintonia non solamente con la sua etica professionale, ma anche con la sua visione personale della vita. Ogni tanto, con tono in parte anche dissacrante ma sempre intimamente sincero, Nando si dilettava a spiegarci che secondo lui esistono due modi per

riprodursi, il primo segue gli istinti comportamentali dettati dalla natura, il secondo segue la strada del maestro e del discepolo. Lui sentiva come suoi figli "scientifici" i giovani che si erano formati sotto la sua guida, ai quali tramandare il suo modo, certamente particolare, di fare ricerca ed avvicinarsi alla Scienza. Non pochi figli, in realtà, ora distribuiti in diverse regioni italiane, ma sempre intimamente tenuti assieme dalle loro origini comuni, chiaramente riconducibili a Nando Bin.

Una persona e uno scienziato con caratteristiche non comuni. Non accettava volentieri vecchi schemi consolidati, le tradizioni, e rifiutava categoricamente le verità assiomatiche. Inoltre, era un entusiasta che dava tutto se stesso per raggiungere un obiettivo, puntando sempre alla perfezione. Amava le discussioni scientifiche, parlare degli argomenti che lo interessavano con allievi e colleghi per lunghe ore, fino a notte fonda, preferibilmente sorseggiando un bicchiere di buon vino o di whisky e gustando qualche snack. "Brain storming" e whisky torbato. Si cominciava da un argomento preciso ma non era possibile prevedere dove si sarebbe arrivati. Il giorno dopo era di nuovo lì, fresco, con la battuta pronta, disposto a ricominciare al primo pretesto lo scambio di opinioni interrotto poche ore prima, a tarda notte. Questa sua personalità si esprimeva al meglio durante i viaggi in Italia e, soprattutto, all'estero, per incontri o congressi. I rapporti con alcuni col-

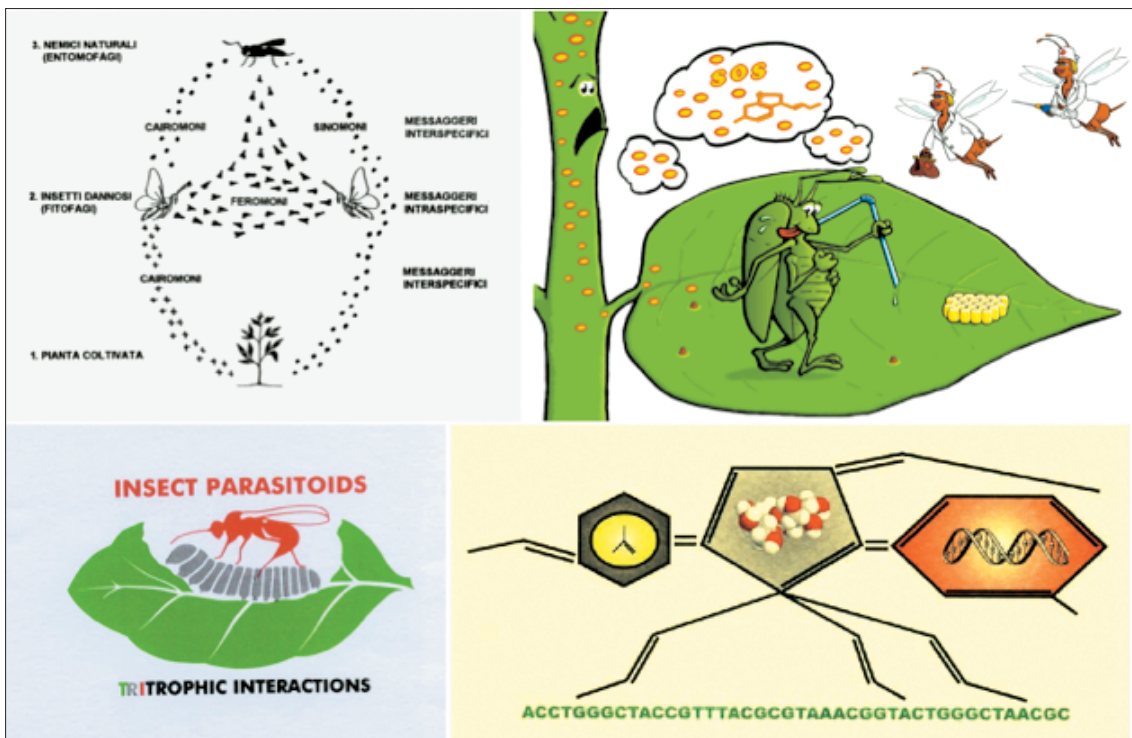


Fig. 4 - Disegni e schemi scientifici ideati da Nando Bin.

leggi lo esaltavano e, in un certo senso, lo facevano tornare a vivere con entusiasmo quasi giovanile anche i rapporti di vecchia data. Durante queste occasioni si comprendeva come, per Nando, la ricerca scientifica, liberata da freni e convenzioni, fosse un gioco, un divertimento, un qualcosa di cui godere e in cui immergersi fisicamente.

Durante tutta la sua carriera, l'entusiasmo per nuove avventure scientifiche è sempre rimasto alto, immutato negli anni, anche quando si è trattato di dedicare del tempo a sforzi di scrittura di progetti di ricerca, da lui talora ritenuti meno stimolanti, che hanno spesso consentito collaborazioni fra svariate strutture di ricerca italiane ed estere, con risultati in molte occasioni brillanti, sia dal punto di vista scientifico che umano. I primi segni di stanchezza, che inevitabilmente compaiono nella vita di ognuno di noi, si sono manifestati in lui con un'inattesa riluttanza nei confronti di queste attività di programmazione, che aveva sempre fatto al meglio, ma che non aveva mai amato; e come dargli torto. Andava ripetendo che il poco tempo che aveva a disposizione lo voleva utilizzare in modo più produttivo e soddisfacente per lui. La cosa ci lasciava sorpresi ma non più di tanto: veniva fuori una selettività d'intenti a favore di cose da lui considerate più belle e opportune. Una sua naturale propensione. Quante discussioni fatte sull'esigenza di scrivere un nuovo libro¹ o revisioni di argomenti di grande rilevanza, che lui vedeva con rosea speranza collocate in una fase della vita accademica meno pressante in termini di impegni non strettamente scientifici. Quasi una promessa di tempi migliori per sé e per i suoi più vicini collaboratori e amici, lungamente coltivata e che in questa fase della sua vita gli sembrava a portata di mano.

Purtroppo questo desiderio è in buona parte rimasto tale. La vita di Nando si è improvvisamente complicata, con l'arrivo silenzioso di un declino graduale della salute che lui percepiva, e che ha affrontato sempre con serenità e grande dignità, cercando di limitarne l'impatto sui suoi programmi di studio, mai messi da parte.

¹ Il contributo dato da Nando Bin al testo pubblicato da Liguori, *Gli Insetti e il loro controllo*, va oltre il capitolo che lui ha scritto; il suo incoraggiamento costante negli anni è stato prezioso per portare a compimento la realizzazione di questo sforzo corale di scrittura. Come piccolo gesto di riconoscimento nei suoi confronti, è stato messo in copertina un disegno di Nando, che lui scherzosamente aveva intitolato "L'insetto bionico": un'arguta sintesi grafica!

Nonostante le crescenti difficoltà, alleviate dalla presenza amorevole nella sua vita della moglie Chiara, mostrava una commovente voglia di continuare a guardare avanti, accarezzando sempre con intatta passione i progetti sui suoi insetti. Le ricorrenti telefonate, per supplire agli incontri divenuti purtroppo più rari, vista la distanza, riaccendevano il suo spirito quando si parlava di scienza e di ricerche in corso, facendo riemergere da una crescente stanchezza fisica una mente mai sopraffatta dalle difficoltà. Queste "discussioni entomologiche" erano spesso, come in passato, costellate di argomenti più leggeri, che con ironia ci riportavano ai tanti momenti belli condivisi in un lungo passato trascorso assieme. Un equilibrato connubio di scienza e vita che rendeva Nando una persona unica, per chi ha saputo apprezzare questa sua inestimabile dote.

All'inizio di agosto del 2013, il rapporto telefonico non colmava più la "distanza" fra Perugia e Napoli e ho voluto fargli la sorpresa, con la complicità di Chiara, di una visita inattesa. Ancora ricordo il suo volto quando mi ha visto, tra l'incredulo e il compiaciuto. La limitata soddisfazione delle telefonate fu finalmente sostituita dal piacere di un'amabile discussione nell'incantevole cornice del lago Trasimeno, che rendeva quel momento ancora più dolce e gradevole. Un bellissimo incontro che un presente difficile non riuscì a intaccare: un ricordo molto caro che porterò sempre con me. Ricordo tenuto materialmente vivo anche da un dono che Nando mi ha voluto fare in quell'occasione: una bottiglia di vino spumante dal nome "Guizzo del Lago". Mai nome fu più appropriato per descrivere l'intensità dello slancio emotivo di quella bellissima giornata. Contavo di poterla stappare assieme a lui non appena possibile... è ancora lì, quasi come un tramite fra la terra e il cielo, nella speranza di un futuro brindisi illuminato dal suo sorriso, il cui ricordo, in attesa, continuerà a riempire di gioia le nostre vite.

PUBBLICAZIONI

1. SOLINAS M., BIN F., 1964 - *Osservazioni sull'attività degli insetti impollinatori del pero e del melo*. Riv. Ortoflorofruitt. It. 48: 479-496.
2. SOLINAS M., BIN F., 1965 - *Osservazioni sugli insetti impollinatori delle leguminose foraggere (Medicago sativa e Trifolium pratense) nella Pianura Padana*. Sementi Elette 11: 1-32.
3. BIN F., 1967 - *Gli esteri fosforici ad azione endoterapica locale (Citotropici)*. Agricoltura Piacentina 12: 1-12.
4. BIN F., 1967 - *Gli esteri fosforici ad azione endoterapica a distanza (Sistemici)*. Agricoltura Piacentina 12: 1-12.
5. BIN F., 1968 - *La diffusione della Corvthucha ciliata*

- Say, *Tingide neartico del Platano, nel Nord Italia*. Boll. Zool. agr. Bachic. 9: 123-131.
6. BIN F., FRILLI F., 1968 - *Gli Imenotteri*. In: *Gli animali e il loro mondo*. 90: 1796-1800; 91: 1801-1820; 92: 1821-1840. F.lli Fabbri Ed.
 7. BIN F., 1970 - *Lygus viscicola* Put. (Miridae) e *Psylla visci* Curt. (Psyllidae), *Rincoti del Vischio nuovi per la fauna italiana*. Boll. Zool. agr. Bachic. 10: 133-144.
 8. SORESSI G.P., BIN F., 1970 - *Some indications on tomato NCP by insects in Piacenza area (Italy) in view of hybrid seed production*. Tomato Gen. Coop. Rep., 20: 60-61.
 9. BIN F., 1972 - *Presenza in Italia della Trioza femoralis Foerster (Rhynchota, Psyllidae) e notizie su due Calcidoidei suoi parassiti*. Entomologica 8: 45-53.
 10. BIN F., 1972 - *Biologia ed etologia comparata di alcune Agapanthia villosoviridescens Deg., violacea Fabr., cardui L. (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiinae)*. Boll. Zool. agr. Bachic. 11: 101-124.
 11. BIN F., 1972 - *Osservazioni bio-etologiche su Odera erythrocephala Schrank (Coleoptera, Cerambycidae, Lamiinae)*. Boll. Zool. Bachic. 11: 141-149.
 12. BIN F., 1972 - *Ritrovamento dell'ospite e descrizione del maschio di Basalys helicicola (Kieff.) (Hymenoptera, Proctotrupoidea, Diapriidae)*. Entomologica, 8: 35-44.
 13. BIN F., 1972 - *Un nuovo caso di ginandromorfismo in Ashmeadopria Kieffer (Hymenoptera, Proctotrupoidea, Diapriidae)*. Entomologica 8: 55-59.
 14. BIN F., SORESSI G.P., 1973 - *Insetti pronubi e produzione di seme ibrido di pomodoro*. Genetica agraria 27: 35-74.
 15. BIN F., 1974 - *The types of Scelionidae (Hymenoptera, Proctotrupoidea) in some Italian collections (Museums of Genoa and Florence, Institute of Portici)*. Entomophaga 19: 453-466.
 16. BIN F., 1975 - *A new species of Telenomus Haliday (Hymenoptera, Scelionidae) reared from Hysteropterum flavescens Oliv. (Rhynchota, Fulgoridae)*. Entomologica 11: 183-187.
 17. BIN F., 1976 - *Record of a teratological Trichopria Ashm. (Hymenoptera, Diapriidae)*. Entomologica 12: 67-70.
 18. BIN F., 1976 - *The types of Scelionidae (Hymenoptera) in the "Naturhistoriska Riksmuseet" in Stockholm described by Kieffer in "Arkiv for Zoologi", 1904*. Entomologica 12: 71-74.
 19. BIN F., 1976. *New host records in Baryconus Foerster (Hymenoptera, Scelionidae)*. Entomologica 12: 63-66.
 20. BIN F., 1977 - *Preliminary report on a new structure in Trissolcus Ashm. (Hymenoptera, Scelionidae)*. Redia, 60: 453-456.
 21. BIN F., 1979 - *Encyrtoscelio apterus (Szel.) (Hym., Scelionidae) egg parasite of Cydnus aterrimus Foerst. (Het., Cydnidae)*. Boll. Lab. Ent. agr. "F. Silvestri" 36: 3-7.
 22. BIN F., 1979 - *Influenza dei peli glandolari sugli insetti in Lycopersicon spp.* Frust. Ent., N.S. 2 (15): 271-283.
 23. BIN F., FARNESI R.M., 1979 - *Morphological observations on the frontal pit in Trissolcus simoni Mayr (Hymenoptera, Scelionidae)*. Redia, 62: 277-280.
 24. BIN F., 1981 - *Ecological notes on Encyrtoscelio sp. (Hymenoptera, Scelionidae)*. Mon. Zool. Ital. N. S. Suppl. 14: 1-6.
 25. BIN F., 1980 - *New biological and taxonomical records in Xenomerus spp. (Hymenoptera, Scelionidae)*. Frust. Ent. N.S. 3 (16): 183-188.
 26. BIN F., 1980 - *Species of Gryon and Telenomus (Hym., Scelionidae) questionably reared from the eggs of the Gypsy Moth (Lep., Lymantridae)*. Frust. Ent., N.S. 3 (16): 213-218.
 27. DESSART P., BIN F., 1980 - *Gnathoceraphron, new genus with two new species from Africa (Hymenoptera, Ceraphronoidea, Ceraphronidae)*. Redia, 63: 109-120.
 28. BIN F., 1981 - *Definition of female antennal clava based on its plate sensilla in Hymenoptera Scelionidae Telenominae*. Redia, 64: 245-261.
 29. VAN ACHTERBERG C., BIN F., 1981 - *Notes on two species of Dinotrema Foerster (Hym. Braconidae, Alysiinae) with observations on the hymenopterous parasite-complex of Spiniphora dorsalis Becker (Dipt., Phoridae) in dead Helix spp. (Mollusca)*. Ent. Ber. 41: 104-112.
 30. BIN F., JOHNSON N.F., 1982 - *Potential of Telenominae in biocontrol with egg parasitoids (Hym., Scelionidae)*. 1st Int. Symp. :Les Trichogrammes. Antibes, France. Colloq. INRA 9: 275-287.
 31. BIN F., JOHNSON N. F., 1982 - *Some new species of Telenomus (Hym., Scelionidae) egg parasitoids of tropical pyralid pests (Lep., Pyralidae)*. Redia 65: 229-252.
 32. JOHNSON N.F., BIN F., 1982 - *Species of Telenomus (Hym., Scelionidae) parasitoids of stalked eggs of Neuroptera (Chrysopidae and Berothidae)*. Redia 65: 229-252.
 33. BIN F., DESSART P., 1983 - *Cephalic pits in Proctotrupoidea Scelionidae and Ceraphronoidea (Hymenoptera)*. Redia 66: 563-575.
 34. BIN F., TIBERI R., 1983 - *Notizie preliminari sui parasitoidi oofagi della Thaumetopoea processionea (L.) (Hym., Chalcidoidea) (Lep., Thaumetopoeidae)*. Redia 66: 449-459.
 35. FIORI G., BIN F., SENSIDONI A., 1983 - *Atlante Entomologico. Morfologia esterna*. pp.125. Galeno Ed. Perugia.
 36. BIN F., MAINI S., 1984 - *Possibilities for biological control of Sesamia spp. (Lep., Noctuidae) by means of egg parasitoids (Hymenoptera)*. XVII Int. Congr. Ent. Hamburg, p. 777.
 37. BIN F., STRAND M.R., VINSON S.B., 1984 - *Hosts associations in oophagous parasitic Hymenoptera*. XVII Int. Congr. Ent. Hamburg, p. 786.
 38. BIN F., 1985 - *Foresia in un parassitoide oofago Mantibaria seefelderiana (De Stef.-Per.) (Hym., Scelionidae)*. Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent., Palermo, pp. 901-902.
 39. BIN F., BICCHIERAI C., VINSON S.B., 1985 - *Alcune strutture antennali ed ipotesi sulla loro funzione in Trissolcus basalis (Woll.) (Hym., Scelionidae), parassitoide oofago della Nezara viridula (L.)*. Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent. Palermo, pp. 905-906.
 40. BIN F., VINSON S.B., 1985 - *Rinvenimento del cairaomone per il riconoscimento delle uova nella coppia ospite - parassitoide Nezara viridula (L.) - Trissolcus basalis (Woll.) (Het., Pentatomidae; Hym., Scelionidae)*. Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent. Palermo, pp. 903-904.
 41. BIN F., VIGGIANI G., VINSON S.B., 1985 - *New antennal structures associated with mating behavior in some Parasitic Hymenoptera*. Symp. Roy. Ent. Soc.: Insect parasitoids, London.
 42. COLAZZA S., CIRICIOFOLO E., BIN F., 1985 - *Prime osservazioni sui danni da Nezara viridula (L.) (Het., Pentatomidae) alla soia in Italia Centrale*. Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent., Palermo, pp. 371-378.

43. BIN F., COLAZZA S., 1986 - *Esplosione demografica di Nysius gramnicolus Kol. sul sorgo in Italia centrale (Rincoto Ligeide)*. L'Informatore agrario 42: 75-77.
44. BIN F., TIBERI R., 1986 - *Insetti entomofagi e controllo biologico dell'Ifantria americana*. Atti: L'Ifantria americana (Hyphantria cunea Drury) nella realtà padana. Consorzio Prov. Fitosan., Reggio Emilia, pp. 31-32.
45. BIN F., VINSON S.B., 1986 - *Morphology of the antennal sex-gland in male Trissolcus basalidis (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of the Green Stink Bug, Nezara viridula (Hemiptera: Pentatomidae)*. Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 15: 129-138.
46. COLAZZA S., CIRICIOFOLO E., BIN F., 1986 - *La Nezara viridula (L.) dannosa alla soia in Italia centrale (Rincoto Pentatomide)*. L'Informatore agrario 42: 79-84.
47. BIN F., COLAZZA S., 1987 - *Ventilation holes made by Edovum puttleri Griss. larva (Hym.: Eulophidae) in Colorado Potato Beetle egg shell*. Int. Workshop: Entomophagous Insects. College Park, Univ. of Maryland, USA.
48. BIN F., VINSON S.B., COLAZZA S., 1987 - *Responsiveness of Trissolcus basalidis (Woll.) female (Hym.: Scelionidae) to Nezara viridula (L.) in olfactometer*. 3rd Europ. Workshop: Parasitoid Insects. Pp. 15-16. Lyon, France.
49. TIBERI R., BIN F., 1987 - *Hyphantria cunea (Drury) (Lepidoptera, Arctiidae): controllo naturale da entomofagi indigeni dopo dieci anni dalla sua introduzione in Nord Italia*. Atti: Convegno sulle avversità del bosco e delle specie arboree da legno. Firenze, pp. 305-312.
50. BIN F., 1988 - *Egg parasitoids associated with mud egg-cases of Issidae (Homoptera: Auchenorrhyncha)*. Proc. 6th Auchenorrhyncha Meeting, Torino, 1987, pp. 605-610.
51. BIN F., 1988 - *Imenotteri ooparassitoidi ed oolarvali, semiochimici e prospettive di controllo biologico*. Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent., L'Aquila, pp. 889-909.
52. BIN F., COLAZZA S., 1988 - *Introduction in Italy, laboratory culture and field release of Edovum puttleri Griss. (Hym., Eulophidae) egg predator and parasitoid of the Colorado Potato Beetle*. 2nd Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Canton, China, 1986. Colloq. INRA 43: 459-460.
53. BIN F., COLAZZA S., 1988 - *Egg parasitoids, Hym. Scelionidae and Encyrtidae, associated with Hemiptera Plataspidae*. 2nd Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Canton, China, 1986. Colloq. INRA, 43: 33-34.
54. BIN F., COLAZZA S., 1988 - *Biological observations on Edovum puttleri Griss. (Hym.: Eulophidae) introduced in Italy against the Colorado Potato Beetle*. Proc. XVIII Int. Congr. Ent. Vancouver, Canada.
55. BIN F., COLAZZA S., CURRADO I., LONGO S., SCARAMOZZINO P.L., TIBERI R., 1988 - *Egg mass characteristics of Brown Tail Moth and attack strategy of an egg parasitoid*. Conf.: Taxon. Biol. Parasitic Hymenoptera. Gainesville, 1987. In: "Advances in Parasitic Hymenoptera Research". Ed. V. Gupta, Publ. Brill, pp. 379-382.
56. BIN F., ISIDORO N., SOLINAS M., COLAZZA S., 1988 - *Strutture antennali in Trissolcus basalidis (Hym.: Scelionidae): morfologia e ipotesi sulla funzione*. Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent., L'Aquila. p. 1105.
57. BIN F., ISIDORO N., SOLINAS M., VINSON S.B., 1988 - *Antennal structures in Trissolcus basalidis (Woll.) (Hym.: Scelionidae): morphology, hypothetical function and potential for biotaxonomy*. Proc. XVIII Int. Congr. Ent., Vancouver, Canada.
58. BIN F., STRAND M.R., VINSON S.B., 1988. *Antennal structures and mating behavior in Trissolcus basalidis (Woll.) (Hym.: Scelionidae)*. 2nd Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Canton, China, 1986. Colloq. INRA 43 :143-151.
59. BIN, F., STRAND M.R., VINSON S.B., 1988 - *Host relationships and associations in oophagous Parasitic Hymenoptera*. 2nd Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Canton, China, 1986. Colloq. INRA 43: 153-154.
60. COLAZZA S., BIN F., 1988 - *Risposta di Trissolcus simoni (Mayr) (Hym.: Scelionidae) ad Eurydema ventrale Klt. (Het.: Pentatomidae.) in olfattometro*. Atti XV Congr. Naz. ital. Ent., L'Aquila. pp. 833-840.
61. ISIDORO N., BIN F., 1988 - *Attività caimonale del feromone sessuale di Dryomyia lichensteini Fr. Lw. (Dipt.: Cecidomyiidae) sul parassitoide oolarvale Platygaster dryomyiae Silv. (Hym.: Platygastridae)*. Atti XV Congr. Naz. Ital. Ent., L'Aquila, pp.939-944.
62. JOHNSON N.F., BIN F., 1988 - *Telenomus species (Hymenoptera: Scelionidae) associated with the eggs of Zygaenidae (Lepidoptera)*. Proc. Entomol. Soc. Wash. 90: 244-247.
63. POLASZEK A., BIN F., 1988 - *A review of the world species of Telenomus (Hymenoptera: Scelionidae) associated with Heliothis (Lepidoptera: Noctuidae) and related genera*. Proc. XVIII Int. Congr. Ent. Vancouver, Canada.
64. TIBERI R., BIN F., 1988 - *Parassitismo e altri fattori di mortalità nelle uova di Thaumetopoea processionea (L.) in Italia centrale (Hym., Chalcidoidea; Lep., Thaumetopoeidae)*. Redia 71: 299-311.
65. VINSON S.B., BIN F., STRAND M.R., 1988 - *The role of the antennae and host factors in host selection behavior of Trissolcus basalidis (Woll.) (Hym.: Scelionidae)*. 2nd Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Canton, China, 1986. Colloq. INRA 43: 267-273.
66. BIN F., 1989 - *Insetti entomofagi e semiochimici: tradizione ed innovazione nel biocontrollo*. Atti Conv. S.I.F.: Tecniche biologiche innovative in Fitoiatria. Senigallia 110: 123-134.
67. BIN F., COLAZZA S., ISIDORO N., SOLINAS M., VINSON S. B., 1989 - *Antennal chemosensilla and glands, and their possible meaning in the reproductive behaviour of Trissolcus basalidis (Woll.) (Hym.: Scelionidae)*. Entomologica 24: 33-97.
68. COLAZZA S., BIN F., 1990 - *I Pentatomidi ed i loro entomofagi associati alla soia in Italia centrale*. Convegno: Le principali avversità parassitarie delle Oleaginose. Perugia, 1989. Inf. Fitopatologico 2: 38-42.
69. COLAZZA S., BIN F., 1990 - *Osservazioni biologiche sui Lygus spp. (Eterotteri: Miridi) associati al girasole in Italia centrale*. Convegno: Le principali avversità parassitarie delle Oleaginose. Perugia, 1989. Inf. Fitopatologico 2: 77-80
70. BIN F., COLAZZA S., 1990 - *Guida all'uso razionale dei prodotti chimici. Schede di orientamento: soia. Difesa dagli insetti*. Seminario: Controllo degli impatti ambientali nell'impiego dei mezzi chimici in agricoltura. AGER, Udine, pp. 10.
71. TIBERI R., BIN F., 1990 - *Gli insetti dannosi ai boschi. 1. I principali defogliatori della Quercia in Italia centrale*. Agricoltura Toscana 14: 42-46.
72. ROVERSI P.F., TIBERI R., BIN F., 1990 - *I parassitoidi*

- oofagi dei principali Lepidotteri defogliatori del Gen. Quercus in Italia. Atti Conv.: Problematiche fitopatologiche del genere Quercus in Italia. Firenze, pp. 316-330.*
73. BIN F., VINSON S.B., 1990 - *Efficacy assessment in egg parasitoids (Hymenoptera): proposal for a unified terminology. Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids.* San Antonio, TX, USA. Colloq. INRA 56: 175-179.
 74. CONTI E., COLAZZA S., BIN F., 1990 - *New associations in classical biological contro]: the case of oophage parasitic Hymenoptera. Int. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids.* San Antonio, TX USA. Colloq. INRA 56: 183-186.
 75. GIANGIULIANI G., COLAZZA S., BIN F., 1991 - *Efficacia dell'Ectophasia crassipennis (F.) parassitoide immaginale della Nezara viridula (L.) in Italia centrale (Diptera: Tachinidae; Heteroptera: Pentatomidae).* Atti XVI Congr. Naz. Ital. Ent., Bari-Martina Franca, pp. 367-374.
 76. MATTIACCI L., COLAZZA S., BIN F., 1991 - *Influenza del regime alimentare sulla fecondità, longevità e fertilità del parassitoide oofago Trissolcus basalis (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae).* Atti XVI Congr. Naz. Ital. Ent., Bari-Martina Franca, pp. 519-526.
 77. CONTI E., COLAZZA S., BIN F., 1991 - *Imenotteri parassitoidi di uova endofitiche degli Eterotteri: alcune associazioni nei Miridi e nei Nabidi.* Atti XVI Congr. Naz. Ital. Ent., Bari-Martina Franca, pp. 929-931.
 78. BIN F., 1991 - *Insect parasitoids. Ed. F. Bin, Proc. 4th Europ. Workshop, Perugia. Redia, 74/3 Appendice: 1-475.*
 79. BIN F., 1991 - *Tritrophic interactions and biological control. In: Insect parasitoids. Ed. F. Bin. Proc. 4th Europ. Workshop, Perugia. Redia, 74/3 Appendice: pp. I-III.*
 80. MATTIACCI L., VINSON S.B., WILLIAMS H.J., ALDRICH J.R., COLAZZA S., BIN F., 1991 - *Kairomones for the egg parasitoid Trissolcus basalis (Woll.): isolation and identification of a compound from the metathoracic glands of Nezara viridula L. In: Insect parasitoids. Ed. F. Bin. Proc. 4th Europ. Workshop, Perugia. Redia, 74/3 Appendice: 167-168.*
 81. TIBERI R., ROVERSI P.F., BIN F., 1991 - *Egg parasitoids of Pine and Oak Processionary Caterpillars in central Italy. In: Insect parasitoids. Ed. F. Bin. Proc. 4th Europ. Workshop, Perugia. Redia, 74/3 Appendice: 249-250.*
 82. COLAZZA S., VINSON S.B., LI T. Y., BIN F., 1991 - *Sex ratio strategies of the egg parasitoid Trissolcus basalis (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae): influence of the host egg patch size. In: Insect parasitoids. Ed. F. Bin. Proc. 4th Europ. Workshop, Perugia. Redia, 74/3 Appendice: 279-286.*
 83. BIN F., 1991 - *Insetti ed Acari esotici ed indigeni antagonisti di fitofagi. Conv M.A.F.: Lotta biologica. Acireale. Ed. Ist. Sper. Pat. Veg., Roma. pp. 15-24.*
 84. BIN F., COLAZZA S., RICCI C., 1991 - *Efficacia e limiti dei parassitoidi oofagi e pupali dell'Ifantria americana. Hvpphantria cunea Drury (Lep. Arctiidae). Conv M.A.F.: Lotta biologica. Acireale. Ed. Ist. Sper. Pat. Veg., Roma. pp.95-100.*
 85. VINSON S.B., MATTIACCI L., COLAZZA S., BIN F., 1992 - *The source and isolation of kairomones from Nezara viridula that influence the host selection behavior of Trissolcus basalis. Proc. XIX Int. Congr. Ent., Beijing, China.*
 86. GIANGIULIANI G., CASTELLINI M., DAMIANI P., BIN F., 1992 - *Volatiles from soybean foliage detected by means of a TCT-HRGC system: their possible role in insect-plant relationships. Proc.: Insect-Plant Relationships., Wageningen. pp. 131-132.*
 87. COLAZZA S., BIN F., 1992 - *Introduction of the oophage Edovum puttleri Griss. (Hymenoptera: Eulophidae) in Italy for the biological control of Colorado potato beetle. Redia 75: 203-225.*
 88. BIN F., VINSON S.B., STRAND M.R., COLAZZA S., JONES W.A.JR. 1993 - *Source of an egg kairomone for Trissolcus basalis, a parasitoid of Nezara viridula. Physiol. Ent.18: 7-15.*
 89. MATTIACCI L., VINSON S.B., WILLIAMS H.J., ALDRICH J.R., BIN F., 1993 - *A long-range attractant kairomone for egg parasitoid Trissolcus basalis, isolated from defensive secretion of its host, Nezara viridula. J. Chem. Ecol., 19: 1167-1181.*
 90. ALDRICH J.R., NUMATA H., BORGES M., BIN F., WAITE G.K., LUSBY W.R., 1993 - *Artifacts and pheromone blends from Nezara spp. and other stink bugs (Heteroptera:Pentatomidae). Z. Naturforsch., 48c:73-79.*
 91. BIN F., CONTI E., PARISELLA R. M., STRAVATO V., 1993 - *Preoccupante diffusione di Metcalfa pruinosa (Say) in Italia centrale. Informatore Fitopatologico 11: 4-9.*
 92. BIN F., 1994 - *Biological control with egg parasitoids other than Trichogramma. In:Biological Control with Egg Parasitoids. Eds. E. Wajjnberg & S. A. Hassan. Publ. CABI, pp. 145-153.*
 93. GIANGIULIANI G., LUCCHI A., VINSON S. B., BIN F., 1994 - *Extetal anatomy of adult antennal sensilla of the fly, Trichopoda pennipes F. (Diptera: Tachinidae). Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 23: 105-113.*
 94. ISIDORO N., BIN F., 1994 - *Fine structure of the pre-cellular pit in Trissolcus basalis (Woll.) (Hymenoptera: Scelionidae). Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 23: 189-196.*
 95. BRUNI R., BIN F., 1994 - *Il controllo biologico classico: una schematizzazione per una sintesi metodologica e terminologica. XVII Congr. Naz. Ital. Ent., Udine. pp. 693-694.*
 96. CONTI E., EJIGU AYANO B., BIN F., 1994 - *Distribuzione e parassitizzazione delle uova di Lygus spp. sul girasole in Italia centrale (Heteroptera: Miridae; Hymenoptera: Mymaridae). XVII Congr. Naz. Ital. Ent., Udine. pp. 523-526.*
 97. GIACOMETTI R., BIN F., 1994 - *Allevamento di Sesamia nonagrioides Lef. (Lep.: Noctuidae) e del suo ooparassitoide Telenomus busseolae Gahan (Hym. Scelionidae). XVII Congr. Naz. ital. Udine. pp. 703-704.*
 98. BIN F., RICCI C., TIBERI R., 1994 - *Insetti predatori e parassitoidi. In: L'Ifantria americana in Italia. Ed. A. Montermini. Edagricole, pp. 105-125.*
 99. CZEPAK C., CONTI E., BIN F., 1994 - *Osservazioni biologiche sul Nabis punctatus Costa (Heteroptera: Nabidae). Informatore Fitopat. 10: 55-60.*
 100. BIN F., 1994 - *Controllo biologico e messaggeri chimici: gli insetti dannosi ed i loro nemici naturali. 42ma Fiera Internazionale di Roma: Vivere la Scienza. (poster per il Gruppo di Ricerca CNR-RAISA: Entomocenosi e semiochimici negli agroecosistemi).*
 101. ROSI M.C., ISIDORO N., COLAZZA S., BIN F., 1994 - *Functional anatomy of the female reproductive system of Trissolcus basalis (Woll.). 4th Internat. Symp.: Trichogramma and other egg parasitoids. Cairo Egypt.*

- Ed. E. Wajnberg, Colloq. INRA, Paris 1995 73: 101-103.
102. BIN F., 1994 - *Introduzione, moltiplicazione e liberazione di insetti entomofagi contro fitofagi dannosi nord americani e indigeni*. Prog. Fin. MiRAAF: Lotta biologica ed integrata per la difesa delle colture agrarie e delle piante forestali. Conv.: Innovazioni e prospettive nella difesa fitosanitaria. Ferrara. Ed. A. Quacquarelli, Ist. Sper. Pat. Veg. Roma, pp. 407-411.
 103. ALDRICH J.R., ROSI M.C., BIN F., 1995 - *Behavioral correlates for minor volatile compounds from stink bugs (Heteroptera: Pentatomidae)*. J. Chem. Ecol., 21: 1907-1920.
 104. CALECA V., BIN F., 1995 - World revision of the Genus *Encyrtoscelio* Dodd (Hymenoptera: Scelionidae). Invertebr. Taxon. 9: 1021-1045.
 105. BIN F., CALECA V., CASALE A., MINEO G., PAGLIANO G., 1995 - *Hymenoptera Proctotrupoidea, Ceraphronoidea*. Checklist delle specie della Fauna Italiana. Pp. 1-19. Edizioni Calderini Bologna.
 106. ISIDORO N., BIN F., 1995 - *Male antennal gland of Amitus spiniferus (Brethes) (Hymenoptera: Platygasteridae), likely involved in courtship behavior*. Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 4: 365-373.
 107. CONTI E., BIN F., 1995 - Possibili danni da insetti in Italia. Ricino. Suppl. Inf. Agr., 46: 15-16.
 108. VINSON S. B., WILLIAMS H., ROSI C., ALDRICH J. R., COLAZZA S., BIN F., 1995 - *Kairomonal complex for Trissolcus basalis (Woll.), an egg parasitoid of Nezara viridula L. and other Pentatomids*. 3rd Ann. Conf.: Internat. Soc. Hymenopterists. Davis, CA, USA.
 109. BIN F., ISIDORO N., COLAZZA S., VINSON S. B., 1995 - *Biotaxonomic role of antennal gustatory sensilli and glands in some parasitoids*. 3rd Ann. Conf.: Internat. Soc. Hymenopterists. Davis, CA USA.
 110. ISIDORO N., BIN F., COLAZZA S., VINSON S. B., 1995 - *Functional anatomy of antennal gustatory sensilli and glands in some parasitoids*. 3rd Ann. Conf.: Internat. Soc. Hymenopterists. Davis, CA, USA.
 111. COLAZZA S., BIN F., 1995 - *Efficiency of Trissolcus basalis (Hymenoptera: Scelionidae) as an egg parasitoid of Nezara viridula (Heteroptera: Pentatomidae) in Central Italy*. Environ. Entomol., 24: 1703-1707.
 112. CZEPAK C., BIN F., 1995 - *Introducao de Podisus nigri-spinus e P. maculiventris (Heteroptera: Pentatomidae) na Italia para o controle biologico de Leptinotarsa decemlineata*. 15^o Congr. Brasileiro Entomologia, Caxambu, MG.
 113. CONTI E., WALKER A.J., BIN F., VINSON S.B., 1995 - *Physical and chemical factors involved in host recognition behavior of Anaphes iole Girault, an egg parasitoid of Lygus hesperus Knight (Hymenoptera: Mymaridae; Heteroptera: Miridae)*. Biological Control 7: 10-16.
 114. CZEPAK C., BIN F., 1996 - *Estudos preliminares sobre o comportamento de Podisus maculiventris e P. nigri-spinus em tunel-de-vento*. Anais V Simp. Controle Biologico, Foz do Iguacu, Parana, Brasil. p. 86.
 115. CZEPAK C., BIN F., 1996 - *Parasitismo em laboratorio e em campo de ovos de Podisus maculiventris e P. nigri-spinus por Hymenopteros da famiglia Scelionidae*, Perugia - Italia. (Riassunto senza indicazione della Rivista).
 116. ISIDORO N., BIN F., COLAZZA S., VINSON S.B., 1996 - *Morphology of antennal gustatory sensilla and gland in some parasitoid Hymenoptera with hypothesis on their role in sex and host recognition*. J. Hym. Res. 5: 206-239.
 117. COLAZZA S., GIANGIULIANI G., BIN F., 1996 - *Fortuitous introduction and successful establishment of Trichopoda pennipes F.: adult parasitoid of Nezara viridula (L.)*. Biological Control 6: 409-411.
 118. ALDRICH J.R., AVERY J.W., LEE C.-J., GRAF J.C., HARRISON D.J., BIN F., 1996 - *Semiochemistry of cabbage bugs (Heteroptera: Pentatomidae: Eurydema and Murgantia)*. J. Entomol. Sci. 31: 172-182.
 119. CONTI E., BIN F., CIRICIOFOLO E., 1996 - *Nezara viridula and other sap-sucking insects and their natural enemies on castor in Italy*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 120. ISIDORO N., BIN F., 1996 - *Functional anatomy of antennal multiporous gustatory sensilla in some parasitoid Hymenoptera*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 121. BIN F., VINSON S. B., COLAZZA S., CONTI E., 1996 - *Host selection strategies used by egg parasitoids*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 122. ISIDORO N., BIN F., COLAZZA S., VINSON S.B., 1996 - *Antennal sensory and secretory structures in parasitoid Hymenoptera*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 123. BIN F., CONTI E., GIACOMETTI R., DI FERDINANDO S., 1996 - *Parasitoids of concealed eggs of noctuid stem-borers and their potential in biological control (Hymenoptera: Scelionidae, Trichogrammatidae; Lepidoptera: Noctuidae)*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 124. SCARAMOZZINO P. L., PAGLIANO G., ANTONELLI R., ISIDORO N., BIN F., 1996 - *Male antennal structures of some parasitoid Aculeata (Hymenoptera) possibly involved in sexual recognition*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 125. SACCHETTI P., BELCARI A., ISIDORO N., BIN F., 1996 - *Antennal sensory and secretory structures of Coptera occidentalis Mues. (Hymenoptera: Diapriidae)*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 126. BRUNI R., SANT'ANA J., ALDRICH J. R., BIN F., 1996 - *Kairomonal activity of aggregation pheromone in the system Podisus maculiventris (Say) - Telenomus spp. (Heteroptera: Pentatomidae; Hymenoptera: Scelionidae)*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 127. BRUNI R., BIN F., 1996 - *Classical and fortuitous biological control with entomophagous insects in Italy*. XX Internat. Congr. Entomology, Firenze, Italia.
 128. CONTI E., BIN F., ESTRAGNAT A., BARDY F., 1996 - *The green stink bug, Nezara viridula L., injurious to castor, Ricinus communis L., in southern Europe*. 4th Int. Conf.: Pests in Agriculture. Montpellier. Ass. Nat. Protection Plantes, pp. 1045-1052.
 129. BIN F., ISIDORO N., ROMANI R., VINSON S.B., 1997 - *Antennal functional areas for sex recognition in some parasitoid hymenopterans*. 6th European Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl. 21: 68-69.
 130. ISIDORO N., WACKERS F.L., ROMANI R., BIN F., 1997 - *Antennal tyloids are release structures of sex recognition pheromone in Pimpla turionellae (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. 6th European Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl. 21: 70-71.
 131. SACCHETTI P., BELCARI A., FAGNANI F., ISIDORO N., BIN F., 1997 - *Antennal structures of Coptera occidentalis Mues. (Hymenoptera: Diapriidae) involved in mating behavior and host recognition*. 6th European

- Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl. 21: 72.
132. VINSON S.B., BIN F., ISIDORO N., ROSI C., ROMANI R., 1997 - *The interactions between host shape and the parasitoid sensory system in host recognition*. 6th European Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl., 21: 73.
133. CONTI E., ROVERSI P.F., BIN F., 1997 - *Egg parasitoids associated with arboreal mirids (Hym.: Parasitica; Het.: Miridae)*. 6th European Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl. 21: 94-95.
134. ROSI M.C., WILLIAMS H., VINSON S.B., BIN F., COLAZZA S., 1997 - *Kairomonal activity of *Nezara viridula* secretions analogues in host recognition by *Trissolcus basal**. 6th European Workshop: Insect Parasitoids, Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl., 21: 104.
135. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 1997 - *Antennal structures and sex recognition in *Trichopria drosophilae* (Hymenoptera: Diapriidae)*. 6th European Workshop: Insect Parasitoids. Valencia. Boln. Asoc. esp. Ent., Supl. 21: 142.
136. BIN F., 1997 - *I messaggi chimici degli insetti e delle piante*. Ricerca e Futuro, CNR 4: 30-31.
137. CONTI E., WALKER A.J., BIN F., VINSON S.B., 1997 - *Oviposition behavior of *Anaphes iole* Girault, an egg parasitoid of *Lygus hesperus* Knight* (Hymenoptera: Mymaridae; Heteroptera: Miridae). Ann. Entomol. Soc. Am. 90: 91-101.
138. BIN F., BRUNI R., 1997 - *Evaluating one century of classical biocontrol in Italy*. EPPO/CABI Workshop: Safety and Efficacy of Biological Control in Europe. Streatley-on-Thames UK, 1996. Bulletin EPPO 27: 53-59.
139. ISIDORO N., BIN F., ROMANI R., SACCHETTI P., BELCARI A., VINSON S.B., 1997 - *Different modalities of host recognition in two pupal parasitoids*. XI Internat. Workshop: Entomophagous Insects. Madison WI, USA. Anche: 5th European Symp. for Insect Taste and Olfaction (ESITO), Villasimius, Cagliari, Italia. pp. 33-34.
140. BIN F., 1998 - *Bioteologie e gestione integrata degli artropodi dannosi*. Associazione Italiana Protezione Piante. Giornata di studio: Mezzi biologici e biotecnologici per la protezione delle piante. Verona, 1997. Notiziario Protezione Piante 8: 9-10.
141. SACCHETTI P., BELCARI A., ROMANI R., ISIDORO N., BIN F. 1998 - *Riconoscimento dell'ospite in *Coptera occidentalis* Muesebeck e *Trichopria drosophilae* (Perkins) (Hymenoptera: Diapriidae)*. Atti XVIII Congr. Naz. ital. Entomologia, Maratea. p. 114.
142. FORTUNATO A., ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., TURILLAZZI S., 1998 - *Ghiandole antennali in maschi di alcuni Vespidi e loro probabile ruolo nel riconoscimento tra i sessi*. Atti XVIII Congr. Naz. ital. Entomologia, Maratea. p. 208.
143. ROVERSI P.F., CONTI E., BIN F., 1998 - *Ooparasitoidi di Miridi arboricoli in ambienti forestali e agrari* (Hym.: Parasitica; Het.: Miridae). Atti XVIII Congr. Naz. ital. Entomologia, Maratea. p. 225.
144. ROVERSI P.F., BIN F., 1998 - *Un nuovo caso di ooparasitismo: *Trichogramma* sp. e *Telenomus* sp. ottenuti da uova di *Geometridi* deposte in corion di *Taumatopeidi**. Atti XVIII Congr. Naz. Ital. Entomologia, Maratea. p. 239.
145. VINSON S.B., BIN F., VET L.E.M., 1998 - *Critical issues in host selection by insect parasitoids*. Biological Control 11: 77-78.
146. FELICOLI A., ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., PINZAUTI M., 1998 - *Ethological and morphological analysis of mating behavior in *Osmia cornuta* Latr.* (Hymenoptera, Megachilidae). Ins. Soc. Life 2: 137-144.
147. VAN LENTEREN J.C., ISIDORO N., BIN F., 1998 - *Functional anatomy of the ovipositor clip in the parasitoid *Leptopilina heterotoma* (Thompson) (Hymenoptera: Eucoilidae), a structure to grip escaping host larvae*. Int. J. Insect Morphol. & Embryol. 27: 263-268.
148. ROVERSI P.F., BIN F., 1998 - *Biodiversity and vulnerability of lepidopteran egg parasitoid guilds in mediterranean oak wood patches*. Internatn. Congr. Ecology, Firenze.
149. CONTI E., BIN F., VINSON S.B., 1998 - *Efficacy of *Telenomus eumicrosomoides* Huggert (Hym.: Scelionidae) in relation to spatial variation of host egg density (Het.: Lygaeidae)*. Ent. Soc. America / Amer. Phytopat. Soc., Joint Annual Meeting, Las Vegas NV, USA.
150. R., ISIDORO N., BIN F., 1999 - *Further evidence of male antennal glands in Aphelinidae: the case of *Aphytis melinus* DeBach* (Hymenoptera: Aphelinidae). J. Hym. Res. 8: 109-115.
151. BIN F., WACKERS F., ROMANI R., ISIDORO N., 1999 - *Tyloids in *Pimpla turionellae* (L.) are release structures of male antennal glands involved in courtship behaviour* (Hymenoptera: Ichneumonidae). Internat. J. Insect Morph. & Embryol. 28: 61-68.
152. ISIDORO N., BIN F., ROMANI R., PUJADE-VILAR J., ROS-FARRÉ P., 1999 - *Diversity and function of male antennal glands in Cynipoidea* (Hymenoptera). Zoologica Scripta 28: 165-174.
153. SACCHETTI P., BELCARI A., ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 1999 - *External morphology and ultrastructure of male antennal glands in two diapriids* (Hymenoptera: Diapriidae). Entomological Problems 30: 63-71.
154. SALERNO G., COLAZZA S., BIN F., 1999 - *Direct and indirect effects of *Trichopoda pennipes*, adult parasitoid of *Nezara viridula*, ten years after its accidental introduction into Italy from the New World* (Diptera: Tachinidae; Heteroptera: Pentatomidae). IOBC Symp.: Evaluating indirect ecological effects of biological control. Montpellier, France.
155. PERI E., SALERNO G., COLAZZA S., LIOTTA G., BIN F., 1999 - *First record of *Aridelus* n. sp. (Hymenoptera: Braconidae) parasitoid of *Nezara viridula* (L.) (Heteroptera: Pentatomidae): biological and behavioral aspects*. XII International Workshop: Entomophagous Insects. Asilomar, CA, USA.
156. CONTI E., WILLIAMS H., BIN F., VINSON S.B., 1999 - *Are new associations predictable? A tentative model with *Trissolcus* spp., egg parasitoids of the European and American Harlequin cabbage Bugs*. Annual Meeting Ent. Soc. America. Atlanta, USA.
157. BIN F., 1999 - *Strategie e strutture riproduttive negli Imenotteri parassitoidi*. Atti Accad. Naz. Italiana Entomologia, Giornata culturale, Introduzione. Rendiconti, 47: 195.
158. WACKERS F. L., OTTEN H., ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., DORN S., 1999 - *Vibrational sounding: a unique strategy by which pupal parasitoids hunt for hiding hosts*. Atti Accad. Naz. Italiana Entomologia, Giornata culturale. Rendiconti 47: 241-244.

159. BIN F., ISIDORO N., ROMANI R., 1999 - *Antennal structures of Hymenoptera: sensilla or glands?*. Atti Accad. Naz. Italiana Entomologia, Giornata culturale. Rendiconti 47: 251-263.
160. VAN LENTEREN J.C., ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., 1999 - *The multipurpose ovipositor of Leptopilina heterotoma: relationships between form and function*. Atti Accad. Naz. Italiana Entomologia, Giornata culturale. Rendiconti, 47: 265-275.
161. BIN F., ISIDORO N., ROMANI R., 1999 - *Lo stato fitosanitario*. In: *Sviluppo agricolo sostenibile del bacino del lago Trasimeno*. Ed. Boggia A., Pennacchi F., Univ. di Perugia, Regione dell'Umbria, pp. 191-212.
162. CONTI E., BIN F., 1999. *Egg parasitoids associated with Metcalfa pruinosa (Say) and other Fulgoroidea (Homoptera): evaluation as potential agents for biological control*. Redia 82: 171-179.
163. BIN F., 1999 - *Bioregolatori naturali e loro azione negli agro-ecosistemi*. CNR P.F. RAISA Ricerche Avanzate per Innovazioni del Sistema Agricolo, Relazione finale Sottoprogetto 2, pp. 323-330.
164. ISIDORO N., ROMANI R., VELASQUEZ D., RENTHAL R., BIN F., VINSON S.B., 2000 - *Antennal glands in queen and worker of the fire ant, Solenopsis invicta Buren: first report in female social Aculeata (Hymenoptera, Formicidae)*. Insectes sociaux 47: 236-240.
165. CONTI E., ROVERSI P.F., BIN F., 2000 - *Morpho-functional adaptations of parasitoids attacking concealed eggs of two arboreal Mirids in Italy*. J.Hym.Res. 9: 385-394.
166. DAMIANI P., COSSIGNANI L., CASTELLINI M., BIN F., 2000 - *Clean recovery and HRGC-MS/HRGC-FTIR identification of volatiles from soybean (Glycine max)*. Ital. J. Food Sci., 12: 175-121.
167. DAMIANI P., COSSIGNANI L., CASTELLINI M., BIN F., 2000 - *Alternative procedures for isolation and HRGC-MS/HRGC-FTIR characterization of volatiles from Nezara viridula*. Ital. J. Food Sci. 12: 183-189.
168. BRUNI R., SANT'ANA J., ALDRICH J.R., BIN F., 2000 - *Influence of host pheromone on egg parasitism by scelionid wasps: comparison of phoretic and nonphoretic parasitoids*. J. Insect Behavior 13: 165-173.
169. ISIDORO N., ROMANI R., VINSON S.B., BIN F., 2000 - *Spiracular glands of Drosophila melanogaster puparia elicit recognition response in Trichopria drosophilae*. XXI Internat. Congr. Entom., Foz do Iguassu, Brazil.
170. CONTI E., BIN F., VINSON S. B., WILLIAMS H. J., 2000 - *Egg parasitoids attacking homologous hosts: equivalences and differences between two allopatric cabbage bugs*. XXI Internat. Congr. Entom., Foz do Iguassu, Brazil.
171. BIN F., CONTI E., 2000 - *Critical issues in egg parasitoids*. XXI Internat. Congr. Entomology, Foz do Iguassu, Brazil.
172. VILHELMSSEN L., ISIDORO N., BIN F., BASIBUYUK H. H., QUICKE D. L. J., 2000 - *Host location and oviposition in the Orussidae (Hymenoptera), a basal parasitic wasp family*. XXI Internat. Congr. Entom., Foz do Iguassu, Brazil.
173. ROVERSI P.F., BIN F., 2000 - *A moth conceales eggs in the egg shells of another moth and escapes parasitoids*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
174. CONTI E., BIN F., VINSON S.B., 2000 - *Host range in egg parasitoids: a tentative approach through the analysis of the host unit*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
175. BIN F., ISIDORO N., ROMANI R., 2000 - *Parasitoid wasp antennae as receivers, transmitters and releasers of signals: a morpho-functional approach*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
176. ROMANI R., OTTEN H., WAECKERS F., ISIDORO N., BIN F., 2000 - *Antennal and tarsal structures of some Pimplinae, possibly involved in host echo-location (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
177. BIN F., ROVERSI P.F., MEIERROSE C., ISIDORO N., ROMANI R., 2000 - *Ventilation holes in host egg shell: a parasitoid adaptation to a host constraint*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
178. SALERNO G., CONTI E., COLAZZA S., PERI E., BIN F., 2000 - *Arrestment response in egg parasitoids of pentatomid bugs: its role in host specificity*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
179. VILHELMSSEN L., ISIDORO N., BIN F., BASIBUYUK .H.H., QUICKE D.L.J., 2000 - *Host location and oviposition in the Orussidae (Hymenoptera)*. 7th European Workshop: Insect Parasitoids. Haarlem, The Netherlands.
180. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2000 - *Ghiandole antennali in Bombus pascuorum Scop.: struttura, ipotesi sulla funzione e comparazione con altri Apoidei*. Incontro Progetto Finalizzato MiPAF: AMA, Ape Miele Ambiente, Udine.
181. COLAZZA S., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2000 - *Chemical cues mediating host specificity in the egg parasitoid Trissolcus basalis*. Joint Annual Meeting, Soc. ent. Quebec, Ent. Soc. Canada, Ent. Soc. America, Montreal Canada.
182. SALERNO G., COLAZZA S., PERI E., BIN F., 2000 - *Aridelus n.sp.: un nuovo parassitoide della Nezara viridula (L.) rinvenuto in Italia (Hymenoptera: Braconidae) (Heteroptera: Pentatomidae)*. Informatore Fitopatologico, 12: 39-42.
183. ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., 2000 - *Antennal glands in some social Hymenoptera: peculiar ultra-structural features with hypothesis on their function*. Atti Accad. Naz. Ital. Entomologia, Giornata culturale, Rendiconti 48: 163-171.
184. CONTI E., BIN F., 2000 - *Parasitoids of concealed noctuid eggs and their potential in biological control of Gramineae stem borers*. Redia 83: 87-104.
185. GUERRIERI E., PEDATA P.A., ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2001 - *Functional anatomy of male antennal glands in three species of Encyrtidae (Hymenoptera: Chalcidoidea)*. Journal of Natural History 35: 41-54.
186. ROSI M.C., ISIDORO N., COLAZZA S., BIN F., 2001 - *Source of the host marking pheromone in the egg parasitoid Trissolcus basalis (Hymenoptera: Scelionidae)*. Journal of Insect Physiology 47: 989-995.
187. CONTI E., BIN F., 2001 - *Native Lygus spp. (Heteroptera: Miridae) damaging introduced Hibiscus cannabinus in Italy*. J. Econ. Entomol. 94: 648-657.
188. ROMANI R., ISIDORO R., BIN F., 2001 - *Ghiandole antennali nei maschi di Bombus pascuorum Scop.: struttura, ipotesi sulla funzione e comparazione con altri Imenotteri sociali*. IX Conv. Naz. Assoc. Ital. Studio Artropodi Sociali e Presociali. Parma.

189. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2001 - *Male antennal glands in Bombus pascuorum Scop.: morphology, possible function and comparison with other Hymenoptera Aculeata*. Insect Social Life, in stampa.
190. ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., 2001 - *Antennal multiporous sensilla: their gustatory features for host recognition in female parasitic wasps (Insecta, Hymenoptera: Platygastroidea)*. Microscopy Research and Tecnique 55: 350-358.
191. SALERNO G., CONTI E., COLAZZA S., PERI E., BIN F., 2001 - *Volatile chemicals released by pentatomid bugs having a kairomonal effect on Trissolcus basalıs: their role on host specificity and prospects for IPM*. IOBC Working Group: Pheromones and other semiochemicals in integrated control, 25th Anniv. Jubilee Reunion, Samos 2000, Greece. IOBC Bulletin, in stampa.
192. SALERNO G., COLAZZA S., BIN F., 2001 - *Nezara viridula parasitism by Trichopoda pennipes ten years after its accidental introduction into Italy from the New World*. BioControl, in stampa.
193. BATTAGLIA D., ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., PENNACCHIO F., 2002 - *Mating behaviour of Aphidius ervi (Hymenoptera: Braconidae): the role of the antennae*. European Journal Of Entomology 99: 451-456, 1210-5759.
194. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., VINSON S.B. 2002 - *Host recognition in the pupal parasitoid Trichopria drosophilae: a morpho-functional approach*. Entomologia Experimentalis Et Applicata 105: 119-128
195. SALERNO G., COLAZZA S., BIN F. 2002 - *Nezara viridula parasitism by the tachinid fly Trichopoda pennipes ten years after its accidental introduction into Italy from the New World*. Biocontrol, 47, 617-624, 1386-6141.
196. ROMANI R., ROVERSI P.F., ISIDORO N., BIN F., 2002 - *Why some egg parasitoids pierce holes in host eggshell?*. 6th International Symposium on Egg Parasitoids for Biocontrol of Insect Pests, Perugia, 15-18 settembre 2002, Perugia, 55-56.
197. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2002 - *Gustatory antennal structures in egg parasitoids: morphological and behavioural features*. 6th International Symposium on Egg Parasitoids for Biocontrol of Insect Pests, Perugia, 15-18 settembre 2002, Perugia, 55
198. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2002 - *Diversity of antennal multiporous gustatory sensilla for host recognition in parasitoids*. 50° ESA Annual Meeting, Fort Lauderdale (FL, USA), 17-20 novembre 2002, USA, 67.
199. ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., 2002 - *Ultrastructure of antennal glands in some Hymenoptera Aculeata: structure for chemo-sexual communication?*. 50° ESA Annual Meeting, Fort Lauderdale (FL, USA), 17-20 novembre 2002, USA, 92.
200. SALERNO G., CONTI E., COLAZZA S., PERI E., BIN F., 2002 - *Volatile chemicals released by pentatomid bugs having a kairomonal effect on Trissolcus basalıs: their role on host specificity and prospects for IPM*. IOBC wprs bulletin, 9, 25, 251-258.
201. CONTI E., SALERNO G., BIN F., PERI E., FUCARINO A., COLAZZA S., 2002 - *Cues mediating host location in Trissolcus basalıs: the role of visual and semiochemical factors from the egg host unit*. 19th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, Hamburg, 3 - 8 Agosto 2002, Hamburg, Universitat Hamburg, 162.
202. COLAZZA S., FUCARINO A., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2002 - *The role of Stink Bug-induced host plant volatiles in the attraction of the egg parasitoid Trissolcus basalıs*. 19th Annual Meeting of the International Society of Chemical Ecology, Hamburg, 3-8 agosto 2002, Hamburg, Universitat Hamburg, 64.
203. SALERNO G., CONTI E., BAYRAM A., BIN F., 2002 - *Chemical cues from Sesamia nonagrioides inducing behavioural response in Telenomus busseolae and Trichogramma turkestanica*. Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Production, Working Group Meeting, Erice, 22-27 settembre 2002, Palermo, Università di Palermo, 94.95
204. CONTI E., SALERNO G., BIN F., FUCARINO A., PERI E., COLAZZA S., 2002 - *Cues mediating host location in Trissolcus basalıs: the role of visual and semiochemical factors from the egg host unit*. Pheromones and Other Semiochemicals in Integrated Production, Working Group Meeting, Erice, 22-27 settembre 2002, Palermo, Università di Palermo, 84-85
205. VINSON S.B., CONTI E., SALERNO G., BIN F., 2002 - *The "Egg-Host Unit", what is it and its role in parasitoid host location and acceptance*. Egg Parasitoids, 6th International Symposium, Perugia, Perugia, Perugia, Università di Perugia, 67.
206. SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2002 - *Are behavioural parameters of host selection by Trissolcus spp. suitable for species characterization?*. Egg Parasitoids, 6th International Symposium, Perugia, 15-18 settembre 2002, Perugia, Università di Perugia, 59.
207. CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S.B., 2002 - *Chemical cues from adults, nymphs and eggs of Murgantia histrionica eliciting host location and recognition in the egg parasitoid Trissolcus brochymenae*. Egg Parasitoids, 6th International Symposium, Perugia, 15-18 settembre 2002, Perugia, Università di Perugia, 28
208. BAYRAM A., SALERNO G., CONTI E., WAJNBERG E., BIN F., KORNOSOR S., 2002 - *Reproductive strategy of Telenomus busseolae: influence of egg mass size on sex ratio and oviposition sequence*. Egg Parasitoids, 6th International Symposium, Perugia, 15-18 settembre 2002, Perugia, Università di Perugia, 22.
209. CONTI E., SALERNO G., NOBILI P., QUARANTA F., COLAZZA S., BIN F., 2002 - *Possibilità di controllo biologico della Sesamia nonagrioides mediante ooparassitoidi*. XIX Congresso nazionale Italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002, Catania, Università di Catania, 317.
210. SALERNO G., ROMANI R., CONTI E., BIN F., 2002 - *Preferenza varietale di Sphenophorus striatopunctatus e valutazione dei danni a tappeti erbosi di Poa pratensis in Italia centrale*. XIX Congresso nazionale Italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002, Catania, Università di Catania, 166.
211. SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2002 - *Strategie di ovideposizione di Lygus rugulipennis e preferenze per le piante danneggiate*. XIX Congresso nazionale Italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002, Catania, Università di Catania, 113.
212. CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S.B., 2002 - *L' "Unita' ospite" quale mezzo per la valutazione della specificità nei parassitoidi*. XIX Congresso nazionale

- Italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002, Catania, Università di Catania, 111.
213. COLAZZA S., FUCARINO A., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2002 - *I sinomoni indotti da insetti fitofagi con l'ovideposizione: il caso dei parassitoidi oofagi*. XIX Congresso nazionale Italiano di Entomologia, Catania, 10-15 giugno 2002, Catania, Università di Catania, 108.
 214. ROMANI R., SALERNO G., CONTI E., PRIMAVERA A., RIOLO P., ISIDORO N., BIN F. 2002 - *Controllo dell'entomofauna dannosa alle colture officinali: un problema di integrazione di mezzi biologici?* Università di Catania, Catania: 165- 10-15 giugno 2002, Catania, ITALIA.
 215. ROMANI R., ROVERSI P.F., ISIDORO N., BIN F. 2002 - *Why some egg parasitoids pierce holes in host eggshell?* Perugia: 55- 56, 15-18 settembre 2002, Perugia, ITALIA.
 216. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F. (2002). *Ghiandole antennali in alcuni Imenotteri Aculeati: ultrastruttura e ipotesi sulla funzione*. Abstract book 13- 10-15 Ottobre 2002, Catania, ITALIA.
 217. CONTI E., SALERNO G., BIN F., WILLIAMS H.J., VINSON S.B. 2003 - *Chemical cues from adults, nymphs and eggs of Murgantia histrionica eliciting host location and recognition in the egg parasitoid Trissolcus brochymenae*. Journal Of Chemical Ecology, 29, 115-130.
 218. PEDATA P. A., GARONNA A., ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2003 - *Presence of teratocytes in Hymenoptera Aphelinidae: comparative development in Encarsia berlesei and Encarsia citrina*. 18- vol.3, 27-31 luglio 2003, Tucson, Arizona, USA.
 219. ISIDORO N., ROMANI R., BIN F., 2003- *Morpho-functional features of antennal multiporous gustatory sensilla in female parasitic Hymenoptera*. 66- 2-7 luglio 2003, Harstad, NORVEGIA.
 220. RIOLO P., BIN F., 2003 - *Antennal glands in male bees: structures for sexual communication by pheromones?* Apidologie, 34: 603-610.
 221. PENNACCHIO F., TREMBLAY E., TRANFAGLIA A., BIN F., RAO R., MALVA C., 2003 - *Giornata di studio "Evoluzione dei mezzi di difesa fitosanitaria"*. Firenze, 11 dicembre 2003, Firenze, 103-128, I Georgofili-Quaderni
 222. SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2003 - *Aridelus rufotestaceus, un nuovo parassitoide delle ninfe e degli adulti di Nezara viridula: biologia e strategie di ricerca ed attacco dell'ospite*. 64° Congresso Nazionale Unione Zoologica Italiana, Varese, 21-25 settembre 2003, Varese, Università degli studi dell'Insubria, 92
 223. SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2003 - *A database on host-parasitoid associations in pentatomid bugs*. Journal of insect science, 33: 3, 22.
 224. CONTI E., SALERNO G., BAYRAM A., BIN F., 2003 - *Strategies involved in host location of Telenomus busseolae and Trichogramma turkestanica, egg parasitoids of Sesamia nonagrioides*. Journal of insect science, 33: 3, 6
 225. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2003 - *Morpho-functional features of antennal multiporous gustatory sensilla in female parasitic Hymenoptera*. Journal of insect science, 3, 21, 1536-2442.
 226. ROSI M.C., ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2003 - *Difference in antennal multiporous gustatory sensilla in Trissolcus basalis and their possible involvement in the host selection process*. Journal of insect science, 3, 22, 1536-2442.
 227. BIN F., CONTI E., SALERNO G., 2003 - *Interazioni insetto-pianta: i meccanismi di difesa "indiretta"*. dell'Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Rendiconti. Giornata culturale su : Biotecnologie entomologiche, Firenze, 21 novembre 2003, Firenze, 173-178.
 228. COLAZZA S., FUCARINO A., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2004 - *Insect oviposition induces volatile emission in herbaceous plants that attracts egg parasitoids*. Journal Of Experimental Biology, 207: 47-53.
 229. CONTI E., SALERNO G., BIN F., VINSON S.B., 2004 - *The role of host semiochemicals in parasitoid specificity: a case study with Trissolcus brochymenae and Trissolcus simoni on pentatomid bugs*. Biological Control, 29: 435-444.
 230. BAYRAM A., SALERNO G., CONTI E., WAJNBERG E., BIN F., KORNOSOR S., 2004 - *Sex allocation in Telenomus busseolae, a solitary parasitoid of concealed eggs: the influence of host patch size*. Entomologia Experimentalis Et Applicata, 111: 141-149.
 231. CONTI E., FRATI F., GALLETTI R., SALERNO G., BIN F., DE LORENZO G. 2004, - *Mirid bug polygalacturonases (PGs) are inhibited by cell wall proteins (PGIPs) indicating potential for induced resistance in plants*. 12 Symposium on Insect-Plant Relationships, Berlin, 7 - 12 August 2004, Berlin, 2004, 130.
 232. SALERNO G., CONTI E., FRATI F., BIN F., 2004 - *Oviposition strategies of Lygus rugulipennis*. 12 Symposium on Insect-Plant Relationships, Berlin, 7-12 August 2004, Berlin, 2004, 145.
 233. ROMANI R., SALERNO G., FRATI F., CONTI E., ISIDORO N., BIN F., 2004 - *Oviposition behaviour in Lygus rugulipennis: a morpho-functional study*. 12 Symposium on Insect-Plant Relationships, Berlin, 7-12 August 2004, Berlin, 2004, 106.
 234. VIGGIANI G., BIN F., ROSI C., 2004 - *Ecologia applicata e controllo biologico*. In: Pennacchio F. (ed.) "Gli insetti e il loro controllo". 489-498, Liguori Ed. Napoli.
 235. CONTI E., FRATI F., GALLETTI R., SALERNO G., BIN F., DE LORENZO G., 2004 - *Mirid bug polygalacturonases (PGs) are inhibited by cell wall proteins (PGIPs) indicating potential for induced resistance in plants*. 12th Symposium, Insect-Plant Relationships, Berlin, August 7-12, 2004, Abstracts: 130.
 236. ROMANI R., SALERNO G., FRATI F., CONTI E., ISIDORO N., BIN F., 2005 - *Oviposition behaviour in Lygus rugulipennis (Heteroptera: Miridae): a morphofunctional study*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 115: 17-25.
 237. CONTI E., SALERNO G., GUERRIERI E., COLAZZA S., BIN F., 2005 - *Le difese delle piante indotte dai fitofagi e loro potenzialità nella protezione delle colture*. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 375.
 238. CONTI E., FRATI F., GALLETTI R., SALERNO G., BIN F., DE LORENZO G., 2005 - *Inibizione di endo-poligalatturonasi (PG) di miridi da parte di proteine vegetali apoplastiche (PGIP)*. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 410.
 239. BONOMI A., SALERNO G., ROMANI R., CONTI E., ALMA A., BIN F., 2005 - *Censimento e dinamica di*

- popolazione di omotteri auchenorrhinchi su labiate officinali. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 225.
240. FRATI F., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2005 - *Ruolo del complesso pianta-conspecifici nel processo di localizzazione dell'ospite e nella comunicazione tra i sessi in Lygus rugulipennis*. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 134.
241. LEOMBRUNI B., SALERNO G., CONTI E., BIN F., RICCI C., 2005 - *Bioattività di estratti vegetali su Nezara viridula L. e sul suo parassitoide Trissolcus basaloides Woll.* XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 223.
242. ROMANI R., SALERNO G., FRATI F., CONTI E., ISIDORO I., BIN F., 2005 - *Indagine morfo-funzionale del comportamento di ovideposizione in Lygus rugulipennis*. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 53.
243. SALERNO G., BONOMI A., ROMANI R., CONTI E., BIN F., 2005 - *Sviluppo e descrizione dei teratociti di Aridelus rufotestaceous in relazione ai diversi stadi dell'ospite*. XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Perugia - Assisi, 13-18 Giugno 2005. Proceedings: 434.
244. ROMANI R., ISIDORO N., RIOLO P., BIN F., FORTUNANTO A., TURILLAZZI S., BEANI L., 2005 - *A new role for antennation in paper wasps (Hymenoptera, Vespidae): antennal courtship and sex dimorphic glands in antennomeres*. INSECTES SOCIAUX (ISSN:0020-1812) p. 96 - 102 Vol. 52.
245. ISIDORO N.; ROMANI R.; BIN F., 2005 - *Sensilli, ghiandole e altre strutture antennali di Imenotteri: funzioni e ipotesi comportamentali*. Proceedings XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia 23-In:XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. 13-18 Giugno 2005, Perugia-Assisi, ITALIA.
246. BIN F., CONTI E., CORBELLINI M., DOTTORINI P., ROMANI R., SALERNO G., 2006 - *Gravi danni da cimici su frumento in Italia centrale: osservazioni preliminari*. Atti Giornate fitopatologiche, Riccione (RN), 27-29 marzo 2006, pp. 175-176.
247. BIN F., CONTI E. & SALERNO G., 2006 - *Resistenza delle piante e controllo biologico: da una visione bi-trofica a una multi-trofica*. Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Tavola Rotonda XIII *Interazioni Insetti-Piante: i segnali di allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi*. Rendiconti Anno LIV P. 91-95.
248. CONTI E., SALERNO G., DE SANTIS F., LEOMBRUNI B. & BIN F., 2006 - *Difese indirette delle piante: i sinomoni per contatto indotti da ovideposizione*. Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, Tavola Rotonda XIII *Interazioni Insetti-Piante: i segnali di allarme delle piante e le risposte dei parassitoidi*, Firenze, 24-11-2006. Rendiconti Anno LIV, P. 129-148.
249. CONTI E., FRATI F., SALERNO G., BIN F., BIRKETT M.A., CHAMBERLAIN K., PICKETT J.A., WOODCOCK M.C., 2006 - *Role of the host plant, Vicia faba, and induced volatiles in host location and sexual communication of Lygus rugulipennis*. 22nd Annual Meeting, International Society of Chemical Ecology, Barcelona, July 15-19, 2006, p. 161.
250. SALERNO G., DE SANTIS F., CONTI E., BIN F., 2006 - *Host location by Telenomus busseolae on the plant substrate*. International Society of Chemical Ecology, 22nd Annual Meeting, Barcelona, July 15-19, 2006, p. 214.
251. CONTI E., FRATI F., SALERNO G., BIN F., 2006 - *Interazioni tra i meccanismi di localizzazione della pianta ospite e comunicazione tra i sessi in Lygus rugulipennis*. 22° Convegno Nazionale della Società Italiana di Etologia, Erice (TP), 18-22 Settembre 2006, p. 25.
252. SALERNO G., BONOMI A., CONTI E., COLAZZA S., BIN F., 2006 - *Comportamento sessuale di Trissolcus basaloides*. 22° Convegno Nazionale della Società Italiana di Etologia, Erice (TP), 18-22 Settembre 2006, p. 53.
253. SALERNO G., CONTI E., PERI E., COLAZZA S., BIN F., 2006 - *Kairomone involvement in the host specificity of the egg parasitoid Trissolcus basaloides (Hymenoptera: Scelionidae)*. European Journal of Entomology, 103: 311-318.
254. SALERNO G., FRATI F., CONTI E., BIN F., 2007 - *Influence of different diets and oviposition substrates on Lygus rugulipennis biology (Heteroptera: Miridae)*. European Journal of Entomology, 104: 417-423.
255. COLAZZA S., PERI E., CONTI E., SALERNO G., BIN F., 2007 - *Interazioni tra feromoni dell'ospite e parassitoidi delle uova (oofagi e oolarvali): meccanismi e implicazioni nel controllo biologico*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 403-406.
256. DE SANTIS F., CONTI E., ROMANI R., SALERNO G., PARILLO F., BIN F., 2007 - *Ghiandole colleteriche di Sesamia nonagrioides quali fonti del kairomone di riconoscimento per l'ooparassitoide Telenomus busseolae*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 353.
257. SALERNO G., FRATI F., BIN F., CONTI E., 2007 - *Induzione di sinomoni volatili nel sistema pomodoro - Nezara viridula - Trissolcus basaloides*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 390.
258. CONTI E., SALERNO G., LEOMBRUNI B., BIN F., 2007 - *Difese indirette indotte da ovideposizione nel sistema cavolo-pentatomide-scelionide*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 352.
259. FRATI F., CONTI E., SALERNO G., BIN F., BIRKETT M.A., CHAMBERLAIN K., PICKETT J.A., WOODCOCK M.C., 2007 - *Interazioni Vicia faba - Lygus rugulipennis: induzione nelle piante di composti volatili ed incremento del feromone sessuale*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 363.
260. SALERNO G., CONTI E., DE SANTIS F., BIN F., 2007 - *Difese indirette indotte da ovideposizione nel sistema mais nottuide-ooparassitoide*. XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Campobasso, 11-16 Giugno 2007, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 391.
261. COLAZZA S., SALERNO G., PERI E., FRATI F., CONTI E., BIN F., DE PASQUALE C., MILLAR J., 2007 - *Gender*

- discrimination ability of egg parasitoids towards coevolved and non-coevolved hosts*. X European Workshop on Insect Parasitoids September 17-21 2007, Erice (Sicily) – Italy. 100.
262. CONTI E., SALERNO G., BIN F., 2007 - *Indirect plant defenses: oviposition-induced contact synomones used by scelionid egg parasitoids*. X European Workshop on Insect Parasitoids September 17-21 2007, Erice (Sicily) – Italy. 110.
263. VAN LENTEREN J.C., RUSCHIONI S., ROMANI R., VAN LOON J.J.A., QIU Y.T., SMID H.M., ISIDORO N., BIN F., 2007 - *Structure and electrophysiological responses of gustatory organs on the ovipositor of the parasitoid *Leptopilina heterotoma**. ARTHROPOD STRUCTURE & DEVELOPMENT (ISSN:1467-8039) p. 271 - 276 Vol. 36
264. ROMANI R., BIN F.,; WAECKERS F. L.; ISIDORO N., 2007 - *Adattamenti morfo-funzionali per la eco-localizzazione degli ospiti nei Pimplini (Hymenoptera: Ichneumonidae)*. Proceedings XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia 17- 20, In:XXI Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. 11-16 giugno 2007, Campobasso, ITALIA,
265. FRATI F., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2008 - *Role of the plant – conspecific complex in host location and intra-specific communication of *Lygus rugulipennis**. Physiological Entomology 33: 129-137.
266. CONTI E., ZADRA C., SALERNO G., LEOMBRUNI B., VOLPE D., FRATI F., MARUCCHINI C., BIN F., 2008 - *Changes in the volatile profile of Brassica oleracea due to feeding and oviposition by *Murgantia histrionica* (Heteroptera: Pentatomidae)*. European Journal of Entomology 105: 839-847.
267. DE SANTIS F., CONTI E., ROMANI R., SALERNO G., PARILLO F., BIN F., 2008 - *Colleterial glands of *Sesamia nonagrioides* as a source of the host recognition kairomone for the egg parasitoid *Telenomus busseolae**. Physiological Entomology, 33: 7-16.
268. COLAZZA S., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2008 - *Indirect host-related chemical kairomones for improving egg parasitoid efficacy in IPM*. XXIII International Congress of Entomology, Durban, 6-12 July 2008. Abstract n. 2158.
269. COLAZZA S., PERI E., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2008 - *Synomones induced by egg deposition in herbaceous plants*. XXIII International Congress of Entomology, Durban, 6-12 July 2008. Abstract n. 1538.
270. ROMANI R., ROSI M.C., ISIDORO N., BIN F., 2008 - *The role of the antennae during courtship behaviour in the parasitic wasps *Trichopria drosophilae**. JOURNAL OF EXPERIMENTAL BIOLOGY (ISSN:0022-0949) p. 2486 - 2491 Vol. 211.
271. FRATI F., CHAMBERLAIN K., BIRKETT M., DUFOUR S., MAYON P., WOODCOCK C., WADHAMS L., PICKETT J., SALERNO G., CONTI E., BIN F., 2009 - *Vicia faba–*Lygus rugulipennis* Interactions: Induced Plant Volatiles and Sex Pheromone Enhancement*. J. Chem. Ecol. 35: 201-208.
272. DI GIULIO A., MAURIZI E., DE PROPRIIS D., ROSSI STACCONI M. V., BIN F., ROMANI R., 2009 - *Le antenne dei Paussinae (Coleoptera: Carabidae): adattamenti funzionali alla mirmecofilia*. 54- In:XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. 15-18 Giugno 2009, Ancona,
273. CONTI E., SALERNO G., FRATI F., BIN F., LO BUE M., LO GIUDICE D., PERI E., COLAZZA S., 2009 - *La localizzazione dell'ospite nei parassitoidi oofagi: il ruolo delle cere epicuticulari delle piante*. XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Ancona, 15-18 Giugno 2009, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 148.
274. SALERNO G., FRATI F., CONTI E., BIN F., PERI E., COLAZZA S., 2009 - *Il feromone sessuale a breve raggio del parassitoide oofago *Trissolcus brochymenae**. XXII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia, Ancona, 15-18 Giugno 2009, Proceedings, Firenze, Accademia Nazionale Italiana di Entomologia, 170.
275. BIN F., 2009 - *Antennal structures in *Platygastridea*: sensilla or glands?* ESA Annual Meeting, Indianapolis, December 13-16, 2009.
276. CONTI E., SALERNO G., LEOMBRUNI B., FRATI F., BIN F., 2010 - *Short-range allelochemicals from a plant–herbivore association: a singular case of oviposition-induced synomone for an egg parasitoid*. Journal Of Experimental Biology, 3911 - 3919 213.
277. REALE L., TEDESCHINI E., RONDONI G., RICCI C., BIN F., FRENGUELLI G., FERRANTI F., 2010 - *Proliferazione e differenziazione cellulare nello sviluppo dei cecidi in *Castanea sativa* Mill., indotte da *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu*. 105° Congresso della Società Italiana di Botanica. 25-28 Agosto 2010, Milano
278. ROMANI R., ISIDORO N., BIN F., 2010 - *Antennal structures used in communication by egg parasitoids*. In: “Egg parasitoids in Agroecosystems with emphasis on Trichogramma”. Springer, Dordrecht Heidelberg p. 57 - 96
279. POPOVICI O.A., BIN F., MASNER L., POPOVICI M., NOTTON D., 2011 - *“*Triteleia peyerimhoffi* comb. n., a remarkably variable circum-Mediterranean scelionid (Hymenoptera, Platygastridea)”*. ZooKeys 140: 71.
280. RONDONI G., ROSSI STACCONI M.V., RICCI C., BIN F., ROMANI R., SALERNO G., JANSTA P., CONTI E., 2012 - *First records of new host-parasitoid associations for invasive *Dryocosmus kuriphilus* and successful establishment of the parasitoid *Torymus sinensis* in Central Italy*. In: -. XXIV International Congress of Entomology “New Era in Entomology”. Daegu, Korea, 19-25 Agosto 2012.
281. BIN F., ROVERSI P.F., VAN LENTEREN J.C., 2012 - *Erroneous host identification frustrates systematics and delays implementation of biological control*. Redia 95: 83-88.
282. LUCIAN F., BIN F., AND POPOVICI O. A., 2013 - *First report of chromosomes of the parasitoid wasp *Trissolcus basalis* (Wollaston)(Hymenoptera: Platygastridae: Telenominae)*. Entomological Science 16.2: 263-265.
283. SALERNO G., DE SANTIS F., IACOVONE A., BIN F., CONTI E., 2013 - *Short-range cues mediate parasitoid searching behavior on maize: The role of oviposition-induced plant synomones*. Biological Control, 64: 247-254.
284. REALE L., TEDESCHINI E., RONDONI G., RICCI C., BIN F., FRENGUELLI G., FERRANTI F., 2014 - *Galls differentiation in *Castanea sativa* Mill (Fagaceae) induced by *Dryocosmus kuriphilus* Yasumatsu (Cynipidae)*. Plant Biosystems.
285. VIGGIANI G., BIN F., ROSI C., 2014 - *Ecologia applicata e controllo biologico*. In: Pennacchio F. (ed.) “Gli insetti e il loro controllo”. 489-498, Liguori Ed. Napoli.

GLI INSETTI COME BIOINDICATORI

PIETRO BRANDMAYR (*) - ROBERTO PIZZOLOTTO (*)

(*) Dipartimento DiBEST – Biologia, Ecologia e Scienze della Terra – Università della Calabria – via Bucci, Cubo 4B – 87036 Rende (CS);
e-mail: brandmayr@unical.it
Lettura tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 22 febbraio 2014.

Insects as bioindicators

The use of Insects as bioindicators is shortly reviewed and discussed and examples are given for each relevant kind of bioindication. We start from McGeoch's classic definitions of environmental, ecological and biodiversity indicators, and deepen some aspects of freshwater macroinvertebrates (IBE-index) and of soil arthropods use (QBS-index). Insects as environmental health indicators and bioaccumulators are treated as well. Concerning ecological indicators, the species diversity approach is dealt separately from the species' traits evaluation, but always in the light of resource sustainability. Biodiversity indicators are divided between the "within taxon" and the "cross taxon" approach, and the importance of hotspots as still underworked biodiversity concentration areas is emphasized by examining recent work on the impact of global warming on hypogean ground beetles. Practical examples of umbrella, keystone and flagship species are also discussed, ecosystem engineers, management indicators and some other definition have been added, and a conceptual framework for beginners is presented. Finally, some advantages of insects as bioindicators versus Vertebrates or plants are briefly dealt with.

KEY WORDS: environmental, ecological, biodiversity indicators, EBI-, QBS-index, bioaccumulators, umbrella-, keystone-, flagship species, hotspots.

INTRODUZIONE

Il concetto di bioindicatore nasce più o meno nella prima decade del novecento grazie soprattutto al botanico berlinese Kolkwitz (KOLKWITZ & MARSSON, 1909). I due AA. istituiscono il sistema di indicatori del SAPROBIO, basandosi su di una classificazione delle acque ancor oggi in vigore in Germania, Austria e Rep. Ceca, che utilizza il popolamento di organismi delle acque correnti soggette ad inquinamento organico, valutando l'abbondanza di taxa del benthos più o meno "saprobionti", Efemerotteri, Plecotteri, Anfipodi, Isopodi, Chironomidi ed molti altri gruppi acquatici per costruire classi di qualità delle acque: dal valore I – oligosaprobio, al IV, polisaprobio, con molti toni intermedi. Tale sistema è stato poi esteso all'UE, dove però non è usato universalmente, con il nome di Perlodes.

La classificazione del grado di saprobietà delle acque è oggi estesa in tutto il mondo, ma sotto il nome e gli indici più vari, ad esempio come IBE o Indice Biotico Esteso, che viene usato correntemente nel monitoraggio della qualità della acque correnti, come metodo complementare alle analisi chimico-fisiche. Il D. lgs. 152/99 annette grande importanza all'uso di questo indice nella classificazione dei corpi idrici, stabilendo che i valori di IBE vengano incrociati con gli altri "macrodescrittori" utilizzati. Sono

simili l'indice francese "Biologique Global Normalisé" (IBGN), l'indice iberico BMWP, etc.

La grande diffusione dell'uso di questo indice dimostra come gli Insetti siano stati considerati precocemente fra gli indicatori ambientali più importanti, infatti la conoscenza e lo studio dei macroinvertebrati bioindicatori delle acque è divenuta un po' un patrimonio universale, tanto che rientra anche in molti progetti scolastici, ad esempio nel progetto GLOBE delle scuole svizzere (fig. 1). Esso prevede sia lavoro sul campo da parte degli alunni, dove viene compilata una scheda di valutazione biologica della qualità del corso d'acqua, che lavoro al microscopio, usando supporti per l'identificazione che possono arrivare sino al genere.

In una bella dispensa di UNDERWOOD (2015) troviamo alcune interessanti definizioni, che vale la pena riportare come introduzione generale al problema.

1) Bioindicazione:

- a) bioindicazione e biomonitoraggio si possono considerare una forma di ecologia applicata;
- b) scopo primario è quello di utilizzare organismi che vivono in comunità naturali per monitorare l'impatto di un disturbo ed usare questa conoscenza per la gestione del sistema ecologico;
- c) la bioindicazione può essere usata anche in contesti urbani o in agrobiocenosi.

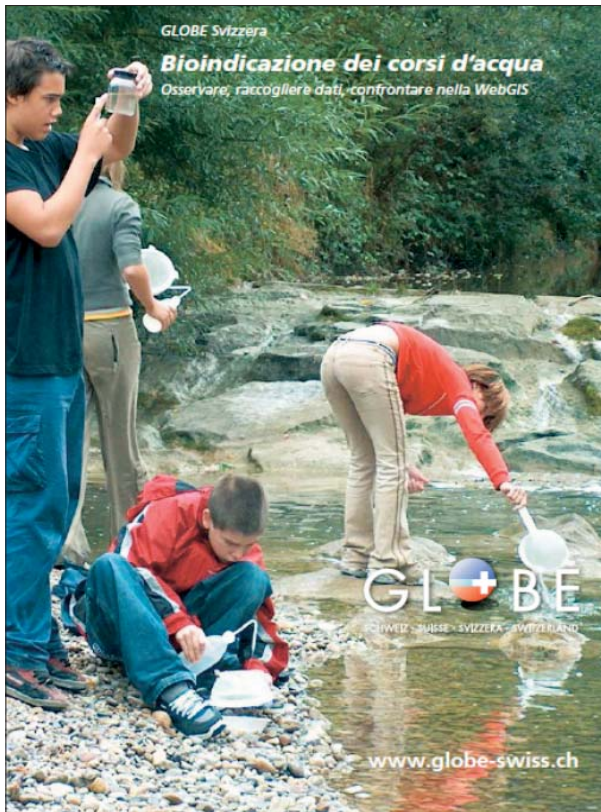


Fig. 1

Il Progetto Globe Svizzera sui bioindicatori dei corsi d'acqua.

2) Taxa bioindicatori:

- a) un taxon indicatore si caratterizza per il fatto di avere ristretta valenza ecologica rispetto ad uno o più fattori ecologici;
- b) se la specie è presente, essa indica la presenza di certi parametri ambientali.

Nell'uso dei bioindicatori, i livelli di organizzazione dell'organismo e/o del biota possono essere molteplici: livello genetico, biochimico, fisiologico, il livello dell'individuo, della popolazione o del raggruppamento di specie (taxocenosi, guild), il livello della comunità, infine quello dell'ecosistema.

Per quanto riguarda gli Insetti dell'ambiente subaereo, la classificazione di Melodie MC GEOCH (1998) è oggi una delle più seguite nel contesto internazionale, anche se vi sono ampie «zone grigie» fra le tre definizioni, che vanno viste più come «finalità» di un eventuale approccio.

1) Environmental indicators:

- a) un taxon che risponde in modo prevedibile, in modi prontamente osservabili e quantificabili, a disturbi ambientali o a cambiamenti nello stato dell'ambiente, è un buon candidato per un eventuale monitoraggio. Sono definiti anche "Health indicators" (CARO & O'DOHERTY, 1999), un esempio classico è quello della scoperta di larve di Chironomidi in acque inquinate. Rientrano in questa tipologia anche i "bio-

sensori", cioè specie i cui individui sono in grado di accumulare nel loro corpo o in determinati tessuti sostanze tossiche facilmente rilevabili. CAIRNS (1983) ad esempio sottolinea come sia importante monitorare "most sensitive species" che ci consentano di fissare degli standards di concentrazione per materiali tossici tali da preservare i livelli più complessi di organizzazione biologica. È preferibile che le popolazioni del taxon indicatore siano rappresentate da un numero elevato di individui, di piccola taglia ed elevato ritmo riproduttivo, in modo da poter leggere risposte rapide e quantitative all'alterazione ambientale. Possono rientrare in questa categoria anche i "MIS", management indicator species, così definiti dal U. S. FOREST SERVICE (1984) ed utilizzati per monitorare i cambiamenti derivanti dalla gestione delle foreste, anche se per la maggior parte rientrano nel punto 2.

2) Ecological indicators:

- a) piuttosto che funzionare da semplici misuratori del cambiamento ambientale, i taxa sono usati per dimostrare gli effetti dell'alterazione di un habitat, della frammentazione o del cambiamento climatico. Sono noti anche come "population indicators" (CARO & O'DOHERTY, 1999), Un esempio possono essere le specie d'insetti sinantropiche, o quelle comunità o guilds di insetti che ci descrivono al meglio i parametri ecologici di un ecosistema e le loro variazioni, anche temporali. Valgono anche in questo caso i requisiti ricordati al punto 1, come pure la specializzazione trofica o di nicchia. Ad esempio, il miglior indicatore per una popolazione d'insetti predati è rappresentato dal loro predatore;
- b) i taxa indicatori fungono da surrogati per la più vasta comunità;
- c) la risposta può essere un declino delle dimensioni della popolazione, un cambiamento della distribuzione spaziale, o un qualsiasi cambiamento del ciclo biologico.

3) Biodiversity indicators:

- a) indicatori di biodiversità sono (gruppi di) taxa, ad esempio generi, famiglie, ordini, o anche gruppi funzionali (guilds) la cui diversità riflette in qualche misura la diversità di altri taxa in un determinato habitat o area geografica. Ad esempio, le Cicindele predicono la Biodiversità di uccelli e farfalle su vaste aree (PEARSON & CASSOLA, 1992). Anche in questo caso l'uso è duplice, nel senso che tali indicatori possono essere usati sia per identificare la biodiversità di altri taxa che per monitorarne i cambiamenti.

Per individuare il bioindicatore ideale la MCGEOCH propone una specie di analisi del problema suddivisa in nove tappe, in caso di “scelta sbagliata”, da decidere allo “step 7” ci rimanda allo step 3, cioè quasi a capo. I nove punti sono però utili per affinare i propri obiettivi di ricerca, essi sono riportati nella loro completezza in tabella 1. L'autrice a nostro avviso giustamente rimarca il fatto che in moltissimi studi sui bioindicatori non si proceda ad un preliminare lavoro di selezione ed affinamento né degli obiettivi né dei taxa utilizzati ai fini della bioindicazione, ed esorta chi vuole dedicarsi a questo genere di studi a valutare anzitutto se il taxon utilizzato rappresenti una soluzione efficace del problema.

Tabella 1 – Le tappe per la selezione di un buon bioindicatore come proposte dalla McGeoch.

-
-
- Step 1. Determine broad objective
 - Step 2. Refine objectives and clarify endpoint
 - Step 3. Select potential indicator based on accepted a priori suitability criteria
 - Step 4. Accumulate data on indicator
 - Step 5. Collect quantitative relational data
 - Step 6. Establish statistically the relationship between the indicator and the relational data
 - Step 7. Based on the nature of the relationship, accept or reject the species, taxon or assemblage as an indicator
 - Step 8. Establish the robustness of the indicator by developing and testing appropriate hypothesis under different conditions
 - Step 9. Make specific recommendations based on the original objectives for the use of the indicator

Negli ultimi decenni del secolo scorso un vasto numero di studi è stato dedicato anche ad indicatori più specificamente rivolti ai problemi di conservazione delle specie. Fra i più usati c'è il concetto di **specie ombrello** (“umbrella species”), definita da WILCOX (1984) nel modo seguente: “to provide <a protective umbrella> select a target species such that its minimum area requirement is at least as comprehensive as the rest of the community”. Si tratta dunque di singole specie selezionate ai fini di decisioni rivolte alla conservazione, tipicamente per il fatto che proteggerle significa proteggere molte altre specie che vivono nella medesima comunità. Il concetto è molto applicato per grandi vertebrati, molto meno per gli insetti e gli invertebrati in genere, ci sono però esempi per il Naucoridae *Ambrysus funebris*, proposto da WHITEMAN & SITES (2008) nella Death Valley e per il Coleottero Cucuide *Cucujus cinnaberinus* (MAZZEI *et al.*, 2011). La protezione di una specie ombrello può effettivamente contribuire a proteggere altre specie simpatriche, ma anche quelle di un livello trofico sottostante, o un elemento costitutivo importante dell'ecosistema, il secondo ed il terzo enunciato si adattano bene a

Cucujus, in quanto predatore di larve di coleotteri saproxilici ma anche legato a foreste mature. Un concetto simile, ma applicato ad un gruppo di specie-ombrello, è quello proposto da LAMBECK (1997) come “focal species”, ciascuna delle quali può essere correlata ad un elemento costitutivo o strutturale del paesaggio che si deve proteggere (fig. 2).



Fig. 2

Cucujus cinnaberinus (Scopoli, 1764) è ritenuto un buon candidato quale “specie ombrello” per foreste di conifere o latifoglie dell'Europa orientale. Foto Antonio Mazzei.

Trasversale ai concetti precedenti, nel senso che ogni tipo di bioindicatore può anche esserlo, è quello di **keystone species**, cioè di specie “pietra di volta”, con chiaro riferimento alle volte ad arco delle costruzioni. Esse svolgono un ruolo critico nel mantenere la struttura di una comunità biotica ed il loro impatto è superiore a quello che ci si potrebbe aspettare semplicemente dalla loro abbondanza relativa o dalla biomassa totale (POWER *et al.* 1996). La definizione risale a PAYNE (1969), che ne ipotizza l'importanza studiando l'effetto sulla comunità della rimozione di una stella marina, *Pisaster ochraceus*, che con la sua predazione manteneva in equilibrio una variegata comunità con molti molluschi. Questa definizione è molto applicata a vertebrati di cospicue dimensioni: elefanti, squalo bianco, certi coralli, gli alligatori, ma anche gli insetti impollinatori: l'ape nei frutteti o gli apoidei negli ecosistemi più complessi, nel loro ruolo di pronubi. Considerato per molti anni un vero e proprio paradigma dell'ecologia, in concetto di KS (keystone species) è stato

successivamente criticato (vedi anche PIRAINO *et al.*, 2002), distinguendone il ruolo da quello delle “specie strutturali”, ma esso conserva anche oggi una sua validità (SAMWAYS, 2005), soprattutto nella valutazione dell’impatto di una specie nel contesto della sua comunità e del suo habitat.

La ricerca di «keystone species» fra gli Insetti è estremamente deludente, in un elenco si trova però il Lepidottero Tortricide *Choristoneura fumiferana* (spruce budworm), considerata tale in quanto periodicamente «rigenera» le foreste di conifere. Molto citati sono in genere gli insetti pronubi, ad esempio *Bombus* sp. nel contesto della Nuova Zelanda (PAYTON *et al.*, 2002), ma è certo che tale aspetto della bioindicazione non è stato molto approfondito per quanto concerne gli Esapodi. Alcuni autori infine collegano piante “keystone” perché particolarmente competitive (ad esempio: *Solidago altissima*) a specie erbivore (il crisomelide *Microrhophala vittata*) che nelle loro pullulazioni agiscono come “keystone herbivores” creando spazio per la sopravvivenza di altre piante erbacee subordinate nel senso di meno competitive (CARSON & ROOT 2002).

Forse nel caso di molte funzioni ecosistemiche, per gli insetti sarebbe meglio indicare «keystone guilds», perché difficilmente una specie da sola può costituire la pietra di volta del sistema. Un esempio può essere la coorte dei saproxilofagi di una foresta, che con la loro capacità di penetrazione nel legno morto o nei tessuti di piante deperienti di fatto aprono la strada al riciclo delle necromasse legnose ed alla loro conseguente rimineralizzazione.

Molti AA. del resto accostano al concetto di keystone species quello di “ecosystem engineer” (SAMWAYS, 2005, PAYTON *et al.*, 2002), nel senso che molti taxa sono in grado di influenzare i processi ecosistemici, ad esempio modificando il suolo o facendo da “apripista” ad altre specie che altrimenti non sarebbero in grado di colonizzare microhabitat o comparti di un dato ecosistema. L’esempio più noto è quello delle formiche per il lavoro che compiono nel suolo e la grande quantità di terreno che riportano in superficie arrieggiandolo, per l’asilo che molti loro simbiotici trovano nei nidi, infine per le biomasse consumate, (FOLGARAIT, 1998), ma anche le termiti non sono da meno, sia per le biocostruzioni di cui tappezzano le zone aride del globo, che per l’intenso riciclo di nutrienti che sono in grado di accelerare. Non mancano comunque esempi ben indagati anche per i nostri climi, BUSE *et al.*, (2008) ad esempio definiscono ecosystem engineer *Cerambyx cerdo*, dimostrando la sua efficacia come «apripista» per altri insetti dipendenti dalle necromasse di vecchie querce (fig. 3).

Non possiamo infine non tener conto delle

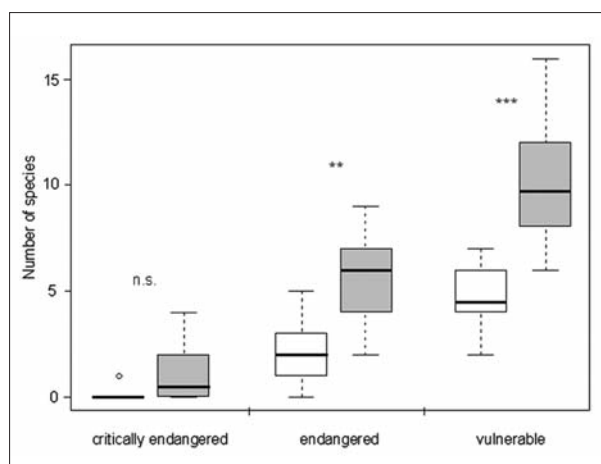


Fig. 3

Specie di coleotteri saproxilici catturate su tronchi privi o colonizzati (barre grigie) da *Cerambyx cerdo* Linnaeus 1758. Le specie sono classificate in base ai criteri di valutazione dell’IUCN. Da Buse *et al.*, 2008.

cosiddette “flagship species” o specie-bandiera. Esse hanno in comune il fatto di essere selezionate come “ambasciatrici”, icone o simboli per un dato habitat, argomento, campagna o causa ambientale. Focalizzando l’attenzione del pubblico su tale specie o garantendone la conservazione, si assicura nel contempo lo status di altre specie che ne condividono l’habitat o che sono sottoposte alle stesse minacce. Le specie bandiera sono solitamente di grandi dimensioni e sono considerate “carismatiche” nelle civiltà occidentali, dove si impongono spesso per le necessità di raccolta di fondi o di “marketing ambientalista” (WESTERN 1987, VERISSIMO *et al.*, 2011). La tigre del Bengala, il panda maggiore e molti altri grossi vertebrati sono stati indicati come specie bandiera a partire dagli anni ’80, ma attualmente si raccomanda maggior prudenza nel loro uso, perché spesso la gestione dell’ecosistema a loro favore può confliggere con le esigenze di specie magari meno vistose ma forse più a rischio (vedi anche SIMBERLOFF, 1998) (fig. 4).

Le flagship species entomologiche sono pochissime, quasi solo farfalle, fra le quali non poteva mancare *Danaus plexippus*, la farfalla monarca, o certi Buprestidi coreani, come *Chrysochloa fulgidissima*, proposta come flagship species da un Parco Nazionale vicino alla città di Jeongeup o infine il “Kabuto-mushi” *Trypoxylus dichotomus*, proposto da TAKADA (2013) per incoraggiare la scarsa tendenza dei giapponesi alla conservazione degli Insetti (fig. 4). Già in anni precedenti GUINEY & OBERHAUSER (2008) erano dell’idea che la proposta di specie carismatiche possa incrementare l’attenzione del pubblico verso gli insetti minacciati: “Even though most flagship species



Fig. 4

Trypoxylus dichotomus (Linnaeus 1771), secondo Takada (2013) uno dei pochi Scarabeidi (Dinastini) ben noti ed amati dal pubblico giapponese, e per il quale varrebbe la pena di istituire una flagship species.

have been historically large mammals, an increasing amount of attention has been directed to smaller species, including insects. Entomologists and conservationists need to encourage the use of insect flagship species, in order to draw attention to the importance of this group and to its conservation needs. The descriptions and case studies of charismatic and endangered insects, and those that provide ecological services, illustrate how the use of a flagship species can have wide-reaching conservation and education impacts”. C’è forse un rischio in questo tipo d’iniziativa, quello di cadere nella trappola dei “pet-insects”, incrementando il mercato degli insetti da allevamento, ma tutto sommato anche quest’uso,

che si va diffondendo globalmente, può avvicinare i giovani alla conoscenza del mondo degli insetti.

Finora abbiamo parlato indifferentemente di «indicatori», mescolando il valore dato alle «surrogate species» con quello che si può dare anche a intere comunità (taxocenosi) o guilds, una carrellata che possiamo ora inquadrare in uno schema generale, quello di figura 5, nella quale si tenta di inquadrare al meglio le differenti tipologie di “bioindicazione” offerte dagli Esapodi.

APPROFONDIMENTI ED ESEMPI

Pur consapevoli del rischio di omettere studi importanti, nel seguito di questo breve scritto tentiamo di dare qualche esempio e di approfondire alcune delle tante tematiche che oggi coinvolgono gli insetti nel loro possibile ruolo di indicatori ambientali.

Environmental indicators

Come già accennato nell’introduzione, sono molto studiati quelli acquatici, in particolare quelli utili nella scala del saprobio, che consentono rapide indicizzazioni della qualità delle acque. Gli indici più usati sono l’IBE o, in inglese EBI, (Extended Biotic Index), basato sul censimento dei macroinvertebrati dello zoobenthos delle acque lotiche. L’EBI deriva in realtà da un precedente “Trent Biotic Index” (TBI, WOODIWISS, 1964), fra i tanti in uso nel secolo scorso, ed elaborato per la Trent River Authority utilizzando macroinvertebrati raccolti con il retino nel “rif-

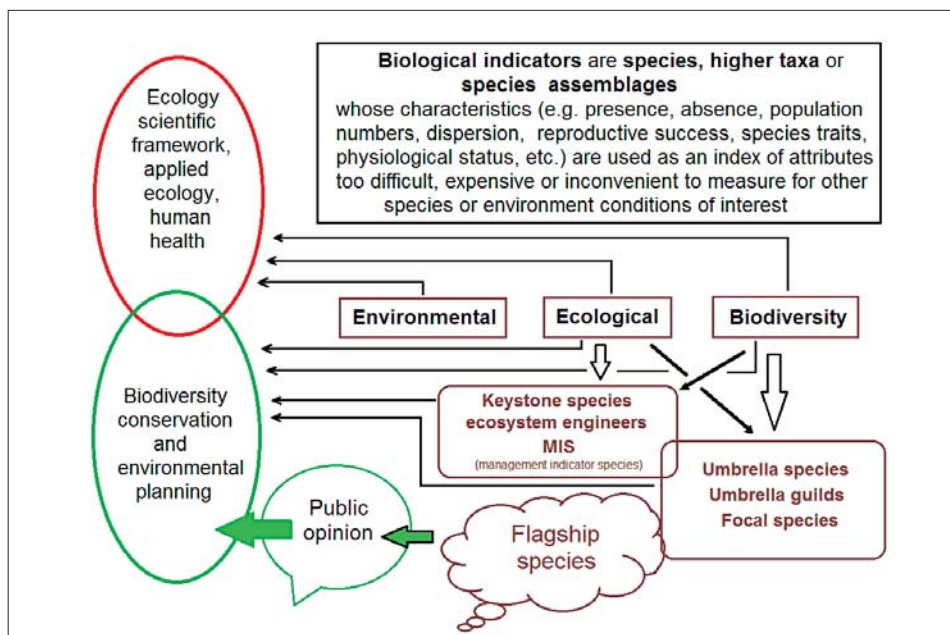


Fig. 5

Scopi generali e tipologie della bioindicazione che gli Insetti possono rappresentare.

fle”, cioè nei tratti meno profondi e più ghiaiosi del corso d’acqua. Il successivo indice EBI è stato poi adattato ai corsi d’acqua italiani da un Manuale CNR a cura di GHETTI & BONAZZI (1981) prodotto nel corso del Progetto Finalizzato “Promozione della qualità dell’ambiente”. Oggi ci si basa sulla nuova Direttiva Europea 2000/60/EC (WFD, Water Framework Directive), eseguendo un campionamento «multihabitat» (pool/riffle) e determinazioni che nel caso di Germania, Austria e Slovenia devono arrivare alla specie. Nel nostro paese la materia è competenza del CNR-IRSA: Istituto CNR per la Ricerca sulle Acque, che offre anche, descrivendole, alcune metriche e indici selezionati in un processo di intercalibrazione e classificazione ecologica che si sta attuando a livello europeo, tradotta nell’indice: STAR-ICMI (vedi AA VARI, 2007).

Per l’ambito terrestre, certamente più trascurato di quello delle acque correnti, è stato proposto recentemente un indice di qualità biologica del suolo, basato quasi esclusivamente su insetti edafici, il QBS. Proposto da PARISI (2001), esso tiene conto del grado di adattamento degli artropodi edafici o, in altre parole, delle loro “forme biologiche”, e dei markers morfologici condivisi dalla fauna del suolo: la piccola dimensione, la depigmentazione, l’anoftalmia, ecc., con forme che vanno dall’edafoxeno all’edafobio all’endogeo. La costruzione di “fasce di adattamento” (utilizzate nella valutazione QBS), indipendenti dalla tassonomia, rappresenta sicuramente un enorme vantaggio poiché permette di superare i problemi legati alla determinazione delle specie. A ogni gruppo, quale parametro di misura del valore ecologico, è attribuito un punteggio, che può variare da un minimo di 1, attribuito alle forme poco o nulla adattate alla vita edafica, ad un massimo di 20 per le forme che presentano il massimo adattamento alla vita edafica (fig. 6). Questo valore è chiamato indice eco-morfologico (EMI) e può variare all’interno delle diverse unità sistematiche. In calcolo del QBS-ar (il QBS basato sugli artropodi) si ricava dalla sommatoria dei massimi valori EMI ottenuti per ogni gruppo sistematico. Nel caso in cui in un campione siano presenti forme appartenenti allo stesso gruppo sistematico, ma con diversi livelli di adattamento alla vita edafica, il punteggio assegnato sarà il valore massimo di EMI trovato. Lo scopo principale quindi, nella determinazione dell’indice è l’individuazione, all’interno di ogni gruppo sistematico, della forma biologica meglio adattata al suolo. Sulla base del valore complessivo del QBS-ar, si possono suddividere i suoli in classi, caratterizzate da una crescente qualità ambientale. Per l’assegnazione

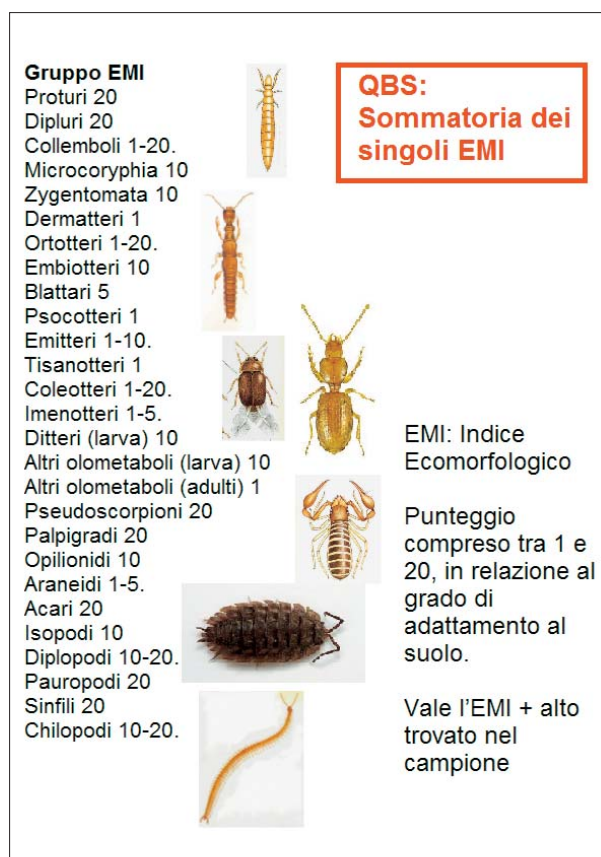


Fig. 6

L’indice eco-morfologico (EMI) per i principali taxa di artropodi legati al suolo come utilizzato per la valutazione della qualità biologica del suolo (QBSar) basata su artropodi.

delle classi di qualità entrano in gioco alcuni gruppi-chiave: Proturi, Coleotteri e Collemboli Onichuridi. Si tratta, infatti, di gruppi considerati eccellenti bioindicatori, poiché la loro presenza è in genere legata a un suolo ricco di sostanza organica e potenzialmente di buona qualità. Per altri particolari sull’indice QBS e le sue varianti si rinvia ad ANGELINI *et al.* (2002).

Environmental indicators: insetti come biosensori
 Gli insetti possono essere usati per monitorare il livello di contaminazione da sostanze chimiche tossiche o da metalli. Nel caso di questi ultimi la scelta della specie da considerare come bioindicatore deve tenere conto: a - del livello trofico che la specie occupa; b - delle strategie di accumulazione; c - delle strategie di detossificazione; d - del ciclo biologico. Inoltre bisogna tener conto anche del ruolo “biologico” del metallo. I biomarkers possono essere individuati nei diversi livelli biologici:

- 1) livello molecolare (formazione di corpi d’inclusione o sintesi di metallotioneine a livello tessutale);
- 2) a livello di organismo (comportamento, riproduzione, sviluppo, sopravvivenza).

Insetto “prediletto” in questo campo è certamente l’ape domestica, che con il suo discreto home range e la grande curiosità esplorativa rappresenta un vero e proprio strumento di scansione dell’ambiente intorno all’arnia. La lettura della review di BOGDANOV (2006) fornisce un quadro impressionante della qualità e della quantità degli inquinanti dei prodotti dell’ape, sia di quelli contratti nell’ambiente che quelli derivanti dai trattamenti sanitari dell’arnia. Questo imenottero facilita anche lo studio dell’ecotossicità delle operaie, che possono essere facilmente raccolte in un apposito cestello (underbasket) posto a raccolta delle medesime sotto all’ingresso dell’arnia, quando le compagne ne allontanano i corpi senza vita. LEITA *et al.* (1996) ad esempio misurano l’accumulo di cadmio, zinco e piombo nel corpo di api morte, mostrando che dopo nove settimane si raggiungono rispettivamente 7, 1100 e 27 microgrammi/grammo di peso secco.

L’ape domestica rappresenta dunque, come tante volte ricordatoci anche dal compianto amico Giorgio Celli, un prezioso strumento di monitoraggio della qualità dell’ambiente, specialmente del paesaggio agrario, dove più che altrove può essere messa a rischio la salute umana. Ne è un esempio molto interessante lo studio di PORRINI *et al.* (2003) condotto in molte località italiane mediante la raccolta delle operaie con l’underba-

sket, studio che dimostra come il metodo riveli non solo la tipologia di protezione applicata alle piante in una data zona (cioè la gamma di fitofarmaci utilizzati), ma anche gli abusi derivanti da sostanze non più ammesse in date circostanze o addirittura proibite come il fenoxycarb (fig. 7).

Le ricerche sugli insetti come bioaccumulatori riguardano oggi una vasta gamma di taxa, GRAMIGNI *et al.* (2013) ad esempio studiano il bioaccumulo di alcuni metalli pesanti nel corpo di formiche della specie *Crematogaster scutellaris*, trovando che zinco e cadmio sono amplificati rispetto alle concentrazioni del suolo, mentre il rame risulta indipendente dalle concentrazioni in tale comparto, e nickel, manganese e piombo sono mantenute a concentrazioni inferiori. TALARICO *et al.* (2014) hanno studiato l’effetto dell’inquinamento da 15 metalli di una discarica sulla sopravvivenza e sulla fisiologia di *Carabus lefebvrei*. Il fattore di bioaccumulo rivela che il coleottero, che è un predatore di chioccioline, è un concentratore di As e di Hg se raccolto in siti inquinati. Individui allevati in laboratorio mostrano che i livelli di elementi come B, Cr e Cu nell’adulto sono strettamente correlati ai livelli nel suolo, mentre altri sono bioaccumulati rispetto ai livelli presenti nelle prede, nel seguente ordine: Hg > Cr > B > Be > Pb > V = Zn = As. Accrescimento larvale e mortalità non variano con la concentrazione dei metalli in suolo e cibo, ma la

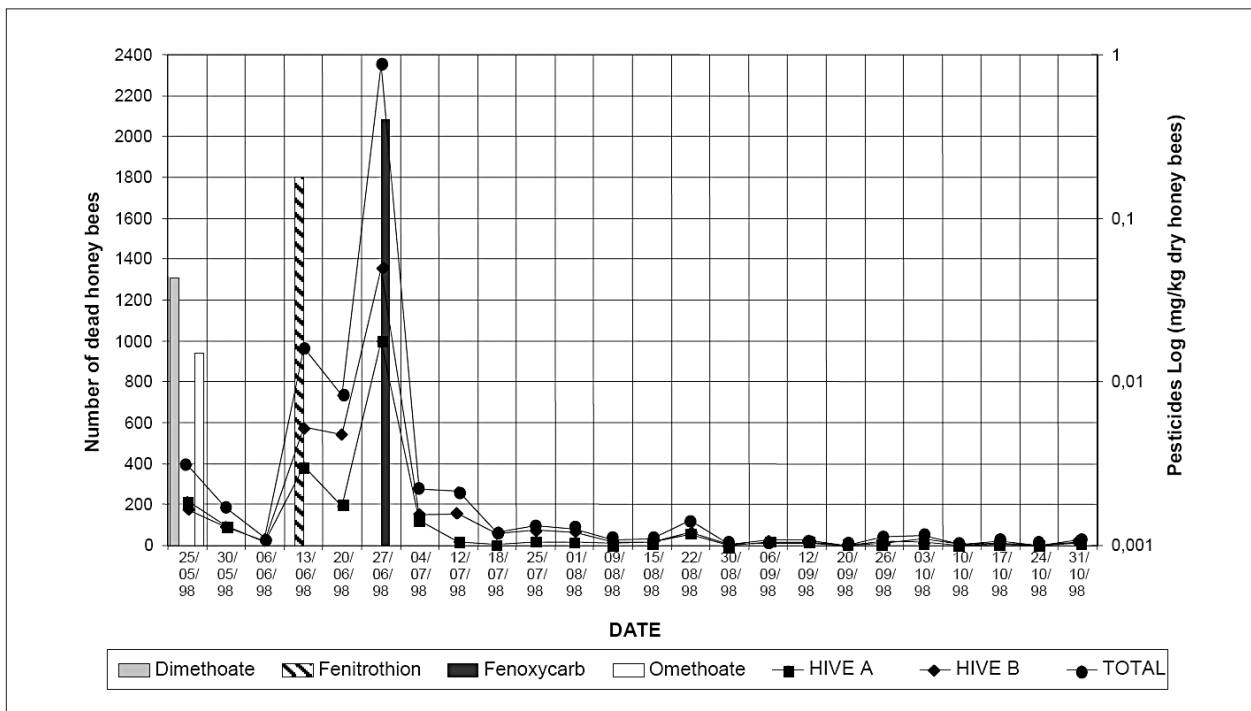


Fig. 7

Andamento stagionale della raccolta di api morte in due alveari presso Ozzano Emilia. Le colonne indicano la concentrazione di vari pesticidi (mg/kg di peso secco d’api) di volta in volta riscontrati, si noti come il picco più elevato di mortalità coincide con elevati valori di Fenoxycarb. Da PORRINI *et al.* (2003).

risposta immunitaria degli stadi pre-immaginali è molto sensibile all'inquinamento, come indicato dall'attività enzimatica della fenolo-ossidasi, il che farebbe supporre che la contaminazione da metalli possa avere effetti subletali sulla funzione immunitaria.

ECOLOGICAL INDICATORS

Si possono considerare tali singole specie, gruppi di specie ("species assemblages"), guilds e taxocenosi che in vario modo ci avvisano della variazione spaziale o, anche prevenendoli, i cambiamenti temporali in un ecosistema, habitat naturale o antropizzato, fornendo anche informazioni sul suo stato di conservazione/disturbo/sfruttamento/alterazione funzionale. La UNDERWOOD (cit.) ritiene che tale approccio sia ancora nella sua infanzia, che la maggior parte degli studi si focalizzi ancora solo su specie rare o minacciate, e che da un punto di vista ideale si dovrebbe dimostrare che le specie minacciate sono rappresentative degli altri taxa coinvolti, ma che pochi sono gli studi giunti a questo livello.

Appartiene al repertorio classico lo studio di Claire KREMEN (1992) sull'utilizzo della diversità di specie di farfalle diurne come indicatore dei parametri ecologici in Madagascar. Quest'autrice trovò che esse indicavano in modo eccellente l'eterogeneità derivante dalla complessità topografica o dai gradienti di umidità, mentre erano modeste predittrici della ricchezza di specie di piante in fiore, limitate come indicatrici dell'eterogeneità dovuta al disturbo antropico e scarsamente correlate alla diversità floristica.

In tempi più recenti l'uso degli "ecological indicators" si è raffinato in almeno due direzioni importanti, quella basata sulla diversità di specie di uno o più taxa e quello della taxocenosi, che valorizza gli «species traits». Il primo è più imparentato con i «biodiversity indicators», esemplare rimane a nostro avviso lo studio di BROWN (1997), sull'uso sostenibile delle foreste atlantiche del Brasile. L'approccio di questo autore si distingue perché è già focalizzato sul problema della sostenibilità, verificata attraverso il monitoraggio della biodiversità degli insetti, egli sottolinea infatti che "Superficial analyses of sustainability in resource use are sometimes restricted to the actual species (usually large trees or vertebrate animals) providing the materials being produced (such as wood, meat, fruits, oil or latex)... Furthermore, such long-cycle organisms can give information on sustainability only after several generations, usually years or decades". Invece gli insetti:

- 1) riflettono bene i processi importantissimi della decomposizione della lettiera, essenziale ultima frontiera della fertilità delle foreste tropicali;
- 2) molti gruppi di insetti sono ben studiati e di facile riconoscimento e facili da inventariare;
- 3) hanno due proprietà importanti: cicli biologici brevi e bassa resilienza;
- 4) gli insetti fitofagi sono ben adattati alla struttura, alla luminosità, all'umidità, alla disponibilità di nutrienti, al chimismo dei processi, ogni cambiamento nella loro abbondanza implicherebbe un incremento o decremento della loro pianta nutrice primaria (fig. 8).

Dopo aver esaminato una più vasta gamma di taxa possibili indicatori per l'area, BROWN compara i dati sulla diversità di specie di comunità di Lepidotteri diurni (Hesperioidea-Papilionoidea) raccolti in 54 località diverse del Brasile a partire dal 1900 e dal 1964 consistenti in rilievi standardizzati della durata di un giorno, annotando tutte le variabili ambientali di maggior peso. Ne risulta il quadro di figura 8, dalla quale risultano interessanti correlazioni con lo stato di sfruttamento delle foreste e l'evidenza di un massimo del numero di specie in foreste ben conservate ed eterogenee. Successivamente, combinando i dati di α -diversità per la diversità genetica e le specie grandi e

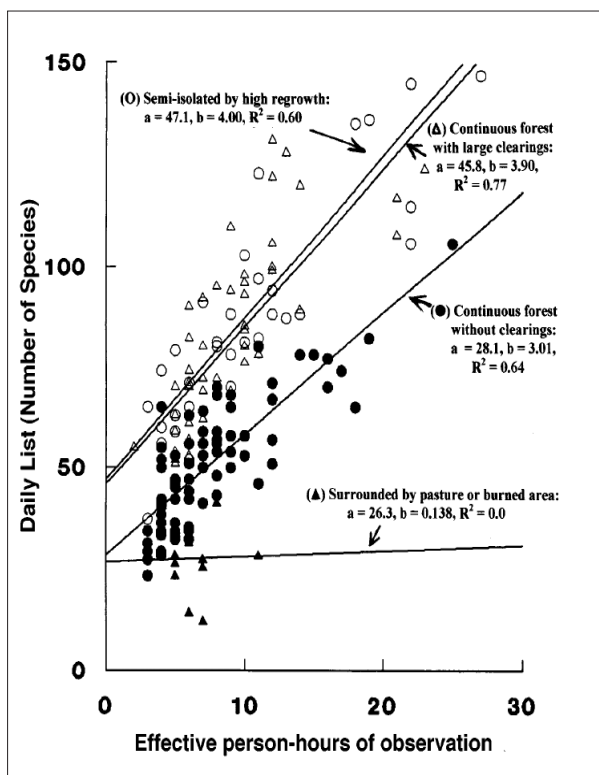


Fig. 8

Diversità di specie di Lepidotteri diurni (Hesperioidea-Papilionoidea) campionati in foreste del Brasile a nord di Manaus in diverse situazioni di disturbo antropico e configurazione del paesaggio. Da BROWN (1997).

specializzate, la diversità β per le piante, gli animali (le anzidette farfalle prese qui come “surrogate species”) e le specie utili, la diversità γ per le specie successionali, di orlo di foresta e di habitat non forestali, ottiene il quadro di figura 9, che rappresenta un insieme di relazioni generali fra il livello di disturbo antropico (“disturbance”, in ascisse) e la diversità (in ordinate). Per brevità non ci si può addentrare in altri dettagli, ma risulta chiaramente la potenzialità dimostrata dagli insetti indicatori nello stabilire parametri non solo di conservazione, ma anche di gestione sostenibile dell’ecosistema.

Ecological indicators: l’approccio per “species traits”

Gli species traits, che in italiano si potrebbero tradurre come “marcatori morfo-funzionali” delle specie, sono caratteristiche morfologiche, comportamentali o di altro tipo (ecologico, biogeografico-evolutivo) aventi valore adattativo ed in grado di fornirci indicazioni sullo stato dell’habitat e della sua gestione. Oggi assistiamo a una crescente valorizzazione di queste caratteristiche sia nel campo delle acque interne (VERBERK *et al.*, 2013) che in quello degli invertebrati del suolo (PEY *et al.*, 2014) e c’è chi addirittura parla di un superamento del concetto di “guild” proponendo uno schema per lo

sviluppo di un inquadramento pratico dei tratti funzionali per i coleotteri terrestri (FOUNTAIN-JONES *et al.*, 2015). In realtà l’uso dei marcatori morfo-funzionali risale già al secolo scorso, ad esempio quando LINDROTH (1949) ricostruisce la genesi degli areali dei coleotteri carabidi della penisola scandinava attraverso lo stato brachittero o macrottero delle ali delle loro popolazioni, mentre risale al 1980 il primo tentativo di una diagnosi ambientale sul disturbo antropico esaminato attraverso gli species traits di coleotteri carabidi (BRANDMAYR, 1983). In ogni caso, ciascuna guild o gruppo possiede un set di caratteri di questo tipo che possono essere utilizzati per una diagnosi ambientale, in molti casi poi le tipologie adattative non sono tanto diverse da un gruppo all’altro. Data la vastità della materia, ci limiteremo qui a dare qualche esempio sui coleotteri carabidi, una famiglia d’insetti molto diversificata nelle sue risposte all’ambiente e di ampia radiazione adattativa. Il gruppo in questione infatti risulta molto eterogeneo per alcuni aspetti fondamentali:

- 1) il potere di dispersione (macrotteri, brachitteri, pteridimorfi);
- 2) l’ampiezza dell’areale (stenodenemici, etc.);
- 3) il ritmo riproduttivo (larve estive, invernali o dal ciclo biennale).

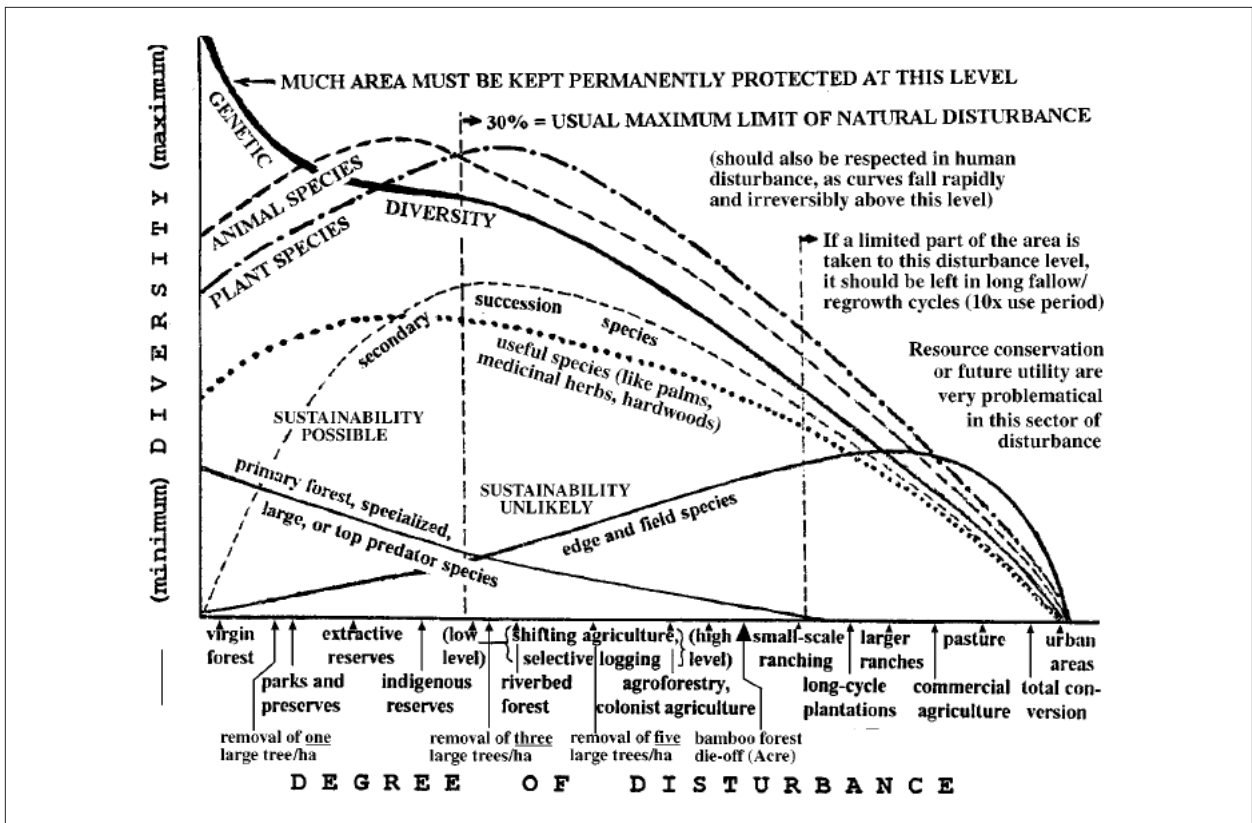


Fig. 9

Diversità di varie componenti dell’ecosistema e livelli di disturbo antropico in foreste della Regione Neotropica. (da BROWN, 1997).

- 4) La scelta alimentare (predatori specializzati, a vasto spettro, predatori opportunisti di semi, granivori specializzati);
- 5) specie stenotopie o specializzate per l'habitat;
- 6) specie terricole, arboreicole o corticicole;
- 7) specie ipogee +/- specializzate.

La figura 10 rende un'idea dell'aspetto esterno dei soli rappresentanti europei di questi coleotteri predatori, che poi nelle regioni tropicali danno luogo ad una varietà di forme ancora maggiore. Immaginiamo di avere una sequenza di alterazione ambientale (antropizzazione) sul modello di quella studiata da BROWN (1997) in Brasile, ma in Italia (Carso Triestino, 32 siti, BRANDMAYR et al., 2005). Come riassunto in figura 11, con il progredire dell'antropizzazione, che inizia dalla ceduazione delle foreste e si completa con gli agroecosistemi più intensivi ed i siti ruderali, si assiste ad una vistosa serie di cambiamenti delle caratteristiche delle specie e quindi anche degli aspetti funzionali delle comunità. Le specie endemiche, meno mobili ma anche più sedentarie come strategia, tendono progressivamente a scomparire, mentre aumentano con il degrado ambientale e l'asporto di biomassa le specie ad alto potere di dispersione. La diversità di specie in quanto tale è

invece meno indicativa, poiché aumenta sia nei prati da sfalcio, che sono ambienti ancora parzialmente seminaturali, sia nei coltivi, dove si assiste ad un vero e proprio accumulo di specie opportuniste alimentari (non rappresentate) insieme a quelle con larve a sviluppo breve in estate, che spesso prediligono gli ambienti più instabili e rimaneggiati.

In altre sequenze, che qui non raffiguriamo, si nota anche come i carabidi predatori a dieta più specializzata (*Cychrus*, *Leistus*, *Notiophilus*, gli *Abax* ed i *Molops* allo stato larvale, ecc.) siano più abbondanti in foreste che non nelle formazioni aperte, dove prevalgono elementi steppici del tutto o parzialmente granivori, come *Harpalus*, *Ophonus*, *Zabrus*. A risultati simili sono arrivati anche GOBBI & FONTANETO (2008) in una meta-analisi della diversità di coleotteri carabidi in habitat a differente impatto antropico della pianura padana.

Ricordiamo ancora che gli species traits delle comunità legate a differenti habitat possono essere anche elaborati in indici più complessi come il "community vulnerability index" I_v proposto da Scalercio et al. (2007) per i Ropaloceri della Sila Greca su base ecologico paesaggistica.

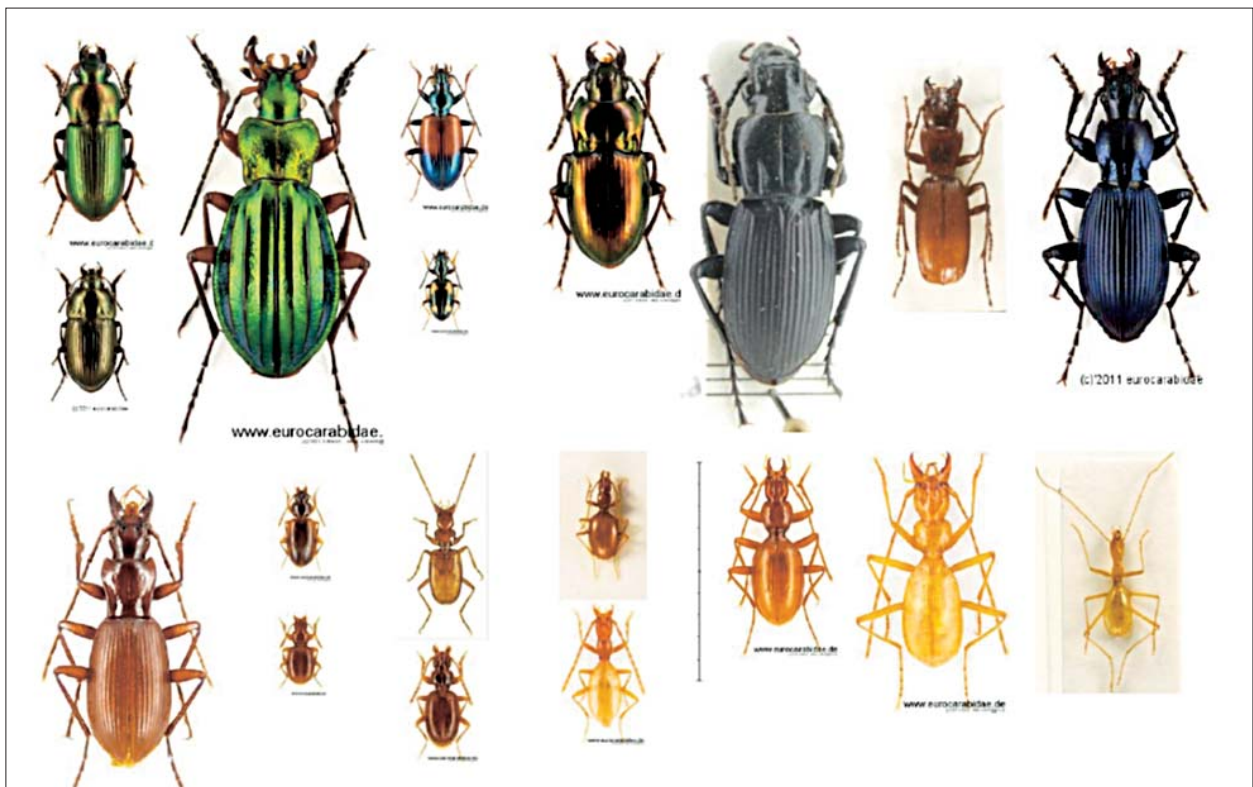


Fig. 10

La variazione morfologica e adattativa riscontrabile in coleotteri carabidi europei, con particolare evidenza del percorso evolutivo dall'ambiente epigeo a quello ipogeo. Da sinistra a destra e dall'alto in basso: *Harpalus* sp., *Amara* sp., *Carabus* sp., *Bembidion* (s. l.) spp., *Pterostichus* sp., *Percus* sp., *Speomolops sardous*, *Laemostenus* spp, *Trechus* spp., *Duvalius* spp., *Orotrechus* sp., *Anophthalmus* sp., *Typhlotrechus* sp., *Aphaenopidius* sp., *Aphaenops* sp. Da BRANDMAYR et al., 2013.

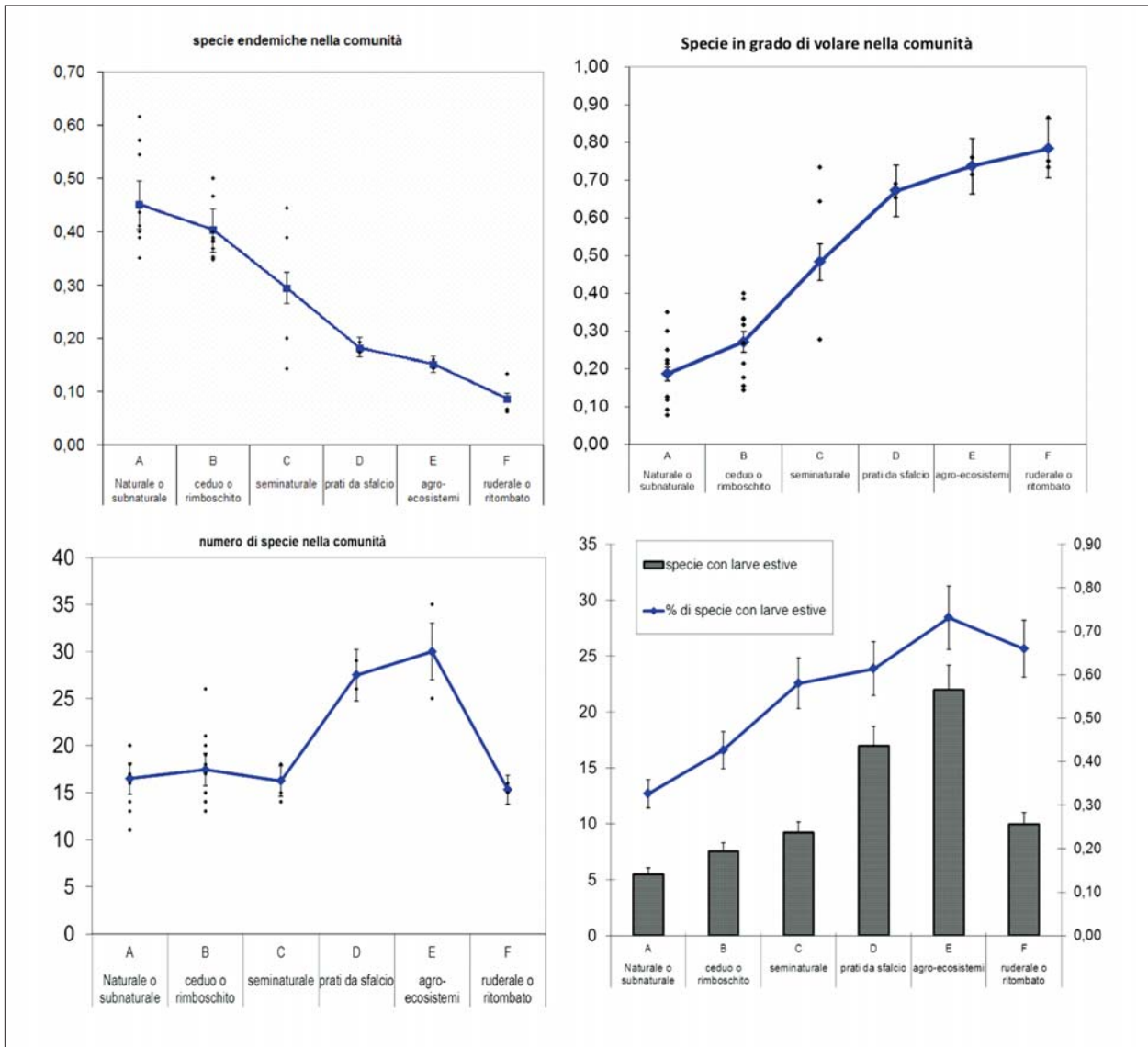


Fig. 11

Da sinistra in alto a destra in basso: percentuale di specie endemiche (sudeuropeo-orientali) in una sequenza di habitat caratterizzati da disturbo antropico crescente nel Carso Triestino, dati di 34 siti. - Specie di carabidi in grado di volare (macroterre o pteridimorfe) nella stessa sequenza. - Numero di specie della comunità. - Specie con larve estive (colonne, ordinata sinistra) e loro percentuale nella medesima sequenza di comunità. Da BRANDMAYR *et al.* (2005), integrato e modificato.

I marcatori e le caratteristiche morfofunzionali degli indicatori prescelti determinano dunque quasi “a priori” il target dell’indagine, una regola che potremmo esprimere come “congruenza fra il taxon e l’indicandum”. In Tabella 2 si elencano altri esempi di “management indicators”, senza alcuna pretesa di completezza.

BIODIVERSITY INDICATORS

Gli indicatori di biodiversità, come abbiamo già ricordato, sono quelli il cui studio dovrebbe permettere di quantificare la diversità di taxa non noti per mezzo di gruppi che fungono da surrogato, cioè che in qualche modo rivelano anche la nume-

rosità di specie (o di taxa superiori) di gruppi anche non filogeneticamente vicini. Vi sono in realtà anche qui due approcci fondamentali: quello «cross-taxon» e quello «within-taxon».

L’approccio cross-taxon usa la biodiversità di un taxon per ipotizzare quella di altri taxa nella medesima area geografica o, a scala minore, nel medesimo habitat.

Un primo tentativo importante fu quello di PEARSON & CASSOLA (1992), che trovarono, su scala continentale e usando maglie di 275-350 km di lato, che la ricchezza di specie di Cicindelidi, farfalle diurne ed Uccelli erano ben correlate, anche se le conclusioni vennero poi in parte criticate.

In un successivo studio (PEARSON & CARROLL, 1998) l’indagine venne estesa anche alle precipita-

Tabella 2 – Esempi di indicatori di gestione basati su diversi taxa ed in relazione al target o indicandum.

Taxon	Target o indicandum	Autore
Formicidi	Ricolonizzazione di siti, terrazzamenti minerali, etc., in Australia	ANDERSEN & MAJER, 2004, <i>Front. Ecol. Environm.</i> 2:291-298
Passalidi, Scarabeidi, Curculionidi e Stafilinidi	Deforestazione, conservazione della biodiversità ed individuazione di riserve in Centro-America	CANO & SCHUSTER, 2008 – <i>Trop. Biol. and Cons. Management</i> , vol. VI., EOLSS
Lepidotteri	Cambiamenti in ambienti prativi seminaturali europei	ERHARDT & THOMAS, 1991, in Collins, Thomas eds, <i>The Conservation of Insects and their Habitats</i> . Academic Press.
Ropaloceri	Effetti della conduzione organica e nessi con il paesaggio	RUNDLOEF & SMITH, 2006, <i>J. Appl. Ecol.</i> , 43:1121-1127
Ropaloceri ed Ortoteri	Sfalcio, concimazione e paesaggio in un contesto di mosaico prato-bosco	MARINI <i>et al.</i> , 2009, <i>Insect Cons. and Diversity</i> , 2(3):213-220.
Coleotteri (varie fam.) ed Eterotteri	Gestione e stato di conservazione di foreste naturali e d'impianto nel South-Benin (Dahomey)	LACHAT <i>et al.</i> , 2006, <i>Biodiv. Conserv.</i> , 15:3-23
Insetti saproxilici	La gestione sostenibile delle foreste	GROVE, 2002, <i>Ann. Rev. Ecol. Syst.</i> , 33:1-23
Coleotteri saproxilici	La gestione della biodiversità delle foreste	AUDISIO <i>et al.</i> , 2014, <i>Lista Rossa IUCN dei Coleotteri saproxilici italiani – Min. Ambiente, IUCN, Federparchi</i>
Coleotteri Carabidi	La gestione della foresta boreale	NIEMELÄ <i>et al.</i> , 2007, in T. New (ed.): <i>Beetles Conservation</i> . <i>J. Insect Conserv.</i> , 11:5-18

zioni annue, per introdurre un parametro ambientale. I risultati ad oggi dimostrano che in certi casi, ad esempio in Australia, le precipitazioni erano ben correlate alle farfalle, mentre i cicindelidi non collimavano sufficientemente né con gli uccelli né con le farfalle. In Nord-America invece erano le precipitazioni ad essere di scarsa predittività, mentre, mentre qui risultavano ben correlati Cicindelidi, Uccelli e farfalle, ma soprattutto uccelli e farfalle fra loro.

Anche a scala di habitat vi sono non pochi studi che cercano di mettere in relazione la compresenza di un taxon con quella di altri taxa superiori, fra i tanti abbiamo scelto l'indagine di BILLETTER *et al.* (2007) su 25 paesaggi agricoli europei di 16 kmq ciascuno, sparsi in sette paesi d'Europa, dalla Francia all'Estonia, includenti censimenti di piante vascolari, uccelli, apoidei, carabidi, sirfidi, eterotteri, araneidi e molti parametri ambientali e di struttura dell'ecosistema. Lo ricerca dimostra l'esistenza di forti variazioni geografiche della diversità di specie in tutti i gruppi campionati, nessun gruppo è buon indicatore per tutti gli altri, anche se in certi casi si possono osservare corrispondenze significative: le api con le piante erbacee, i ragni con gli uccelli, i coleotteri carabidi con i sirfidi, ed altre. Infine, la diversità di specie di tutti i gruppi aumenta con la superficie lasciata a habitat seminaturale, prativo o boscato.

L'approccio «within-taxon» più comune è quello della «higher taxon surrogacy», cioè quando si usano solo generi, famiglie o ordini significativi

per indicare la biodiversità di specie di una classe, ad esempio i mammiferi. Importante è che vi sia vicinanza tassonomica fra indicatore ed indicandum. Gli esempi sono numerosi, anche se le conclusioni controverse, CARDOSO *et al.* (2004) sperimentano il censimento di taxa superiori per predire la ricchezza di specie di ragni in aree protette del Portogallo, giungendo alla conclusione che i generi sono rappresentativi della medesima, mentre le famiglie sono risultate meno adatte allo scopo. Più in generale, la co-varianza di diversità sia all'interno di taxa che soprattutto fra taxa diversi dimostra di avere poche regole certe, con una vasta gamma di interazioni possibili fra l'altamente positivo, il più o meno debole oppure l'altamente negativo (GASTON & WILLIAMS 1996), ed è abbastanza ovvio che lo stesso si osservi per le risposte alle variabili ambientali indipendenti, come il clima o singoli fattori ecologici.

GLI HOTSPOTS DELLA BIODIVERSITÀ

Più efficace sembra essere, almeno ai fini della conservazione, lo studio degli «hotspots», cioè delle aree di estrema ricchezza tassonomica (MYERS 1988; PRENDERGAST *et al.*, 1993), più o meno interessate da problemi di conservazione (MYERS *et al.*, 2000), dove di fatto la concentrazione di piante endemiche e fauna di ogni gruppo o quasi, quindi insetti inclusi, richiede la massima concentrazione degli sforzi di tutela. Gli hotspots

(25 a livello mondiale) individuati da MYERS *et al.* (2000), pur essendo basati quasi esclusivamente su piante endemiche e vertebrati (fig. 12), si adattano bene anche all'entomofauna, anche se studi metodologici dimostrano che l'individuazione degli hotspots a scala regionale o inferiore richiede data base molto completi ed un approccio più volto alla rarità che al numero delle specie (BALLETO *et al.*, 2010).

Gli hotspots rappresentano in realtà anche un problema epistemologico e di metodologia scientifica, nel senso che, soprattutto per gli insetti e la fauna minore in generale, queste aree racchiudono forse più specie da scoprire che non specie realmente già conosciute. Non possiamo escludere quindi che, a prescindere dalla concentrazione opportunistica degli sforzi di ricerca in aree “simbolo” o più facilmente raggiungibili, i cui dati possono falsare le mappe sui software visualizzatori, le aree di hotspot possano riservare anche nel futuro sorprese ancora più consistenti e scoperte inaspettate in campo biogeografico o tassonomico. Un esempio fra i più eclatanti riguarda proprio la bioregione mediterranea e le catene montuose non glacializzate dell'Europa meridionale. In questo ambito BRANDMAYR *et al.* (2013) hanno potuto documentare come la fauna ipogea ed in particolare troglobia si sia dimostrata molto sensibile al cambiamento climatico degli ultimi quarant'anni (global warming), nel senso che sono apparsi ex novo in grotte campionabili dall'uomo (le “macro-caverne”) specie e generi prima sconosciuti alla scienza (fig. 13). Il dato che più impressiona è che il maggior numero di nuovi taxa è stato scoperto in aree che erano già considerate hotspots ben inve-

stigati in precedenza, come se le mutate condizioni ambientali, probabilmente gli inverni più miti che hanno ristretto la portata del congelamento del sottosuolo a minori profondità, abbiano consentito a popolazioni del reticolo sotterraneo profondo di risalire verso la superficie, in una sorta di “upwelling di popolazioni troglobie”. Registriamo quindi, a partire dalla decade 1970/80, unanimemente riconosciuta come inizio della seconda ondata di aumento termico, ad aumenti percentuali del numero di specie di carabidi Trechini molto consistenti, con un minimo nel genere *Geotrechus* e valori massimi (fra il 30 ed il 35%) in tre generi decisamente ipogei: *Anophthalmus*, *Duvalius* ed *Orotrechus* (vedasi anche figura 10).

Dello stesso livello l'aumento persino dei generi nuovi per la scienza, fra i quali una sottotribù del tutto inedita da porre presso i Bembidini, i balcanici Lovriciina; fra le tante sorprese spicca anche un gigantesco troglobio della penisola Iberica meridionale, *Dalyat mirabilis* Mateu, che è da considerarsi il primo carabide Promecognatino scoperto in Europa (i Promecognatini erano noti solo dal Sudafrica e da una limitata zona del continente nordamericano). Anche le ipotesi alternative considerate, prima fra tutte un aumento delle capacità tecnologiche delle esplorazioni sotterranee o l'intensificazione delle ricerche, non reggono all'evidenza matematica di una stretta correlazione fra andamento termico degli ultimi cent'anni e il susseguirsi delle descrizioni di nuove specie accumulate nel tempo a partire dalla metà del secolo XIX (fig. 14).

In questo caso molto particolare i carabidi ipogei che hanno reagito allo stimolo del global war-

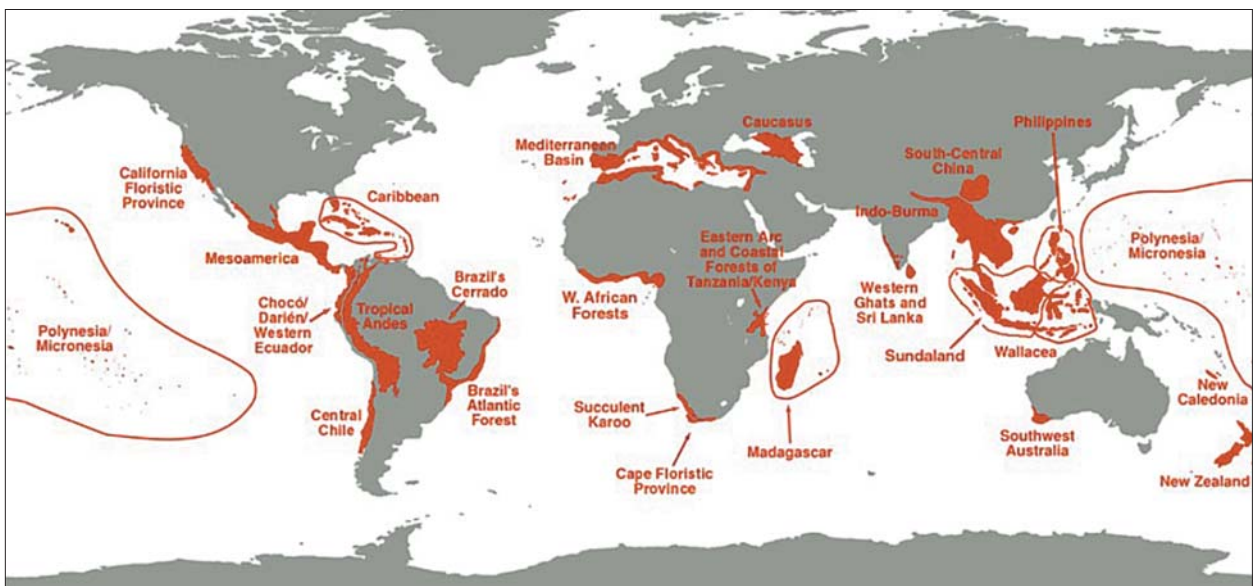


Fig. 12
Gli hotspots proposti da MYERS *et al.* (2000).

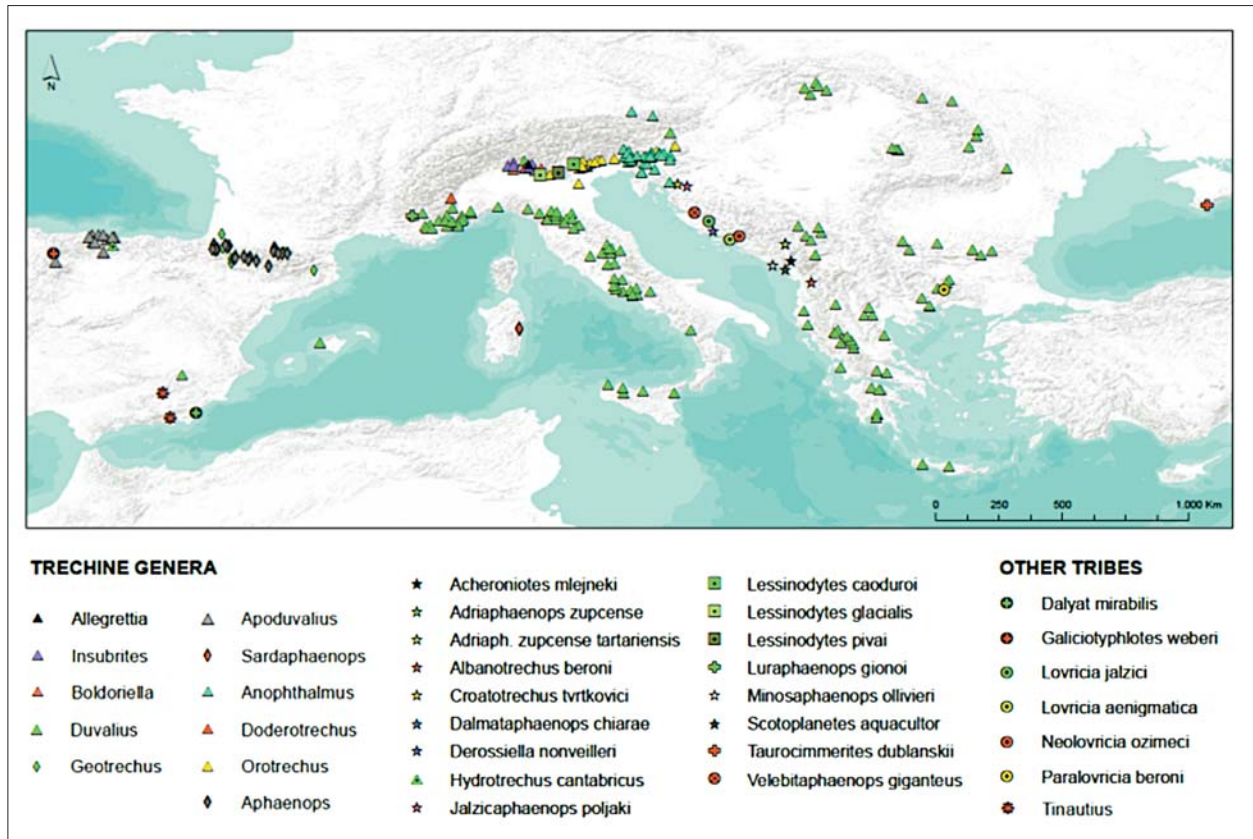


Fig. 13

Trechini ed altri carabidi ipogei nuovi per la scienza scoperti nello hotspot del Mediterraneo a partire dall'anno 1971. Da BRANDMAYR *et al.*, 2013.

ming espandendo le loro popolazioni verso la superficie della crosta terrestre dimostrano non solo di essere "environmental indicators" sensibilissimi, ma anche "biodiversity indicators", perché sembra che molti altri taxa ipogei siano altrettanto sensibili, fra le tante scoperte è da ricordare quella di *Gollumjapyx smeagol* Sendra & Ortuño (SENDRA *et al.*, 2006), un Dipluro ipogeo ritrovato sulle coste orientali della Penisola Iberica, e dunque in un'area dove si assiste ad una forte concentrazione di troglobi antichi.

CONCLUSIONI

Precisiamo anzitutto che questa breve rassegna non ha pretese di completezza né di essere una messa a punto particolarmente originale degli insetti come indicatori, l'intento è semplicemente quello di presentare a chi fosse interessato alla problematica o anche all'insegnamento un quadro organico ed attuale della materia. Nello studio dei bioindicatori si assiste oggi ad un crescendo quasi esponenziale degli approcci sperimentali, stimolato certamente anche dal fatto che la Direttiva 92/43/CEE nota anche come Direttiva "Habitat" ha di fatto

posto all'attenzione anche del grande pubblico e delle Amministrazioni la necessità conservare nell'ambito della Rete Natura 2000, fra le altre specie, anche un bel numero di Insetti. Questo appare evidente dalle indagini quantitative effettuate negli ultimi anni ai fini del monitoraggio delle specie, dove si nota un deciso incremento a partire da primi anni '90 (fig. 15, fonte: BIO_SOS 2011), con una prevalenza delle farfalle diurne, seguite dai coleotteri carabidi e quindi dagli ortotteri.

Per chi volesse poi spaziare un po' di più fra gli invertebrati terrestri esistono anche non pochi lavori riassuntivi, che possono orientare le scelte di chi vorrebbe iniziare ricerche in questo campo, molto ricco di bibliografia è ad esempio il lavoro recente di GERLACH *et al.* (2013).

Se infine volessimo riassumere in qualche modo i vantaggi derivanti dall'uso degli Insetti come bioindicatori, ci sentiamo di sottolineare almeno i seguenti punti:

- 1) gli Insetti sono fra i primi indicatori ambientali utilizzati nella ricerca ed a fini applicativi, a partire dal macrobenthos delle acque interne organizzato nella scala del saprobio;
- 2) molti taxa possiedono eccellenti caratteristiche ai fini della bioindicazione, ad esempio stenotopia

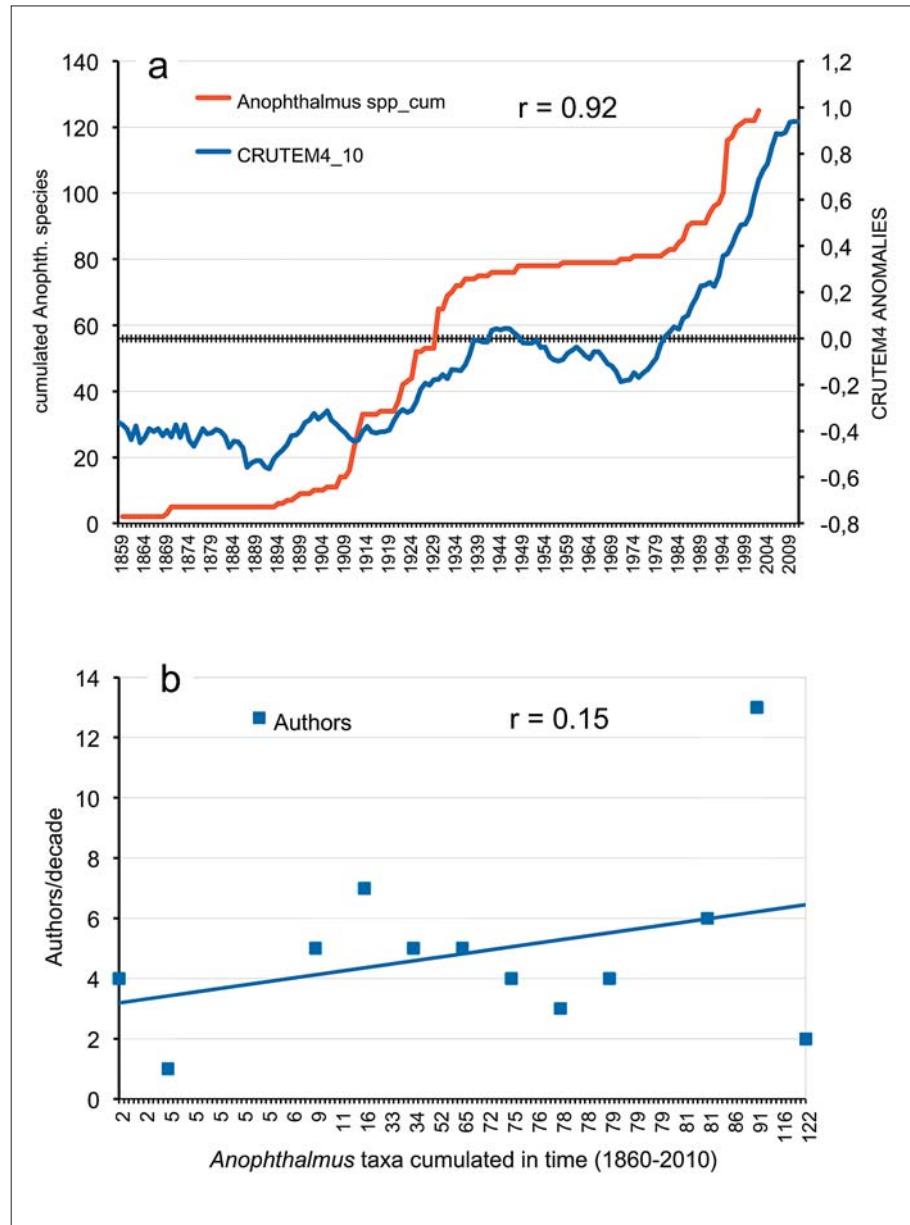


Fig. 14
 a – Specie di *Anophthalmus* Sturm 1844 descritte per decade a partire dal 1850, in relazione all'andamento delle anomalie termiche (curva CRUTEM4_10) dell'emisfero settentrionale, perequate sull'intervallo di anni 10. La linea di riferimento è quella delle medie del trentennio 1960-90. b – numero degli autori delle descrizioni (per decade) a partire dal 1860, plotati verso il numero cumulato dei taxa descritti (ascisse). Qui sembra che gli *Anophthalmus* abbiano avuto un primo exploit durante la «Belle époque» e nei due decenni successivi, indi negli anni dopo il 1970, periodi che in effetti corrispondono alle fasi più acute del riscaldamento climatico. Da BRANDMAYR et al., 2013.

- marcata, alta biodiversità, popolazioni numerose e facilmente campionabili in modo quantitativo rigoroso, senza incorrere nei problemi etici propri di animali superiori, species traits marcati, etc.;
- 3) molte specie si prestano ad essere definite «key-stone, ecosystem engineers, umbrella, focal, flagship» similmente ai vertebrati;
- 4) a differenze della piante, con le quali però moltissimi taxa sono coevoluti in modo complesso, la capacità di risposta ai cambiamenti ambientali è rapidissima, spesso dell'ordine di una o poche generazioni, essi sono dunque «early warners» eccellenti, ad esempio nel caso di risposte al cambiamento climatico;
- 5) all'interno di ogni famiglia o ordine di grandi dimensioni notiamo sia specie ad alto che a bassissimo potere di dispersione (Carabidi, Curculionidi,

- Ortotteri, etc.), e quindi forte tendenza all'endemismo, il che ne fa uno strumento molto utile nello studio della dinamica degli hot-spots;
- 6) la loro grande importanza negli equilibri ecologici consente una calibrazione fine dei livelli di disturbo sia nel paesaggio naturale che in quello antropizzato o agrario-produttivo.

Vorremmo, in conclusione, sottolineare come anche l'approccio scientifico più convincente all'uso dei bioindicatori ed ai problemi della salvaguardia della natura non è sufficiente allo scopo, se si trascurano il coinvolgimento degli «amateurs» e dell'opinione pubblica, come sottolineato dagli stessi PEARSON & CASSOLA (2007) in un lavoro molto più recente, dove si dedicano all'esame di modelli di studio scientifico storicamente collaudati e la loro efficacia per la conservazione, come il GCSPN

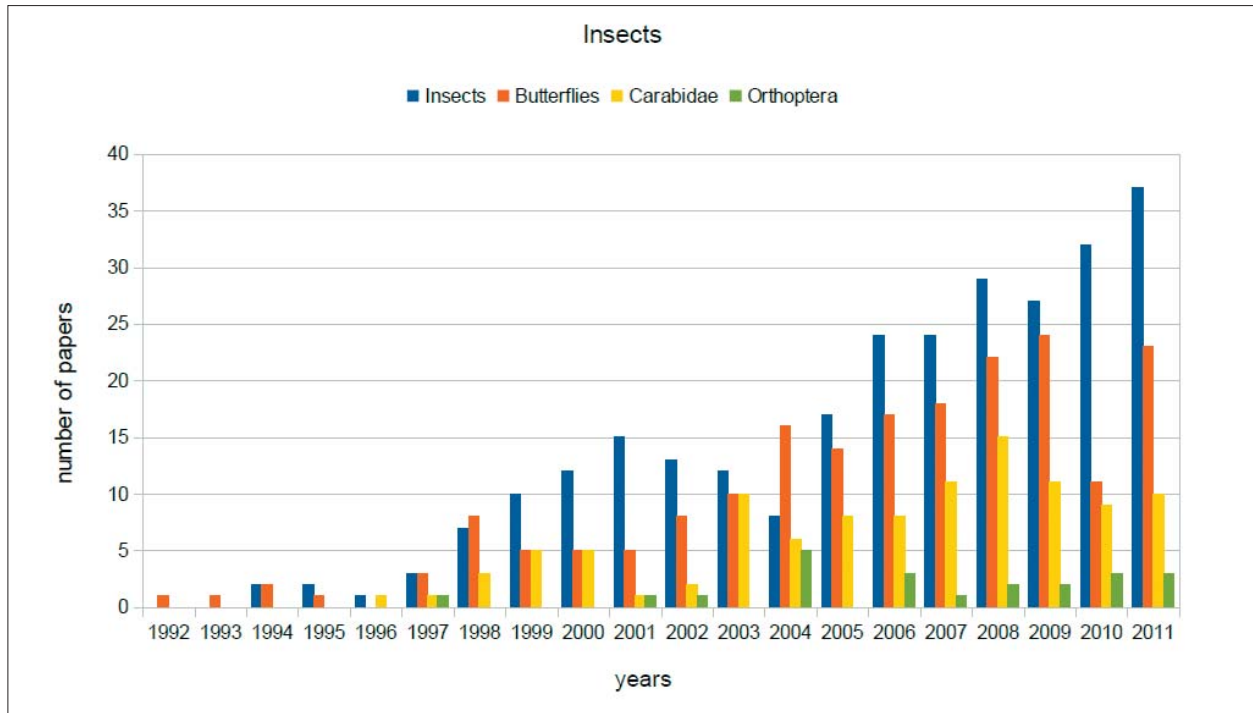


Fig. 15

Numero di lavori scientifici apparsi su Insetti bioindicatori nell'area europea a partire dal 1992. Da BIO_SOS, 2011.

(General Continuum of Scientific Perspectives on Nature). Appare sempre più evidente la necessità di una partecipazione più attiva del mondo amatoriale, evitando l'esclusione dell'opinione pubblica attraverso gli strumenti della "citizen science" e scrivere di conservazione in un modo più semplice ed efficace migliorando lo stile di comunicazione.

RINGRAZIAMENTI

Gli autori esprimono la loro gratitudine ai colleghi della Zoologia, molti dei quali hanno messo a disposizione le loro ricerche, ed in particolare a Teresa Bonacci, Anita Giglio, Mauro Gobbi, Antonio Mazzei, Stefano Scalercio e Federica Talarico.

RIASSUNTO

È presentata una breve rassegna commentata sugli usi più diffusi degli insetti come bioindicatori. Partendo dalle distinzioni classiche di McGeoch degli indicatori ambientali, ecologici e di biodiversità, si approfondiscono anzitutto alcuni aspetti dei macroinvertebrati delle acque dolci (indice EBI) e degli artropodi del suolo (indice QBS). Gli insetti vengono trattati sia nella loro veste di indicatori della salute ambientale che in qualità di bioaccumulatori. Per quanto riguarda gli indicatori strettamente ecologici, l'approccio alla diversità di specie è trattato separatamente da quello della valutazione degli "species traits", ma sempre alla luce della sosteni-

nibilità delle risorse. Gli indicatori di biodiversità vengono suddivisi nei due approcci "within taxon" e "cross taxon", e viene sottolineata l'importanza delle aree hotspot come aree di biodiversità ancora in parte sconosciuta esaminando ricerche recenti sull'impatto del riscaldamento globale sui coleotteri carabidi ipogei. Vengono poi discussi esempi pratici di specie ombrello, "keystone" e bandiera, sono inoltre trattati gli "ecosystem engineers", gli indicatori di gestione ed alcune altre definizioni, schematizzando il tutto in un quadro concettuale che sia di aiuto a chi intende iniziare questo genere di studi. Sono infine discussi brevemente i vantaggi degli insetti come bioindicatori rispetto ai Vertebrati e alle piante.

BIBLIOGRAFIA

- AA. VARI, 2007 – *Notiziario dei metodi analitici*. CNR-IRSA, pp. 118. ISSN:1125-2464. [http://www.irsra.cnr.it/Docs/Notiz/notiz2007_\(03\).pdf](http://www.irsra.cnr.it/Docs/Notiz/notiz2007_(03).pdf)
- ANGELINI P., FENOGLIO S., ISAIA M., JACOMINI C., MIGLIORINI M., MORISI A., 2002 – *Tecniche per il biomonitoraggio della qualità del Suolo*. ARPA Piemonte, pp. 110. www.arpa.piemonte.it.
- BALLETTO E., BONELLI S., BORGHESESIO L., CASALE A., BRANDMAYR P., VIGNA TAGLIANTI A., 2010 - *Hotspots of biodiversity and conservation priorities: A methodological approach*. - It. J. Zool., 77(1):2-13. DOI: 10.1080/11250000902758923.
- BILLETER R., LLIRA J., BAILEY D., BUGTER R., ARENS P., ZOBEL M., EDWARDS P.J., 2008 – *Indicators for biodiversity in agricultural landscapes: a pan-European study*. - J. appl. Ecol., ??: 141-150.
- BIO_SOS, 2011 – *Biodiversity Multisource Monitoring System: from Space to Species*. EU Project N. FP7-SPA-

- 2010-1-263435. Deliverable No D6.6 Selected bio-indicators. By: Emilio Padoa-Schioppa, UNIMIB.
- BOGDANOV S., 2006 - *Contaminants of bee products*. - Apidologie, Springer Verlag (Germany), 37(1):1-18. <hal-00892166> <https://hal.inria.fr/file/index/docid/892166/filename/hal-00892166.pdf>.
- BRANDMAYR P., 1983 - *Entomocenosi come indicatori delle modificazioni antropiche del paesaggio e pianificazione del territorio: esempi basati sullo studio di popolamenti a Coleotteri Carabidi. Relaz. simp. "Entomologia e qualità dell'ambiente"*. - Atti XII Congr. naz. ital. entomol., Roma, 1980: 263- 283.
- BRANDMAYR P., GIORGI F., CASALE A., COLOMBETTA G., MARIOTTI L., VIGNA TAGLIANTI A., WEBER F., PIZZOLOTTO R., 2013 - *Hypogean Carabid Beetles as Indicators of Global Warming?* - Environ. Res. Lett., 8, pp. 11, doi: 10.1088/1748-9326/8/4/044047.
- BRANDMAYR P., ZETTO T., PIZZOLOTTO R. (con la collaborazione di altri 8 AA.), 2005 - *I coleotteri carabidi per la valutazione ambientale e la conservazione della biodiversità*. Manuale operativo. APAT - Agenzia nazionale per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici, Roma, via Vitaliano Brancati, 48. Manuali e linee guida, 34; pp. 240. Vedi: www.isprambiente.gov.it
- BROWN K. S. Jr., 1991 - *Conservation of Neotropical environments: insects as indicators*. In: N. M. Collins & J. A. Thomas (Eds.). *The conservation of insects and their habitats*, pp. 349-404. Royal Entomological Society Symposium XV, Academic Press, London, England.
- BROWN K.S. Jr., 1997 - *Diversity, disturbance and sustainable use of neotropical forests: insects as indicators of conservation monitoring*. - J. Ins. Conserv., 1:25-42.
- BUSE J., RANIUS T., ASSMANN T., 2008 - *An Endangered Longhorn Beetle Associated with Old Oaks and Its Possible Role as an Ecosystem Engineer*. - Conserv. Biology, 22(2): 329-337. DOI: 10.1111/j.1523-1739.2007.00880.x
- CAIRNS J., 1983 - *Are single species toxicity tests alone adequate for estimating environmental hazard?* - Hydrobiologia, 100: 47-57.
- CARDOSO P., SILVA I., DE OLIVEIRA N.G., SERRANO A.M.G., 2004 - *Higher taxa surrogates of spider (Araneae) diversity and their efficiency in conservation*. - Biol. Conserv., 117: 453-459.
- CARO T.M., O'DOHERTY G., 1999 - *On the use of surrogate species in conservation biology*. - Conserv. Biol., 13: 805-814.
- CARSON W.P., ROOT R.B., 2000 - *Herbivory and plants species coexistence: community regulation by an outbreaking phytophagous insect*. - Ecol. Monograph., 70(1): 73-99.
- FOLGARAIT P.J., 1998 - *Ant biodiversity and its relationship to ecosystem functioning: a review*. - Biodivers. Conserv., 7: 1221-1244.
- FOUNTAIN-JONES N.M., BAKER S.C., JORDAN G.J., 2015 - *Moving beyond the guild concept: developing a practical functional trait framework for terrestrial beetles*. - Ecol. Entomol., 40: 1-13.
- GASTON K.J., WILLIAMS P.H., 1996 - *Spatial patterns in taxonomic diversity*. Chapter 8 in: Gaston (ed.) *Biodiversity - A Biology of Numbers and Difference*, pp. 202-229. Blackwell Science Ltd.
- GERLACH J., SAMWAYS M., PRYKE J., 2013 - *Terrestrial invertebrates as bioindicators: an overview of available taxonomic groups*. - J. Ins. Conserv., 17: 831-850. DOI: 10.1007/s10841-013-9565-9
- GHETTI P.F., BONAZZI G., 1981 - *I macroinvertebrati nella sorveglianza ecologica dei corsi d'acqua*. Collana del Progetto Finalizzato "Promozione della qualità dell'ambiente", Manuale di applicazione. Roma: Consiglio Nazionale delle Ricerche, pp. 165.
- GOBBI M., FONTANETO D., 2008 - *Biodiversity of ground beetles (Coleoptera, Carabidae) in different habitats of the Italian Po Lowland*. - Agric. Ecosyst. Environ., 127: 273-276.
- GRAMIGNI E., CALUSI S., GELLI N., GIUNTINI L., MASSI M., DELFINO G., CHELAZZI G., BARACCHI D., FRIZZI F., SANTINI G., 2013 - *Ants as bioaccumulators of metals from soil: Body content and tissue-specific distribution of metals in the ant Crematogaster scutellaris*. - Eur. J. Soil Biol., 58: 24-31.
- GUINEY M.S., OBERHAUSER K.S., 2008 - *Insects as Flagship Conservation Species*. - TAR, 1: 111-123.
- HOMBURG K., HOMBURG N., SCHÄFER F., SCHULTDT A., ASSMANN T., 2014 - *Carabids.org - a dynamic online database of ground beetle species traits (Coleoptera, Carabidae)*. - Ins. Conserv. Div., 7(3). DOI: 10.1111/icad.12045
- KOLKOWITZ R., MARSSON M., 1909 - *Ökologie der tierischen Saprobien. Beiträge zur Lehre von der biologischen Gewässerbeurteilung*. - Internationale Revue der gesamten Hydrobiologie und Hydrographie, 2: 126-152.
- KREMEN C., 1992 - *Assessing indicator species assemblages for natural areas monitoring: guidelines from a study of rain forest butterflies in Madagascar*. - Ecol. Appl., 2: 203-217.
- 9000 - INDICATORI BIOLOGICI - ISPRA. 9010 Indice biotico esteso, pp. 1015-1036. www.isprambiente.gov.it/files/biodiversita/IBE.pdf.
- LAMBECK R.J., 1997 - *Focal species: a multi-species umbrella for nature conservation*. - Conserv. Biol., 11: 849-857.
- LEITA L., MUHLBACHOVA G., CESCO S., BARBATTINI R., MONDINI C., 1996 - *Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metals contamination*. - Environ. Monit. Assess., 43: 1-9.
- LINDROTH C.H., 1949 - *Die Fennoskandischen Carabidae*, 3. Allgemeiner Teil. Kungl. Vetensk. Vitterh. Samh. Handl. (Ser. B4), pp. 1-911.
- MAZZEI A., BONACCI T., CONTARINI E., ZETTO T., BRANDMAYR P., 2011 - *Rediscovering the "umbrella species" candidate Cucujus cinnaberinus (Scopoli, 1763) in Southern Italy (Coleoptera Cucujidae), and notes on bionomy*. - Italian Journal of Zoology, 78(2): 264-270. DOI: 10.1080/11250003.2010.485210. ISSN 1748-5851 online
- MC GEOCH M. A., 1998 - *The selection, testing and application of terrestrial insects as bioindicators*. - Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society, 73: 181-201.
- MYERS N., 1988 - *Threatened biotas: "hotspots" in tropical forests*. - Environmentalist, 8: 1-20.
- MYERS, N., MITTERMEIER R.A., MITTERMEIER C.G., DE FONSECA G.A.B., KENT J., 2000 - *Biodiversity hotspots for conservation priorities*. - Nature, 403: 853-858
- PAYNE R.T., 1969 - *A Note on Trophic Complexity and Community Stability*. - Amer. Nat., 103 (929): 91-93.
- PARISI V., 2001 - *La qualità biologica del suolo. Un metodo basato sui microartropodi*. - Acta Naturalia de "L'Ateneo Parmense", 37: 97-106.
- PAYTON I.J., FENNER M., Lee W.G., 2002 - *Keystone species: the concept and its relevance for conservation management in New Zealand*. - Sci. Conserv., 203. 29 p.

- PEARSON D.L., CARROLL S.S., 1998 – *Global patterns of species richness: spatial models for conservation planning using bioindicators and precipitation*. - *Conserv. Biol.*, 12: 809-821.
- PEARSON D.L., CASSOLA F., 1992 – *World-wide species richness patterns of tiger beetles (Coleoptera, Cicindelidae): indicator taxon for biodiversity and conservation studies*. - *Conserv. Biol.*, 6: 376-391.
- PEARSON D.L., CASSOLA F., 2007 - *Are we doomed to repeat history? A model of the past using tiger beetles and conservation biology to anticipate the future*. In: T. New (ed.) *Beetle Conservation*. - *J. Ins. Conserv.*, 11: 47-59.
- PEY B., NAHMANI J., AUCLERC A., CAPOWIEZ Y., CLUZEAU D., CORTET J., DECAËNS T., DEHARVENG L., DUBS F., JOIMEL S., BRIARD C., GRUMIAUX F., LAPORTE M., PASQUET A., PELOSI C., PERNIN C., PONGE J., SALMON S., SANTORUFO L., HEDDE M., 2014 - *Current use of and future needs for soil invertebrate functional traits in community ecology*. – *Bas. Appl. Ecol.*, 15: 194-206.
- PIRAINO S., FANELLI G., BOERO F., 2002 - *Variability of species' roles in marine communities: change of paradigms for conservation priorities*. - *Mar. Biol.*, 140: 1067–1074. DOI 10.1007/s00227-001-0769-2.
- PORRINI C., SABATINI A.G., GIROTTI S., FINI F., MONACO L., CELLI G., BORTOLOTTI L., GHINI S., 2003 – *The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators*. - *Bull. Insectol.*, 56(1): 147-152.
- POWER ME, TILMAN D, ESTES JA, MENGE BA, BOND WJ, MILLS LS, GRETCHEN D, CASTILLA JC, LUBCHENCO J, PAINE RT, 1996 – *Challenges in the quest for keystones*. - *Bioscience*, 46: 609–620.
- PRENDERGAST J.R., QUINN R.M., LAWTON, J.H., EVERSHAM B.C., GIBBONS D.W., 1993 – *Rare species, the coincidence of diversity hotspots and conservation strategies*. - *Nature*, 365: 335-337.
- SAMWAYS M. J., 2005 – *Insect diversity conservation*. Cambridge University Press, 342 p.
- SCALERCIO S., PIZZOLOTTO R., BRANDMAYR P., 2007 - *Multi-scale analysis of butterfly diversity in a Mediterranean mountain landscape: mapping and evaluation of community vulnerability*. - *Biodivers Conserv*, 16(12): 3463-3479. DOI 10.1007/s10531-006-9015-z.
- SENDRA A., ORTUNO V.M., MORENO A., MONTAGUD S., TERUEL S., 2006 - *Gollumjapyx smeagol gen. n., sp. n., an enigmatic hypogean japygid (Diplura: Japygidae) from the eastern Iberian Peninsula*. - *Zootaxa*, 1372: 35-52.
- SIMBERLOFF D., 1998 – *Flagships, umbrellas and keystones: is single-species management passé in the landscape era?* - *Biol. Conserv.*, 83: 247-257.
- SIPPELL W.L., 1983 - *A review of the spruce budworm and its outbreak history*. p. 17–25 in Sanders, C.J.; Carrow, J.R. (Eds.). *The spruce budworm problem in Ontario – real or imaginary?* Can.–Ont. Joint For. Res. Committee Sympos., Timmins ON, Sept. 1982. COJFRC Sympos. Proc. O-P-11.
- TAKADA K., 2013 – *Exploitation of Flagship Species of Scarabaeid Beetles with Application of Analyzed Results on Cultural Entomology*. - *Appl. Ecol. Env. Sci.*, 1: 1-6. DOI: 10.12961/aees-1-1-1.
- TALARICO F., BRANDMAYR P., GIULIANINI P., IETTO F., NACCARATO A., PERROTTA E., TAGARELLI A., GIGLIO A., 2014 - *Effects of metal pollution on survival and physiological responses in Carabus (Chaetocarabus) lefebvrei (Coleoptera, Carabidae)*. - *Eur. J. Soil Biol.*, 61: 80-89.
- UNDERWOOD D. L. A., 2015 - *Insects as Bioindicators*. Biology 316. General Entomology, pp. 9. California State University. <http://web.csulb.edu/~dlunderw/entomology/20-InsectsBioindicators.pdf>
- U.S. FOREST SERVICE, 1984 – *Wildlife, fish and sensitive plant habitat management*. Title 2600. Amendment 48. U.S. Forest Service, Washington, D.C.
- VERBERK W.C.E.P., VAN NOORDWIJK C.G.E., HILDREW A.G., 2013 - *Delivering on a promise: integrating species traits to transform descriptive community ecology into a predictive science*. – *Freshw. Sci.*, 32: 31-547.
- VERÍSSIMO D., MACMILLAN D. C., SMITH R. J., 2011 - *Toward a systematic approach for identifying conservation flagships*. - *Conserv. Lett.*, 4: 1-8.
- WESTERN D., 1987 – *Africa's elephants and rhinos: flagships in crisis*. - *Trends Ecol. Evol.*, 2: 343-346.
- WHITEMAN N.K., SITES R.W., 2008 – *Aquatic insects as umbrella species for ecosystem protection in Death Valley National Park*. - *J. Ins. Conserv.*, 12: 499-509. DOI: 10.1007/s10.841-007-9090-9.
- WILCOX B.A., 1984 - *In situ conservation of genetic resources: Determinants of minimum area requirements*. In: *National Parks, Conservation and Development, Proceedings of the World Congress on National Parks*. J.A. McNeely and K.R. Miller, Smithsonian Institution Press, pp. 18-30.
- WOODIWISS F.S., 1964 – *The biological system of stream classification used by the Trent river board*. - *Chem. Industry*, 14: 443-447.

LA DIATRIBA FRA F. SILVESTRI E A. BERLESE SULLA LOTTA NATURALE E ARTIFICIALE CONTRO LA MOSCA DELLE OLIVE ED EVOLUZIONE DI QUESTE TECNICHE DI LOTTA

GAVINO DELRIO (*)

(*) Dipartimento di Agraria, Università degli Studi di Sassari, Viale Italia 39, 07100 Sassari, Italia; e-mail: gdelrio@uniss.it
Lettura tenuta nella Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 15 novembre 2014.

The debate between F. Silvestri and A. Berlese about biological and chemical control of the olive fruit fly and evolution of these control techniques

In the first 50 years of the 20th century, a scientific debate was developed by A. Berlese and F. Silvestri and their pupils on the most effective control measures against the olive fruit fly. Berlese supported the method of toxic sugar bait sprays and considered ineffective biological control with chalcid parasitoids of *Bactrocera oleae* and introduction of exotic natural enemies. Conversely, Silvestri developed a control strategy based on conservation biological control and introduction of new parasitoids. For this purpose, he traveled in Africa and other parts of the world searching for natural enemies of *B. oleae* and other tephritid flies, which were unsuccessfully introduced in Italy. Classical biological control, based on the introduction of braconid parasitoids, has been pursued recently in the Mediterranean Basin without significant results, whereas in California the establishment of *Psytalia lounsburyi* was achieved. Area-wide inundative releases of *Psytalia concolor* were tested in Italy with inconclusive results. Similarly, the control method consisting in sugar bait sprays, was tested and applied for many years with no definitive results. However, this strategy was significantly improved by the employment of more effective attractants, such as ammonia and protein hydrolysate lures, and represents now, together with modern insecticides, the most applied control method against tephritid flies in the world. The mass trapping techniques, preconized by Berlese, is now commonly used to control olive fruit fly infestations, especially in organic agriculture.

KEY WORDS: *Bactrocera oleae*, biological control, bait sprays techniques.

INTRODUZIONE

All'inizio del novecento i danni causati dalla mosca delle olive, *Bactrocera oleae* (Rossi), e dalle ricorrenti infestazioni di cavallette costituivano i principali problemi con cui si doveva confrontare la nascente Entomologia agraria in Italia.

I danni causati dal verme delle olive erano stati descritti da Teofrasto (Hist. Plant. Libro III) e la *vermiculatio* delle olive era stata riportata quasi pedissequamente dai successivi scrittori georgici (Plinio, Columella, Della Porta). Solo nel 1769 però i danni erano stati attribuiti ad una mosca che deponeva le uova nella scorza dell'olivo in autunno, dalle quali nascevano le larve che attaccavano le olive nel luglio dell'anno successivo; conseguentemente veniva proposto di incatramare i rami per impedire alle larve di entrare nelle olive (SIEUVE, 1769). Le osservazioni di Sieuve, riprese in seguito da diversi autori francesi e italiani, erano state poi smentite da altri autori e la biologia della mosca delle olive era stata definitivamente delineata da A. Costa "decano degli entomologi

agrari" (COSTA, 1857). Mancavano tuttavia conoscenze sulla dinamica di popolazione e sui fattori abiotici e biotici di controllo (DEL GUERCIO, 1900). Una lunga serie di osservazioni effettuate negli oliveti di Nizza aveva però consentito di stabilire il ruolo fondamentale dell'alternanza di produzione nel determinare il livello di infestazione della mosca delle olive: gli attacchi erano più gravi negli anni di bassa produzione e più lievi in quelli di alta produzione (ROUBAUDI, 1843).

L'unico mezzo per limitare i danni era costituito dalla raccolta precoce delle olive per sfuggire ai massicci attacchi autunnali e per ridurre le popolazioni di adulti che avrebbero attaccato la produzione dell'anno successivo. Questo metodo proposto da diversi autori (PENCHIENATI, 1788; GIOVENE, 1792) era stato poi reso obbligatorio per legge da Napoleone I in Liguria e da Ferdinando I di Borbone (1840) nel Meridione d'Italia, ma trovava difficoltà nella pratica applicazione. Erano stati proposti anche metodi diretti a combattere gli adulti della mosca, come l'impiego di piatti con miele avvelenato con cobalto

(ROUBAUDI, 1843), di carrube e ritagli di cuoio imbevuti di una miscela moschicida composta di melassa, arsenito di potassio e vaselina (COMES, 1900) oppure trattamenti insettifughi con Rubina, un'insetticida a base di catrame (BERLESE, 1894). Tuttavia, come dichiarato da BERLESE (1902) al momento di lasciare Portici dove aveva diretto per dieci anni il Laboratorio di Entomologia agraria per trasferirsi a Firenze dove avrebbe diretto la Stazione di Zoologia agraria, esisteva un'ignoranza assoluta di un metodo razionale di lotta contro la mosca delle olive, nonostante si fossero eseguite molte prove di lotta e per più anni. La situazione era però destinata a cambiare in seguito alle pubblicazioni di M. De Cillis, un medico ed olivicoltore pugliese, che propose di sospendere agli olivi recipienti di argilla contenenti una miscela Dachicida (a base di miele, melassa, arseniato di sodio ed acqua) (DE CILLIS, 1901) ed in seguito di distribuire direttamente questa miscela sulla chioma delle piante, per quattro volte, ogni 15 giorni a partire da metà giugno (DE CILLIS, 1902).

Il metodo De Cillis delle esche zuccherine avvelenate fu sperimentato con risultati positivi nel 1903 dal Ministero di Agricoltura, Industria e Commercio sotto la direzione di Berlese, che chiese una supervisione da parte di Silvestri, che nel frattempo l'aveva sostituito nella direzione a Portici. Nel 1905 le pressioni di una delegazione di sindaci del Barese indussero il Ministero a stanziare dei fondi per lo studio della biologia della mosca olearia e per eseguire esperimenti sui rimedi idonei a combattere l'insetto e specialmente sulla miscela inventata dal dottor De Cillis (ATTI PARLAMENTARI, 1905). Furono pertanto fondate due stazioni sperimentali, una diretta da Berlese a Rossignano Marittimo (Pisa) e l'altra diretta da Silvestri a S. Vito dei Normanni (Lecce) (MARTELLI, 1911).

I risultati delle osservazioni biologiche sulla mosca delle olive e sulle cocciniglie dell'olivo condotte dalla Stazione di Entomologia agraria di Firenze furono pubblicati nel vol. IV di Redia del 1907. Gli entomofagi Calcidoidei rilevati su *B. oleae* erano ritenuti di importanza pratica assai limitata e si sospettava che potessero anche ovideporre e svilupparsi su larve già morte (BERLESE *et al.*, 1907). Inoltre, una corposa relazione inserita nello stesso volume di Redia riportava i risultati positivi ottenuti con il metodo dachicida DeCillis-Berlese nella sperimentazione effettuata in Toscana (BERLESE, 1907). Nel 1908 fu pubblicato il vol. II del Bollettino del Laboratorio di Zoologia generale e agraria di Portici quasi interamente dedicato, per 358 pagine, agli insetti dan-

nosi all'olivo e ai loro nemici naturali. Lo studio dei parassitoidi di *B. oleae* aveva portato Silvestri a proporre un metodo di lotta naturale basato sulla loro utilizzazione, mentre riteneva che il metodo delle esche zuccherine avvelenate fosse inefficace ed anzi potesse aumentare i danni per gli effetti dannosi sui nemici naturali (SILVESTRI *et al.*, 1907). Si sviluppò da allora una diatriba sulla lotta naturale (lotta biologica) e sulla lotta artificiale (lotta chimica) sostenute rispettivamente da Silvestri e Berlese e i loro epigoni, che tenne impegnata l'entomologia agraria italiana per oltre un trentennio. Solo nel 1938 Silvestri, dopo i notevoli sforzi da lui compiuti per sviluppare la lotta biologica, consigliò gli olivicoltori di adottare la lotta chimica come si era evoluta all'epoca, pur rimanendo sempre dubbioso dell'efficacia delle esche zuccherine avvelenate (SILVESTRI, 1939, 1942).

DIATRIBA SULLA LOTTA NATURALE E ARTIFICIALE

Le osservazioni condotte in Italia meridionale e centrale (SILVESTRI *et al.*, 1907) avevano consentito di rilevare la presenza di quattro specie di Calcidoidei parassitoidi della mosca delle olive, *Dinarmus dacicida* Masi, *Eulophus longulus* (Zett.) Thoms., *Eurytoma rosae* Nees e *Eupelmus urozonus* Dalm., la cui denominazione attuale è rispettivamente *Cyrtotypx latipes* (Rondani), *Pnigalio mediterraneus* Ferrière et Delucchi, *Eurytoma martellii* Domenichini ed *Eupelmus urozonus* Dalman. Le prime tre specie si sviluppavano ectofagicamente sulle larve, mentre *E. urozonus* parasitizzava larve e pupe, ma si comportava anche da iperparassita. Per quanto si conosceva allora, *D. dacicida* e *E. longulus* venivano considerati monofagi, mentre *E. urozonus* e *E. rosae* polifagi, quest'ultimo particolarmente su Cinipidi galligeni delle querce. La frequenza relativa di questi parassitoidi variava nelle diverse località e il tasso di parassitismo era generalmente basso nella maggioranza dei 19 oliveti indagati, ad eccezione di quelli di Bisceglie e Bevagna in cui aveva raggiunto rispettivamente il 60 e 50% in agosto e settembre per poi decrescere successivamente. Ciò indusse Silvestri a pensare che in condizioni più favorevoli il tasso di parassitismo potesse arrivare anche al 99% fino ad annullare completamente le infestazioni della mosca delle olive, come sembrava fosse avvenuto nell'oliveto di Bisceglie, e lo convinse che l'azione dei parassitoidi fosse responsabile delle variazioni di infestazione rilevate nei diversi anni e nei diversi oliveti. Per questo motivo la lotta con le esche zuccherine avvelenate doveva essere bandita perché gli effetti tossici sui

nemici naturali potevano causare un danno superiore a quello della mosca delle olive, che si voleva combattere. Egli pertanto propose un metodo di lotta naturale basato su alcune tecniche colturali e sulla salvaguardia ed incremento dei parassitoidi. Inoltre, poiché i parassitoidi rilevati in Italia non erano specifici, si convinse che quest'insetto e la sua pianta ospite non fossero indigeni dell'area Mediterranea e che parassitoidi monofagi ed efficaci (particolarmente sull'uovo e sulle pupe) potessero essere ricercati nelle zone di origine, moltiplicati ed acclimatati. La proposta di lotta naturale formulata da Silvestri era la seguente:

1. Coltura dell'olivo poco specializzata e consociazione con altri alberi da frutto;
2. Conservazione di querce, rose e arbusti selvatici e siepi ai bordi degli oliveti e dei boschi in vicinanza di essi;
3. Raccolta entro marzo-aprile di tutte le olive e distruzione o innesto degli olivastri;
4. Formazione di oliveti a frutto tardivo con 1% di varietà precoci;
5. Raccolta in estate, prima della comparsa degli adulti della prima generazione della mosca, delle olive bacate delle varietà precoci;
6. Conservazione di queste olive in apposite cassette per consentire la fuoriuscita dei parassitoidi e non della mosca.

L'efficacia dei Calcidoidei parassitoidi e della lotta naturale proposta da Silvestri fu analiticamente criticata da Berlese, con una lunga ed elaborata memoria, sulla base delle conoscenze fino ad allora acquisite sulla biologia e dinamica della mosca e degli entomofagi e con argomentazioni teoriche (BERLESE, 1907b). Secondo Berlese, i parassitoidi non erano strettamente legati alla mosca, con cui anzi avevano contatti pressoché fortuiti e poco regolari nel tempo e nello spazio. I veri ospiti primari erano rappresentati dai Cinipidi galligeni che venivano attaccati in autunno, dopo che i Calcidoidei avevano abbandonato l'oliveto. Il controllo biologico degli insetti poteva avvenire solo con l'aumento del numero di parassitoidi al crescere di quello dell'ospite, ma nel caso della mosca era stato rilevato il contrario: tassi di parassitismo più elevati in agosto-settembre (in media del 35%) e più ridotti in ottobre, proprio sulla generazione della mosca che avrebbe determinato gli attacchi più forti. Inoltre, l'intensità dell'infestazione delle olive non aveva alcuna relazione con l'attività dei nemici naturali rilevata in alcuni oliveti della Toscana; infatti nel 1905 con un parassitismo del 32-35 % la percentuale di olive bacate alla raccolta era stata del 20%, mentre nel 1906 con il 20-49% erano stati rilevati danni dell'80-100%. Anche i dati riportati da

Silvestri per l'oliveto di Bisceglie erano messi in dubbio, perché il tasso di parassitismo era stato sovrastimato rapportandolo solo alle larve della mosca, senza comprendere le pupe e le gallerie abbandonate, e perché l'infestazione non era stata annullata dai parassitoidi, ma anzi vi era stata una nuova e violentissima infestazione in ottobre, come dichiarato dal proprietario dell'oliveto. Un semplice, ma logicamente ben fondato modello matematico servì a Berlese per dimostrare che anche ammettendo tassi di parassitismo più elevati di quelli rilevati a Bisceglie in agosto era impossibile limitare i danni delle generazioni successive di un insetto come la mosca delle olive, polivoltino e dotato di alta fecondità.

Per quanto riguarda la lotta biologica con l'importazione di entomofagi esotici, Berlese riteneva che questa si potesse attuare contro insetti di nuova introduzione (come ad es., *Icerya purchasi* Maskell contro cui aveva introdotto in Italia *Rodolia cardinalis* (Mulsant), ma che fosse inutile per quelli indigeni dell'area Mediterranea od importati da tempo remoto, come la mosca delle olive.

Le critiche mosse da Silvestri alla lotta artificiale con esche zuccherine, che non sarebbe efficace ma anzi dannosa per gli ausiliari (SILVESTRI, 1907) vennero rigettate da Berlese che non aveva osservato infestazioni della cocciniglia *Saissetia oleae* (Olivier) negli oliveti trattati.

LOTTA BIOLOGICA

I Calcidoidei parassitoidi della mosca delle olive trovati da Berlese e Silvestri sono diffusi in gran parte dei paesi del Mediterraneo (DELUCCHI, 1957; RUSSO, 1967) e solo in tempi recenti sono state individuate altre specie più rare (VIGGIANI e PAPPAS, 1975; VIGGIANI *et al.*, 2007). Sono specie polifaghe di cui sono conosciuti soltanto pochi ospiti oltre al *B. oleae*, ad esclusione di *E. urozonus* che attacca moltissime specie di diversi Ordini e sull'olivo si comporta essenzialmente da iperparassita (DELRIO *et al.*, 2007). Il tasso di parassitismo raggiunto nei mesi estivi dal complesso di questi entomofagi può raggiungere in alcuni casi il 60-70%, apportando un notevole contributo al controllo delle popolazioni della mosca. Tuttavia, l'analisi delle tavole della vita condotte in alcune località per molti anni (Corfù, Sardegna) ha dimostrato che le variazioni di popolazione (e di infestazione) di *B. oleae* dipendono essenzialmente dai fattori che influiscono sulla natalità (ad es., andamento climatico, produzione di olive e nutrimento degli adulti) piuttosto che da quelli che agiscono sulla mortalità (ad es.,

azione dei nemici naturali) (KAPATOS e FLETCHER, 1986; DELRIO e PROTA, 1990). Le popolazioni della mosca delle olive sembrano essere regolate non dagli entomofagi, ma bensì dall'andamento biennale della produzione delle olive, che come già supposto da ROUBAUDI (1843), determina maggiori infestazioni nelle annate di scarica e minori in quelle di carica.

Silvestri si interessò per tutta la vita della lotta biologica alla mosca delle olive e intraprese diversi viaggi di studio in Africa e in altri continenti alla ricerca di entomofagi di *B. oleae* ed altri Tefritidi (SILVESTRI, 1914a, 1914 b, 1914c, 1915a, 1915b, 1916, 1938, 1940). Particolarmente fruttuoso fu il viaggio in Eritrea del 1914 in cui in appena due mesi riuscì a reperire 14 specie di parassitoidi della mosca delle olive (SILVESTRI, 1914b). Molti di questi parassitoidi (14 specie di Calcidoidei e 5 Braconidi) furono introdotti in piccolo numero in Italia, senza però ottenerne l'acclimatazione. Solamente per il Braconide *Psytalia concolor* (Szèpliget), che era stato trovato in Tunisia su *B. oleae* (MARCHAL, 1911) fu fatto un maggiore sforzo con la liberazione, in tempi diversi, di circa 80.000 individui, ma anche in questo caso apparentemente senza successo.

Più recentemente sono stati intrapresi altre ricerche sui parassitoidi di *B. oleae* soprattutto in Africa (MONACO, 1976; NEUENSWANDER, 1982; DAANE *et al.*, 2011) e tentativi di introduzione nell'area mediterranea, finora coronati da scarso successo, hanno interessato i Braconidi *Diachasmimorpha longicaudata* (Ashmead), *Fopius arisanus* (Sonan), *Psytalia lounsburyi* (Silvestri) e *P. humilis* (Silvestri) (CALVITTI *et al.*, 2002; DELRIO, 2010; MALAUSA *et al.*, 2010). Recentemente solo in California si è riusciti ad ottenere l'acclimatazione di *P. lounsburyi* (DAANE *et al.*, 2015).

La lotta biologica inondativa, o meglio aumentativa, preconizzata da Silvestri nel 1938 con lanci di *Psytalia concolor* allevato in massa e liberato in milioni di esemplari, è stata sperimentata in Italia e utilizzata anche su vasta scala con risultati incerti (MONASTERO, 1967; GENDUSO, 1981; DELRIO *et al.*, 2005).

LOTTA CHIMICA

La tecnica delle esche zuccherine avvelenate fu sperimentata in Italia dal 1903 fino al 1940 in molte prove di lotta e fu anche applicata su vasta scala in Italia e nell'area mediterranea. Fra le sostanze attrattive utilizzate, il miele fu abbandonato perché attrattivo per le api e per numerosi nemici naturali e sostituito da zucchero greggio,

glucosio, mosto di vino, infuso di radici di barbabietole e melassa di barbabietola e di canna da zucchero. Gli insetticidi mescolati alle esche furono gli arseniati solubili, l'arsenito di sodio e la calciocianamide. Anche il metodo di distribuzione delle esche sulle piante subì modifiche: con irrorazioni prima sul tronco delle piante, poi su fascetti di sterpi appesi sui rami degli olivi talvolta ricoperti (capannette) ed infine mediante irrorazioni sulla fronda. Il metodo più usato fu però quello "classico del Berlese" consistente nello spruzzare in grosse gocce nel periodo estivo per 3-4 volte una parte della chioma degli olivi con poche centinaia di grammi di una miscela di melassa e arsenito di sodio, avendo l'accortezza di ripetere il trattamento nel caso di piogge dilavanti. I difetti del metodo messi man mano in luce durante le sperimentazioni erano costituiti dalla scarsa attrattività dell'esca, dalla fitotossicità degli insetticidi a base di sali di arsenico, dal possibile sviluppo di fumaggine, dall'eccessivo numero di trattamenti necessari in alcune annate (fino a 10) e dalla necessità di trattare oliveti isolati o ampie superfici per evitare le reinvasioni della mosca delle olive. Inoltre l'efficacia delle esche zuccherine avvelenate nel garantire la difesa della produzione era aleatoria, e solo in annate particolarmente favorevoli e in alcune zone si poteva, se non impedire totalmente l'infestazione, almeno limitare i danni (MELIS, 1947; RUSSO, 1959).

La tecnica delle esche avvelenate è stata migliorata in seguito alla scoperta del maggior potere attrattivo dei sali d'ammonio (BUA, 1934, 1938) e delle proteine idrolizzate (McPhail, 1939) e all'introduzione dei moderni insetticidi di sintesi e costituisce la tecnica di lotta più utilizzata in tutto il mondo per combattere le mosche della frutta. Le proteine idrolizzate sono risultate molto attrattive anche per la mosca delle olive (ORPHANIDIS *et al.*, 1958) e la tecnica delle esche proteiche avvelenate con esteri fosforici (ORPHANIDIS *et al.*, 1962; NADEL, 1966) è stata applicata in tutta l'area mediterranea, con trattamenti da terra e con mezzo aereo, interessando vastissime superfici olivetate. Anche in Italia la tecnica di lotta con esche proteiche avvelenate è stata sperimentata a lungo ed è risultata efficace soprattutto nelle annate di alta produzione di olive (DELRIO, 1982; PUCCI, 1990), ma è preferita la lotta curativa con trattamenti in copertura con dimetoato per la maggior facilità di applicazione. Tuttavia le esche avvelenate costituiscono un metodo di lotta chimica ecologicamente selettivo nei confronti dei nemici naturali (ROSEN, 1967), perché i trattamenti vengono localizzati solo su una parte della chioma o su una parte delle piante, e le minori (fino a 10 volte) quantità di insetticidi impiegate per ettaro riducono

i rischi di residui tossici nell'olio. Inoltre, le esche avvelenate con un insetticida biologico (spinosad) (MANGAN *et al.*, 2006) sono ora ammesse anche nell'agricoltura organica.

Anche il metodo delle catture massali con l'impiego di bacinelle con sostanze zuccherine (Berlese, 1911, 1912) si è evoluto con l'introduzione di trappole e attrattivi più efficienti, come bottiglie di vetro (tipo Berlese o McPhail) o di plastica innescate con sali ammoniacali e/o proteine (GOMEZ CLEMENTE e BELLOD, 1951), ed è stato ed è impiegato con qualche successo anche su vaste superfici. Più recentemente è stata sviluppata una tecnica di lotta attratticida (lure & kill), con trappole innescate con sali ammoniacali e trattate con piretroidi (DELRIO, 1985, 1989; DELRIO e LENTINI, 1993, PETACCHI *et al.*, 2003) e diversi di questi dispositivi sono ora prodotti industrialmente e impiegati soprattutto dagli olivicoltori biologici.

CONCLUSIONI

È ancora troppo presto per poter stabilire se la mosca delle olive in futuro potrà essere controllata con l'utilizzazione della lotta biologica classica o di quella inondativa, come proposto da Silvestri, mentre la lotta artificiale con le esche avvelenate e le trappole, preconizzata da Berlese, si è ormai imposta dappertutto.

RIASSUNTO

Nei primi 50 anni del Novecento fu portata avanti da A. Berlese e F. Silvestri e dai loro epigoni una diatriba scientifica sui mezzi di controllo della mosca delle olive. Berlese era fautore della lotta con esche zuccherine avvelenate e riteneva inefficace il controllo biologico con i Calcoidei parassitoidi di *Bactrocera oleae* che erano stati appena scoperti, ma anche inutile l'introduzione di nuovi nemici naturali. Silvestri invece mise a punto una strategia di lotta basata sulla conservazione ed incremento dei parassitoidi ed intraprese successivamente, in Africa ed altre aree del mondo, la ricerca dei nemici naturali di *B. oleae* e di altri Tefritidi, alcuni dei quali tentò di introdurre in Italia senza ottenerne l'acclimatazione. La lotta biologica classica con l'introduzione di parassitoidi Braconidi è stata continuata in tempi recenti nell'area Mediterranea senza risultati di rilievo, ma in California si è potuta ottenere l'acclimatazione di *Psytalia lounsburyi*. La lotta biologica inondativa con lanci di *Psytalia concolor* è stata sperimentata in Italia e utilizzata anche su vasta scala con risultati incerti. La tecnica delle esche avvelenate, sperimentata ed applicata durante molti anni, ha dato risultati aleatori, ma si è evoluta con la scoperta di attrattivi più efficienti (sali d'ammonio e proteine idrolizzate) e con l'uso di moderni insetticidi rappresenta il metodo più utilizzato per il controllo dei Tefritidi nel mondo. Anche il metodo delle catture massali, preconizzato da Berlese, è migliorato e viene impiegato per il controllo della mosca delle olive soprattutto in agricoltura biologica.

BIBLIOGRAFIA

- ATTI PARLAMENTARI CAMERA DEI DEPUTATI. Legislatura XXII - 1 Sessione - Discussioni - Tornata del 24 Gennaio 1905, pp. 504-508.
- BERLESE A., 1894 - *Insetticidi ed insettifughi contro alcuni insetti e specialmente contro la Cochylys ambiguella, il Dacus oleae e la Carpocapsa pomonana*. - Rivista di Patologia Vegetale 3: 221-244.
- BERLESE A., 1902 - *Relazione sullo stato e sulla attività del Laboratorio di Entomologia Agraria presso la R. Scuola Superiore di Agricoltura in Portici dalla sua fondazione a tutto l'anno 1900-901*. Ministero di Agricoltura, Industria e Commercio, Direzione Generale dell'Agricoltura, Roma, pp. 1-99.
- BERLESE A., 1907 - *Relazione a S. E. il Ministro di Agricoltura, Industria e Commercio intorno agli esperimenti eseguiti nel 1906 in Toscana contro la Mosca delle Olive (Dacus Oleae Rossi) col metodo dachicida De Cillis-Berlese*. - Redia 4: 99-180.
- BERLESE A., 1907a - *Osservazioni sopra un recente scritto relativo ad insetti nocivi all'Olivo*. - Redia, 4: 259-260.
- BERLESE A., 1907 - *Intorno alle note di dietologia degli Imenotteri parassiti della mosca delle olive e del metodo "razionale" di lotta proposto dal Prof. Silvestri*. - Redia, 4: 289-328.
- BERLESE A., 1911 - *Esperienze del 1910 contro la mosca delle olive eseguite sotto la direzione della R. Stazione di Entomologia Agraria*. - Redia, 7: 16-281.
- BERLESE A., 1912 - *Le esperienze colle bacinelle contro la mosca delle olive*. Giornale Ligure, Oneglia n. 2.
- BERLESE A., BERLESE A., DEL GUERCIO G., PAOLI G., 1907 - *Materiali per la storia di alcuni insetti dell'olivo*. - Redia, 4: 1-95.
- BUA G., 1934 - *Esperimenti del 1933 con sostanze attrattive per la Mosca delle olive*. - Annali del R. Istituto Superiore Agrario di Portici, ser. III, 6: 125-145.
- BUA G., 1938 - *Serie di esperimenti con sostanze attrattive per la mosca delle olive*. - L'Olivicoltore, 15 (5): 1-19.
- CALVITTI M., ANTONELLI M., MORETTI R., BAUTISTA R. C., 2002 - *Oviposition response and development of the egg-pupal parasitoid *Fopius arisanus* on *Bactrocera oleae*, a tephritid fruit fly pest of olive in the Mediterranean basin*. - Ent. Exp. Appl., 102: 65-73.
- COMES, 1900 - *Contro la mosca olearia*. La Puglia Agr. Commer., Bari.
- COSTA A., 1857 - *Degli insetti che attaccano l'albero ed il frutto dell'Olivo del Ciliegio del Pero del Melo del Castagno e della Vite e le sementi del Pisello della Lenticchia della Fava e del Grano*. Napoli, pp. 1-197.
- DAANE K.M., JOHNSON M.W., PICKETT C.H., SIME K.R., WANG X.-G., NADEL H., ANDREWS J.W., HOELMER K.A., 2011 - *Biological controls investigated to aid management of olive fruit fly in California*. - California Agriculture, 65 (1): 21-28.
- DAANE K.M., WANG X., NIETO D.J., PICKETT C.H., HOELMER K.A., BLANCHET A., JOHNSON M.W., 2015 - *Classic biological control of olive fruit fly in California, USA: release and recovery of introduced parasitoids*. - BioControl: DOI 10.1007/s10526-015-9652-9.
- DE CILLIS M., 1901 - *Contro la mosca olearia*. Trani, Tip. Vecchi
- DE CILLIS M., 1902 - *Conferenza sulla mosca delle olive*. Vedetta dei Campi, Bari
- DEL GUERCIO G. 1900 - *Sulla dominante infezione della mosca delle olive e sui provvedimenti con i mezzi più adatti per limitarne la diffusione*. - Nuove Relazioni

- intorno ai lavori della R. Stazione di Entomologia Agraria di Firenze, ser. 1, n. 3: 27-86.
- DELRIO G., 1982 – *Le esche avvelenate nella lotta al Dacus oleae (Gmel.)*. - Frustula entomologica, N. S., 4 (17): 277-295.
- DELRIO G., 1985 – Biotechnical methods for olive pest control. In: R. Cavalloro & A. Crovetto (eds), Integrated Pest Control in Olive Groves. Proc. CEC/FAO/IOBC Int. Joint Meeting, 3-6 April 1984, Pisa, Italy, pp. 394-410.
- DELRIO G., 1989 - *Mass trapping experiments to control the olive fruit fly in Sardinia*. – Proc. CEC/IOBC Int. Symposium “Fruit Flies of Economic Importance”, 7-10 April 1987, Rome, Italy, pp. 419-425.
- DELRIO G., 2010 - *Biological control of olive pests in the Mediterranean region*. IOBC/WPRS Bulletin 53: 89-92.
- DELRIO G., LENTINI A., 1993 – *Applicazione della tecnica delle catture massali contro il Dacus oleae in due comprensori olivicoli della Sardegna*. In: Crovetto A. (ed), Atti del Convegno “Lotta integrata in Olivicoltura”, 21 Novembre 1991, Firenze, Italia, pp. 41-45.
- DELRIO G., PROTA R., 1990 - *Determinants of abundance in a population of the olive fruitfly*. Frustula Entomologica, XI: 47-55.
- DELRIO G., LENTINI A., SATTÀ A., 2005 – *Biological control of olive fruit fly through inoculative releases of Opius concolor Szépl.* – IOBC wprs Bull., 28 (9): 53-58.
- DELRIO G., LENTINI A., SATTÀ A., 2007 – *Augmentative releases of Eupelmus urozonus Dalm. against the olive fruit fly and observations on its facultative hyperparasitism*. – IOBC wprs Bull., 30 (9).
- DELUCCHI V., 1957 – *Les parasites de la mouche des olives*. – Entomophaga, 2 (2): 107-118.
- GENDUSO P., 1981 – *Attuali conoscenze sulla lotta biologica contro la mosca delle olive a mezzo di entomofagi*. Informatore Fitopatologico, 1-2: 57-59.
- GIOVENE G. M., 1792 – *Avviso per la distruzione de' vermini, che rodonno la polpa delle ulive diretto ai proprietari degli uliveti, e contadini della provincia di Bari dal canonico Giuseppe Maria Giovene*. Giuseppe Maria Porcelli librajo, 35 pp.
- GOMEZ CLEMENTE F., BELLOD M., 1951 – *Nuevo procedimiento de lucha contra el Dacus oleae Rossi*. Direccion General de Agricultura. Seccion de Plagas del campo y Fitopatologia, Publ. N. 2, 1-37.
- KAPATOS E.T., FLETCHER B.S., 1986 – *Mortality factors and life-budgets for immature stages of the olive fly, Dacus oleae (Gmel.) (Diptera, Tephritidae), in Corfu*. – J. Appl. Ent., 102: 326-342.
- MALAUSSA J-C., AUGUSTE-MAROS A., CHEYPPE-BUCHMANN S., GROUSSIER-BOUT G., RIS N., THAON M., WAROT S., FAUVERGUE X., 2010 – *Introductions of the African parasitoid Psytthalia lounsburyi in South of France for classical biological control of Bactrocera oleae*. - IOBC wprs Bull., 59: 163-170.
- MANGAN R.L., MORENO D.S., THOMPSON G.D., 2006 – *Bait dilution, spinosad concentration, and efficacy of GF-120 based fruit fly sprays*. – Crop Protection, 25 : 125-133.
- MARCHAL P., 1911 – *Les parasites de la mouche des olives en Tunisie*. - C. R. Acad. Sci., Paris, 152: 215-218.
- MARTELLI G., 1911 – *Le vicende della lotta contro la mosca delle olive. Quel che si sarebbe dovuto e si dovrebbe fare*. - Il Villaggio, Milano, anno 36, n. 1802, 2 pp.
- MELIS A., 1947 – *L'attività antidacica durante il secondo conflitto mondiale e nell'immediato dopoguerra in Italia*. – Redia, 32: 47-114.
- Mc PHAIL M., 1939 – *Protein lures for fruit flies*. – J. Econ. Entomol., 32:758-761.
- MONACO R., 1976 – *Note sui parassiti del Dacus oleae Gmel. (Dipt. Tephritidae) in Sud-Africa*. – Atti XI Congr. Naz. Ital. Entomol. Portici-Sorrento, 10-15 maggio 1976: 303-310.
- MONASTERO S., 1967 – *La prima grande applicazione di lotta biologica artificiale contro la mosca delle olive (Dacus oleae GMEL.) (32 milioni di Opius per difendere 300 mila piante di olivo)*. PALERMO (Sicilia) 1967. Bollettino dell'Istituto di Entomologia Agraria e dell'Osservatorio di Fitopatologia di Palermo, 7: 63-100.
- NADEL D.J., 1966 – *Control of the olive fly by the protein hydrolysate baiting method through aerial and ground application*. – FAO Plant Protection Bulletin, 14 (3): 47-53.
- NEUENSCHWANDER P., 1982 – *Searching parasitoids of Dacus oleae (Gmel.) (Dipt., Tephritidae) in South Africa*. - Z. ang. Ent., 94: 509-522.
- ORPHANIDIS P.S., DANIELIDOU R.K., ALEXOPOULOU P.S., TSAKMAKIS A.A., KARAYANNIS G.P., 1958 – *Recherches expérimentales sur l'attractivité exercée par certaines substances protéinées sur le Dacus adulte de l'olive*. - Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N. S. 1 (4): 171-198.
- ORPHANIDIS P.S., SOULTANOPOULOS C.D., 1962 – *Olive fruit fly (Dacus oleae) control with proteinaceous bait sprays*. - Ann. Inst. Phytopath. Benaki, N. S., 4:103-111.
- PENCHIENATI A., 1788 – *Moyens d'augmenter la recolte des olives par la destruction du chiron ou caïron*. - Memoires de l'Academie Royale des Sciences, Turin 8: 591-608.
- PETACCHI R., RIZZI I., GUIDOTTI D., 2003 – *The « lure and kill » technique in Bactrocera oleae (Gmel.) control: effectiveness indices and suitability of the technique in area-wide experimental trials*. – Int. J. Pest Manag., 49 (4): 305-311.
- PUCCI C., 1990 – *Valutazione dell'efficacia delle esche proteiche avvelenate per il controllo del Dacus oleae (Gmel.): sperimentazione condotta nel triennio 1988-90 nell'Alto Lazio*. - Frustula Entomologica, N. S., 13: 173-198.
- ROSEN D., 1967 – *Biological and integrate control of citrus pest in Israel*. - J. Econ. Ent., 60:1422-1427.
- ROUBADI L., 1843 – *Nice et ses environs*. - Turin, pp. 1-382.
- RUSSO G., 1959 - *Stato attuale della lotta chimica e della lotta biologica contro la Mosca delle olive*. - Bollettino di zoologia, 26 (2): 479-482.
- RUSSO L., 1967 – *Studio sugli Imenotteri parassiti della Mosca delle olive (Dacus oleae Gmel.) in Campania*. - Boll. Lab. Ent. Agr. Portici 25: 177-228.
- SIEUVE M., 1769 – *Mémoire et journal d'observations et d'expériences sur les moyens de garantir les olives de la pique des insectes*. – Paris, pp. 1-126.
- SILVESTRI F., 1907 – *Generazioni della mosca delle olive*. - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici 2: 13-17.
- SILVESTRI F., 1914a – *Viaggio in Africa per cercare i parassiti delle mosche dei frutti*. - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 8: 1-160.
- SILVESTRI F., 1914b – *Viaggio in Eritrea per cercare i parassiti della mosca delle olive*. - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 9: 186-226.
- SILVESTRI F., 1914c – *Report of an expedition to Africa in search of the natural enemies of fruit flies (Trypaneidae) with descriptions, observations and biological notes*. – Board of Agric. and Forestry, Terr. Hawaii, Bull. 3.
- SILVESTRI F., 1915a – *Contributo alla conoscenza degli*

- insetti dell'olivo dell'Eritrea e dell'Africa meridionale.* - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 9: 240-344.
- SILVESTRI F., 1915b – *Descrizione di nuovi Imenotteri Calcididi africani.* - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 9: 337-377.
- SILVESTRI F., 1916 – *Descrizione di alcuni Imenotteri Braconidi parassiti di Ditteri Tripaneidi.* - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 11: 160-169.
- SILVESTRI F., 1938 – *La lotta biologica contro le mosche dei frutti della famiglia Trypetidae.* - Verh. VII Int. Congr. F. Ent., Berlin, 4: 2396-2418.
- SILVESTRI F., 1939 – *La lotta contro la Mosca delle olive.* - Atti del Convegno Nazionale di Olivicoltura, Bari, settembre 1938, pp. 1-29.
- SILVESTRI F., 1940 – *La lotta biologica contro la mosca delle olive.* - L'Olivicoltura, n. 11
- SILVESTRI F., 1942- *Recenti progressi degli studi sugli insetti dell'olivo.* – Reale Accademia dei Georgofili, Convegno di Studi Olivicoli, Firenze 15-17 maggio 1942. Estratto, pp. 1-15.
- SILVESTRI F., MARTELLI G., MASI L., 1907 - *Sugli Imenotteri parassiti ectofagi della mosca delle olive fino ad ora osservati nell'Italia meridionale e sulla loro importanza nel combattere la mosca stessa.* III. - Boll. Lab. Zool. Gen. Agr., Portici, 2: 18-80.
- VIGGIANI G., PAPPAS S., 1975 - *Sulla presenza di Teleopterus Silv. (Hym. Eulophidae), parassita di Dacus oleae Gml., e di altri Calcidoidei in Corfù.* – Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri, 32: 168-171.
- VIGGIANI G., BERNARDO U., SASSO R., 2007 - *Description of Bariscapus silvestrii, n. sp. (Hymenoptera: Eulophidae), a new gregarious parasitoid of the olive fly Bactrocera oleae (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in southern Italy.* – Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri, 61: 63-70.

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 21 FEBBRAIO 2014

Tavola Rotonda su:

GESTIONE SOSTENIBILE DI PIANTE ALIENE INVASIVE
MEDIANTE I LORO NEMICI NATURALI

Coordinatori:

GIORGIO NUZZACI e ENRICO DE LILLO, Accademici

CERATAPION BASICORNE (ILLIGER) (COLEOPTERA: CURCULIONIDAE):
BIOSAGGI DI LABORATORIO E CAMPO PER VALUTARNE LA SPECIFICITÀ
FISIOLOGICA COME AGENTE DI CONTROLLO
DI *CENTAUREA SOLSTITIALIS* L. (ASTERACEAE: CARDUEAE)

ALESSANDRA PAOLINI (*) - MASSIMO CRISTOFARO (**) - FRANCESCA LECCE (**)
FRANCESCA DI CRISTINA (*) - ALESSIO DE BIASE (***) - SILVIA BELVEDERE (***)
GLORIA ANTONINI (****) - CARLO TRONCI (**) - LINCOLN SMITH (****)

(*) *Biotechnology and Biological Control Agency, Via del Bosco 10, 00060 Sacrofano (RM), Italia; e-mail: a.paolini@bbcaonlus.org*

(**) *ENEA C.R. Casaccia, UTAGRI-ECO, Via Anguillarese 301, 00123 S. Maria di Galeria (RM), Italia;*

(***) *Dip. di Biologia e Biotecnologie "C. Darwin", Università La Sapienza, Viale dell'Università, 32, 00185 Roma, Italia;*

(****) *U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 800 Buchanan Street, Albany, CA 94710, USA.*

Letture tenuta durante la Tavola Rotonda "Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali". Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 21 febbraio 2014.

Ceratapion basicorne (Illiger) (Coleoptera: Curculionidae): laboratory and open field trials to assess its specificity as biocontrol agent of Centaurea solstitialis (Asteraceae: Cardueae).

Prospective biological control agents generally must be demonstrated to not pose risks to non-target plants. Laboratory experiments evaluating host plant specificity are the most common method of evaluating such risk; however, they are constrained by limitations of space and number of replicates, giving sometimes unclear results. Field experiments in the land of origin of the prospective agent can provide more realistic conditions.

The root boring weevil *Ceratapion basicorne* normally oviposits in the leaves of young yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) plants, and larvae develop inside the root crown and pupate inside the plant.

Despite the high specificity showed for the target weed by the weevil, during its screening as biological control agent for yellow starthistle, a permit application to release it in the U.S.A. was denied in 2006 because of the risk it could be dangerous to safflower (*Carthamus tinctorius*): in fact, this weevil, has been reported to develop occasionally on the non-target plant in laboratory no-choice experiments. The main concern was related to the economic importance of safflower, hypothesizing that the number of replicate plants in the previous experiments was still too small. When a small risk is perceived for a very abundant plant, such as a crop, larger scale experiments are needed to improve confidence in the results. For this reason, an additional open field test was set up in Rome, releasing adults of *C. basicorne* in a field experiment in which two varieties of safflower were grown in solid blocks near a small number of yellow starthistle plants. The weevil infested 54% of the yellow starthistle plants, while no individuals of *C. basicorne* were reared from 1021 safflower plants. Additional testing could not reduce this probability to zero; however, the consistency of results from field experiments in three countries and the absence of any report of this insect being reared from safflower in the field support the conclusion that this weevil species poses no significant risk to safflower.

KEY WORDS: *Ceratapion basicorne*, yellow starthistle, biological control of weeds, risk assessment.

INTRODUZIONE

Il controllo biologico delle piante infestanti è un'applicazione non convenzionale dell'entomologia e della patologia vegetale con il quale un organismo fitofago o fitopatogeno viene utilizzato per mitigare l'effetto dannoso di specie bersaglio senza danneggiare le specie non-bersaglio, come quelle coltivate o indigene.

L'idea di impiegare organismi viventi per controllare la diffusione di piante infestanti risale ad oltre un secolo fa, e risultati molto incoraggianti sono stati ottenuti negli anni '60-'70 del secolo scorso. Ma è negli ultimi decenni che vi è stato un rinnovato

interesse per queste ricerche che ha portato a numerosi promettenti sviluppi, e nel prossimo futuro ci saranno probabilmente ulteriori motivi di interesse. Fra questi, l'aumentata richiesta per la riduzione dell'impiego dei prodotti chimici nelle produzioni alimentari da parte dell'opinione pubblica; l'incremento dei consumi di prodotti agricoli e agro-industriali biologici; la messa al bando di diserbanti ritenuti pericolosi; i costi sempre più elevati per lo sviluppo e la registrazione di nuove sostanze attive; la mancanza di erbicidi registrati per le colture minori; l'insorgenza di fenomeni di resistenza agli erbicidi di sintesi nelle specie infestanti; l'impossibilità di utilizzare prodotti chimici in taluni ambienti natu-

rali o antropizzati; l'aumentata consapevolezza della necessità di protezione dell'ambiente; gli effetti negativi di altre esistenti pratiche di gestione delle infestanti; la necessità di controllare infestanti non agrarie ed invasive; gli elevati costi dei metodi di gestione delle infestanti negli ambienti naturali e nelle colture estensive (VURRO *et al.*, 2008).

Fondamento del controllo biologico delle piante infestanti di tipo classico è la specificità dell'agente di controllo per la specie bersaglio, presupposto affinché vengano evitati effetti indesiderati, diretti o indiretti, su piante non bersaglio (FOLLETT *et al.*, 2000; WAJNBERG *et al.*, 2001; VAN DRIESCHE *et al.*, 2008). Gli esperimenti di laboratorio sono utili per stabilire quali specie vegetali siano adatte per la riproduzione e/o lo sviluppo del potenziale agente, ma le condizioni sperimentali artificiali, tra cui ad esempio il confinamento in spazi ristretti, possono influenzare il comportamento degli organismi e i risultati di tali esperimenti (CULLEN, 1990; MAROHASY, 1998; EDWARDS, 1999; VAN KLINKEN, 2000; SINGER, 2004; BRIESE, 2005; SHEPPARD *et al.*, 2005).

Al contrario, i biosaggi in campo forniscono condizioni ambientali più naturali che permettono una più veritiera previsione del comportamento specifico o meno dell'agente di controllo dopo il rilascio (CLEMENT & CRISTOFARO, 1995; BRIESE, 1999). Ovviamente, questi esperimenti debbono essere condotti nell'areale di origine dell'organismo da studiare, mantenendo condizioni sperimentali più naturali possibile e verosimilmente simili a quelle che l'agente di controllo potrà trovare nel luogo di rilascio, esponendo le piante da testare a un sufficiente numero di individui dell'agente di controllo biologico.

Centaurea solstitialis L. (Asteraceae: Cardueae) (d'ora in poi nel testo *Ce. solstitialis*) è una specie erbacea di origine euroasiatica introdotta accidentalmente sulla costa occidentale degli Stati Uniti oltre un secolo fa (MADDOX, 1981). È considerata la specie aliena infestante più diffusa in California, ma la sua presenza è stata registrata in numerosi altri stati e anche in Canada (SHELEY *et al.*, 1999; PITCAIRN *et al.*, 2006). È una specie annuale che germina nel tardo autunno, cresce come rosetta fino alla tarda primavera quando va in levata e fiorisce continuamente per tutta l'estate, fino a che la mancanza di umidità o il ghiaccio la uccidono (MADDOX, 1981).

Ceratapion basicorne (Illiger) (Coleoptera: Apionidae) (fig. 1) è ampiamente distribuito in Europa e Asia occidentale, in sovrapposizione con l'areale di *Ce. solstitialis* (ALONSO-ZARAZAGA, 1990; WANAT, 1994). Gli adulti depongono sulle rosette all'inizio della primavera e le larve migrano fino al colletto della pianta e alla radice dove si impupano. Gli adulti

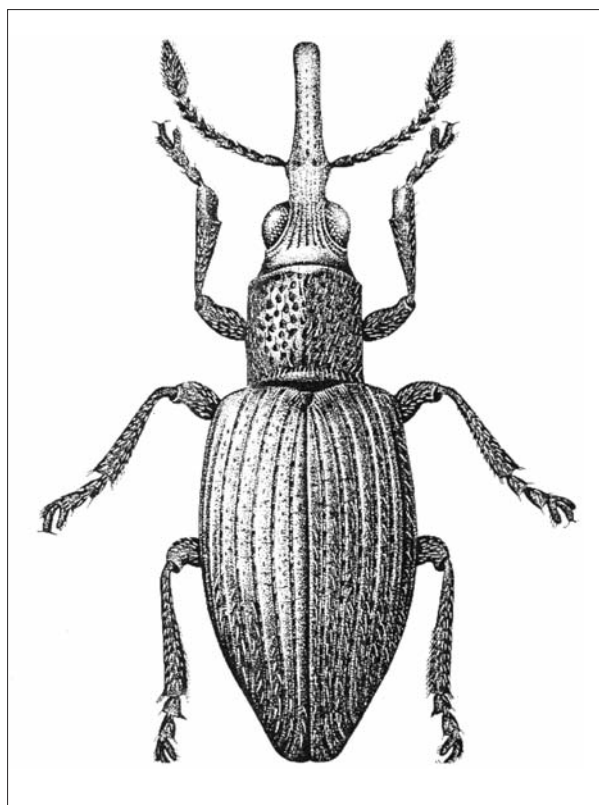


Fig. 1 – Adulto di *Ceratapion basicorne* (Coleoptera: Apionidae).

emergono da fine maggio a giugno, si alimentano brevemente sulle foglie di *Ce. solstitialis* e poi scompaiono, trascorrendo l'estate e il successivo inverno in anfratti fra la vegetazione e il terreno (CLEMENT *et al.*, 1989; SMITH & DREW, 2006).

Carthamus tinctorius L. (Asteraceae: Cardueae) (d'ora in poi nel testo *Ca. tinctorius*) è una specie di interesse economico sulla quale *C. basicorne* ha completato occasionalmente lo sviluppo nel corso di esperimenti condotti in laboratorio, durante i quali femmine dell'insetto venivano testate su alcune piante appartenenti alla famiglia Asteraceae in condizione di non scelta, ovvero su una specie alla volta (CLEMENT *et al.*, 1989; SMITH, 2007). I risultati di questi test hanno portato alla mancata approvazione del rilascio dell'insetto negli Stati Uniti come agente di controllo di *Ce. solstitialis*, a causa del potenziale rischio di sviluppo sulla specie non bersaglio *Ca. tinctorius*, nonostante esperimenti in campo effettuati in Turchia (e in seguito anche nel sud della Francia) indicassero l'inesistenza di tale rischio per la specie non bersaglio (SMITH *et al.*, 2006; RECTOR *et al.*, 2010).

Per valutare la reale entità di tale rischio, si è deciso di testare l'insetto su grandi numeri della specie di interesse economico, coltivandola come si farebbe in agricoltura, e su una piccola popolazione contigua della pianta bersaglio, per simulare uno scenario verosimile in cui potrebbe trovarsi l'agente di

controllo al momento del rilascio (CRISTOFARO *et al.*, 2013).

Di seguito, si riassumono i risultati degli esperimenti in campo aperto effettuati in Turchia, in Francia e in Italia e si riportano alcune considerazioni conclusive relative alla valutazione del rischio che *C. basicorne*, potenziale agente di controllo biologico di *Ce. solstitialis*, possa danneggiare anche la specie non bersaglio di interesse economico *Ca. tinctorius* (Tab. 1).

MATERIALI E METODI

Turchia - Dal 2002 al 2004 sono stati effettuati esperimenti di host-range in pieno campo in tre località della Turchia orientale, in cui erano presenti naturalmente sia *Ce. solstitialis* sia *C. basicorne*, con un tasso di infestazione delle piante da parte dell'insetto superiore all'80% (CRISTOFARO *et al.*, 2002). Le piante utilizzate nell'esperimento erano *Ce. solstitialis* (ottenuta da semi raccolti a Goreme, Turchia, e a Mount Saint Diablo, California, USA) e due varietà di *Ca. tinctorius* (oleico e linoleico), tutte ottenute da seme in ambiente protetto e poi trasferite in campo alla fine dell'inverno. Lo stato di sviluppo del fitofago veniva periodicamente monitorato sulla popolazione selvatica limitrofa di *Ce. solstitialis* e, nel momento in cui si è rilevata la prima pupa di *C. basicorne*, si è provveduto alla raccolta di tutte le piante dell'esperimento, che, private delle foglie e della parte superiore dello stelo, sono state conservate separatamente in bustine a temperatura ambiente in attesa

che emergessero eventuali adulti dell'insetto. Questi sono stati identificati morfologicamente da specialisti del settore e sottoposti ad analisi genetica, utilizzando come marcatore molecolare il gene che codifica per la subunità I della citocromo C ossidasi (COI) (SMITH *et al.*, 2006; ANTONINI *et al.*, 2009).

Francia - Un esperimento in campo aperto è stato effettuato nel 2003 nei dintorni di Montpellier, sud della Francia, testando il potenziale agente di controllo biologico, naturalmente presente nell'area, su otto Asteraceae della tribù Cardueae, comprese *Ce. solstitialis* e *Ca. tinctorius*. Il materiale raccolto delle piante test dell'esperimento (alcuni adulti e molte larve) è stato conservato in etanolo 95% e sottoposto ad analisi genetica, anche in questo caso per mezzo del marcatore mitocondriale COI (RECTOR *et al.*, 2010).

Italia - L'esperimento è stato condotto nel 2011 su due varietà di *Ca. tinctorius* (oleico e linoleico) coltivate da seme nei campi sperimentali dell'ENEA C.R. Casaccia, con un sesto d'impianto simile a quello di un campo coltivato a cartamo (circa 1000 piante per ogni varietà) (fig. 2). Nel terreno di separazione tra le diverse file centrali dell'impianto sperimentale di piante di cartamo, sono state trapiantate in modo equidistante tra loro 40 rosette di *Ce. solstitialis* (20 ottenute da semi italiani e 20 da semi americani), per essere utilizzate come testimone. Alla fine della primavera, 50 adulti di *C. basicorne* sono stati rilasciati nel campo sperimentale sulle piante di *Ce. solstitialis* allo scopo di fornire agli insetti il loro substrato naturale ed impedire che, in assenza di esso, si potessero allontanare immediatamente

Tabella 1 – Quadro riassuntivo degli esperimenti di campo svolti in Turchia (2002-2004), Francia (2003) e Italia (2011).

	Yellow starthistle			Safflower			
	No. of plants	Percentage infested by		No. of plants	Percentage infested by		
		CEBA ^a	Other ^b		CEBA	Other	UnID ^c
Askale 2002 ^d	59	73%		40	0%	17%	7.5%
Askale 2003 ^d	30	77%		39	0%	8%	7.7%
Askale 2004 ^d	40	100%	5%	99	0%	26%	1.0%
Çat 2002 ^d	56	49%		38	0%	0%	
Çat 2003 ^d	56	41%		57	0%	0%	
Horasan 2002 ^d	48	42%		45	0%	0%	
Horasan 2004 ^d	40	98%	3%	250	0%	0%	
France 2003 ^e	50	24%		98	0%	2%	
Italy 2011 ^f	41	54%		1,021	0%	1.5%	0.3%
Total	420	60%	0.8%	1,687	0%	3.1%	0.6%

^a CEBA — *C. basicorne*, YST — yellow starthistle.

^b Other — *C. orientale*, *C. onopordi*, *C. scalptum*.

^c UnID — infested plants for which apionid specimens could not be identified.

^d Smith *et al.* (2006).

^e Rector *et al.* (2010).

^f Cristofaro *et al.* (2013)



Fig. 2 – Esperimento di pieno campo: Roma, estate 2011; nei riquadri in rosso le fialette con gli insetti, pronti per essere liberati.

dal sito sperimentale rendendo nullo il biosaggio. Il numero di piante di *Ce. solstitialis* era comunque insufficiente per fornire un substrato di ovideposizione per tutta la durata della vita delle femmine (SMITH & DREW, 2006), che quindi sarebbero state costrette a disperdersi nel circostante campo di cartamo. A metà giugno tutte le piante sono state raccolte, misurate e dissezionate e tutti i danni e il materiale rinvenuto al loro interno sono stati registrati. Larve e pupe vive sono state poste su dieta artificiale (TOMIC-CARRUTHERS, 2009) per consentirne lo sviluppo fino allo stadio adulto e la successiva identificazione, mentre gli individui danneggiati o di piccole dimensioni sono stati conservati in acetone per essere sottoposti ad analisi genetica, utilizzando il marcatore molecolare COI (CRISTOFARO *et al.*, 2013).

RISULTATI E DISCUSSIONE

C. basicorne ha dimostrato in tutti e tre gli esperimenti di campo la sua specificità per la pianta infestante bersaglio, *Ce. solstitialis*. Infatti le 3 popolazioni di curculionide utilizzate nei test di preferenza per il sito di ovideposizione –rispettivamente di origine turca, francese e italiana- hanno risposto in modo univoco, mostrando una non-preferenza totale per *Ca. tinctorius*, e una specificità per il sito di ovideposizione e per lo sviluppo larvale nei confronti di *Ce. solstitialis*, con percentuali di attacco intorno al 28% per l'esperimento in Francia e superiori al 50% per quelli in Turchia orientale e in Italia.

Gli esperimenti effettuati in Turchia in tre diversi siti hanno evidenziato l'assenza di attacco da parte del curculionide selezionato sulle piante di *Ca. tinctorius*, mentre sul 59-100% delle piante di *Ce. sol-*

stitialis veniva registrata sia ovideposizione che completamento dello sviluppo larvale (SMITH *et al.*, 2006; ANTONINI *et al.*, 2009).

Risultati simili sono stati ottenuti nell'esperimento condotto nel sud della Francia, dove non è stato registrato l'attacco da parte di questo insetto su *Ca. tinctorius*, ma solo su *Ce. solstitialis* e, occasionalmente, su *Centaurea cyanus*, un ospite già riportato in letteratura per questo curculionide (RECTOR *et al.*, 2010).

Un discorso a parte va fatto per la prova condotta in Italia. In questo caso, infatti, le condizioni sperimentali si differenziavano rispetto a quelle dei precedenti test: le piante di cartamo invece di essere disposte in modo sparso alternandosi alle altre specie testate, erano disposte in gruppi solidi e omogenei, a simulare un campo coltivato. Comunque, nonostante le differenze nell'impianto sperimentale, i risultati ottenuti sono molto simili a quelli dei precedenti esperimenti. Anche in questo caso infatti, tutti i curculionidi emersi dal sistema radicale di *Ce. solstitialis* sono stati identificati come *C. basicorne*, mentre quelli provenienti dalle radici di piante di cartamo sono stati attribuiti ad una specie congenerica (*C. orientale*) presente naturalmente nel sito sperimentale (CRISTOFARO *et al.*, 2013). Da notare che il tasso di infestazione da *C. basicorne* sulle piante di *Ce. solstitialis* del biotipo italiano è risultato significativamente maggiore di quello riscontrato sul biotipo americano nonostante esse non differissero in altezza o nel diametro del colletto al momento della raccolta (CRISTOFARO *et al.*, 2013), confermando risultati analoghi ottenuti nei precedenti esperimenti in campo effettuati in Turchia orientale, dove *C. basicorne* si era sviluppato preferibilmente sul biotipo turco di *Ce. solstitialis* (45-100%) rispetto a quello americano (28-83%) (Smith *et al.*, 2006), suggerendo la possibile esistenza di differenze nella scelta della pianta ospite per l'ovideposizione e lo sviluppo delle larve. Nonostante questi risultati, il biotipo americano di *Ce. solstitialis* può essere considerato un substrato adatto allo sviluppo di *C. basicorne* poiché una colonia dell'insetto è stata mantenuta con successo in laboratorio per dieci anni utilizzando esclusivamente tale pianta (SMITH & DREW, 2006; SMITH, 2007).

Al contrario, non sono state riscontrate differenze significative tra i tassi di infestazione delle due varietà di *Ca. tinctorius* (CRISTOFARO *et al.*, 2013).

Il 54% delle piante di *Ce. solstitialis* testate hanno mostrato segni di infestazione da parte di *C. basicorne*, in accordo con i risultati ottenuti nei precedenti studi in campo condotti in Turchia e in Francia dove il tasso di infestazione era rispettivamente del 59-100% e del 24% (SMITH *et al.*, 2006; RECTOR *et al.*, 2010).

Combinando i risultati dei diversi esperimenti effettuati nel corso degli anni, in cui nessuna delle 1687 piante di *Ca. tinctorius* testate in totale è stata danneggiata (CRISTOFARO *et al.*, 2013), si è potuto quindi concludere che non c'è un rischio significativo che *C. basicorne* attacchi questa specie in condizioni di campo aperto.

RIASSUNTO

Ceratapion basicorne (Illiger) (Coleoptera: Curculionidae) è un potenziale agente di controllo di *Centaurea solstitialis* (Asteraceae: Cardueae), specie infestante aliena molto diffusa in diversi stati degli USA. Nonostante l'insetto abbia mostrato un'elevata specificità verso la pianta bersaglio, è stato in grado di svilupparsi anche su *Carthamus tinctorius* nel corso di esperimenti in laboratorio. Vista l'importanza economica rivestita da questa specie, la richiesta di rilascio di questo insetto come agente di controllo è stata rifiutata per il rischio che esso potesse attaccare anche la specie non bersaglio, una volta rilasciato. Nonostante le indicazioni di assenza del rischio per *Ca. tinctorius*, derivanti da esperimenti in campo aperto condotti in Turchia e in seguito in Francia, è stato effettuato un ulteriore esperimento, basato su un più alto numero di repliche, che ha confermato i risultati ottenuti precedentemente, portando quindi alla conclusione che *C. basicorne* non rappresenta un rischio significativo per *Ca. tinctorius*.

BIBLIOGRAFIA

- ALONSO-ZARAZAGA M.A., 1990 - *Revision of the subgenera Ceratapion S. Str. and Echinostroma Nov. of the genus Ceratapion Schilsky, 1901.* - *Fragmenta entomologica*, Roma 22: 399-528.
- ANTONINI G., COLETTI G., SERRANI L., TRONCI C., CRISTOFARO M., SMITH L., 2009 - *Using molecular genetics to identify immature specimens of the weevil Ceratapion basicorne (Coleoptera, Apionidae).* - *Biological Control*, 51: 152-157.
- BRIESE D.T., 1999 - *Open field host-specificity tests: is "natural" good enough for risk assessment?* In: Withers, T.M., Stanley, J., Barton Browne, L. (Eds.), *Host Specificity Testing in Australasia: Towards Improved Assays for Biological Control.* CRC for Tropical Pest Management, Brisbane, Australia, pp. 44-59.
- BRIESE D.T., 2005 - *Translating host-specificity test results into the real world: the need to harmonize the yin and yang of current testing procedures.* - *Biological Control*, 35: 208-214.
- CLEMENT S.L., ALONSO-ZARAZAGA M.A., MIMMOCCHI T., CRISTOFARO M., 1989 - *Life history and host range of Ceratapion basicorne (Coleoptera: Apionidae) with notes on other weevil associates (Apioninae) of yellow starthistle in Italy and Greece.* - *Annals of the Entomological Society of America*, 82: 741-747.
- CLEMENT S.L., CRISTOFARO M., 1995 - *Open-field tests in host-specificity determination of insects for biological control of weeds.* *Biocontrol Science and Technology* 5, 395-406.
- CRISTOFARO M., HAYAT R., GULTEKIN L., TOZLU G., ZENGIN H., TRONCI C., LECCE F., SAHIN F., SMITH L., 2002 - *Preliminary screening of new natural enemies of yellow starthistle, Centaurea solstitialis L. (Asteraceae) in Eastern Anatolia.* In: *Proceedings of the Fifth Turkish National Congress of Biological Control (4-7 September, 2002)*, Erzurum, Turkey.
- CRISTOFARO M., DE BIASE A., SMITH L., 2013 - *Field release of a prospective biological control agent of weeds, Ceratapion basicorne, to evaluate potential risk to a nontarget crop.* - *Biological Control*, 64 (3): 305-314.
- CULLEN J.M., 1990 - *Current problems in host-specificity screening.* In: Delfosse, E. (Ed.), *Proceedings of the VII International Symposium of Biological Control of Weeds*, Istituto Sperimentale per la Patologia Vegetale, Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste, Rome, Italy, pp. 27-36.
- EDWARDS P.B., 1999 - *The use of choice tests in host-specificity testing of herbivorous insects.* In: Withers, T.M., Barton Browne, L., Stanley, J. (Eds.), *Host Specificity Testing in Australasia: Towards Improved Assays for Biological Control.* Scientific Publishing, Indooroopilly, Queensland, Australia, pp. 35-43.
- FOLLETT P.A., DUAN J., MESSING R.H., JONES V.P., 2000 - *Parasitoid drift after biological control introductions: re-examining Pandora's box.* - *American Entomologist*, 46: 82-93.
- MADDOX D.M., 1981 - *Introduction, phenology and density of yellow starthistle in coastal, intercoastal and central valley situations in California.* - *US Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Agricultural Research Results.* ARR-W-20, July 1981, USDA-ARS, Oakland, CA.
- MAROHASY J., 1998 - *The design and interpretation of host-specificity tests for weed biological control with particular reference to insect behaviour.* - *Biocontrol News and Information*, 19: 12-20.
- PITCAIRN M.J., SCHOENIG S., YACOB R., GENDRON J., 2006 - *Yellow starthistle continues its spread in California.* - *California Agriculture*, 60: 83-90.
- RECTOR B.G., DE BIASE A., CRISTOFARO M., PRIMERANO S., BELVEDERE S., ANTONINI G., SOBHIAN R., 2010 - *DNA fingerprinting to improve data collection efficiency and yield in an open-field host-specificity test of a weed biological control candidate.* - *Invasive Plant Science and Management*, 3: 429-439.
- SHELEY R.L., LARSON L.L., JACOBS J.J., 1999 - *Yellow starthistle.* In: Sheley, R.L., Petroff, J.K. (Eds.), *Biology and Management of Noxious Rangeland Weeds.* Oregon State University Press, Corvallis, Oregon, pp. 408-416.
- SHEPPARD A.W., VAN KLINCKEN R.D., HEARD T.A., 2005 - *Scientific advances in the analysis of direct risks of weed biological control agents to nontarget plants.* - *Biological Control*, 35: 215-226.
- SINGER M.C., 2004 - *Oviposition preference: its definition, measurement and correlates, and its use in assessing risk of host shifts.* In: Cullen, J.M., Briese, D.T., Kriticos, D.J., Lonsdale, W.M., Morin, L., Scott, J.K. (Eds.), *Proceedings of the XI International Symposium on Biological Control of Weeds.* CSIRO Entomology, Canberra, Australia, pp. 235-244.
- SMITH L., 2007 - *Physiological host range of Ceratapion basicorne, a prospective biological control agent of Centaurea solstitialis (Asteraceae).* - *Biological Control*, 41: 120-133.
- SMITH L., DREW A.E., 2006 - *Fecundity, development and behavior of Ceratapion basicorne (Coleoptera: Apionidae), a prospective biological control agent of yellow starthistle.* - *Environmental Entomology*, 35: 1366-1371.

- SMITH L., HAYAT R., CRISTOFARO M., TRONCI C., TOZLU G., LECCE F., 2006 - *Assessment of risk of attack to safflower by Ceratapion basicorne (Coleoptera: Apionidae), a prospective biological control agent of Centaurea solstitialis (Asteraceae)*. - *Biological Control*, 36: 337-344.
- TOMIC-CARRUTHERS N., 2009 - *Rearing Hylobius transversovittatus and Cyphocleonus achetes larvae on artificial diets (Coleoptera: Curculionidae)*. - *Florida Entomologist*, 92: 656-657.
- VAN KLINKEN R.D., 2000 - *Host specificity testing: why we do it and how can we do it better?* In: Van Driesche, R., Heard, T., McClay, A., Reardon, R. (Eds.), *Proceedings of Session: Host Specificity of Exotic Arthropod Biological Control Agents: the Biological Basis for Improvement in Safety*, Forest Service, Morgantown, West Virginia. FHTET-99-1, pp. 54-68.
- VAN DRIESCHE R., HODDLE M., CENTER T., 2008 - *Control of Pests and Weeds by Natural Enemies*. Wiley-Blackwell, Malden, Massachusetts.
- VURRO M., CRISTOFARO M., CASELLA F., BOARI A., ZONNO M.C., 2008 - *Lotta biologica alle piante infestanti*. In: *Giornata di studio: "Innovazioni nella difesa delle colture con mezzi a basso impatto ambientale"*, I Georgofili – Quaderni, 2008 – VII.
- WAJNBERG E., SCOTT J.K., QUIMBY P.C. (Eds.), 2001 - *Evaluating Indirect Ecological Effects of Biological Control*, CABI Publishing, Wallingford, UK.
- WANAT M., 1994 - *Systematics and phylogeny of the tribe Ceratapiini (Coleoptera, Curculionoidea, Apionidae)*. - *Genus, International Journal of Invertebrate Taxonomy (Suppl. 3)*, Wroclaw, Poland.

THE EU COST ACTION SMARTER - A EUROPEAN-WIDE APPROACH FOR A SUSTAINABLE MANAGEMENT OF COMMON RAGWEED, *AMBROSIA ARTEMISIIFOLIA*

URS SCHAFFNER (*) - SUZANNE LOMMEN (***) - HEINZ MÜLLER-SCHÄRER (***)

(*) CABI Switzerland, Rue des Grillons 1, CH-2800 Delémont, Switzerland;

(***) Département de Biologie/Ecologie & Evolution, Université de Fribourg, Chemin du Musée 10, CH-1700 Fribourg, Switzerland;

* Correspondence: u.schaffner@cabi.org

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda “Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 21 febbraio 2014.

The EU COST Action SMARTER - a European-wide approach for a sustainable management of common ragweed, Ambrosia artemisiifolia

Common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, one of the most aggressive invasive plants in Europe, has raised a lot of public concern, mainly because of its highly allergenic pollen generating huge medical costs. Moreover, ragweed also has increasingly become a major weed in European agriculture. In early 2013, the COST Action FA1203 Sustainable management of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe (‘SMARTER’) was launched, with the aim to develop long-term management options against the weed in Europe, such as biological control and vegetation management, and to integrate them with existing short-term management methods for achieving control of ragweed across the diverse habitats invaded in Europe. To our surprise, during the first year of SMARTER the North American beetle *Ophraella communa* was found to be widely spread across northern Italy and southern Switzerland. This beetle, which is a successful biological control agent of common ragweed in China, appears to have been accidentally introduced in Europe, but already prevents flowering of entire common ragweed populations at many sites. While successful biological control of common ragweed may potentially generate huge economic benefits, there is some controversy surrounding the likelihood of attack of sunflower by *O. communa* under field conditions. The SMARTER network offers an ideal platform to quickly respond and to collect data that help deciding whether the establishment of *O. communa* in Europe should be considered as a troublesome introduction or whether it is likely to become the first case of successful biological control of an invasive weed in Europe. Very recently, SMARTER established tools (smartphone app, spreadsheets) to monitor both *Ambrosia* and *Ophraella* occurrences in Europe. Your contribution is most welcome!

KEY WORDS: *Ambrosia artemisiifolia*, *Ophraella communa*, Europe, invasive plant, Integrated Weed Management, biological control.

INTRODUCTION

In Europe, as in most other regions of the world, the number of alien plant species has increased considerably in the past 200 years as a result of increasing trade, tourism and disturbance (PYSEK *et al.*, 2009). However, in contrast to North America, South Africa, Australia or New Zealand, serious concern about the negative economic or ecological effects of biotic invasions in Europe began to increase only recently (HULME *et al.*, 2009).

Incontestably, common ragweed, *Ambrosia artemisiifolia*, is the invasive plant that has raised most public concern in Europe. First records of this plant species in Western Europe date back to the mid-1800s and in Eastern Europe to 1900, but it was only in the late 1920s that *A. artemisiifolia* became an increasing problem in Europe (CSONTOS *et al.*, 2010). A main problem with this

plant is its particularly large production of highly allergenic pollen generating huge medical costs and reduced quality of life among the allergic population (KAZINCZI *et al.*, 2008). Ragweed also has increasingly become a major weed in European agriculture, especially in spring-sown crops such as sunflower, maize, sugar beet and soya beans (KÉMIVES *et al.*, 2006). Recently, the overall costs associated with common ragweed impact, including the medical costs of treating potentially life-threatening symptoms such as asthma attacks, was estimated to amount at 4.5 billion € annually (BULLOCK *et al.*, 2012).

THE COST ACTION ‘SMARTER’

In view of establishing a coordinated research initiative towards sustainable management of *A.*

artemisiifolia in Europe, the University of Fribourg, together with CAB International (CABI) and EWRS Working Groups on “Invasive Plants” and “Biological Control” organized a two-day workshop in Delémont, Switzerland in December 2009, with 55 registered participants from 16 countries (including China and Canada) and which was co-funded by the Federal Office for the Environment (FOEN). Outcomes of this meeting were a review publication on prospects for biological control of *A. artemisiifolia* in Europe (GERBER *et al.*, 2011), and a proposal for a new COST Action. In June 2012, the proposed Action was approved by the COST Domain Committee on Food and Agriculture as COST FA1203 Sustainable management of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe (‘SMARTER’). Within five months after approval of the Action, 28 COST countries had signed the Memorandum of Understanding, demonstrating the timely issue of this initiative and the great interest in the topic of this Action. The Action brings together experts involved in the control of ragweed, key-experts in biological control and legislation from non COST member countries, ecologists, health care professionals, aerobiologists, economists, atmospheric and agricultural modellers and numerous stakeholders.

The overall objective of the Action is to initiate and coordinate long-term management options, such as biological control (BC) and vegetation management, and to integrate them with existing short-term management methods (chemical, mechanic) for achieving control of ragweed across the diverse habitats invaded in Europe, and to develop methods for verifying the efficacy and cost-effectiveness of these measures. The work is divided into four Working Groups and will integrate information from previous, ongoing and new activities at the subnational, national and international level. One of the Working groups is dedicated to BC, i.e. the use of natural enemies either by introducing host-specific arthropods or fungal pathogens from the area of origin of the plant (classical BC), or by periodic releases of an abundance of antagonists (inundative or bioherbicide method). Modern classical BC projects, based on in-depth investigations on the host-range and impact of potential BC agents prior to their release, have a high safety track record (e.g. Pemberton 2000) and belong to standard measures to combat invasive species in regions most heavily affected by biological invasions. In Europe, classical BC of weeds is still in its infancy; in 2010, a psyllid originating from Japan was released in the UK against Japanese knotweed, *Fallopia japonica* (SHAW *et al.*, 2011),

representing the first European case of a BC agent release against an invasive plant based on a rigorous pest risk assessment.

Ragweed is an excellent target for BC since classical BC has already been successful in other parts of the world. In Australia, three insect species were released against ragweed in the 1980s; to date, the plant is considered under good control (PALMER *et al.*, 2010), and from an economic point of view, BC of *A. artemisiifolia* is regarded as an outstanding success in Australia, resulting in a benefit to cost ratio of 103.7 (PAGE & LACEY, 2006). One of the BC agents released in Australia, *Epiblema strenuana* Walker (Lep.: Tortricidae), was also released in China in the 1990s. Together with a second biological control agent, the North American leaf beetle *Ophraella communa* LaSage (Col.: Chrysomelidae), which was accidentally introduced in China in the early 2000s, excellent control of *A. artemisiifolia* populations was achieved in some regions (ZHOU *et al.*, 2010). Recently, a mass-rearing programme was established with the two agents with the aim to use them for inundative application in severely invaded habitats in China (ZHOU *et al.*, 2010).

DELIBERATE AND ACCIDENTAL INTRODUCTIONS OF BIOLOGICAL CONTROL AGENTS AGAINST RAGWEED IN EUROPE

Recently, the moth *E. strenuana* was found to have established in Israel (YAACOBY & SEPLYARSKI, 2011); most likely, it was introduced via the import of plant material from the USA (YAACOBY & SEPLYARSKI, 2011). To our great surprise, during the first year of SMARTER the other successful biological control agent in China, *O. communa* was found in more than 130 sites in southern Switzerland (Ticino) and northern Italy (BORIANI *et al.*, 2013; MÜLLER-SCHÄRER *et al.*, 2014; BOSIO *et al.*, 2014). By September 2013, *O. communa* had colonized an area of approximately 200 x 100 km, indicating that the beetle had been introduced already a few years ago. So far, it is not clear how *O. communa* arrived in Europe. The observed high levels of attack near Milano and the fact that the first observations of *O. communa* in Italy were made in the area of Milano Malpensa International Airport suggest that *O. communa* may have been accidentally introduced by air traffic or commercial exchanges related to the airport. At sites where we found *O. communa* in Switzerland and Italy, up to 100% of the plants were attacked, with attack levels high enough to completely defoliate and prevent flowering and seed set of

most ragweed plants (MÜLLER-SCHÄRER *et al.*, 2014). Similarly, *E. strenuana* appears to impose a high impact on *Ambrosia confertiflora* in Israel (YACOOBY, personal comments). However, despite extensive host specificity tests carried out over the past two decades (reviewed by ZHOU *et al.*, 2011), there remains a controversial debate mainly on whether *O. communa* can attack and damage sunflower, *Helianthus annuus* L., and/or the native European species *Ambrosia maritima* under open-field conditions. Because host-specificity tests revealed that *O. communa* can complete its life-cycle on sunflower under no-choice conditions, the species was rejected as biological control agent for Australia (PALMER & GOEDEN, 1991), and was also not among the prioritized species for use in Europe (GERBER *et al.*, 2011).

OUTLOOK

Clearly, data are now urgently needed that help deciding whether the establishment of *O. communa* in Switzerland/Italy should be considered as a troublesome introduction of an alien invertebrate that causes damage to crops or native plant species, or whether it is likely to become the first case of successful biological control against an invasive weed in continental Europe. Therefore, an *Ophraella* Task Force was launched during a SMARTER Action meeting in late 2013, with the aim to develop and conduct data collections to quantify the spread of *O. communa* and its impacts not only on ragweed biomass and pollen production, and seed output, but also on pollen concentration in the air the population dynamics of common ragweed. The Task Force will also conduct field and laboratory studies to assess the host specificity *O. communa*, focusing on closely related crop plants (e.g. European sunflower cultivars) and closely related native plant species. A particularly useful tool to track the further spread of *O. communa* in Europe will be the recently launched iPhone App ‘Ambrosia-Reporter’ (<https://itunes.apple.com/sb/app/smarter-ambrosia-reporter/id826442411>), an output of the SMARTER Action, which allows both professionals and layperson to report field occurrences of both common ragweed as well as of *Ophraella* attacking ragweed populations and to record the precise location of the observations as well as additional information right on site. Besides the iPhone app (which will soon also be available for Android smartphones), an Excel spreadsheet can be downloaded on the SMARTER website (www.ragweed.eu). Any

records of *Ambrosia* and *Ophraella* are most welcome, as they will greatly contribute in our fight against ragweed by monitoring the spread of its new antagonist.

SMARTER offers an ideal platform to respond quickly to the recent establishment of *O. communa* in Europe, and to collect data that help deciding whether this event should be considered as a troublesome introduction, or whether it is likely to become the first case of successful biological control of an invasive weed in Europe. If the accidentally introduced beetle *O. communa* will indeed be able to prevent flowering of *A. artemisiifolia* year by year in large parts of northern Italy and of the other regions it can establish, it is likely that this single candidate agent will generate huge economic benefits to Europe. Because larval development of *O. communa* slows down considerably below temperatures of 25 °C (ZHOU *et al.*, 2010), it is likely that this insect will not be able to colonize all regions in Europe invaded by *A. artemisiifolia*. The same is true for the closely related *O. slobodkini*, which however is reported to be monophagous on common ragweed. Another specialist beetle from the native range, *Zygogramma disrupta* (Rogers) appears to be the biological control candidate with the least dependence of warmer temperatures; moreover, according to the literature, it is also more specific than *O. communa* and not able to develop on sunflower (GERBER *et al.*, 2011). Therefore, in the frame of SMARTER it is planned to also carefully study the biology, host-specificity and impact of these two insect species. However, it will take 5-10 years of pre-release studies before national authorities in Europe will have enough information available to make a science-based decision on whether or not to release these insects in Europe.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to all colleagues, students and friends that helped in some way to develop and initiate the COST Action SMARTER. We acknowledge financial support from the EU COST Action FA1203 ‘Sustainable management of *Ambrosia artemisiifolia* in Europe (SMARTER)’ the Swiss Federal Office for the Environment (FOEN) and the Swiss State Secretariat for Education, Research and Innovation (SERI).

REFERENCES

- BORIANI M., CALVI M., TADDEI A. *et al.*, 2013 - *Ophraella communa segnalata in Italia su Ambrosia*. - *Informatore Agrario*, 34: 61.
- BOSIO G., MASSOBRIO V., CHERSI C., SCAVARDA G., CLARK S., 2014 - *Spread of the ragweed leaf beetle, Ophraella communa LeSage, 1986 (Coleoptera Chrysomelidae), in*

- Piedmont Region (northwestern Italy). - Boll. Soc. Entomol. Ital., 146: 17-30.
- BULLOCK J., 2012 - *Assessing and controlling the spread and the effects of common ragweed in Europe*. Final Report to the European Commission, DG Environment. NERC Centre for Ecology and Hydrology, <https://circabc.europa.eu/sd/d/d1ad57e8-327c-4fdd-b908-dadd5b859eff/FinalFinalReport.pdf> (last accessed 6 May 2014).
- CAO Z., WANG H., MENG L., LI B., 2011 - *Risk to nontarget plants from Ophraella communa (Coleoptera: Chrysomelidae), a potential biological control agent of alien invasive weed Ambrosia artemisiifolia (Asteraceae) in China*. - The Japanese Society of Applied Entomology and Zoology, 46: 375-381.
- CHEN H., GUO W., LI M., GUO J., LUO Y., ZHOU Z., 2013 - *A Field Test of Joint Control of the Alien Invasive Weed Ambrosia artemisiifolia with Ophraella communa and Epiblema strenuana*. - Chinese Journal of Biological Control, 29: 362-369.
- CSONTOS P., VITALOS M., BARINA Z., KISS L., 2010 - *Early distribution and spread of Ambrosia artemisiifolia in Central and Eastern Europe*. - Botanica Helvetica, 120: 75-78.
- DERNOVICI S.A., TESHLEH M.P., WATSON A.K., 2006 - *Is sunflower (Helianthus annuus) at risk to damage from Ophraella communa, a natural enemy of common ragweed (Ambrosia artemisiifolia)?* - Biocontrol Science and Technology, 16: 669-686.
- FUMANAL B., CHAUVEL B., SABATIER A., BRETAGNOLLE F., 2007 - *Variability and cryptic heteromorphism of Ambrosia artemisiifolia seeds: What consequences for its invasion in France?* - Annals of Botany, 100: 305-313.
- GERBER E., SCHAFFNER U., GASSMANN A., HINZ H.L., SEIER M., MULLER-SCHARER H., 2011 - *Prospects for biological control of Ambrosia artemisiifolia in Europe: learning from the past*. - Weed Research, 51: 559-573.
- GUO J.-Y., ZHOU Z.-S., ZHENG X.-W., CHEN H.-S., WAN F.-H., LUO Y.-H., 2011 - *Control efficiency of leaf beetle, Ophraella communa, on the invasive common ragweed, Ambrosia artemisiifolia, at different growing stages*. - Biocontrol Science and Technology, 21: 1049-1063.
- KAZINCZI G., BÉRES I., PATHY Z., NOVÁK R., 2008 - *Common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.): a review with special regards to the results in Hungary: II. Importance and harmful effect, allergy, habitat, allelopathy and beneficial characteristics*. - Herbologia, 9: 93-118.
- KÉMIVES T., BÉRES I., REISINGER P., et al., 2006 - *New strategy of the integrated protection against common ragweed (Ambrosia artemisiifolia L.)*. - Hungarian Weed Research and Technology, 6: 5-50.
- MÜLLER-SCHÄRER H., LOMMEN S.T.E., ROSSINELLI M., BONINI M., BORIANI M., BOSIO G., SCHAFFNER U., 2014 - *Ophraella communa, the ragweed leaf beetle, has successfully landed in Europe: fortunate coincidence or threat?* - Weed Research (DOI: 10.1111/wre.12072).
- PAGE A.R., LACEY K.L., 2006 - *Economic Impact Assessment of Australian Weed Biological Control*. - Report to the CRC for Australian Weed Management. Technical Series 10. CRC for Australian Weed Management, Adelaide, Australia.
- PALMER W., GOEDEN R., 1991 - *The host range of Ophraella communa LeSage (Coleoptera: Chrysomelidae)*. - The Coleopterists' Bulletin, 115-120.
- PALMER W., HEARD T., SHEPPARD A., 2010 - *A review of Australian classical biological control of weeds programs and research activities over the past 12 years*. - Biological Control, 52: 271-287.
- PRANK M., CHAPMAN D.S., BULLOCK J.M., et al., 2013 - *An operational model for forecasting ragweed pollen release and dispersion in Europe*. - Agricultural and Forest Meteorology, 182-183: 43-53.
- SHINE C., KETTUNEN M., GENOVESI P., et al., 2010 - *Assessment to support continued development of the EU Strategy to combat invasive alien species*. Final Report for the European Commission. Institute for European Environmental Policy (IEEP), Brussels, Belgium.
- YAACOBY T., SEPLYARSKY V., 2011 - *Epiblema strenuana (Walker, 1863) (Lepidoptera: Tortricidae), a new species in Israel*. - EPPO Bulletin, 41: 243-246.
- ZHOU Z.-S., GUO J.-Y., CHEN H.-S., WAN F.-H., 2010 - *Effect of humidity on the development and fecundity of Ophraella communa (Coleoptera: Chrysomelidae)*. - BioControl, 55: 313-319.
- ZHOU Z.-S., GUO J.-Y., ZHENG X.-W., LUO M., CHEN H.-S., WAN F.-H., 2011 - *Reevaluation of biosecurity of Ophraella communa against sunflower (Helianthus annuus)*. - Biocontrol Science and Technology, 21: 1147-1160.

ACARI ERIOPHYOIDEA: ALCUNE CARATTERISTICHE RILEVANTI PER IL CONTROLLO BIOLOGICO DELLE PIANTE INFESTANTI

ENRICO DE LILLO (*)

(*) *Dipartimento di Scienze del Suolo, della Pianta e degli Alimenti, sezione di Entomologia e Zoologia, Università degli Studi di Bari Aldo Moro, via Amendola, 165/a, I-70126 Bari, Italia, e-mail: enrico.delillo@uniba.it*
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda “Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 21 febbraio 2014.

Some aspects of Eriophyoid Mites regarding their application in the Biological Control of Invasive Plants

The main morphological, biological and ecological aspects making the Eriophyoid mites highly effective against the weedy plants are briefly reviewed. Obstacles and interferences for correct species identification and survey are summarized. Challenging research topics requiring further deep investigations are pointed out.

KEY WORDS: morphology, biology, ecology, behaviour, invasive host plant.

INTRODUZIONE

Gli Eriophyoidea sono fitofagi obbligati, a elevata specializzazione morfologica, biologica ed etologica. Essi causano danni su numerose colture d’interesse agrario, forestale e ornamentale (LINDQUIST *et al.*, 1996) e sono anche ottimi candidati per la gestione di piante infestanti (SMITH *et al.*, 2010).

Con il presente contributo, s’intende evidenziare alcuni aspetti morfologici, biologici, ecologici e comportamentali che possono spiegare il successo degli eriofioidei nella loro interazione con le piante ospiti, ponendo particolare attenzione a quelle caratteristiche che collocano questi fitofagi tra i principali agenti di controllo biologico classico delle piante invasive.

CARATTERISTICHE MORFOLOGICHE

Gli eriofioidei sono tra i più piccoli animali terrestri, vermiformi, fusiformi o depressi in senso dorso-ventrale. Possiedono due paia di zampe in tutti gli stadi di sviluppo e in entrambi i sessi, e il numero delle setole del corpo è fortemente ridotto.

L’insieme di queste caratteristiche morfologiche rende questi acari particolarmente idonei a colonizzare cavità e altri spazi angusti naturalmente presenti sulla pianta ospite oppure indotti dall’acaro mediante l’iniezione dei secreti salivari nei tessuti vegetali.

CARATTERISTICHE BIOLOGICHE

Gli eriofioidei formano popolazioni composte da maschio aploide e femmina diplode, sono ovipari ad ovoviviparità occasionale (DE LILLO, 1991; NAVIA *et al.*, 2005) e si riproducono per partenogenesi arrenotoca e anfigonia la quale è resa possibile dall’inseminazione indiretta realizzata tramite una o poche masserelle spermatiche disseminate su spermatofore e raccolte dalla femmina (OLDFIELD, 2005; MICHALSKA e MAŃKOWSKI, 2006; MICHALSKA *et al.*, 2010). Osservazioni su *Phyllocoptruta oleivora* (Ashmead) (BERGH, 2001) e *Aculops allotrichus* (Nalepa) (MICHALSKA, com. pers.) indicano che la partenogenesi sia obbligata dalla “verginità” della femmina o, probabilmente, dall’esaurimento degli spermatozoi conservati nelle spermateche, mentre le femmine inseminate possono deporre sia uova fecondate (femminili) che non fecondate (maschili) (OLDFIELD, 2005). Nel caso in cui sia obbligata a deporre uova partenogenetiche per assenza di maschi, la femmina può originare una progenie aploide dalla quale ricavare gli spermatozoi necessari alla successiva anfigonia.

Gli eriofioidei hanno scarsa mobilità autonoma (GALVÃO *et al.*, 2012), hanno sex ratio a favore delle femmine e tendono a comportarsi come organismi ad “accoppiamento” non casuale (*non-randomly mating species*) in cui una o poche femmine fondatrici colonizzano nuove risorse e originano nuovi individui che si incrociano tra loro (*inbreeding*) (BERGH, 2001).

In genere, gli organismi aplo-diploidi con fre-

quente inincrocio tendono a isolare ed eliminare le mutazioni deleterie attraverso i maschi emizigoti e, pertanto, mostrano più comunemente una frequenza di equilibrio per i geni recessivi deleteri inferiore a quella di specie diplo-diploidi (SMITH e SHAW, 1980; MATSUDA, 1987; ATMER, 1991; HENTER, 2003).

Di fatto, l'aplo-diploidia e l'inincrocio sembrano agevolare l'affermazione degli eriofioidei in fase di espansione dell'infestazione su nuovi territori di piante già infestate o su nuove piante ospiti e, pertanto, aumentano le possibilità di successo delle nuove introduzioni nelle aree di controllo delle piante invasive.

CARATTERISTICHE ECOLOGICHE

Un complesso di 9 stiletti (4 di origine chelicerale, 4 di origine pedipalpale e 1 di origine labrale) causa una fine lesione della parete e della membrana cellulare. Le punture interessano prevalentemente organi e tessuti giovani e possono indurre effetti talora macroscopicamente impercettibili oppure causare un'ampia varietà di alterazioni per forma e intensità. Gli effetti dell'attività trofica degli eriofioidei sulla fisiologia e sulla morfologia delle piante ospiti sono dovuti alla risposta specifica e intima della pianta ad alcuni composti contenuti nelle secrezioni salivari ad azione predigestiva extra-orale, iniettati dall'acaro nei tessuti vegetali (MONFREDA e DE LILLO, 2006; PETANOVIĆ e KIELKIEWICZ, 2010). La tipologia e la severità dei sintomi indotti dipendono dalla densità di popolazione dell'acaro, dall'organo infestato e dallo stato fisiologico dell'ospite (OLDFIELD, 1996; SMITH *et al.*, 2010). Queste alterazioni possono ridurre la produzione di biomassa e attenuare anche le performance riproduttive della pianta ospite (DE LILLO e SKORACKA, 2010; SKORACKA *et al.*, 2010; DE LILLO, 2011). Anche la specificità genetica tra i due simbionti può influenzare gli esiti della loro interazione come ben evidenziato per quanto riguarda il controllo di *Chondrilla juncea* L. da parte di *Aceria chondrillae* (Canestrini) (CULLEN e MOORE, 1983; SMITH *et al.*, 2010).

Gli eriofioidei hanno elevata specializzazione trofica verso gli organi colonizzati e le specie ospiti infestate. L'80% degli eriofioidei sono stati rinvenuti associati esclusivamente a una sola specie ospite e le specie vaganti sembrano essere più monofaghe delle specie galligene (SKORACKA *et al.*, 2010). In realtà, la monofagia attribuita alla stragrande maggioranza delle specie si basa su un numero ristretto di dati (SKORACKA e KUCZYŃSKI, 2012) prevalentemente provenienti dalla raccolta degli individui e non da saggi di specificità. In taluni casi, la polifagia potrebbe nascondere fenomeni di speciazione in

corso, soprattutto quando tali rinvenimenti hanno riguardato popolazioni di pochi individui e non sono stati confermati successivamente, potendo rappresentare il risultato di una raccolta occasionale che potrebbe essere conseguenza della dispersione su un ospite non idoneo.

La monofagia rappresenta un punto di forza per gli eriofioidei impiegati nel controllo di piante infestanti, soprattutto perché garantisce la tutela delle piante native non-target nei potenziali siti di introduzione. Alcune recenti indagini hanno sollevato dubbi sul significato da dare agli esiti dei saggi di specificità effettuati in laboratorio o in serra su piante non-target. Questi saggi hanno avuto molto spesso un approccio del tipo *no-choice* realizzato in ambienti confinati, in assenza di antagonisti, in condizioni artificiali di laboratorio (per luminosità, temperatura, umidità, disponibilità di acqua) e di parziale addomesticamento delle specie vegetali saggiate, il che può favorire un possibile indebolimento della loro eco-resistenza. Viceversa, i saggi di specificità eseguiti in campo, secondo un approccio del tipo *multi-choice* e senza alcuna restrizione alla dispersione, sembrano fornire risultati che integrano quelli provenienti dai saggi di laboratorio e appaiono più probanti rispetto a questi ultimi in relazione alla reale sensibilità agli eriofioidei delle piante non-target (cfr. SMITH *et al.*, 2010; STOEVA *et al.*, 2011; CHETVERIKOV *et al.*, 2012).

Proprio traendo vantaggio dalla loro monofagia, alcuni eriofidi (*Aceria chondrillae*, *A. genistae* (Nalepa), *A. malherbae* Nuzzaci, *Aceria* sp. [boneseed leaf buckle mite (BLBM)], *Aculus hyperici* (Liro), *Cecidophyes rouhollahi* Craemer, *Floracarus perrepae* Knihinicki & Boczek) sono stati selezionati e inseriti in programmi di controllo biologico classico di piante infestanti e invasive. A queste specie vanno aggiunte poche altre introdotte accidentalmente [*Aceria anthocoptes* (Nalepa), *Acalitus odoratus* Keifer] e molte altre [ad es.: *A. acroptiloni* Shevtchenko & Kovalev, *A. angustifoliae* Denizhan *et al.*, *A. lantanae* (Cook), *A. salsolae* de Lillo & Sobhian, *A. sobhiani* Sukhareva, *A. solstitialis* de Lillo *et al.*, *A. tamaricis* (Trotter), *A. thalgi* Knihinicki *et al.*, *A. thessalonicae* Castagnoli, *Leipothrix dipsacivagus* Petanović & Rector and *L. knautiae* (Liro)] per le quali è in corso la valutazione della specificità e dell'efficacia nel controllo dell'ospite (SMITH *et al.*, 2010). Particolare è il caso di *Phyllocoptes fructiphilus* Keifer il quale non è stato mai autorizzato per il controllo di *Rosa multiflora* Thunb., pianta invasiva per gli Stati Uniti d'America, ma che può ritenersi il mezzo più efficace per il controllo del suo ospite. In questo caso, il suo efficiente impatto è da attribuirsi alla capacità di trasmissione del virus responsabile della rose rosette disease (RRD).

La dispersione ha luogo in seguito alla competizione per lo spazio e l'alimento oppure come strategia di difesa da organismi antagonisti (HUFFAKER *et al.*, 1969; HOWARD *et al.*, 1990; SABELIS e BRUIN, 1996; LAWSON-BALAGBO *et al.*, 2007; GALVÃO *et al.*, 2011) e l'entità della dispersione appare proporzionale alla densità di popolazione nel sito di origine (BERGH, 2001). Oltre a essere inclusi in piante o parti di piante destinate al commercio, gli eriofioidei si disperdono attivamente con le proprie zampe e passivamente mediante mezzi naturali. La loro capacità di locomozione consente spostamenti molto brevi e la foresia appare occasionale e scarsamente efficace (WAITE e McALPINE, 1992; DUFFNER *et al.*, 2001; GALVÃO *et al.*, 2012).

L'alta superficie specifica di questi acari (piccole dimensioni corporee rispetto allo sviluppo della superficie e setole spesso molte lunghe che ne incrementano la superficie esposta) consente loro di sfruttare le correnti aeree che rappresentano il più comune mezzo di dispersione (BARKÉ *et al.*, 1972; BERGH e MCCOY, 1997; ZHAO e AMRINE, 1997b; BERGH, 2001; DUFFNER *et al.*, 2001; GALVÃO *et al.*, 2012). Gli eriofioidei si predispongono ad allontanarsi dal substrato quando assumono una posizione eretta, facendo leva sui lobi anali, oppure formano una lunga catena di individui (*chaining*) in modo tale da essere maggiormente esposti all'azione del vento (GIBSON e PAINTER, 1957; KRANTZ, 1973; BERGH e MCCOY, 1997; DUFFNER *et al.*, 2001; OZMAN e GOOSLBY, 2005). Alcune osservazioni indicano che le correnti d'aria trasportano questi acari a media e lunga distanza (anche se apparentemente a bassa efficacia) e che gli eriofioidei sono dotati di una considerevole resistenza biologica a condizioni ambientali sfavorevoli (SCHLISSKE, 1977; DE LILLO e MONFREDA, 2004; ZHAO e AMRINE, 1997a). Altri dati, invece, indicano una ridotta distanza di dispersione, come nel caso di *A. malherbae* (125 m l'anno in Nord America) e *A. genistae* (al massimo 83,3 m l'anno in boschi della Nuova Zelanda) (PAYNTER *et al.*, 2012), e una scarsa resistenza alle condizioni ambientali avverse, come per *P. oleivora* (BERGH, 2001).

Comunque, le osservazioni riguardanti la resistenza degli eriofioidei a condizioni ambientali poco favorevoli sono piuttosto limitate e non conclusive. Un recente studio preliminare sulla resistenza a condizioni di stress, simulate in laboratorio, ha rilevato come *Cecidophyopsis hendersoni* (Keifer), vagante su foglie di *Yucca* sp., *Aceria caulobia* (Nalepa), prelevata da galle su germogli di *Suaeda vera* Gmel., e *Phytoptus avellanae* Nalepa, prelevato da gemme deformi di *Corylus avellana* L., siano potenzialmente in grado di resistere a lungo (anche fino a 6 a 7 settimane) in assenza di alimento, a bassa temperatura ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) e completamente immersi in acqua

(MONFREDA e DE LILLO, 2011). Queste condizioni sembrano simulare quelle che gli eriofioidei potrebbero trovare nell'atmosfera e, più in dettaglio, nelle nuvole dove si troverebbero completamente avvolti in masse di vapore o albergherebbero in goccioline di acqua in sospensione. Tenendo conto della stratificazione delle nuvole, è ragionevole supporre che gli eriofioidei potrebbero essere vitali quando sospesi al massimo ad altezze prossime a quelle corrispondenti a "quota 0°C ", all'incirca entro 1.000-4.500 m di altezza a seconda della stagione e della regione geografica. All'altitudine corrispondente a 0°C sono prevalenti le nuvole che danno origine a eventi piovosi favorendo anche la caduta degli eriofioidei su qualsiasi superficie. Questi dati sono in parte concordi con quelli derivati da osservazioni di campo e riportati da BERGH (2001) per *P. oleivora* in Florida, secondo il quale la longevità degli eriofioidei lontani dalla pianta ospite è ridotta a poche ore.

Combinando le informazioni finora disponibili, si potrebbe ipotizzare che gli eriofioidei siano sollevati da correnti aeree. Una parte di essi potrebbe essere trasportata a brevissima distanza. Una parte di essi potrebbe entrare in correnti ascensionali ed essere inclusa in masse di vapore (nubi) dove gli acari sarebbero protetti dal disseccamento e dall'insolazione diretta, ma dove devono resistere a basse temperature, minore disponibilità di ossigeno e assenza di alimento. Quest'ultima collocazione aerea potrebbe, però, consentire una maggiore persistenza nel tempo e una considerevole distanza di dispersione.

METODOLOGIE DI STUDIO

La messa a punto di metodologie di studio per la comprensione dei meccanismi che regolano la dispersione degli eriofioidei può fornire indicazioni utili per l'ottimizzazione delle strategie di lancio e consentire il monitoraggio e la valutazione della capacità di espansione dell'agente di controllo al fine di verificare la necessità di lanci supplementari e diversamente posizionati.

Il rilievo dei sintomi e delle popolazioni infeudate sulla pianta ospite possono consentire lo studio della dispersione mediante correnti aeree, determinando l'estensione dell'area infestata (PAYNTER *et al.*, 2012). Tuttavia, questo studio è piuttosto oneroso e l'intercettazione degli eriofioidei fluttuanti nell'aria difetta ancora di strumenti efficaci e validati. Le trappole ad acqua, come quelle utilizzate da ZHAO (2000) sono sembrate più efficaci (ZHAO e AMRINE, 1997b) per la grande superficie esposta ma richiedono una manutenzione, ispezione e raccolta giornaliera degli individui catturati, creando difficoltà operative e riducendone il campo di impiego.

La correttezza dell'applicazione delle tecniche per l'allestimento dei preparati da esaminare, l'accuratezza e completezza delle descrizioni morfometriche e iconografiche generate, le quali rimangono spesso le uniche disponibili in seguito alla scarsa conservabilità dei tipi, rimangono indispensabili (DE LILLO *et al.*, 2010; DE LILLO e SKORACKA, 2010). La perdita dei tipi è particolarmente rilevante per le più vecchie descrizioni di specie poco diffuse, soprattutto per la loro inadeguatezza dovuta a ragioni di carattere tecnico (microscopia) e a uno standard descrittivo non ancora maturo (DE LILLO *et al.*, 2010).

Purtroppo, la diagnosi molecolare non può ancora colmare queste lacune in quanto è ancora scarsamente utilizzata per l'identificazione degli eriofioidei, in generale, e quasi inapplicata per le specie associate alle piante infestanti (cfr. DE LILLO e SKORACKA, 2010; cfr. NAVAJAS e NAVIA, 2010). Negli eriofioidei, l'analisi del DNA non può sostituire l'indagine morfologica e i due approcci devono necessariamente essere complementari nel risolvere esiti controversi, co-specificità, sinonimie presunte o sospette, complessi di specie criptiche ed evidenziare le variabilità intraspecifiche delle popolazioni (GOOLSBY *et al.*, 2006; CAREW *et al.*, 2009; SKORACKA e DABERT 2009; SKORACKA *et al.*, 2012; MILLER *et al.*, 2013).

CONCLUSIONI

Il successo dell'applicazione degli eriofioidei nel controllo biologico classico delle piante invasive è favorito dalla combinazione di:

- caratteri morfologici che favoriscono la colonizzazione di spazi minuti naturalmente presenti o indotti sulla pianta ospite e la dispersione mediante correnti aeree;
- una biologia riproduttiva capace di favorire la colonizzazione di nuovi ospiti anche da parte di una sola fondatrice non inseminata;
- strategie per la sopravvivenza in condizioni ambientali avverse (mancanza di ospite elettivo, presenza di ospiti occasionali e/o alternativi, svernamento in siti protetti);
- una notevole specificità di infestazione per specie ospite e specializzazione degli organi infestati (con notevole effetto deprimente sulla produzione di biomassa e sulla riproduzione della pianta ospite).

Tra gli aspetti che richiedono approfondimenti di studio si possono includere quelli relativi alla comprensione dei meccanismi di interazione tra gli eriofioidei e le piante ospiti (interazione biochimica fine tra la pianta ospite e l'eriofioideo; meccanismi che regolano l'attrazione, l'accettazione e la repellenza delle piante ospiti verso gli eriofioidei; possibile co-evoluzione e spinte verso una speciazione), dei com-

portamenti di questi acari (strategie di sopravvivenza in relazione all'ospite, condizioni ambientali; dispersione; meccanismi genetici che intervengono nella bio-etologia degli eriofioidei), della genetica di questi acari.

RIASSUNTO

Il presente contributo analizza le principali caratteristiche morfologiche, biologiche ed ecologiche che rendono gli acari eriofioidei altamente efficaci nel controllo delle piante infestanti. Sono evidenziati i limiti e gli impedimenti per la raccolta e identificazione (specie criptiche, biotipi, descrizioni morfologiche insoddisfacenti, sinonimie sospette, raccolte occasionali, procedure per la raccolta e il monitoraggio) di questi acari. Inoltre, sono indicati gli aspetti che richiedono approfondimenti di indagine.

BIBLIOGRAFIA

- ATMER W., 1991 - *On the role of males*. - Anim. Behav., 41: 195-205.
- BARKÉ H.E., DAVIS R., HUNTER P.E., 1972 - *Studies on the peach silver mite Aculus cornutus (Acarina, Eriophyidae)*. - J. Georgia Entomol. Soc., 7: 171-178.
- BERGH J.C., 2001 - *Ecology and aerobiology of dispersing citrus rust mites (Acari: Eriophyidae) in central Florida*. - Environ. Entomol., 30: 318-326.
- BERGH J.C., MCCOY C.W., 1997 - *Aerial dispersal of citrus rust mite (Acari: Eriophyidae) from Florida citrus groves*. - Popul. Ecol., 26: 256-264.
- CAREW M.E., GOODISMAN M.A.D., HOFFMANN A.A., 2004 - *Species status and population structure of grapevine eriophyoid mites (Acari: Eriophyoidea)*. - Entomol. Exp. Appl., 111: 87-96.
- CHETVERIKOV P.E., CRISTOFARO M., DE LILLO E., PETANOVIĆ R.U., SCHAFFNER U., VIDOVIĆ B., 2012 - *New taxonomical data on Aceria acroptilon (Acari, Eriophyoidea), a potential biological control agent of the weed Acroptilon repens*. - Proc. II internat. Conf. «Modern zoological studies in Russia and adjacent countries». Novoye vremya Press, Cheboksary, Russia: 158-159.
- CULLEN J.M., MOORE A.D., 1983 - *The influence of three populations of Aceria chondrillae on three forms of Chondrilla juncea*. - J. Appl. Ecol., 20: 235-243.
- DE LILLO E., 1991 - *Preliminary observations of the ovoviviparity in the gall-making mite, Aceria caulobius (Nal.) (Acari: Eriophyoidea)*. In: The Acari: Reproduction, Development and Life-History Strategies, Schuster R. & Murphy P.W., Eds, Chapman & Hall, London, pp. 223-229.
- DE LILLO E., 2011 - *Acarocecidi della flora italiana (eriofioidei galligeni)*. - Atti Acc. Naz. It. Entomol., LVIII (2010): 73-83.
- DE LILLO E., MONFREDA R., 2004 - *«Salivary secretions» of eriophyoids (Acari: Eriophyoidea): first results of an experimental model*. - Exp. Appl. Acarol., 34: 291-306.
- DE LILLO E., SKORACKA A., 2010 - *What's "cool" on Eriophyoid Mites?* - Exp. Appl. Acarol., 51: 3-30.
- DUFFNER K., SCHRUF G., GUGGENHEIM R., 2001 - *Passive dispersal of the grape rust mite Calepitrimerus vitis Nalepa 1905 (Acari, Eriophyoidea) in vineyards*. - Anz. Schadl. (J. Pest Sci.), 74: 1-6.
- GALVÃO A.S., GONDIM M.G.C.Jr., DE MORAES G.J., MELO J.W.S., 2011 - *Distribution of Aceria guerreronis and Neoseiulus baraki among and within coconut*

- bunches in northeast Brazil. - Exp. Appl. Acarol., 54: 373-384.
- GALVÃO A.S., MELO J.W.S., MONTEIRO V.B., LIMA D.B., DE MORAES G.J., GONDIM M.G.C.Jr., 2012 - *Dispersal strategies of Aceria guerreronis (Acari: Eriophyidae), a coconut pest.* - Exp. Appl. Acarol., 57: 1-13.
- GIBSON W.W., PAINTER R.H., 1957 - *Transportation by aphids of the wheat curl mite, Aceria tulipae (K.), a vector of the wheat mosaic virus.* - J. Kans. Entomol. Soc., 30: 147-153.
- GOOLSBY J.A., DE BARRO P.J., MAKINSON J.R., PEMBERTON R.W., HARTLEY D.M., FROHLICH D.R., 2006 - *Matching the origin of an invasive weed for selection of a herbivore haplotype for a biological control programme.* - Mol. Ecol., 15: 287-297.
- HENTER H.J., 2003 - *Inbreeding depression and haplodiploidy: experimental measures in a parasitoid and comparisons across diploid and haplodiploid insect taxa.* - Evolution, 57: 1793-1803.
- HOWARD F.W., ABREU-RODRIGUEZ E., DENMARK H.A., 1990 - *Geographical and seasonal distribution of the coconut mite, Aceria guerreronis (Acari: Eriophyidae), in Puerto Rico and Florida, USA.* - J. Agric. Univ., 74: 237-251.
- HUFFAKER C.B., VAN DE VRIE M.J., MCMURTRY J.A., 1969 - *The ecology of Tetranychidae mites and their natural control.* - Ann. Rev. Entomol., 14: 125-174.
- KRANTZ G.W., 1973 - *Observations on the morphology and behavior of the filbert rust mite, Aculus comatus (Prostigmata: Eriophyoidea) in Oregon.* - Ann. Entomol. Soc. Am., 66: 709-714.
- LAWSON-BALAGBO L.M., GONDIM M.G.C.Jr., DE MORAES G.J., HANNA R., SCHAUSBERGER P., 2007 - *Refuge use by the coconut mite Aceria guerreronis fine scale distribution and association with other mites under the perianth.* - Biol. Control, 43: 102-110.
- LINDQUIST E.E., SABELIS M.W., BRUIN J. (Eds), 1996 - *Eriophyoid mites their biology, natural enemies and control.* Amsterdam, Elsevier Science Publishing. World Crop Pests, 6, xxxii + 790 pp.
- MATSUDA H., 1987 - *Conditions for the evolution of altruism.* In: Animal Societies. Theories and Facts, Ito Y., Brown J.L. & Kikkawa J., Eds, Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, pp. 67-80.
- MICHALSKA K., MAŃKOWSKI D.R., 2006 - *Population sex ratio in 3 species of eriophyid mites differing in degree of sex dissociation.* - Biol. Lett., 43: 197-207.
- MICHALSKA K., SKORACKA A., NAVIA D., AMRINE J.W.Jr., 2010 - *Behavioural studies on eriophyoid mites-an overview.* - Exp. Appl. Acarol., 51: 31-59.
- MILLER A.D., SKORACKA A., NAVIA D., DE MENDONCA R.S., SZYDŁO W., SCHULTZ M.B., SMITH C.M., TRUOL G., ARY A., HOFFMANN A.A., 2013 - *Phylogenetic analyses reveal extensive cryptic speciation and host specialization in an economically important mite taxon.* - Mol. Phyl. Evol., 66: 928-940.
- MONFREDA R., DE LILLO E., 2006 - *Attuali conoscenze sulle secrezioni salivari negli Acari Eriophyoidea.* - Atti Acc. Naz. It. Entomol., LIII (2010): 379-388.
- MONFREDA R., DE LILLO E., 2011 - *Saggi preliminari per lo studio della sopravvivenza degli acari eriophioidei a condizioni di stress potenzialmente correlate alla dispersione aerea.* - Proc. XXII Congr. Naz. It. Entomol., Genova, 13-16 giugno 2011: 188.
- NAVAJAS M., NAVIA D., 2010 - *DNA-based methods for eriophyoid mite studies: review, critical aspects, prospects and challenges.* - Int. J. Acarol., 51: 257-271.
- NAVIA D., FLECHTMANN C.H.W., AMRINE J.W.Jr., 2005 - *Supposed ovoviviparity and viviparity in the coconut mite, Aceria guerreronis Keifer (Prostigmata: Eriophyidae), as a result of female senility.* - Int. J. Acarol., 31: 63-65.
- OLDFIELD G.N., 1996 - *Diversity and Host plant specificity.* In: Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. Lindquist E.E., Sabelis M.W. & Bruin J., Eds, Elsevier, Amsterdam, World Crop Pests, 6, pp. 199-216.
- OLDFIELD G.N., 2005 - *Biology of gall-inducing Acari.* In: Biology, Ecology, and Evolution of Gall-inducing Arthropods. Raman A., Schaefer C.W. & Withers T.M., Eds, Science Publishers, Portland, OR, 1, pp. 35-57.
- OZMAN S.K., GOOLSBY J.A., 2005 - *Biology and phenology of the eriophyid mite Floracarus perrepae, on its native host in Australia, old world climbing fern Lygodium microphyllum.* - Exp. Appl. Acarol., 35: 197-213.
- PAYNTER Q., GOURLAY A.H., ROLANDO C.A. WATT M.S., 2012 - *Dispersal of the Scotch broom gall mite Aceria genistae: implications for biocontrol.* - N. Zeal. Pl. Prot., 65: 81-84.
- PETANOVIĆ R., KIELKIEWICZ M., 2010 - *Plant-eriophyoid mite interactions: cellular biochemistry and metabolic responses induced in mite-injured plants. Part I.* - Exp. Appl. Acarol., 51: 61-80.
- SABELIS M.W., BRUIN J., 1996 - *Evolutionary ecology; life history patterns, food plant choice and dispersal.* In: Eriophyoid mites. Their biology, natural enemies and control. Lindquist E.E., Sabelis M.W. & Bruin J., Eds, Elsevier, Amsterdam, World Crop Pests, 6, pp. 329-366.
- SCHLISSKE J., 1977 - *Ausbreitung und Wirtspflanzenkreis von Aculus fockeui Nal. et Trt. (Acari: Eriophyidae) und der mit ihr Vergesellschaften arten.* - Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent., 42: 1343-1351.
- SKORACKA A., DABERT M., 2009 - *The cereal rust mite Abacarus hystrix (Acari: Eriophyoidea) is a complex of species: evidence from mitochondrial and nuclear DNA sequences.* - Bull. Entomol. Res., 100: 263-272.
- SKORACKA A., KUCZYŃSKI L., 2012 - *Measuring the host specificity of plant-feeding mites based on field data - a case study of the Aceria species.* - Biologia, 67: 546-560.
- SKORACKA A., SMITH L., OLDFIELD G., CRISTOFARO M., AMRINE J.W.Jr., 2010 - *Host-plant specificity and specialization in eriophyoid mites and their importance for the use of eriophyoid mites as biocontrol agents of weeds.* - Exp. Appl. Acarol., 51: 93-113.
- SMITH L., DE LILLO E., AMRINE J.W.Jr., 2010 - *Effectiveness of eriophyid mites for biological control of weedy plants and challenges for future research.* - Exp. Appl. Acarol., 51: 115-149.
- SMITH R.H., SHAW M.R., 1980 - *Haplod sex ratios and the mutation rate.* - Nature 287: 728-729.
- STOEVA A., HARIZANOVA V., DE LILLO E., CRISTOFARO M., SMITH L., 2012 - *Laboratory and field experimental evaluation of host plant specificity of Aceria solstitialis, a prospective biological control agent of yellow starthistle.* - Exp. Appl. Acarol., 56: 43-55.
- WAITE G.K., MCALPINE J.D., 1992 - *Honeybees as carries of lichee erinose mite Eriophyes litchii (Acari: Eriophyidae).* - Exp Appl Acarol 15: 299-302.
- ZHAO S., 2000 - *Study of the dispersal and diversity of Eriophyoid Mites (Acari: Eriophyoidea).* - Ph. D. Dissertation, West Virginia University, Morgantown, USA, 141 pp.
- ZHAO S., AMRINE J.W.Jr., 1997a - *Investigation of snowborne mites (Acari) and relevancy to dispersal.* - Int. J. Acarol., 23: 209-213.
- ZHAO S., AMRINE J.W.Jr., 1997b - *A new method for studying aerial dispersal behaviour of eriophyoid mites (Acari: Eriophyoidea).* - Syst. & Appl. Acarol., 2: 107-110.

TRAIETTORIE EVOLUTIVE E DIAGNOSTICA DI SPECIE CRIPTICHE IN COLEOTTERI FITOFAGI SPECIALIZZATI

PAOLO AUDISIO (*) - GLORIA ANTONINI (*)

(*) *Dipartimento di Biologia e Biotecnologie "C. Darwin", Università di Roma "La Sapienza", via A. Borelli, 50 – 00161 Roma; e-mail: paolo.audisio@uniroma1.it - gloria.antonini@uniroma1.it*
Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali". Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 21 febbraio 2014.

Evolutionary pathways and cryptic species diagnostics in specialized phytophagous beetles

A short synthesis of the main evolutionary processes involving host-plants use by their specialized phytophagous insects, associated with use of prospective biological control agents of weeds, is presented. Several case studies are discussed, both from literature and from experiences carried out by the authors on different beetle groups (e.g., Chrysomelidae, Nitidulidae, Apionidae). Most available data suggest to use with extreme care even apparently highly specialized beetles in biological control of weeds, due to the widespread occurrence of host-shift in short - or medium- time perspectives, and to the frequently undetected presence of cryptic species. This combination of events makes the evolutionary pathways of each phytophagous beetle species and group extremely difficult to foresee.

KEY WORDS: Phytophagous beetles, cryptic species, evolution, host-plant shifts, biological control of weeds

INTRODUZIONE

Lo studio dei processi evolutivi degli insetti fitofagi e le possibili implicazioni nel controllo biologico delle piante infestanti non sono state frequentemente trattate con un approccio olistico. Nella maggior parte dei casi, infatti, sono stati approfonditi i fattori teorici e sperimentali che condizionano i processi (regolati geneticamente e fisiologicamente) di acquisizione di nuove piante ospiti da parte di un insetto fitofago specializzato (BERNAYS & CHAPMAN, 1994; FUNK *et al.*, 1995; GÓMEZ-ZURITA & GALIÁN, 2005), oppure è stata sperimentata in campo o in serra (BALLABENI & RAHIER, 2000) la propensione all'*host shift* di insetti specializzati ritenuti buoni candidati per il controllo biologico di specie aliene. Questa situazione è stata recentemente sottolineata anche da uno dei più noti biologi evolutivisti viventi, quando fa presente di sentirsi un vero e proprio outsider, nella prima occasione in cui gli viene richiesto un articolo di sintesi sulle sue ricerche evolutive sugli insetti fitofagi, nell'ambito di un convegno sul controllo biologico delle piante invasive (FUTUYMA, 1999).

In realtà è del tutto evidente come le due tematiche siano legate a filo doppio e una migliore combinazione dei due approcci all'interno di un medesimo gruppo di ricerca può certamente ottimizzare i protocolli e le procedure analitiche, le analisi dei dati e l'affidabilità dei risultati previsionali di tipo applicativo sul medio e lungo termine.

In queste pagine intendiamo quindi riassumere brevemente alcuni principi, termini e problematiche di biologia evolutivista che abbiano un maggiore impatto sia teorico, sia pratico, sulle effettive possibilità che un determinato insetto fitofago sia più confidentemente utilizzabile in entomologia applicata come agente di controllo biologico di piante infestanti. Ci occuperemo poi del problema rilevante della diagnostica delle specie criptiche negli insetti fitofagi specializzati, che può impattare in maniera considerevole su qualsiasi prospettiva applicativa degli stessi. Gli esempi presentati terranno conto di evidenze portate soprattutto dai Coleotteri. Faremo infine riferimento all'osservazione che le previsioni della biologia evolutivista si misurano soprattutto in tempi medio-lunghi (almeno centinaia o migliaia di anni), mentre le esigenze pratiche della biologia applicata tendono inevitabilmente a privilegiare le prospettive di brevissimo e breve termine (decine di anni).

SPECIE, SEMISPECIE, BIOTIPI, ESUS & HOST-RACES

La letteratura scientifica evidenzia con una certa chiarezza come sia spesso difficile, soprattutto quando si abbia a che fare con insetti fitofagi, separare una serie di concetti quali appunto quelli di specie biologica, sottospecie, semispecie, *host-race*, biotipo, ESUs, che in molti casi rappresentano solo elementi di uno stesso *continuum* evolutivo che unisce gruppi

di individui appena differenziati geneticamente o ecologicamente da un lato, a specie biologiche distinte e ben riconoscibili come tali all'estremo opposto (DRÉS & MALLET, 2002).

Il concetto di biotipo, soprattutto nella sua accezione comunemente utilizzata in biologia applicata, identifica perlopiù casi di gruppi di individui o di popolazioni che localmente sembrano essersi infedati in modo selettivo e preferenziale su una pianta ospite differente da quella normalmente utilizzata dalla specie (DIEHL & BUSH, 1984). In realtà questo concetto include spesso sia legami generici ed informazioni empiriche sulle relazioni insetto specializzato-pianta ospite, sia relazioni ben studiate anche sotto il profilo genetico e biochimico, in cui il legame sia associato ad un riconosciuto determinismo su base molecolare e fisiologica, che possa identificare dei “veri” biotipi (CLARIDGE & HOLLANDER, 1983; KIRSCH *et al.*, 2011). Si tratta quindi di un concetto di uso abbastanza eterogeneo, che spesso nasconde semplicemente la mancanza di informazioni di dettaglio sia sulla base genetica del fenomeno in osservazione, sia sulla sua effettiva fissazione a livello intra- e interpopolazionale. In insetti fitofagi oligofagi o moderatamente polifagi sono oltre tutto molto diffusi i casi di popolazioni locali che vanno incontro al così detto fenomeno dell'alotrofia, ovvero l'apparente associazione preferenziale o esclusiva di popolazioni locali ad una pianta ospite diversa da quelle tipicamente riconosciute, probabilmente dovuta a fattori del tutto occasionali (in genere riferibili all'espressione di semplici potenzialità naturali di spettro trofico all'interno di entità non molto specializzate). Questo fenomeno può quindi rappresentare un'ulteriore complicazione nella corretta definizione di biotipo.

Il concetto di *host-race* (ovvero di razza legata all'ospite) ha un'applicazione pure non univoca, sebbene l'elemento distintivo caratterizzante rispetto al biotipo sia piuttosto chiaro: la simpatria o perfino sintopia di due o più *host-race* di una medesima presunta specie di fitofago in uno stesso ambito territoriale, ciascuna sulla propria caratteristica pianta ospite (JAENIKE, 1981; DRÉS & MALLET, 2002). Anche in questo caso si possono peraltro sovrapporre fenomeni diversi; in alcuni casi si presuppone il posizionamento di una *host-race* in un punto di un percorso evolutivo che, con l'effettivo o postulato intervento di scenari di speciazione simpatica, possano condurre infine al differenziamento specifico delle entità coinvolte (BUSH & HOWARD, 1986; DRÉS & MALLET, 2002). Oppure, in altri casi, il concetto sottende in realtà una grossolana carenza di informazioni su base sia morfologica sia molecolare, che potrebbero dimostrare in modo incontrovertibile come la soglia di differenziamento specifico delle

entità in studio sia stata in realtà già ampiamente raggiunta, magari nell'ambito di pregressi e più tradizionali scenari di speciazione allopatrica o parapatica (PAYNE & BERLOCHER, 1995; DE BIASE *et al.*, 2012).

Il termine di ESU (*Evolutionarily Significant Unit*) è stato introdotto in tempi relativamente recenti, in contesti legati alla genetica della conservazione (MORITZ, 1994; CONNER & HARTL, 2004), per definire entità biologiche ecologicamente o geneticamente differenziate, che sembrano comunque rappresentare delle unità evolutivamente discrete. Nelle ESU almeno uno dei seguenti criteri dovrebbe essere rispettato: evidenza di un certo differenziamento geografico; evidenza di un certo differenziamento genetico in geni neutrali, a causa di passati eventi di parziale riduzione del flusso genico; comparsa di caratteri distintivi su base ecologica o adattativa. Anche in questo caso, sebbene le soglie di differenziamento a livello genetico e molecolare rispetto alla specie di riferimento siano di norma almeno in parte note, risulta spesso difficile valutare in modo univoco il significato biologico (e le ricadute tassonomiche) di tale differenziamento, o la sua potenziale ricaduta in prospettiva di biologia applicata. Inoltre, è evidente come anche concetti quali “sottospecie” o “razze biologiche” possano agevolmente rientrare nella sfera di questa definizione.

Per quanto riguarda lo stesso concetto di specie, anche l'esistenza di un elevato numero di differenti definizioni ha un'influenza piuttosto rilevante per la valutazione complessiva del differenziamento (intra)specifico di un fitofago specializzato. Al momento sono in effetti riconosciuti una trentina di diversi concetti (o, meglio, “concezioni”) di specie (WILEY, 1977, 1981; WILEY & MAYDEN, 2000; WILKINS, 2011; KENDIG, 2014). Quali di questi risultano meglio applicabili agli insetti fitofagi?

Probabilmente il concetto più rispondente è il così detto “*evolutionary species concept*”, introdotto originariamente da SIMPSON (1961) e successivamente più volte rifinito e riformulato da altri autori (WILEY, 1977, 1981; WILEY & MAYDEN, 2000; De QUEIROZ, 2007; SHUN-ICHIRO, 2011; WILKINS, 2011). Questo concetto, nella sua formulazione più condivisa, definisce una specie semplicemente come “*A lineage (an ancestral–descendent sequence of populations) evolving separately from others and with its own unitary evolutionary role and tendencies*” (SIMPSON, 1961), o come “*A population or group of populations that shares a common evolutionary fate through time*” (TEMPLETON, 1989).

Risulta piuttosto evidente come organismi che per il completamento del loro ciclo riproduttivo siano legati a filo doppio ad un determinato ospite (come nel caso di insetti fitofagi specializzati) si trovino già

in una pre-condizione favorevole per l'avvio o la prosecuzione di un tale cammino evolutivo indipendente, di cui proprio la stretta associazione parassita/ospite diventa un punto nodale. Il punto debole di questa visione, soprattutto in una prospettiva di biologia applicata, è d'altra parte rappresentato dalla difficoltà di prevedere l'effettivo destino di una simile traiettoria evolutiva, che potrebbe consentire in tempi medio-lunghi sia un consolidamento del rapporto biunivoco parassita/ospite, sia il ritorno del parassita ad un ospite diverso in precedenza già colonizzato da un antenato dello stesso, sia lo *shift* del parassita verso nuovi ospiti non sperimentati né acquisiti in precedenza da alcun antenato comune.

Per questo motivo lo studio dei meccanismi di acquisizione di nuove piante ospiti in un fitofago specializzato è un fattore essenziale del sistema; non solo comprendendone le dinamiche evolutive, ma soprattutto valutando quanto il fenomeno dell'*host-shift* sia frequente e diffuso. Di questo ci occuperemo pertanto nel capitolo seguente.

COEVOLUZIONE O ECOLOGICAL SHIFT RICORRENTI?

Nella vasta letteratura dei rapporti piante ospiti/insetti fitofagi il modello coevolutivo occupa da sempre un ruolo di particolare suggestione (EHRlich & RAVEN, 1964; THOMPSON, 1988; PROCTOR *et al.*, 1996; MCKENNA *et al.*, 2009), e numerosi sono i casi più volte citati e particolarmente simbolici che evidenziano la diffusione di percorsi coevolutivi. Ci siamo occupati nel dettaglio di questo fenomeno alcuni anni or sono (AUDISIO, 1997); in questa sede ci limitiamo a ricordare come la coevoluzione, almeno come fenomeno di scala temporale estesa, pare piuttosto l'eccezione e non la regola. Infatti, una serie imponente di evidenze provenienti dalla maggior parte dei gruppi di insetti fitofagi specializzati suggerisce come le traiettorie evolutive di questi ultimi si intersechino (a livello specie-specifico) di norma solo per periodi relativamente limitati di tempo con quello di una determinata pianta ospite, almeno quando i rapporti siano quelli tipici tra un fitofago "parassita" e una pianta ospite "parassitata" (a livello macroevolutivo i rapporti "coevolutivi" tra un gruppo di insetti e uno di piante possono invece prolungarsi anche per decine di milioni di anni: MCKENNA *et al.*, 2009). La coevoluzione sembra infatti innescarsi in modo ricorrente quasi solo quando i rapporti tra i due contraenti siano di tipo mutualistico, ovvero quando entrambi i membri trovino evidente giovamento dalla loro relazione (in particolare quando si instaurino relazioni di impollinazione obbligata e specializzata, che spingano insetto fitofago e vegetale in una sorta di "vortice coevolutivo", spesso

in grado di sfociare in un vero e proprio "*cul de sac*" evolutivo: AUDISIO, 1997). Nel normale percorso evolutivo tra fitofagi specializzati e le loro piante ospiti, infatti, sembrano piuttosto intervenire con una notevole facilità e ricorrenza fenomeni di "*host shift*", che tendono a mutare in continuazione il quadro relazionale, consentendo nei fitofagi continui cambi di passo tra fenomeni di speciazione e di specializzazioni estreme, acquisizioni (talvolta anche inattese) di nuove piante ospiti, e capacità di ricolonizzazione retrograda di piante ospiti in precedenza già sperimentate da antenati comuni della specie in studio.

Tra gli innumerevoli esempi, basti ricordare il caso, per decenni intensamente studiato da Futuyma e collaboratori (FUTUYMA & MCCAFFERTY, 1990; FUTUYMA *et al.*, 1993, 1994, 1995; FUNK *et al.*, 1995; FUTUYMA, 1999), dei Crisomelidi Galerucini nearctici del genere *Ophraella*, associati ad Asteraceae (LESAGE, 1986). In questo gruppo, evidenze combinate molecolari e morfologiche mostrano con chiarezza proprio la continua alternanza di fenomeni di isolamento, specializzazione, *host-shift* e riespansione dell'ampiezza di nicchia e dell'areale geografico delle diverse specie all'interno del genere. Fenomeni evolutivamente di grande interesse, ma poco rassicuranti (per l'elevato livello di imprevedibilità) in prospettiva di utilizzo di questi Coleotteri nel controllo biologico delle piante infestanti. In particolare, nella serie di lavori citati viene evidenziato come anche specie in apparenza molto specializzate e apparentemente monofaghe possano in realtà sottendere delle potenzialità genetiche di facile utilizzo di altre piante ospiti già sperimentate da qualche antenato comune, in caso di assenza o riduzione di presenza della normale pianta ospite. In sostanza, la ricorrenza di *host shift* (primario o secondario) sembra la regola, piuttosto che l'eccezione, sia in casi di specializzazione/speciazione, sia nel caso inverso di riadattamento/generalizzazione. Questa serie di lavori riveste oltre tutto un ruolo di particolare e attuale interesse applicativo anche in Italia, a seguito della recente introduzione accidentale di *Ophraella communa* LeSage, 1986 nel Nord Italia (BOSIO *et al.*, 2014); questa specie potrebbe infatti svolgere un ruolo rilevante come agente di controllo della pianta infestante di origine Nearctica *Ambrosia artemisiifolia* L. in Europa meridionale, ma i suoi potenziali effetti collaterali a danno di altre Asteraceae autoctone sono tutti da esplorare.

Esempi analoghi possono essere desunti anche da altri Coleotteri specializzati, ad esempio nei Nitidulidi Meligetini (AUDISIO, 1983). In un caso studiato più recentemente (AUDISIO, 1993 e dati inediti) sono state analizzate tutte le almeno sette specie del genere *Lamiogethes* rinvenute in sintopia in Turchia set-

tentrionale (Catena Pontica orientale), e associate allo stadio larvale alla comune pianta ospite *Lamium album* L. (Lamiaceae). Tutte le specie sintopiche, ad eccezione di due (che manifestano peraltro areali geografici del tutto eccentrici), non sono infatti *sister species*; le *sister species* di ciascuna entità presente in sintopia si trovano infatti su altre specie del genere *Lamium*, anche nella stessa area geografica, fornendo una chiara evidenza di come i fenomeni speciativi in questo gruppo siano fortemente legati proprio a ripetuti *host shift* su nuove piante ospiti più o meno affini. Ciò sembra essere avvenuto in aree geografiche spesso marginali rispetto all'areale della specie di origine, in un quadro evolutivo particolarmente compatibile con modelli speciativi di tipo parapatrio e peripatrio, piuttosto che simpatrio.

Anche a livello macroevolutivo gli *host-shift* sembrano essere ricorrenti in numerosi gruppi di fitofagi, come ad esempio recentemente dimostrato da GÓMEZ-ZURITA *et al.* (2007) nell'evoluzione indipendente dei Crisomelidi Ispini e Criocerini sulle Monocotiledoni.

LA SEQUENZA DI EVENTI NELL'ACQUISIZIONE DI NUOVE PIANTE OSPITI

La sequenza di eventi che tipicamente sono coinvolti nel processo di acquisizione di una nuova pianta ospite da parte di un fitofago specialista è stata così riassunta in una serie di importanti contributi (BERNAYS & CHAPMAN, 1994; FUTUYMA & McCAFFERTY, 1990; FUTUYMA *et al.*, 1993, 1994, 1995; PANDA & KHUSH, 1995):

1. la pianta ospite "normale" risulta o diviene localmente rara;
2. interviene un adattamento comportamentale ("preferenza forzata") nella scelta di un nuovo ospite alternativo compatibile (attrattività a livello di pre-ingestione o ovideposizione); gli allelochimici delle piante hanno in questa fase un ruolo di deterrenti per i fitofagi generalisti, mentre sono spesso attrattivi per gli specialisti;
3. intervengono adattamenti fisiologici nell'uso della nuova risorsa a livello di consumazione da parte delle larve;
4. intervengono infine adattamenti fisiologici nell'uso della nuova risorsa a livello post-ingestione ("performance", efficienza di conversione della risorsa in biomassa della larva).

Per quanto riguarda lo scenario evolutivo d'insieme, possiamo invece ritenere validi i seguenti assunti, desunti da numerosi casi di studio (FUTUYMA *et al.*, 1995; FUTUYMA, 1999):

I caratteri genetici che controllano gli adattamenti comportamentali della "preferenza" e della "per-

formance" sono di norma distinti (differenti loci genici coinvolti); l'adattamento ad una nuova pianta ospite spesso non comporta il crollo di "performance" sulla pianta ospite normale, ovvero esiste una sorta di "memoria adattativa" o, se preferiamo, di plesiofisiologia adattativa, conservata geneticamente; il ritorno sulla pianta ospite ancestrale è quindi più facile rispetto all'acquisizione di una pianta ospite del tutto nuova; per prevedere la possibilità di espansione di un fitofago specializzato su nuove piante ospiti è quindi indispensabile conoscerne le relazioni filogenetiche con le specie affini, e conoscere le piante ospiti di queste. Il quadro adattativo generale può manifestarsi sia attraverso scenari di speciazione simpatrica, sia attraverso scenari, probabilmente molto più frequenti, di speciazione parapatrica o peripatrica.

LE SPECIE CRIPTICHE NEGLI INSETTI FITOFAGI

In moltissimi gruppi di insetti fitofagi specializzati, buona parte delle morfospesie apparentemente riconoscibili sottendono in realtà due o più specie biologiche, frequentemente associate a piante ospiti differenti, fenologia differente, e altri indizi su base ecologica e comportamentale, talvolta anche in associazione con modelli speciativi che coinvolgono selezione sessuale e mimetismo (BELTRAND *et al.*, 2002; GIRALDO *et al.*, 2008; MALLETT, 2008), che consentono abbastanza spesso ai tassonomi specialisti di sospettarne l'esistenza. Si può quindi tentare di identificare e stabilire una soglia di "specific gap" molecolare tra supposte specie criptiche, *host-races*, semi-specie o ESU in insetti fitofagi?

I sostenitori del DNA barcoding (HEBERT *et al.*, 2003) ritengono che un valore di *p-distance* intorno al 2-3 % di differenziamento nucleotidico possa rappresentare una buona soglia generale di differenziamento a livello interspecifico, sebbene non risulti sempre affidabile quando l'origine delle specie in studio sia molto recente. Abbiamo messo alla prova questa ipotesi su un gruppo di piccoli Coleotteri Nitidulidae Meligethinae, il gruppo di specie di *Brassicogethes coracinus* (Sturm), tutte associate per lo sviluppo larvale a fiori di Brassicaceae, sul quale abbiamo impostato una lunga ricerca multimetodo (su base morfologica, ecologica e molecolare) a partire dalla fine degli anni '80 del secolo scorso (AUDISIO & SPORNRAFT, 1990).

Il gruppo comprendeva a quel tempo tre sole specie europee riconosciute, *Brassicogethes coracinus* (Sturm, 1845), *B. fulvipes* C. Brisout de Barneville, 1863) e *B. subaeneus* (Sturm, 1845), con una quarta entità descritta di Turchia orientale, *B. longulus* (Schilsky, 1894), alternativamente ritenuta una forma distinta

o un potenziale sinonimo di *coracinus* (AUDISIO, 1993). Su base morfologica ed ecologica sono state subito individuate con certezza (AUDISIO & SPORNAFT, 1990; AUDISIO *et al.*, 2001a, 2001b) almeno altre due entità distinte, descritte e formalizzate negli anni seguenti [*B. matronalis* (Audisio & Spornraft, 1990), e *B. erysimicola* (Audisio & De Biase, 2001)]. In seguito, l'utilizzo combinato di evidenze molecolari, ecologiche e morfologiche ha consentito di confermare la piena validità specifica di *B. longulus*, e di identificare nelle aree euro-anatolico-centrasiatriche (AUDISIO *et al.*, 2005a, 2005b, 2006, 2011; MANCINI *et al.*, 2008; DE BIASE *et al.*, 2012) almeno altre 8 entità specificamente distinte [tutte monofaghe o strettamente oligofaghe, caratterizzate da piante ospiti differenti; *B. cristofaroi* (Audisio & De Biase, 2005); *B. thalassophilus* (Audisio & De Biase, 2005); *B. arankae* (Audisio & De Biase, 2005); *B. epeirosi* (Audisio, De Biase & Mancini, 2006); *B. cantabricus* Audisio & Cline, 2011, *B. capannai* Audisio & Cline, 2011, *B. coracimimus* Audisio & Cline, 2011, *B. gloriae* Audisio & Cline, 2011], portando a 14 le specie complessive del gruppo, a cui se ne sta per aggiungere una quindicesima attualmente in descrizione (AUDISIO *et al.*, dati in corso di pubblicazione). In DE BIASE *et al.* (2012) è stata recentemente pubblicata una sintesi grafica e tabulare del differenziamento genetico tra tutte le entità note, in cui si può evidenziare una situazione alquanto complessa, con un certo numero combinato di “falsi negativi” e “falsi positivi” molecolari, ovvero specie biologiche ben riconoscibili ecologicamente e morfologicamente che sembrano condividere sequenze nucleotidiche praticamente identiche, alternate a specie univocamente riconoscibili su base morfologica che, nell'ambito del loro areale, evidenziano invece differenziamenti genetici interpopolazionali al di là della soglia del 2-3 % ipotizzata da HEBERT *et al.* (2003). Questo esempio, apparentemente paradossale, ma in realtà simbolo di una situazione evolutiva ricorrente anche in molti altri gruppi, consente di poter affermare che neppure analisi molecolari raffinate possono sempre evidenziare la sussistenza di specie criptiche negli insetti fitofagi specializzati. Questa evidenza lascia dunque aperta un'ulteriore finestra di incertezza e di imprevedibilità nella valutazione dell'affidabilità operativa di specie fitofaghe in programmi di controllo biologico di specie vegetali invasive.

Abbiamo recentemente testato la situazione, questa volta proprio in chiave applicativa, anche su un altro gruppo di Coleotteri, i Crisomelidi Alticini del genere *Psylliodes*, nel quale un complesso di specie Ovest-Paleartiche, quello di *Psylliodes chalconeris* (Illiger, 1807), include una piccola serie di entità, in alcuni casi di incerto valore specifico, associate perlopiù

ad Asteraceae. Queste specie sono state scelte come target di sperimentazione per individuare un potenziale agente biologico di controllo di *Centaurea solstitialis* L., 1753, carducea di origine irano-anatolica che è divenuta da anni una pericolosa infestante di ambienti naturali e seminaturali prativi degli stati Uniti centro-meridionali. In questo piccolo gruppo si è potuto dimostrare come almeno una delle entità riconosciute tassonomicamente, *Psylliodes hyosbyami* (Linnaeus, 1758), monofaga associata in modo piuttosto “asimmetrico” a *Hyosbyamus niger* (Linnaeus, 1753) (Solanaceae), sia molecolarmente appena più distinguibile rispetto ad una serie di presunti “biotipi” identificabili su base esclusivamente ecologica all'interno di *Psylliodes chalconeris*, e localmente associati a generi diversi di Asteraceae Cardueae (DE BIASE *et al.*, 2005 e dati inediti; GASKIN *et al.*, 2011). Anche in questo gruppo, dunque, evidenze di differenziamento specifico su base morfologica ed ecologica non sembrano essere supportate in modo univoco dai dati molecolari, a causa verosimilmente di una tempistica della speciazione che fa riferimento a eventi troppo recenti per avere consentito ricadute chiare e stabili anche in termini di differenziamento genetico.

ALTRI RISCONTRI MOLECOLARI IN CHIAVE APPLICATIVA

Malgrado i limiti appena evidenziati, altri riscontri molecolari possono comunque rivelarsi di grande importanza in chiave applicativa. Uno degli esempi più significativi in questa direzione è costituito da analisi molecolari che siano in grado di rilevare i livelli di variabilità genetica all'interno di specie monofaghe ritenute potenziali candidate per il controllo biologico di specie infestanti. L'eventuale individuazione di livelli molto bassi di variabilità genetica intraspecifica in un fitofago monofago costituisce infatti una delle migliori garanzie teoriche per il suo positivo utilizzo nel controllo biologico della propria pianta ospite. Sempre nell'ambito dell'individuazione di agenti specifici di controllo di *Centaurea solstitialis*, abbiamo ad esempio trovato livelli estremamente bassi di variabilità genetica intraspecifica (ANTONINI *et al.*, 2008 e dati inediti) in una specie monofaga di Coleoptera Apionidae, *Ceratapion basicorne* (Illiger, 1807), originaria delle aree anatoliche e appunto monofaga su *C. solstitialis* (SMITH *et al.*, 2006; BALCIUNAS & KOROTYAEV, 2007). Questi dati rappresentano quindi un ottimo requisito per l'effettivo utilizzo applicativo della specie in studio.

Più in generale, la combinazione virtuosa di una specie verificata sul campo e in serra come stretta-

mente monofaga, della sua provenienza da un'area geografica ristretta, e della sua bassissima variabilità genetica intraspecifica, può quindi essere considerata una condizione ottimale per avviare programmi di utilizzo di insetti fitofagi specializzati in controllo biologico delle infestanti con buone prospettive di successo e minimizzati rischi di indesiderati *host-shift*.

CONCLUSIONI

Il messaggio finale che proviene dalla letteratura evoluzionistica sugli insetti fitofagi è dunque il seguente: 1) benché la tempistica del fenomeno di eventuale *host-shift* possa variare da poche a centinaia di generazioni, non possiamo prevedere in alcun modo le potenzialità di scelta o accettazione improvvisa di piante ospiti da parte di un fitofago specializzato, soprattutto quando questo si trovi in condizioni marginali del proprio areale, e con disponibilità irregolare o ridotta della propria normale pianta ospite; ciò è valido a maggior ragione anche per insetti appositamente introdotti in nuovi contesti geografici per finalità di controllo di *weeds*; 2) è comunque fondamentale studiare attentamente la storia evolutiva di ciascuna specie all'interno di un gruppo di fitofagi più o meno specializzati, per ricostruirne il percorso evolutivo e le relazioni pregresse con le piante ospiti, fortemente indicative anche delle potenzialità future di adattamento; 3) i percorsi coevolutivi apparentemente biunivoci tra fitofago specializzato e pianta ospite possono essere tali per finestre temporali di breve o breve-medio termine, ma si esprimono quasi sempre in potenziali o effettivi *host-shift*, talora anche di dimensioni "filogeneticamente" (in campo vegetale) inattese, se proiettati in una prospettiva di medio o lungo termine; 4) non sempre le metodologie di analisi molecolari sono in grado di risolvere e rilevare in modo univoco l'effettivo differenziamento specifico di specie criptiche di insetti fitofagi specializzati, almeno nei casi di eventi speciativi molto recenti (poche decine di migliaia o poche centinaia di migliaia di anni); sebbene anche il caso inverso (specie criptiche ben identificabili su base molecolare, ma neppure sospettate su base morfologica) sia un fenomeno abbastanza ricorrente; 5) per minimizzare i rischi di indesiderati e inattesi *host-shift* in prospettive di controllo biologico, è fondamentale utilizzare specie di insetti fitofagi non solo strettamente monofaghe, ma con areale geografico il più possibile ristretto, relazioni filogenetiche ben note con le specie vicine, e con ridottissima variabilità genetica intraspecifica.

BIBLIOGRAFIA

- ANTONINI G., AUDISIO P., DE BIASE A., MANCINI E., RECTOR B.G., CRISTOFARO M., BIONDI M., KOROTYAEV B.A., BON M.C., SMITH L., 2008 - *The importance of molecular tools in classical biological control of weeds: two case studies with yellow starthistle candidate biocontrol agents*. In: Julien, M.M., Sforza, R., Bon, M.C., Evans, H.C., Hatcher, P.E., Hinz, H.L. and Rector, B.G. (eds) - Proceedings of the XII International Symposium on Biological Control of Weeds, Montpellier, France. CAB International, Wallingford, pp. 263-269.
- AUDISIO P., 1983 - *Il problema della speciazione in forme simpatriche del genere Meligethes Steph. (Coleoptera, Nitidulidae)*. - Atti XII Congresso nazionale italiano di Entomologia, Roma, 1980, 2: 11-20.
- AUDISIO P., 1993 - *Coleoptera Nitidulidae - Kateretidae*. Fauna d'Italia, vol. 32, Calderini ed., Bologna, XVI + 971 pp.
- AUDISIO P., 1997 - *I meccanismi riproduttivi delle piante mediate dagli insetti: un esempio di coevoluzione ?* - XXIII Seminario sulla Evoluzione Biologica e i grandi problemi della Biologia, Contributi del Centro Linceo Interdisciplinare "B. Segre", Accademia Nazionale dei Lincei, Roma, 95: 205-226.
- AUDISIO P., BELFIORE C., DE BIASE A., ANTONINI G., 2001a. - *Identification of Meligethes matronalis Audisio and Spornraft, 1990 and M. subaeneus Sturm, 1845, based on morphometric and bionomic characters (Coleoptera: Nitidulidae)*. - European Journal of Entomology, 98: 87-97.
- AUDISIO P., CLINE A.R., MANCINI E., TRIZZINO M., AVGIN S.S., DE BIASE A., 2011 - *Four new Palaearctic Brassicogethes (Coleoptera, Nitidulidae, Meligethinae), and phylogenetic inference on the B. coracinus group*. - Rendiconti Lincei, 22: 235-268. Springer, doi: 10.1007/s12210-011-0126-4.
- AUDISIO P., DE BIASE A., ANTONINI G., BELFIORE C., OLIVERIO M., 2001b - *Morphological, molecular, and ecological evidence of a new Euro-Anatolian species of the Meligethes coracinus complex (Coleoptera: Nitidulidae)*. - Insect Systematics and Evolution, 31: 361-385.
- AUDISIO P., DE BIASE A., ANTONINI G., MANCINI E., 2005b - *Two new Meligethes of the M. coracinus complex from southern Europe (Coleoptera, Nitidulidae, Meligethinae)*. - Fragmenta entomologica, 37 (1): 65-89.
- AUDISIO P., DE BIASE A., ANTONINI G., MANCINI E., ÖZBEK H., GULTEKIN L., 2005° - *Redescription and natural history of Meligethes longulus Schilsky, 1894, and provisional revision of the M. coracinus species-complex (Coleoptera, Nitidulidae, Meligethinae)*. - Italian Journal of Zoology, 72: 73-85.
- AUDISIO P., MANCINI E., DE BIASE A., 2006 - *A new species of the pollen-beetle genus Meligethes (Coleoptera: Nitidulidae) of the M. aeneus group from Greece, with review of the M. subaeneus complex*. - Zootaxa, 1275: 43-60.
- AUDISIO P., SPORNRAFT K., 1990 - *Taxonomie, Ökologie und Verbreitung von Meligethes coracinus auctt. mit Beschreibung einer neuen Art (Coleoptera: Nitidulidae)*. - NachrBl.bayer.Ent., 39 (3): 70-75.
- BALCIUNAS J.K., KOROTYAEV B. 2007 - *Larval densities and field hosts of Ceratapion basicorne (Coleoptera: Apionidae) and its relatives, feeding on thistles in the eastern Mediterranean and Black Sea regions, with an illustrated key to the adults*. - Environmental Entomology, 36(6): 1421-1429.

- BALLABENI P., RAHIER M. 2000 - *Performance of leaf beetle larvae on sympatric host and non-host plants*. - *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 97: 175-181.
- BELTRÁN M., JIGGINS C.D., BULL V., McMILLAN W.O., BERMINGHAM E., MALLETT J., 2002 - *Phylogenetic discordance at the species boundary: gene genealogies in Heliconius butterflies*. - *Molecular Biology and Evolution*, 19: 2176-2190.
- BERNAYS E.A., CHAPMAN R.F., 1994 - *Host-plant selection by phytophagous insects*. Chapman & Hall Inc., New York.
- BOSIO G., MASSOBRIO V., CHERSI C., SCAVARDA G., CLARK S., 2014 - *Spread of the ragweed leaf beetle, Ophraella communa LeSage, 1986 (Coleoptera Chrysomelidae), in Piedmont Region (northwestern Italy)*. - *Bollettino della Società entomologica italiana*, DOI: <http://dx.doi.org/10.4081/BollettinoSEI.2014.17>
- BUSH G. L., HOWARD D. J. 1986 - *Allopatric and non-allopatric speciation: assumptions and evidence*. In: *Evolutionary processes and theory*, (ed.) S. Karlin & E. Nevo, New York: Academic Press, pp. 411-438.
- CLARIDGE M.F., DEN HOLLANDER J. 1983 - *The biotype concept and its application to insect pests of agriculture*. - *Crop Protection*, 2: 85-95.
- CONNER J., HARTL D., 2004 - *A Primer of Ecological Genetics*. Sinauer Associates, Sunderland, MA, 304 pp.
- CRISTOFARO M., DE BIASE A., SMITH L., 2013 - *Field release of a prospective biological control agent of weeds, Ceratopis basicorne, to evaluate potential risk to a nontarget crop*. - *Biological Control*, 4 (3): 305–314.
- DE BIASE A., ANTONINI G., MANCINI E., TRIZZINO M., CLINE A.R., AUDISIO P., 2012- *Discordant patterns in the genetic, ecological, and morphological diversification of a recently radiated phytophagous (Coleoptera: Nitidulidae: Meligethinae)*. - *Rendiconti Lincei*, 23: 207-215. DOI: 10.1007/s12210-012-0174-4.
- DE BIASE A., AUDISIO P., ANTONINI G., MANCINI E., CRISTOFARO M., 2005 - *Variabilità genetica e tassonomia molecolare di Psylliodes chalcomerus (Coleoptera, Chrysomelidae, Alticinae), potenziale agente per il controllo biologico di Centaurea solstitialis L.* - *Proceedings del XX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia*, Perugia-Assisi, Italy, June 13–18, 2005, p. 386.
- DE QUEIROZ K., 2007 - *Species Concepts and Species Delimitation*. - *Systematic Biology*, 56(6): 879–886.
- DIEHL S.R., BUSH G. L., 1984 - *An evolutionary and applied perspective of insect biotypes*. - *Annual Review of Entomology*, 29: 471-504.
- DRES M., MALLETT J., 2002 - *Host races in plant-feeding insects and their importance in sympatric speciation*. - *Philosophical Transactions of the Royal Society, London B*, 357, 1420: 471-492.
- EHRlich P.R., RAVEN P.H., 1964- *Butterflies and plants: a study in coevolution*. - *Evolution*, 18: 586-608.
- FUNK D.J., FUTUYMA D.J., ORTÍ G., MEYER A., 1995 - *Mitochondrial DNA sequences and multiple data sets: a phylogenetic study of phytophagous beetles (Chrysomelidae: Ophraella)*. - *Molecular Biology and Evolution*, 12(4): 627-640.
- FUTUYMA D.J., 1999 - *Potential Evolution of Host Range in Herbivorous Insects. The Host specificity testing of exotic Arthropods Biological Control Agents: the Biological basis for improvement in safety*. - X International Symposium on Biological Control of Weeds, Bozeman, Montana, USA: July 4-14, 1999, pp. 42-53.
- FUTUYMA D.J., KEESE M.C., FUNK D.J., 1995 - *Genetic constraints on macroevolution: the evolution of host affiliation in the leaf beetle genus Ophraella*. - *Evolution*, 49: 797-809.
- FUTUYMA D.J., KEESE M.C., SCHEFFER S.J., 1993 - *Genetic constraints and the phylogeny of insect-plant associations: responses of Ophraella communa (Coleoptera: Chrysomelidae) to host plants of its congeners*. - *Evolution*, 47: 888-905.
- FUTUYMA D.J., MCCAFFERTY S.S., 1990 - *Phylogeny and the evolution of host plant associations in the leaf beetle genus Ophraella (Coleoptera: Chrysomelidae)*. - *Evolution*, 44: 1885-1913.
- FUTUYMA D.J., WALSH J., MORTON T., FUNK D.J., KEESE M. C., 1994 - *Genetic variation in a phylogenetic context: responses of two specialized leaf beetles (Coleoptera: Chrysomelidae) to host plants of their congeners*. - *Journal of Evolutionary Biology*, 7:127-146.
- GASKIN J.F., BON M.C., COCK M.J., CRISTOFARO M., DE BIASE A., DE CLERCK-FLOATE R., ELLISON C.A., HINZ H.L., HUFBAUER R.A., JULIEN M.H., SFORZA R., 2011 - *Applying molecular-based approaches to classical biological control of weeds*. - *Biological Control*, 58: 1-21. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.03.015.
- GIRALDO N.J., SALAZAR C., JIGGINS C.D., BERMINGHAM E., LINARES M., 2008 - *Two sisters in the same dress: Heliconius cryptic species*. - *BMC Evolutionary Biology*, 8: 324. doi:10.1186/1471-2148-8-324.
- GÓMEZ-ZURITA J., GALIÁN J. 2005 - *Current knowledge on genes and genomes of phytophagous beetles (Coleoptera: Chrysomeloidea, Curculionoidea): a review*. - *Eur. J. Entomol.*, 102(4): 577-597.
- GÓMEZ-ZURITA J., HUNT T., KOPLIKU F., VOGLER A.P., 2007 - *Tree of Leaf Beetles (Chrysomelidae) indicates independent diversification of Angiosperms and their insect herbivores*. - *PLoS ONE*, 2(4): e360. doi:10.1371/journal.pone.0000360.
- HEBERT P.D.N., CYWINSKA A., BALL S.L., DEWAAR J.R., 2003 - *Biological identifications through DNA barcodes*. - *Proceedings of the Royal Society, London, B*, 270: 313–321. DOI: 10.1098/rspb.2002.2218.
- JAENIKE J., 1981. *Criteria for ascertaining the existence of host races*. *American Naturalist* 117: 830-834.
- LESAGE L., 1986 - *A taxonomic monograph of the Nearctic galerucine genus Ophraella Wilcox (Coleoptera: Chrysomelidae)*. - *Memoirs of the Entomological Society of Canada*, 133: 1-75.
- KENDIG C., 2014- *Towards a multidimensional metaconception of species*. - *Ratio*, 27 (2): 155-172. doi: 10.1111/rati.12037
- KIRSCH R., VOGEL H., MUCKA A., REICHWALD K., PASTEELS J.M., BOLANDAW., 2011 - *Host plant shifts affect a major defense enzyme in Chrysomela lapponica*. - *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108 (12): 4897–4901.
- MALLETT J., 2008 - *Rapid speciation, hybridization and adaptive radiation in the Heliconius melpomene group*. In: *Speciation and Ecology*, Edited by: Butlin R.K., Bridle J.R., Schluter D. Sheffield, UK.
- MANCINI E., DE BIASE A., MARIOTTINI P., BELLINI A., AUDISIO P., 2008 - *Structure and evolution of the mitochondrial control region of the pollen-beetle Meligethes thalassophilus (Coleoptera: Nitidulidae)*. - *Genome*, 51: 196-207.
- MCKENNA D.D., SEQUEIRA A.S., MARVALDIC A.E., FARRELL B.D., 2009 - *Temporal lags and overlap in the diversification of weevils and flowering plants*. - *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106 (17): 7083–7088.

- MORITZ C., 1994 - *Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation*. - Trends in Ecology and Evolution, 9: 373-375.
- PANDA N., KHUSH G.S., 1995 - *Host Plant resistance to Insects*. CAB International, Bristol, UK.
- PAYNE J. A., BERLOCHER S. H., 1995 - *Phenological and electrophoretic evidence for a new blueberry-infesting species in the Ragoletis pomonella sibling species complex*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 75: 183-187.
- PROCTOR M., YEO P., LACK A., 1996 - *The natural history of pollination*. Harper Collins, Rotherwick.
- SHUN-ICHIRO N., 2011 - *On the integrated frameworks of species concepts: Maydens hierarchy of species concepts and de Queirozs unified concept of species*. - Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research, 49(3): 177–184. doi: 10.1111/j.1439-0469.2011.00618.x
- SIMPSON G.G., 1961 - *Principles of animal Taxonomy*. Columbia University Press, New York.
- SMITH L., HAYAT R., CRISTOFARO M., TRONCI C., TOZLUB G., LECCE F., 2006 - *Assessment of risk of attack to safflower by Ceratapion basicorne (Coleoptera: Apionidae), a prospective biological control agent of Centaurea solstitialis (Asteraceae)*. - Biological Control, 36: 337-344.
- TEMPLETON A.R., 1989 - *The meaning of species and speciation: a genetic perspective*. In: Otte D., Endler J.A.(eds.) Speciation and its consequences. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, pp. 3-27.
- THOMPSON J.N., 1988 - *Coevolution and alternative hypotheses on Insect/Plant interactions*. - Ecology, 69 (4): 893-895.
- WILEY E.O., 1978 - *The Evolutionary Species Concept Reconsidered*. - Systematic Biology, 27 (1): 17-26.
- WILEY E.O., 1981 - *Phylogenetics: the Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. John Wiley & Sons, New York.
- WILEY E.O., MAYDEN R.L., 2000 - *The evolutionary species concept*. In: Wheeler, Q.D., Meiner, R. (eds), Species Concept and Phylogenetic Theory: A Debate. Columbia University Press, New York, pp. 70–89.
- WILKINS J. , 2011 - *Philosophically Speaking, how many Species Concepts are There?* – Zootaxa, 2765: 58–60.

MOLECULAR STUDIES ON THE SPECIES COMPLEX OF *TRICHOSIROCALUS HORRIDUS* IN THE BIOLOGICAL CONTROL OF CARDUINAE WEEDS

ALESSIO DE BIASE^{1*} - ENZO COLONNELLI² - SILVIA BELVEDERE¹ - ALESSANDRA LA MARCA⁴
MASSIMO CRISTOFARO³ - LINCOLN SMITH⁵

¹ Dipartimento di Biologia e Biotecnologie Charles Darwin, Università di Roma La Sapienza, Viale dell'Università 32, 00185 Rome, Italy

² Via delle Giunchiglie 56, 00172, Rome, Italy

³ ENEA C.R. Casaccia UTAGRI-ECO, Via Anguillarese 301, 00123 S. Maria di Galeria (Rome), Italy

⁴ BBCA-onlus, via del Bosco 10, 00060, Sacrofano (Rome), Italy

⁵ USDA-ARS, 800 Buchanan Street, Albany, CA 94710, USA

* Correspondence: alessio.debiase@uniroma1.it

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda "Gestione sostenibile di piante aliene invasive mediante i loro nemici naturali". Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 21 febbraio 2014.

Molecular studies on the species complex of Trichosirocalus horridus in the biological control of carduinae weeds

The genus *Trichosirocalus* Colonnelli, 1979, (Coleoptera, Curculionidae, Ceutorhynchinae) includes 17 Palearctic species mainly feeding on Plantaginaceae and Asteraceae. We studied the taxonomic status of the species complex of *Trichosirocalus horridus* (TH) by means of molecular markers. We used both mitochondrial (*cox1*) and nuclear (*ef1*) markers that carried a common phylogenetic signal useful to clarify the taxonomic status of the investigated species. TH was recognized as a single species until 2002, when it was split in three species: *T. horridus*, *T. briesei* and *T. mortadelo*. Our findings challenge this taxonomic framework suggesting the existence of only two distinct species, i.e. *T. horridus* and *T. briesei*. A thorough morphological analysis is in progress in order to clarify the nomenclature of the species complex. Moreover, the nuclear gene for the *ef1* has proven to be highly informative for detecting putative introgression/hybridization events showing that genetic screenings of natural populations of potential agents for biological control of weeds are of paramount importance in assessing the possibility of using specimens belonging to the *T. horridus* complex for the control of thistle weeds.

KEY WORDS: *Trichosirocalus horridus* species complex, Thistles, Molecular taxonomy, Biological control.

INTRODUCTION

The genus *Trichosirocalus* Colonnelli, 1979, (Coleoptera, Curculionidae, Ceutorhynchinae) includes 17 Palearctic species (COLONNELLI, 2013) mainly feeding on Plantaginaceae and Asteraceae (COLONNELLI, 2004). The *Trichosirocalus horridus* complex encompasses 3 sibling species primarily distributed in the south and central Europe and introduced to North America, Australia and New Zealand to control and manage several species of thistles. Until 2002, *T. horridus* (hereafter TH) was referring to a single species known to be associated at the larval and adult stages to some species of thistles of the tribe Carduinae (*Carduus* spp., *Cirsium* spp., *Onopordum* spp., *Silybum marianum* and *Galactites tomentosa*). ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ (2002) studied the morphology of several TH populations and concluded that it was indeed a complex of three species apparently showing different host range, namely: *T. horridus* (TH), *T. mortadelo* (hereafter TM) and *T. briesei*

(hereafter TB), associated with *Cirsium* spp., *Carduus* spp. and *Onopordum* spp, respectively. The three species have been repeatedly used/translocated in biocontrol programs against several thistles. First colonies of TH were established to control *Carduus* thistles in the USA in 1970-72 (KOK and TRUMBLE, 1979; BOLDT *et al.*, 1980) and later ('80s) in Canada (HARRIS, 1984; GROENTEMAN *et al.*, 2008) by releasing specimens from Italy and Germany, respectively. In 1984 specimens of TH from the Canadian colony were introduced to New Zealand (JESSEP, 1989), and in 1992 individuals from populations established in New Zealand were released in Australia. In 1997, Briese released Spanish specimens (TB) from a local quarantine facility for the control of the *Onopordum* thistle in Australia.

In summary, the current picture of the taxonomy, geographical distribution (introductions included) and feeding preferences of the three supposed species included in the *T. horridus* complex is the following:

1. The native range of TH extends from Spain to

Caucasus and eastern Mediterranean (COLONNELLI, 2013). It has been introduced to North America, Australia and New Zealand. The species feeds on *Cirsium* (ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ, 2002) and *Carduus* (GROENTEMAN *et al.*, 2008) thistles and occasionally on *Onopordum acanthium* (GROENTEMAN *et al.*, 2008).

2. TB is known to be native of Spain and also reported from Austria and Morocco (ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ, 2002). It was introduced to Australia. The weevil seems to be feeding on *Onopordum* thistles only (ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ, 2002).
3. TM has been described from Australia and cited from Germany but not recognized by German authors (e.g. RHEINHEIMER and HASSLER, 2010). The species was reported to be associated with *Carduus* thistles (ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ, 2002).

The main goal of this paper is to summarize the preliminary analyses that were performed to shed light on the taxonomy of the above listed species included in the *Trichosirocalus horridus* complex. The molecular studies were mainly motivated by some inconsistent results scored during host range experiments carried out in the laboratory as part of a biological control program against Scotch Thistle, *Onopordum acanthium*.

MATERIALS AND METHODS

More than 150 specimens were analyzed for this work. Samples were collected during field trips carried out in Spain, France, Italy, Turkey and Georgia between 2008 and 2013 to gather samples from several distinct localities. In addition, specimens were kindly provided by several colleagues from United States, Australia, New Zealand and Germany. Few individuals of *Trichosirocalus troglodytes* (Fabricius 1787), used as an outgroup taxon in the statistical analyses, were collected during a field trip in Portugal in 2013 by one of us (EC).

Following the procedure described in CRISTOFARO *et al.* (2013) the total genomic DNA was extracted from sampled specimens and next used as template in polymerase chain reactions (PCR; MULLIS *et al.*, 1986) to amplify a fragment of the mitochondrial genome coding for the cytochrome c oxidase subunit 1 (*cox1*) and a fragment of the nuclear genome coding for the elongation factor 1 (*ef1*). Detailed procedures are described in DE BIASE *et al.* (in press).

The obtained sequences were screened by a blast search over the NCBI GenBank nucleotide

collection, to check the assignment at high-level taxa (e.g. family and subfamily), with the Mega BLAST procedure (WHEELER *et al.*, 2007) available online. Retained sequences were edited, checked for wrong base calls and noise, and aligned using the Staden Package ver. 2006.1.7.0 software (STADEN *et al.*, 2000). The *ef1* sequences were also checked for heterozygous positions and the gametic phases, when needed, were inferred with PHASE ver. 2.1 (STEPHENS *et al.*, 2001). Finally, the alignments were collapsed to retain the haplotypes only by using the FABOX tool (VILLESEN, 2007).

We performed several statistical analyses to evaluate the genetic divergence among the three species currently included in the *T. horridus* species complex and to assess their taxonomic status. The workflow encompassed the estimate of genetic distances, the inference of phylogenetic relationships based upon the Neighbor-joining (NJ) algorithm and a Bayesian framework, and the comparative analysis of intra- and inter-specific genetic distances (ABGD: Automatic Barcode Gap Discovery; PULLANDRE *et al.*, 2012).

RESULTS

We obtained a fragment of nearly 650 bp of the *cox1* marker and a fragment of nearly 880 bp of the *ef1* nuclear marker. Specimens of the outgroup taxon *T. troglodytes* were successfully amplified only for the *cox1*. The alignment was cut at the shortest aligned sequence giving a final set of sequences of 621 bp for *cox1* and 760 bp for *ef1*. The two collapsed alignments contained 53 and 10 unique haplotypes for *cox1* and *ef1*, respectively.

The topologies obtained by Neighbor-joining and Bayesian analysis (Fig. 1; NJ trees not shown) are congruent and show two distinct clusters within the analyzed ingroup (TH, TM, TB) with good support. In Fig. 1 the *p* values for uncorrected distance among the scored clusters are listed (cluster #1 vs #2: for *cox1* equal to 10.9%; for *ef1* equal to 1.6%) and strongly suggest the existence of only two distinct taxonomic entities. Results from the ABGD approach (not shown) further strengthen the hypothesis.

The *cox1* and *ef1* trees obtained by analysing all available sequences before collapsing to unique haplotypes show the same results and topologies (not shown) but with a different placement of one specimen from the Australian sample. The accurate analysis of the chromatograms allowed us

to hypothesize that this individual could be the result of introgression from hybridization between TH and TB. We found few more specimens from the same Australian population and from some Spanish populations showing traces of putative hybridization between TH and TB. We then removed all these specimens from our data set to exclude hybridization/introgression signals from all the analyses, and to postpone the disentangling of the hybridization picture.

DISCUSSION

The NJ and Bayesian topologies obtained from the analysis of the sequences of both markers do not differ substantially (Fig. 1). Both trees show fairly obviously that there are two groups within our ingroup, both with high support values. This is also confirmed by the observed values of p distances along the topology and the results of the ABGD analysis. The group #1 includes specimens

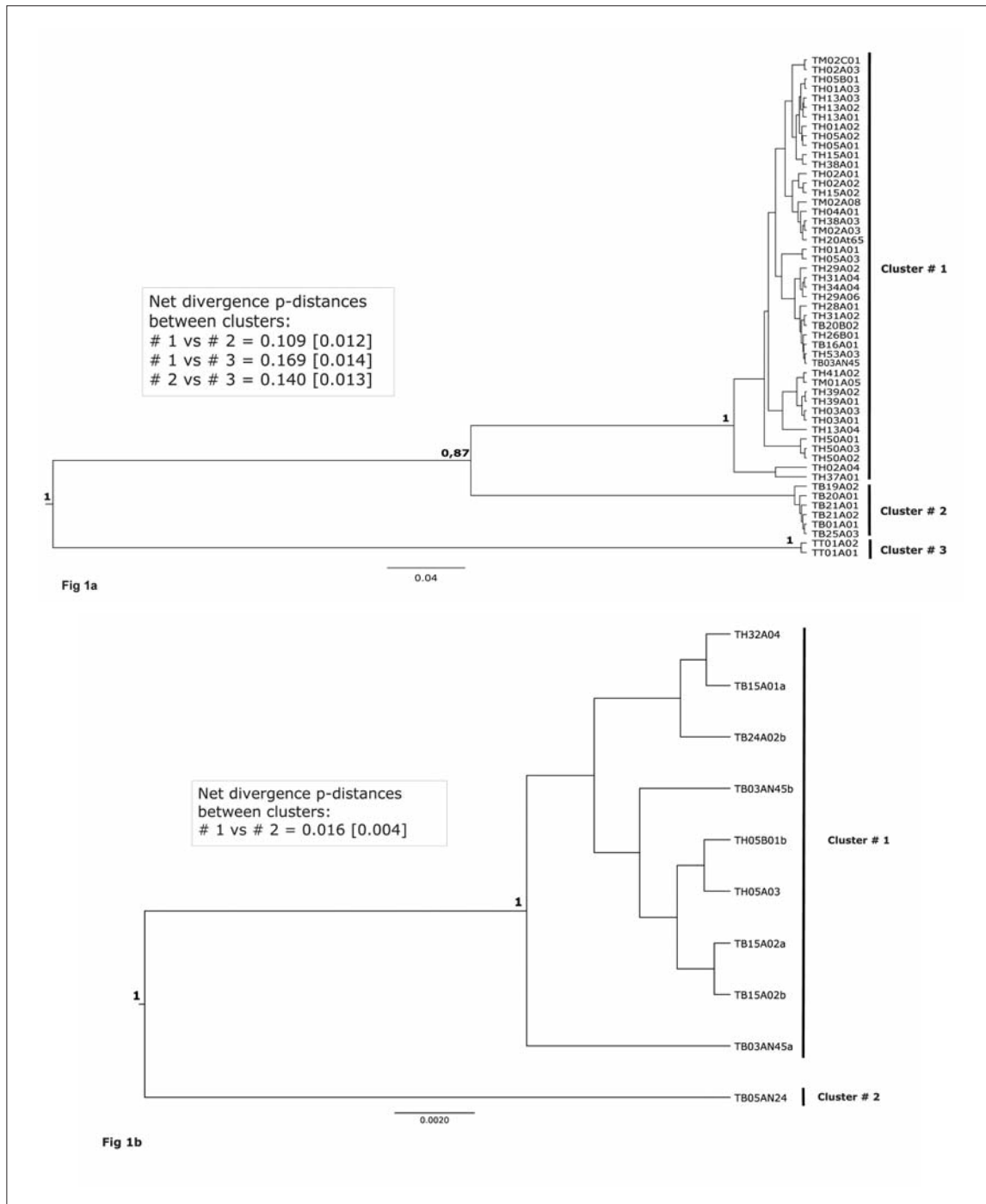


Fig. 1 – Consensus trees (50% Majority Rule) obtained by Bayesian analysis for *cox1* (a) and *efl* (b) genes; figures at nodes refer to posterior probabilities values; the box list p distances between scored clusters.

collected while feeding on *Carduus* or *Cirsium* host plants and identified by morphological analysis as TH. The group #2 includes specimens that refer to TB collected while feeding on *Onopordum* spp. The morphological analysis of the specimens clustered within the two groups carried out again after the molecular analysis (DNA was extracted in a non-destructive way) confirmed the taxonomic identity also using the characters suggested by ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ (2002). This is in agreement with the synonymy between *T. horridus* and *T. mortadelo* published by PULLEN *et al.* (2014). We are working on a thorough morphological analysis to clarify the nomenclature of this species complex taking into account our genetic findings.

The analysis of the nuclear gene *ef1 α* has proved to be particularly useful to highlight possible events of introgression/hybridization that the mitochondrial marker is not able to detect owing to its exclusively maternal heredity. We observed, in fact, cytonuclear disequilibrium for several specimens from Australia and Spain. This result raises many questions that need to be addressed in future studies. For instance, hybridization could have happened in the past, leading to introgression of genes from one of the two species into the gene pool of the other, or hybridization could be an ongoing event both in Spain and Australia. At this moment, we do not have enough data yet to shed light on the whole matter.

CONCLUSIONS

The molecular techniques have proven to be very effective for the identification or delimitation of species, especially when limited phenotypic variation complicates the traditional morphological approach. The taxonomy based on DNA proved to be, in fact, a valuable support to the morphologically based taxonomy, thus enabling to tackle the growing need for accurate and accessible taxonomic information (TAUTZ *et al.*, 2003). Starting from the consideration that differences in physiological or behavioural traits (likely associated with specialization on the host plants) can be concealed by a similar morphology, the molecular delimitation of the species of the complex of *T. horridus* was absolutely necessary. The use of both mitochondrial (*cox1*) and nuclear (*ef1 α*) markers proved to be useful as it revealed that the analyzed gene regions carry a common phylogenetic signal, helpful to clarify the taxonomic status of the investigated species and to describe the degree of differentiation among

populations of the complex of species of *Trichosiocalus horridus* s.l. Moreover, the nuclear gene for the *ef1 α* has proven to be highly informative for detecting putative hybridization or introgression events.

We studied the possible taxonomic framework of the *Trichosiocalus horridus* species complex. TH had been recognized as a single species until 2002, when ALONSO-ZARAZAGA and SÁNCHEZ-RUIZ (2002) split TH in three species: *T. horridus*, *T. briesei* and *T. mortadelo*. Our findings confute this taxonomic framework suggesting the existence of only two distinct species, *T. horridus* and *T. briesei*. A thorough morphological analysis is in progress in order to clarify the nomenclature of the species complex. Furthermore, the data collected so far lead us to speculate that in Australia and Spain the two species could have hybridized in the past or are currently hybridizing. From these considerations, it is clear that our investigations are of paramount importance in order to carefully assess the possibility of using specimens belonging to the *T. horridus* complex for the control of thistle weeds in the United States or elsewhere in the world. In conclusion, we urge that genetic screening of natural populations of potential agents for biological control of weeds should always be considered as part of their evaluation.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to all colleagues, students and friends that helped in some way our effort; many of them by collecting samples to be analysed and many others in supporting our activities in various way. They are: E.M. Coombs (Oregon Dept. of Agriculture, OR, USA), M. DeWolf (Ministry of Forests and Range, BC, Canada), F. Di Cristina (BBCA Onlus, Rome, Italy), R.A. Grantham (Oklahoma State University, OK, USA), R. Groenteman (Landcare Research, Lincoln, New Zealand), M. Guedj (BBCA Onlus, Rome, Italy), D. Jones (Oklahoma State University, OK, USA), F. Lecce (ENEA Casaccia, Rome, Italy), J. Lester (CSIRO, Canberra, Australia), A. Metaponte (Rome, Italy), A. Paolini (BBCA Onlus, Rome, Italy), S. Primerano (Rome, Italy), F. Salgueira (Andoain, Spain), G. Senia (Rome, Italy), P. Sprick (Hannover, Germany), T. Thomann (CSIRO Entomology European Laboratory, Montferrier sur Lez, France), G. Wiggins (University of Tennessee, Knoxville, TN, USA), I. Ugarte San Vicente (Agurain, Alava, Spain).

This work was carried out with the financial

support from the Agreement between Sapienza Rome University and BBKA Onlus (Rome, Italy) 2011-13 "Genetic characterization of populations of species of phytophagous insects for the biological control programs".

REFERENCES

- ALONSO-ZARAZAGA M. A., SÁNCHEZ-RUIZ M., 2002 - *Revision of the Trichosiocalus horridus (Panzer) species complex, with description of two new species infesting thistles (Coleoptera: Curculionidae, Ceutorhynchinae)*. - Australian Journal of Entomology, 41(3): 199-208.
- BOLDT P. E., CAMPOBASSO G., COLONNELLI E., 1980 - *Palaearctic distribution and host plants of Ceutorhynchus trimaculatus and Trichosiocalus horridus (Coleoptera: Curculionidae)*. - Annals of the Entomological Society of America, 73(6): 694-698.
- COLONNELLI E., 2004 - *Catalogue of Ceutorhynchinae of the world, with a key to genera (Insecta: Coleoptera: Curculionidae)*. - Argania editio, Barcelona, 124 pp.
- COLONNELLI E., 2013 - *Subfamily Ceutorhynchinae Gistel, 1848*. - In: Catalogue of Palaearctic Coleoptera, Curculionoidea II, Löbl I. & Smetana A. eds, Brill, Leiden, Boston, 700 pp, 8: 176-214.
- CRISTOFARO M., DE BIASE A., SMITH L., 2013 - *Field release of a prospective biological control agent of weeds, Ceratopion basicorne, to evaluate potential risk to a nontarget crop*. - Biological Control, 64(3): 305-314.
- GROENTEMAN R., KELLY D., FOWLER S. V., BOURDÔT G. W., 2008 - *Which species of the thistle biocontrol agent Trichosiocalus are present in New Zealand?* - In: Proceedings of the 12th International Symposium on Biological Control of Weeds, Julien M. H. eds., CABI International, Wallingford, UK, pp. 145-149.
- HARRIS P., 1984 - *Carduus nutans L., nodding thistle and C. acanthoides L., plumeless thistle (Compositae)*. - In: Biological control programs against insects and weeds in Canada, 1969-80 eds, Kelleher J.S. & Hulme M.A., CAB, Slough, UK, pp. 115-126.
- JESSEP C.T., 1989 - *Introduction of the crown weevil (Trichosiocalus horridus) as an additional biocontrol agent against nodding thistle*. - Proceedings of New Zealand Weed and Pest Control Conference, 42: 52-54.
- KOK L.T., TRUMBLE J.T., 1979 - *Establishment of Ceuthorrhynchidius horridus (Coleoptera: Curculionidae), an imported thistle-feeding weevil, in Virginia*. - Environmental Entomology, 8: 221-223.
- MULLIS K. B., FALOONA F. A., SCHARF S. J., SAIKI R. K., HORN G. T., ERLICH H., 1986 - *Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction*. - Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 51(1): 263-273.
- PULLANDRE N., LAMBERT A., BROUILLET S., ACHAZ G., 2012 - *ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation*. - Molecular Ecology, 21(8): 1864-1877.
- PULLEN K.R., JENNINGS D., OBERPRIELER R.G., 2014 - *Annotated catalogue of Australian weevils (Coleoptera: Curculionoidea)*. - Zootaxa, 3896 (1): 1-481.
- RHEINHEIMER J., HASSLER M., 2010 - *Die Rüsselkäfer Baden-Württembergs*. - Verlag Regionalkultur, Heidelberg, 944 pp.
- STADEN R., BEAL K. F., BONFIELD J. K., 2000 - *The Staden Package*. 1998. - Methods in Molecular Biology, 132: 115-130.
- STEPHENS M., SMITH N., DONNELLY P., 2001 - *A new statistical method for haplotype reconstruction from population data*. - American Journal of Human Genetics, 68: 978-989.
- TAUTZ D., ARCTANDER P., MINELLI A., THOMAS R. H., VOGLER A. P., 2003 - *A plea for DNA taxonomy*. - Trends in Ecology and Evolution, 18(2): 70-74.
- VILLESEN P., 2007 - *FaBox: an online toolbox for fasta sequences*. - Molecular Ecology Notes, 7(6): 965-968.
- WHEELER D. L., BARRETT T., BENSON D. A., BRYANT S. H., CANESE K., CHETVERNIN V., CHURCH D. M., DICUCCIO M., EDGAR R., FEDERHEN S., GEER L. Y., KAPUSTIN Y., KHOVAYKO O., LANDSMAN D., LIPMAN D. J., MADDEN T. L., MAGLOTT D. R., OSTELL J., MILLER V., PRUITT K. D., SCHULER G. D., SEQUEIRA E., SHERRY S. T., SIROTKIN K., SOUVOROV A., STARCHENKO G., TATUSOV R. L., TATUSOVA T. A., WAGNER L., YASCHENKO E., 2007 - *Database resources of the National Center for Biotechnology Information*. - Nucleic Acids Research, 35: D5-D12.

FUNGHI PATOGENI E INSETTI NELLA LOTTA BIOLOGICA ALLE PIANTE INFESTANTI: OPPORTUNITÀ, LIMITI E PROSPETTIVE D'IMPIEGO CONGIUNTO

MAURIZIO VURRO (*)

(*) *Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, Consiglio Nazionale delle Ricerche, via Amendola 122/O - 70125 - Bari; e-mail: maurizio.vurro@ispa.cnr.it*

Lettura tenuta durante la Tavola rotonda su: "Gestione sostenibile delle piante infestanti invasive aliene per mezzo dei loro nemici naturali". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 21 febbraio 2014.

Fungal pathogens and insects for biological control of weeds: potential, limitations and prospects of joint use.

Several studies have been carried out in order to evaluate the potential of joint release of insects and pathogens for biological control of weeds. Some examples are here reported, with the aim of briefly illustrating the possible interactions, both positive and negative, and their perspectives of application, in the light of the increased knowledge of plant-pathogens interactions.

KEY WORDS: Biological control of weeds; pathogen-insect interactions; classic and inundative biocontrol.

INTRODUZIONE

La simbiosi insetto-fungo può variare dal mutualismo, come per le formiche tagliafoglie, termiti o coleotteri dell'ambrosia e le loro 'colture fungine' (AANEN *et al.*, 2002), alla disseminazione di stadi infettivi e gameti fungini da parte degli insetti, fino all'antagonismo con cui l'insetto o il fungo trae vantaggio a danno dell'altro simbionte (BLANFORD *et al.*, 2005).

Il fungo, ovviamente penalizzato quando l'insetto ne consuma spore e micelio, può trovare vantaggio quando l'insetto contribuisce alla sua dispersione o ne facilita la colonizzazione della pianta ospite. In alcuni casi, il trasporto dei patogeni su piante può avvenire tramite il corpo degli insetti o le loro feci senza che vi sia alcuna specifica interazione tra i due simbionti. In altri casi, il patogeno dipende completamente dall'insetto per il trasporto su piante o in sue ferite fresche, attraverso le quali avvia l'infezione. In altri casi, ancora, gli insetti indeboliscono le piante su cui si alimentano e le rendono molto più suscettibili agli attacchi dei patogeni.

L'interazione che si stabilisce tra gli insetti fitofagi e i microrganismi fitopatogeni che condividono una stessa pianta ospite potrebbe sembrare soprattutto di tipo competitivo per lo sfruttamento di una comune risorsa nutritiva. In apparenza, gli agenti patogeni possono beneficiare di tale interazione ma, in realtà, anche gli insetti possono trarne vantaggio in quanto, il patogeno può rendere la pianta malata più idonea agli scopi alimentari e all'ovideposizione degli insetti incrementandone il loro tasso di crescita.

Infine, l'attacco da parte di un parassita può essere dannoso per un secondo antagonista, se vi è uno scambio di informazioni (*cross-talk*) tra i sistemi di difesa indotti nella pianta dalle due entità, oppure avere effetti positivi per un'avversità se una prima induzione impedisce alla pianta di rispondere agli attacchi di un secondo nemico. Queste interazioni possono essere pervasive, data l'enorme diversità fra insetti fitofagi e funghi fitopatogeni, e avere conseguenze sui comportamenti individuali, il successo riproduttivo, le dinamiche di popolazione e l'evoluzione della specializzazione.

Le interazioni antagonistiche e sinergiche fra parassiti delle piante possono avere impatto negativo, quando insetti e funghi sono associati a colture agrarie e piante forestali, e trovare possibili sviluppi e applicazioni utili, quando tali organismi sono impiegati come agenti di biocontrollo delle piante infestanti.

Pertanto, considerando la scarsa letteratura sull'argomento, si vuole brevemente esaminare le interazioni attualmente note fra gli agenti patogeni e gli insetti fitofagi valutandone le opportunità, i limiti e le prospettive del loro impiego congiunto nella lotta biologica alle piante infestanti.

LOTTA BIOLOGICA

La lotta biologica contro le infestanti è realizzata con il metodo classico (o inoculativo) e con quello inondativo.

Il metodo classico consiste nella selezione di uno o più antagonisti della pianta infestante nella sua zona di origine e nell'introduzione di questo o questi agenti di controllo nell'ambiente in cui l'infestante si è diffusa e provoca danni. Questo metodo prevede l'immissione dell'agente di controllo su una superficie limitata rispetto a quella infestata in modo da ottenerne una sua progressiva diffusione. Si tratta di una strategia dal basso costo, con effetti a medio e lungo termine, particolarmente adatta per la gestione delle popolazioni infestanti diffuse in aree vaste relativamente stabili dal punto di vista geo-climatico, in cui il ricorso a mezzi di controllo chimici o meccanici non è economicamente conveniente, è proibito o è tecnicamente irrealizzabile, su piante a bassa redditività (pascoli, ambienti naturali, ambienti acquatici, zone boschive) che si riproducono soprattutto per via vegetativa dando origine a popolazioni geneticamente omogenee. In queste situazioni, le piante infestanti rappresentano i bersagli ideali per il controllo mediante agenti che si sono coevoluti con loro ma che sono stati separati fisicamente per un periodo di tempo più o meno lungo. Se le condizioni sono favorevoli, l'agente di controllo si moltiplica, si diffonde nella popolazione infestante e ne limita l'incremento e il successo ecologico. La popolazione dell'infestante inizia lentamente a declinare e sono necessari parecchi mesi o alcuni anni prima che si raggiunga un soddisfacente livello di controllo.

Il costo di questo metodo di controllo non dipende dalla superficie dell'area infestata e una recente analisi effettuata in Australia ha stabilito che i programmi di lotta biologica classica alle infestanti offrono un rapporto benefici/costi pari a 23, più favorevole di qualsiasi altro tipo di intervento possibile (PAGE & LACEY, 2006). Al contrario, tale strategia non è applicabile in aree caratterizzate da agricoltura intensiva poiché richiede tempi "lunghi" per realizzare efficacemente il controllo delle infestanti e questi tempi non sono compatibili con le esigenze economiche di queste aree.

Dai primi tentativi, avvenuti circa 150 anni fa, oltre 100 specie infestanti sono state sottoposte nel mondo a programmi di controllo che adottano questo metodo, fornendo una percentuale di successo del 25-30% (JULIEN & GRIFFITHS, 1988).

Per decenni, gli artropodi sono stati preferiti come agenti di lotta biologica classica (JULIEN & GRIFFITHS, 1998) sottovalutando in parte il potenziale ruolo dei patogeni. Negli ultimi decenni, l'applicazione dei fitopatogeni ha registrato un considerevole aumento e i funghi sono stati solitamente preferiti rispetto ad agenti batterici o virali (CHARUDATTAN, 2001) soprattutto perché, in genere, non richiedono obbligatoriamente la presenza di un vettore per la disseminazione e hanno spesso un elevato livello di

specificità. I funghi patogeni degli organi epigei e delle foglie sono stati preferenzialmente utilizzati come agenti di biocontrollo rispetto ai patogeni radicali in quanto sono più specifici e più facilmente dispersi dal vento o dalle piogge. In particolare, i funghi biotrofici (obbligati), oltre a essere altamente ospite-specifici, sono in grado di danneggiare severamente le piante vigorose ottenendo nutrienti direttamente dai tessuti viventi. Fra tali organismi sono compresi gli agenti di ruggini e carboni che raramente uccidono le piante, ma hanno un forte impatto negativo sulle capacità di accrescimento, diffusione e riproduzione delle piante (CHARUDATTAN, 2005).

Il metodo inondativo consiste nell'applicazione di grandi dosi dell'agente di controllo al fine di ottenere una rapida azione simile a quella prodotta dagli erbicidi chimici. Questo metodo si basa sulla gestione delle specie indesiderate utilizzando i nemici naturalmente presenti nell'ambiente di diffusione dell'infestante e potenzialmente in grado di causarne grave nocimento. In condizioni naturali, questa potenzialità non si manifesta a causa di un basso livello di diffusione dell'antagonista. Il metodo inondativo richiede la produzione dell'agente di controllo in idonee condizioni di laboratorio o industriali e, successivamente, la sua applicazione in dosi elevate sull'intera popolazione infestante. Pertanto, il metodo inondativo è più adatto in agrosistemi intensivi sia sulla base delle modalità di azione e di somministrazione che per l'efficacia dei trattamenti. Attualmente si utilizzano microrganismi fitopatogeni o i loro prodotti, mentre gli insetti e gli acari non trovano facile applicazione.

APPLICAZIONE CONGIUNTA DI FUNGHI E INSETTI

Alcuni fitofagi possono agire da vettori di agenti patogeni delle piante favorendone la diffusione oppure possono influenzare l'azione infettiva di patogeni contemporaneamente presenti su una comune pianta ospite. Allo stesso modo, l'infezione di una pianta ospite da parte di un agente patogeno può aumentare o diminuire la fitness riproduttiva e l'azione trofica dei fitofagi e/o modificare la resistenza/suscettibilità delle piante verso questi stessi fitofagi.

Le interazioni tra gli agenti che utilizzano un ospite comune sono meglio misurate tramite l'impatto che essi hanno sulla pianta (HATCHER & PAUL, 2001) che HATCHER (1995) ha classificato per le interazioni funghi - insetti fitofagi in quattro categorie sulla base delle variazioni dell'effetto causato sulle piante:

- sinergico: quando il danno complessivo degli agenti è significativamente superiore alla somma

- dei danni provocati singolarmente da insetti e patogeni;
- additivo: se il danno complessivo è equivalente alla somma dei danni provocati singolarmente da insetti e patogeni;
 - equivalente: quando il danno totale è equivalente al danno provocato da un singolo agente, sia insetto che patogeno;
 - inibitorio: quando il danno complessivo è significativamente inferiore al danno provocato dall'agente meno efficace dei due.

TURNER *et al.* (2010) hanno poi modificato la definizione dell'effetto "additivo" che si avrebbe, invece, quando l'azione combinata dei due agenti determina un effetto superiore a quello dell'agente più efficace, ma è inferiore o uguale alla somma dell'effetto di ciascun agente.

Numerosi studi sono stati condotti per valutare l'efficacia della potenziale introduzione congiunta di un patogeno e un fitofago su una stessa pianta bersaglio. Alcuni esempi sono di seguito riportati con l'intento di illustrare i vantaggi o gli svantaggi di questa strategia e quali ulteriori prospettive applicative siano potenzialmente possibili.

INTERAZIONI FRA AGENTI CHE UTILIZZANO ORGANI DIFFERENTI DELLA STESSA PIANTA

L'impiego congiunto di *Procecidochares utilis* Stone, una mosca galligena dei fusti, e *Passalora ageratinae* Crous & A.R. Wood, un patogeno fungino responsabile di maculature fogliari, nel controllo di *Ageratina adenophora* (Sprengel) King & Robinson, una specie perenne invasiva originaria del Messico diffusasi anche in Cina e Australia, è stato recentemente studiato in Sudafrica (BUCCELLATO *et al.*, 2012). Entrambi gli agenti causavano una riduzione dell'altezza dello stelo e una diminuzione della percentuale di foglie vive quando infestavano singolarmente la pianta. La presenza contemporanea dei due antagonisti, invece, esprimeva un'azione additiva piuttosto che sinergica. La mosca era la principale responsabile della riduzione della crescita vegetativa, mentre il patogeno aveva un ruolo sussidiario, riducendo la produzione di germogli laterali emessi come reazione alla presenza della mosca. Lo sfruttamento di differenti parti della pianta da parte dei due agenti potrebbe spiegare la loro efficace coesistenza. Infatti, le larve di *P. utilis* creavano gallerie e inducevano galle nei tessuti apicali in accrescimento e in differenziazione dello stelo, interrompendone la crescita (BENNETT & VAN STADEN, 1986) e non interagendo direttamente con le foglie infette del patogeno. Anche il patogeno non alterava significativamente la fisiologia della pianta in modo tale da influenzare nega-

tivamente l'attività della mosca (MORRIS *et al.*, 2007).

Un altro studio ha esaminato gli effetti individuali e combinati della ruggine *Puccinia myrsiphylli* (Thuem.) Wint. e di una cicalina non ancora descritta (Tribù Erythroneurini, *Zygina* sp.) introdotti per il controllo biologico dell'infestante invasiva *Asparagus asparagoides* (L.) Druce in Australia (TURNER *et al.* 2010). Questa pianta produce grandi quantità di tuberi e rizomi da cui si sviluppano i fusti rampicanti. L'applicazione congiunta dei due agenti ha avuto un effetto additivo nel ridurre la lunghezza dei rizomi, il numero e la biomassa dei tuberi prodotti e contrastarne, quindi, la capacità moltiplicativa. Questo studio ha fornito ulteriori prove sul possibile vantaggio nell'applicare due agenti di biocontrollo, anche nel caso in cui questi utilizzino le stesse risorse nutritive o gli stessi organi vegetali.

Anche il controllo di *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) S.T. Blake, specie invasiva in numerosi Stati americani dove minaccia seriamente la biodiversità floristica (RAYAMAJHI *et al.*, 2010), può essere realizzato combinando due insetti fitofagi (*Oxyops vitiosa* Pascoe - punteruolo, e *Boreioglycaspis melaleucae* Moore - psilla) con una ruggine (*Puccinia psidii* G. Wint.) in grado di attaccare i germogli che si sviluppano dai ceppi delle piante sottoposte al taglio. L'azione combinata degli agenti ha mostrato evidenti effetti additivi accrescendo la mortalità dei germogli, riducendo la loro altezza, l'entità della ramificazione e la biomassa totale dei cedui. Inoltre, la combinazione ruggine-psilla mostrava maggiore efficacia e scarsa/nulla interferenza verso la combinazione ruggine-punteruolo.

Risultati analoghi sono stati ottenuti anche applicando organismi associati all'apparato radicale, come nel caso delle combinazioni di *Fusarium oxysporum* Schlectend.:Fr., *Rhizoctonia solani* Kühn o di entrambi i funghi con adulti e larve di coleotteri del genere *Aphthona* spp. sul controllo di *Euphorbia esula/virgata*. L'effetto combinato di questi antagonisti è stato significativamente più elevato sulle piante infestanti rispetto all'applicazione dei singoli agenti (CAESAR, 2003) e l'analisi del contributo relativo di questi antagonisti ha evidenziato come i patogeni siano responsabili della mortalità in misura doppia rispetto ai crisomelidi e, in condizioni ottimali, contribuiscano fino a quattro volte di più.

TRASPORTO E ATTRAZIONE

L'azione vettrice di un insetto a vantaggio di un fungo può essere amplificata da interazioni ecologiche più intime e complesse come nel caso della ruggine fungina sistemica, *Puccinia arrhenatheri* (Kleb.) Erikss., che provoca la proliferazione di

gemme secondarie e avventizie dell'infestante *Berberis vulgaris* L. (crespino). Gli scopazzi indotti da questo patogeno producono foglie ingiallite che ospitano i gameti fungini misti a un nettare durante la fase spermatiale del fungo, le foglie infette emettono composti volatili attrattivi verso alcuni ditteri e imenotteri adulti. NAEF *et al.* (2002) hanno evidenziato come la produzione di ecidiospore fosse significativamente maggiore sugli scopazzi visitati dagli insetti i quali tendevano a compiere ispezioni più numerose e prolungate sugli scopazzi infetti rispetto alla vegetazione non infetta. Queste osservazioni suggeriscono che la riproduzione sessuale del patogeno sia favorita dall'incrocio mediato dagli insetti e che le foglie infette attraggono gli insetti "pronubi" in seguito a mimetismo floreale fisico-chimico (colore giallo brillante delle foglie, secrezione di nettare e sostanze volatili).

"FACILITAZIONE" DELLA MALATTIA

A volte gli insetti introdotti per il controllo delle infestanti possono provocare una diminuzione dell'attività fotosintetica superiore a quella prodotta dalla perdita di superficie verde fotosintetizzante. Questo effetto è conseguenza del trasferimento e della penetrazione di microrganismi nocivi nei tessuti vegetali di cui si nutrono gli insetti ed è evidente, ad esempio, nella simbiosi tra il punteruolo *Neochetina eichhorniae* (Warner) e il giacinto d'acqua (*Eichhornia crassipes* (Martus) Solms) (VENTER *et al.*, 2013). Il giacinto, originario del bacino del Rio delle Amazzoni, è stato introdotto a scopo ornamentale in numerosi paesi delle aree tropicali e temperate diventando in molti casi una specie invasiva. Il punteruolo è stato introdotto molto efficacemente e la sua azione non appariva attribuita solo alla sua capacità trofica. Infatti, saggi dell'attività fotosintetica tra foglie esposte a curculionidi adulti tal quali o disinfettati hanno dimostrato che gli insetti trasportano passivamente funghi e batteri sulle foglie infestate e che questi incidono sull'efficienza fotosintetica in misura quasi pari a quella degli insetti.

Nel tentativo di ottimizzare il controllo del giacinto d'acqua si è verificata la possibilità di applicare *Cercospora piaropi* Tharp., agente di lesioni necrotiche sulle foglie dopo il lancio di due specie di punteruolo (*Neochetina bruchi* Hustache e *N. eichhorniae*), responsabili di lesioni fogliari (MORAN, 2005). Nel caso di applicazione congiunta lo sviluppo delle necrosi è stato di 7,5 volte superiore rispetto ai trattamenti eseguiti con i soli insetti e 10,5 superiori al trattamento con il solo fungo. L'applicazione combinata di insetti e fungo determinava anche una diminuzione del numero di germogli e foglie per

pianta superiore a quella indotta dai singoli trattamenti. Inoltre, lo sviluppo della malattia da parte del patogeno non appariva ostacolata nonostante il contenuto di proteine e di perossidasi ad attività antifungina risultasse aumentato di 2-6 volte dopo il rilascio degli insetti.

TRASMISSIONE E PREFERENZE TROFICHE

Il curculionide *Apion onopordi* Kirby mostra una preferenza per i germogli di *Cirsium arvense* (L.) Scop. (cardo campestre) in una fase precoce della malattia sistemica di *Puccinia punctiformis* (Str.) Röhl. quando sui germogli si sviluppano i suoi picnidi e gli stessi germogli emettono un caratteristico odore floreale (FRIEDLI & BACHER, 2001). BACHER & FRIEDLI (2002) hanno suggerito l'esistenza di una relazione mutualistica tra il punteruolo e la ruggine, ipotizzando che il fungo tragga beneficio dall'azione dispersiva realizzata dall'insetto e che la fitness riproduttiva del punteruolo sia superiore quando si sviluppa sui germogli infetti (BACHER *et al.*, 2002). Poiché il punteruolo mostra una netta preferenza per questi ultimi, i nuovi germogli sani dovrebbero essere meno preferiti e quindi meno attaccati dall'insetto. In realtà, la capacità di selezione dei germogli da parte dell'insetto dipende dalla proporzione relativa fra germogli sani e malati in quanto i germogli sani sono selezionati dall'insetto quando l'infezione è al di sotto del 23% come causa della scarsa capacità dello stesso di individuare i germogli infetti.

Comunemente, le spore di *Puccinia* sono disperse principalmente dal vento (AGRIOS, 2005) e l'interazione tra insetti e funghi appare soprattutto di tipo antagonista in quanto i funghi biotrofici richiedono ospiti vivi per il loro sviluppo. Un fitofago, invece, indebolisce o accelera la morte dell'ospite ostacolando l'affermazione del fungo che però, in questo caso sarebbe compensata dalla maggiore dispersione indotta dall'insetto. Inoltre, le interazioni fra patogeni biotrofici e insetti fitofagi possono essere alterate anche dai meccanismi di difesa indotti nella pianta (vedi altra sezione)

Nel caso di *A. onopordi* solo le femmine favoriscono le infezioni sistemiche della ruggine sui germogli del cardo e questo è manifesto nella stagione successiva a quella dell'insediamento del punteruolo, indicando che l'ovideposizione di questo insetto monovoltino è fondamentale per la trasmissione dei patogeni. Inoltre, gli adulti conseguono un peso maggiore quando si sviluppano in germogli infetti e questo comporta la deposizione di uova più grandi e numerose preferenzialmente nei germogli sistemicamente infetti dalla ruggine. La maggiore

dimensione corporea può offrire un vantaggio riproduttivo alle femmine sviluppatasi su piante infette, ma non spiega da sola le differenze nel successo del curculionide che potrebbe derivare dalla produzione di nutrienti di alta qualità da parte del fungo della ruggine a vantaggio della larva del punteruolo (RIVERO *et al.*, 2001).

L'interazione tra la ruggine e altri fitofagi del cardo produce risultati diversi che non possono essere spiegati come un miglioramento generale della qualità nutrizionale del tessuto infetto e, quindi, da una maggiore "appetibilità". Gli autori ipotizzano che questo mutualismo si è potuto evolvere da un rapporto di concorrenza. A differenza di altri fitofagi del cardo, *A. onopordi* sembra essere più adatto a un rapporto mutualista con la ruggine, grazie soprattutto al suo impatto abbastanza modesto sulla pianta ospite, che non ne causa la morte, ed al fatto che si alimenti di organi della pianta non direttamente associati alla riproduzione degli agenti patogeni.

TRASMISSIONE E OVIDEPOSIZIONE

Gli effetti dell'infezione di una ruggine sull'infezione da insetti fitofagi e quello di insetti fitofagi sull'infezione di una ruggine sono stati studiati per valutare l'incidenza e il peso di eventuali meccanismi di interferenza. Il sistema studiato riguardava l'infestante *C. arvense*, la ruggine *P. punctiformis* e alcuni insetti ectofagi ed endofagi associati dei quali è stata considerata l'abbondanza su piante sane e su quelle sistemicamente infette dalla ruggine (KLUTH *et al.*, 2001). La maggior parte dei coleotteri, eterotteri e omotteri ectofagi non mostrava alcuna preferenza nell'infestare germogli di cardo infetti o non. Al contrario, gli afidi *Capitophorus eleagni* D. Guer., *C. horni* Hrl. e *Uroleucon* sp. Mordv., così come il curculionide *Acanephodus onopordi* Kby. e il crisomelide *Longitarsus succineus* (Foud.) preferivano cardi infetti, mentre il crisomelide *Longitarsus suturellus* (Duft.) era più abbondante su piante non infette. Tra gli insetti endofagi, la piralide *Melanagromyza aeneoventris* Fall., il tefritide galligeno *Urophora cardui* (L.) e le specie fillominatrici erano, invece, quasi completamente confinati su cardi non infetti e solo le larve di curculionidi minatori del fusto (*Apion* sp.) erano più abbondanti sulle piante infette.

Poiché la maggior parte degli insetti ectofagi ed endofagi non discriminava tra cardi sistemicamente infetti e non infetti, il danno complessivo dovuto all'applicazione congiunta di più agenti appariva complessivamente superiore a quello causato dai singoli agenti. Inoltre, gli insetti potevano influenzare direttamente la crescita delle piante e anche

aumentare la suscettibilità dei cardi sani alle infezioni della ruggine mediante le lesioni che favorivano l'ingresso del patogeno. A conferma di questo, la produzione di uredosori e il livello di infezione della ruggine erano sensibilmente superiori quando il danno meccanico causato dagli insetti veniva simulato dai fori praticati artificialmente sulle foglie.

La biologia delle specie endofaghe è, in genere, strettamente legata alla fenologia della pianta ospite e lo stadio vegetativo di questa condiziona notevolmente l'epoca e il successo della deposizione di uova. Anche l'infezione sistemica del fungo a partire dalle radici influenza fortemente le dimensioni della pianta, l'odore, il colore e la forma delle foglie sin dalla loro emergenza in primavera. Pertanto, *Apion* spp. depongono le uova in primavera quando le piante infette sono più alte rispetto a quelle sane, mentre *U. cardui* depone le uova nel mese di luglio quando il portamento delle piante infette è già fortemente alterato dall'infezione fungina.

Inoltre, gli afidi e alcuni coleotteri risultano particolarmente attratti dalle piante infette in quanto la concentrazione di aminoacidi liberi nella linfa e nei tessuti vegetali è incrementata dai funghi e soddisfa le richieste alimentari di afidi e degli stadi giovanili di altri insetti.

L'alimentazione preferenziale è stata valutata in dettaglio anche nel caso di larve di *Cassida rubiginosa* Müller, osservando una sua forte preferenza per i dischi fogliari di *Carduus thomeri* Weinm. infetti dalla ruggine *Puccinia carduorum* Jacky. Al contrario di questo fitofago più specializzato, la maggior parte dei fitofagi generici non mostravano alcuna preferenza fra piante sane o sistemicamente infette (KLUTH *et al.*, 2001).

Altri studi (KLUTH *et al.*, 2002) hanno considerato ancor più in particolare le interazioni fra *P. punctiformis*, gli afidi *Aphis fabae* ssp. *cirsiiacanthoidis* Scop. e *Uroleucon cirsii* L., e il crisomelide *C. rubiginosa*. Si è osservato che gli insetti trasportano meccanicamente le spore e aumentano significativamente l'infezione di *P. punctiformis* su piante sane. Nel caso di *C. rubiginosa* in particolare, la biomassa degli adulti risultava significativamente ridotta, lo sviluppo degli adulti tendeva a essere prolungato e la mortalità aumentava quando si nutrivano su piante infette da *P. punctiformis*. Al contrario, *U. cirsii* formava colonie significativamente più numerose sulle piante infette. Questo può essere correlato a una maggiore quantità di aminoacidi liberi nella linfa delle piante infette, a una maggiore appetibilità o a migliori caratteristiche nutritive della pianta a favore dell'afide il quale tendeva a visitare preferibilmente piante infette e, quindi, a diffondere meglio l'infezione. Infine, l'interazione fra il fungo e *A. fabae* appariva pressoché nulla. Questo è stato probabil-

mente il primo studio a dimostrare che il rapporto tra fitofagi, attivi nella dispersione dei patogeni, e i patogeni stessi può essere mutualistico o antagonista a seconda delle specie simbiotiche coinvolte.

Altri studi (SPAFFORD *et al.*, 2007) hanno valutato i limiti applicativi di un crisomelide fogliare, *Crioceris* sp., recentemente introdotto in Australia come agente di controllo biologico della pianta rampicante *A. asparagoides*. L'applicazione di questo insetto è condizionata da un allevamento che produce un numero molto ridotto di individui e richiede attente valutazioni dei fattori che possono influenzare la sopravvivenza e il successo dell'insetto. In particolare, si è verificato che la presenza della ruggine *Puccinia myrsiphylli* (Thuem.) Wint e di una cicalina (*Zygina* sp.) precedentemente introdotti causano una riduzione nel numero di larve impupate del crisomelide pari al 38 e 65%, rispettivamente, e al 45% come azione combinata di entrambi gli agenti. Inoltre, le femmine di *Crioceris* sp. hanno preferito deporre le uova su piante esenti da infezioni e/o infestazioni. Questo indica come le prestazioni e l'impatto di *Crioceris* sp. (e degli agenti di controllo biologico più in generale) possono anche essere ridotte quando popolazioni di più agenti di biocontrollo si sovrappongono in campo.

INTERAZIONI FRA I SISTEMI DI DIFESA INDOTTI

Le piante adottano meccanismi di difesa per fronteggiare l'attacco di fitofagi e patogeni. Alcuni di questi meccanismi sono preesistenti (primari) e riconoscono caratteristiche comuni di organismi diversi (JONES & DANGL, 2006). Altri meccanismi di regolazione sono invece indotti dall'attacco (resistenza indotta), comportano costi energetici e fisiologici, coordinano efficacemente l'attivazione di difese specifiche verso più aggressori in modo da ridurre i costi economici e, contemporaneamente, garantire una resistenza ottimale (PIETERSE & DICKE, 2007). Questo tipo di resistenza agisce spesso in maniera sistemica in tutta la pianta ed è, in genere, efficace contro un ampio spettro di aggressori (WALTERS *et al.*, 2007). Esempi sono la resistenza sistemica acquisita (SAR) attivata da patogeni che causano infezioni localizzate, come le necrosi di ipersensibilità (DURRANT & DONG, 2004), la resistenza sistemica indotta attivata dalla colonizzazione delle radici da ceppi di rizobatteri non patogeni (VAN LOON *et al.*, 1998), e la resistenza indotta da ferita che, in genere, viene stimolata da un danno tissutale come quello causato dagli artropodi fitofagi (HOWE, 2004). Appare evidente che l'identificazione dei meccanismi con cui le piante adattano le loro risposte ai diversi aggressori potrebbe consentire di comprendere meglio come le piante affrontano le interazioni

simultanee con più aggressori di diversa origine (KOORNNEEF & PIETERSE, 2008). Il ruolo degli fitormoni, l'acido salicilico (SA), l'acido jasmonico (JA) e l'etilene (ET), nella regolazione di queste difese indotte è cruciale (HOWE, 2004; GRANT & LAMB, 2006; VON DAHL & BALDWIN, 2007). Nel caso di attacchi di patogeni o artropodi fitofagi, le piante rispondono con la produzione di una specifica miscela di segnali di allarme (SA, JA e ET) che variano notevolmente in quantità assoluta e relativa, e in momento di produzione a seconda dell'agente. Questa varietà di risposte contribuisce alla specificità dei meccanismi di difesa attivati dalla pianta (REYMOND & FARMER, 1998). Anche se ci sono eccezioni, gli agenti patogeni biotrofici inducono e sono più sensibili a difese mediate da SA, mentre gli agenti patogeni necrotrofici e gli artropodi fitofagi attivano, di solito, meccanismi di difesa mediati da JA e ET (GLAZEBROOK, 2005).

In natura, però, le piante spesso hanno a che fare con l'invasione simultanea o successiva di più aggressori che possono variamente influenzare la risposta di difesa indotta della pianta ospite (STOUT *et al.*, 2006). Le piante hanno quindi bisogno di meccanismi di regolazione per adattarsi in modo efficace ai differenti segnali che percepiscono nel caso di attacco congiunto/multiplo. Le interazioni (*cross talk*) tra i diversi meccanismi di difesa possono essere di tipo antagonista o sinergico, con conseguente risultato funzionale negativo o positivo.

Strumenti molecolari e genomici sono ampiamente utilizzati per scoprire la complessità delle risposte delle piante evolute in seguito all'interazione con differenti aggressori. Studi di espressione globale hanno dato ampie prove di come i diversi percorsi biosintetici di SA, JA e ET interagiscono, sia positivamente che negativamente. Uno degli esempi meglio caratterizzato è quello relativo ai segnali "incrociati" tra le vie metaboliche che riguardano SA e JA (ROJO *et al.*, 2003). Sebbene la maggior parte degli studi indichi un'interazione antagonista tra SA e JA, anche le interazioni sinergiche sono state descritte (MUR *et al.*, 2006).

Come risultato di un *cross talk* negativo tra SA e JA, l'attivazione della risposta SA dovrebbe deprimere le risposte indotte da JA e, quindi, rendere una pianta più suscettibile agli attacchi di organismi da cui la pianta si difende attraverso l'attivazione di JA e viceversa.

Sono stati riportati molti esempi di attivazione di meccanismi di resistenza regolati da SA contro biotrofi e contemporanea disattivazione dei meccanismi di difesa JA-dipendente contro fitofagi e patogeni necrotrofici. Da un punto di vista pratico, nella lotta biologica alle piante infestanti, la conoscenza delle interazioni dei meccanismi di difesa

indotti dai diversi agenti permetterebbe di comprendere meglio la reale possibilità di utilizzo congiunto di patogeni e insetti. Ad esempio, un insetto, oltre che come vettore di patogeni o come “facilitatore” della penetrazione di un patogeno, potrebbe anche essere utilizzato per aumentare la suscettibilità della pianta al patogeno, attivando i meccanismi di difesa verso l’insetto stesso, ma contemporaneamente e indirettamente bloccando o attenuando i meccanismi di difesa che la pianta avrebbe dovuto attivare per difendersi dall’attacco del patogeno.

Al contrario, in alcuni casi i meccanismi di difesa stimolati dall’attacco di un agente hanno effetti negativi anche sul secondo agente. Ad esempio, il coleottero crisomelide *Gastrophysa viridula* Degeer e la ruggine *Uromyces rumicis* (Schum.) Wint. colonizzano entrambi le foglie di *Rumex crispus* L. e *Rumex obtusifolius* L. (HATCHER *et al.*, 1994a, b). In entrambe le specie di *Rumex* la quantità di foglie consumate da *G. viridula* non era influenzata dall’infezione preliminare della ruggine. Al contrario, si apprezzava una riduzione significativa dell’infezione delle foglie quando queste erano state precedentemente danneggiate dall’insetto. Gli insetti determinavano una riduzione dell’80% della densità delle pustole del patogeno all’interno e immediatamente intorno il sito di alimentazione dell’insetto, in quanto le lesioni provocate dal fitofago inducevano la resistenza a *U. rumicis* su tutta la foglia, determinando un minore sviluppo dell’infezione del patogeno. Poiché *G. viridula* è di solito presente alcuni mesi prima che avvenga l’infezione del fungo, il livello di danno provocato dall’insetto può influire negativamente e significativamente sul successo della successiva infezione fungina.

PRODUZIONE MASSIVA DI PATOGENI E INSETTI

Da un punto di vista pratico, il rilascio congiunto di insetti e patogeni con il metodo classico è stato più ampiamente studiato e applicato rispetto al metodo inondativo. Questo soprattutto perché la produzione massiva e il rilascio continuo di insetti, con modalità inondative, trova una scarsa applicabilità per il controllo biologico delle piante infestanti.

Nel caso di agenti patogeni, la produzione in grandi quantità di propaguli fungini in bioreattori non rappresenta più un limite. Numerosi sono gli agenti attualmente prodotti (bioerbicidi, biofungicidi, bioinsetticidi), commercializzati in quantità massive e utilizzati con modalità analoghe a quelle di altri agrofarmaci. Nel caso di patogeni vegetali, questo è possibile di solito solo per gli agenti necrotrofi, saprofiti facoltativi. Al contrario i biotrofi, ad esempio

le ruggini che vengono utilizzate nella lotta biologica classica, non si prestano a questo tipo di produzione massiva.

Le tecniche di produzione massiva messe a punto per altri sistemi di biocontrollo permetterebbe di rivedere e superare i limiti tecnici fin qui ritenuti insormontabili. La disponibilità di sistemi che permettono di “sporcare” gli insetti con le spore del fungo prima del loro rilascio permetterebbe con maggiore facilità un rilascio congiunto e mirato degli agenti. Il sistema insetto-fungo potrebbe esprimere la sua potenzialità se integrato in un processo semi-industriale: ovvero, se sia il fungo che l’insetto fossero moltiplicati in modo massale in biofabbriche e applicati sulla pianta invasiva con rilasci congiunti o in momenti diversi.

Sistemi analoghi potrebbero anche essere utilizzati per migliorare la lotta biologica classica con la messa a punto di trappole “catch-and-release”, utilizzando ad esempio feromoni sessuali o sostanze attrattive, e camere di contaminazione in cui l’insetto viene catturato e successivamente “sporcato” dalle spore del fungo prima di essere liberato nuovamente nel sito (COSSE *et al.*, 2006; VEGA *et al.*, 2008).

RIASSUNTO

Numerosi studi sono stati realizzati per valutare la possibilità di rilascio congiunto di insetti e patogeni per la lotta biologica alle piante infestanti. Alcuni esempi vengono riportati, con lo scopo di illustrare brevemente le possibili interazioni fra gli agenti, sia positive che negative, e le prospettive di applicazione, alla luce dell’augmentata conoscenza delle interazioni pianta-patogeno.

BIBLIOGRAFIA

- AANEN D.K., EGGLETON P., ROULAND-LEFÈVRE C., GULDBERG-FRØSLEV T., ROSENDAHL S., BOOMSMA J.J., 2002 - *The evolution of fungus growing termites and their mutualistic fungal symbionts*. - Proc. Natl Acad Sci USA, 99:14887–14892.
- AGRIOS G.N., 2005 - *Transmission of Plant Diseases by Insects*. Encyclopedia of Entomology, 2291-2317.
- BACHER S., FRIEDLI J., 2002 - *Dynamics of a mutualism in a multi-species context*. - Proceedings of the Royal Society of London, B 269: 1517-1522.
- BACHER S., FRIEDLI J., SCHÄR I., 2002 - *Developing in diseased host plants increases survival and fecundity in a stem boring weevil*. - Entomologia Experimentalis et Applicata, 103: 191–195.
- BENNETT P.H., VAN STADEN J., 1986 - *Gall formation in crofton weed, Eupatorium adenophorum Spreng. (syn. Ageratina adenophora), by the Eupatorium gall fly Procecidochares utilis Stone (Diptera: Trypetidae)*. - Australian Journal of Botany, 34: 473-480.
- BLANFORD S., CHAN B. H. K., JENKINS N., SIM D., TURNER R. J., READ A. F., THOMAS M. B., 2005 - *Fungal Pathogen Reduces Potential for Malaria Transmission*. - Science, 308: 1638-1641.
- BUCCELLATO L., BYRNE M.J., WITKOWSKI E.T.F., 2012 -

- Interactions between a stem gall fly and a leaf-spot pathogen in the biological control of Ageratina adenophora*. - *Biological Control*, 61(3): 222-229.
- CAESAR A., 2003 - *Synergistic interaction of soilborne plant pathogens and root-attacking insects in classical biological control of an exotic rangeland weed*. - *Biological Control*, 28(1): 144-153.
- CHARUDATTAN R. 2001 - *Biological control of weeds by means of plant pathogens: significance for integrated weed management in modern agro-ecology*. - *BioControl*, 46: 229-260.
- CHARUDATTAN R., 2005 - *Ecological, practical, and political inputs into selection of weed targets: what makes a good biological control target?*. - *Biological Control*, 35: 183-196.
- COSSE A.A., BARTELT R.J., ZILKOWSKI B.W., BEAN D.W., ANDRESS E.R., 2006 - *Behaviourally active green leaf volatiles for monitoring the leaf beetle *Diorhabda elongata*, a biocontrol agent of saltcedar, *Tamarix* spp.* - *Journal of Chemical Ecology*, 32: 2695-2708.
- CRIPPS M.G., EDWARDS G.R., WAIPARA N.W., BOURDOT G., SAVILLE D.J., FOWLER S.W., 2009 - *Does transmission of the rust pathogen, *Puccinia punctiformis*, require stem mining vectors?* - *Biocontrol Science and Technology*, 19(4): 447-454.
- DURRANT W.E., DONG X., 2004 - *Systemic acquired resistance*. - *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42: 185-209.
- FRIEDLI J., BACHER S., 2001 - *Mutualistic interaction between a weevil and a rust fungus, two parasites of the weed *Cirsium arvense**. - *Oecologia*, 129: 571-576.
- GLAZEBROOK J., 2005 - *Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens*. - *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43: 205-227
- GRANT M., LAMB C., 2006 - *Systemic immunity*. - *Curr. Opin. Plant Biol.*, 9: 414-420.
- HATCHER P.E., 1995 - *Three-way interactions between plant pathogenic fungi, herbivorous insects and their host plants*. - *Biological Reviews*, 70: 639-694.
- HATCHER P.E., PAUL N.D., 2001 - *Plant pathogen-herbivore interactions and their effects on weeds*. In: Jeger, M.J., Spence, N.J. (Eds.), *Biotic Interactions in Plant-Pathogen Associations*. CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 193-225.
- HATCHER P.E., PAUL N.D., AYRES P.G., WHITTAKER J.B., 1994a - *Interactions between *Rumex* spp., herbivores and a rust fungus: *Gastrophysa viridula* grazing reduces subsequent infection by *Uromyces rumicis**. - *Functional Ecology*, 8: 265-272.
- HATCHER P.E., PAUL N.D., AYRES P.G., WHITTAKER J.B., 1994b - *The effect of a foliar disease (rust) on the development of *Gastrophysa viridula* (Coleoptera: Chrysomelidae)*. - *Ecological Entomology* 19, 349-360
- HOWE G.A., 2004 - *Jasmonates as signals in the wound response*. - *J. Plant Growth Regul.*, 23: 223-237.
- JONES J.D.G., DANGL J.L., 2006 - *The plant immune system*. - *Nature*, 444: 323-329.
- JULIEN M.H., GRIFFITHS M.W., 1988 - *Biological Control of Weeds. A world catalogue of agents and their target weeds*, CAB International, Wallingford, UK, II, 146 pp.
- KLUTH S., KRUESS A., TSCHARNTKE T., 2001 - *Interactions between the rust fungus *Puccinia punctiformis* and ectoparasitic and endoparasitic insects on creeping thistle*. - *Journal of Applied Ecology* 38, 548-556.
- KLUTH S., KRUESS A., TSCHARNTKE T., 2002 - *Insects as vectors of plant pathogens: mutualistic and antagonistic interactions*. - *Oecologia*, 133: 193-199.
- KOORNNEEF A., PIETERSE C.M.J., 2008 - *Cross talk in defence signalling*. - *Plant Physiology*, 146(3): 839-44.
- MORAN P.J., 2005 - *Leaf scarring by the weevils *Neochetina eichhorniae* and *N. bruchi* enhances infection by the fungus *Cercospora piaropi* on *waterhyacinth*, *Eichhornia crassipes**. - *BioControl*, 50(3): 511-524.
- MORRIS W.F., HUFBAUER R.A., AGRAWAL A.A., BEVER J.D., BOROWICZ V.A., GILBERT G.S., MARON J.L., MITCHELL C.E., PARKER I.M., POWER A.G., TORCHIN M.E., VAZQUEZ D.P., 2007 - *Direct and interactive effects of enemies and mutualists on plant performance: a meta-analysis*. - *Ecology*, 88: 1021-1029.
- MUR L.A.J., KENTON P., ATZORN R., MIERSCH O., WASTERNACK C., 2006 - *The outcomes of concentration-specific interactions between salicylate and jasmonate signaling include synergy, antagonism, and oxidative stress leading to cell death*. - *Plant Physiol.*, 140: 249-262.
- NAEF A., ROY B., KAISER R., HONEGGER R., 2002 - *Insect-mediated reproduction of systemic infections by *Puccinia arrhenatheri* on *Berberis vulgaris**. - *New Phytologist*, 154(3): 717-730.
- PAGE A.R., LACEY K.L., 2006 - *Economic impact assessment of Australian weed biological control*. - Report to the CRC for Australian Weed Management. 165 pp.
- PIETERSE C.M.J., DICKE M., 2007 - *Plant interactions with microbes and insects: from molecular mechanisms to ecology*. - *Trends Plant Sci.*, 12: 564-569.
- RAYAMAJHI M.B., PRATT P.D., CENTER T.D., VAN T.K., 2010 - *Insects and a pathogen suppress *Melaleuca quinquenervia* cut-stump regrowth in Florida*. - *Biological Control*, 53(1): 1-8.
- REYMOND P., FARMER E.E., 1998 - *Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression*. - *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1: 404-411.
- RIVERO A., GIRON D., CASAS J., 2001 - *Lifetime allocation of juvenile and adult nutritional resources to egg production in a holometabolous insect*. - *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 1231-1237.
- ROJO E., SOLANO R., SANCHEZ-SERRANO J.J., 2003 - *Interactions between signalling compounds involved in plant defense*. - *J. Plant Growth Regul.*, 22: 82-98.
- SPAFFORD J.H., REILLY T.E., BATCHELOR K.L., 2007 - *The presence of *Zyginia* sp. and *Puccinia myrsiphylli* reduces survival and influences oviposition of *Crioceris* sp.* - *BioControl*, 52: 113-127.
- STOUT M.J., THALER J.S., THOMMA B.P.H.J., 2006 - *Plant-mediated interactions between pathogenic microorganisms and herbivorous arthropods*. - *Annu. Rev. Entomol.*, 51: 663-689
- TURNER P.J., MORIN L., WILLIAMS D.G., KRITICOS D.J., 2010 - *Interactions between a leafhopper and rust fungus on the invasive plant *Asparagus asparagoides* in Australia. A case of two agents being better than one for biological control*. - *Biological Control*, 54(3): 322-330.
- VAN LOON L.C., BAKKER P.A.H.M., PIETERSE C.M.J., 1998 - *Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria*. - *Annu. Rev. Phytopathol.*, 36: 453-483.
- VEGA F., DOWD P.F., LACEY L.A., PELL J.K., JACKSON D.M., KLEIN M.G., 2008 - *Dissemination of beneficial microbial agents by insects*. In: "Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology", Springer, The Netherlands, Chapter 3, pp. 127-146.
- VENTER N., HILL M.P., HUTCHINSON S.L., RIPLEY B.S., 2013 - *Weevil borne microbes contribute as much to the reduction of photosynthesis in water hyacinth as does herbivory*. - *Biological Control*, 64(2): 138-142.
- VON DAHL C.C., BALDWIN I.T., 2007 - *Deciphering the role of ethylene in plant-herbivore interactions*. - *J. Plant Growth Regul.*, 26: 201-209.
- WALTERS D., NEWTON A., LYON G., 2007 - *Induced Resistance for Plant Defence: A Sustainable Approach to Crop Protection*. Blackwell, Oxford.

SEDUTA PUBBLICA, ROMA 3 OTTOBRE 2014

Seminario in onore dell'Accademico Mario COLUZZI

ARTHROPOD VECTORS OF DISEASES
IN HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

Coordinatori:

MICHELE MAROLI e ANNA MARIA FAUSTO, Accademici

ARTHROPOD VECTORS OF DISEASES IN HUMANS AND DOMESTIC ANIMALS

INTRODUCTORY NOTE

MICHELE MAROLI (*) - ANNA MARIA FAUSTO (**)

(*) *c/o Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy*; e-mail: michele.maroli@gmail.com

(**) *Dipartimento per l'Innovazione nei sistemi Biologici, Agroalimentari e Forestali, Università della Tuscia, Largo dell'Università, 01100 Viterbo, Italy*

Introduzione al Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals - Introductory note

Arthropod-borne diseases are important infections transmitted by the bite of infected arthropod species. The arthropods that most commonly serve as vectors include: (i) blood sucking insects such as mosquitoes, phlebotomine sandflies, triatomine bugs, blackflies, fleas, culicoides and (ii) blood sucking arachnids such as mites and ticks. Arthropod vectors are cold-blooded and thus especially sensitive to climatic factors. Weather in particular can influence reproduction and survival rates of vectors. However, climate is only one of many other factors influencing vector distribution, such as habitat modification, land use, host density and pesticide application. Emerging infectious diseases are of increasing concern worldwide and in particular in Europe. In a review, JONES *et al.* (2008) have shown that between 1940 and 2004, the majority of emerging infectious diseases occurred in areas with both a high mobility and high density of population, notably Western Europe. Furthermore, 29% of the recorded events related to emerging infectious diseases were due to arthropod-borne diseases during the decade 1990-2000.

The cultural event celebrated by the "Accademia Nazionale Italiana di Entomologia" is in honor of Academician Mario Coluzzi and will focus the recent findings on old and new proven arthropod vectors, namely (i) phlebotomine sandflies, (ii) mosquitoes, (iii) culicoides and (iv) ticks. Each of the scientific contribution will address a series of issues of common interest such as the relevance of the vector-borne diseases in the given context, its transmission and epidemiology, including the current geographical distribution. Furthermore, factors triggering changes in distribution of the vectors and diseases and risk prediction models will also be discussed.

KEY WORDS: Arthropod vectors, phlebotomine sandflies, mosquitoes, culicoides, ticks, emerging infectious diseases, Italy.

PHLEBOTOMINE SANDFLIES (DIPTERA: PSYCHODIDAE)

Phlebotomine sandflies transmit pathogens affecting humans and animals worldwide. They are involved in the spreading of leishmaniasis, sandfly fever, summer meningitis, vesicular stomatitis, Chandipura virus encephalitis and Carrión's disease (MAROLI *et al.*, 2013). Increased sandfly density due to the interruption of vector control and increase in breeding sites and blood sources contribute to leishmaniasis spreading in settings of conflicts, migrations, deforestation and urbanization. It can be predicted that climatic changes will also affect density and dispersion of sandflies. The lecture "Leishmania development in sandflies: parasite-vector interactions" will highlight main aspects of *Leishmania* development in sandflies. After repeated studies it can be concluded that in matured infections the parasites migrate towards the thoracic midgut of sandfly, destroy the stomodeal valve and produce

promastigote secretory gel (PSG) which blocks the midgut lumen. Blocked sandflies have problem to take a bloodmeal, bite repeatedly, increasing the chance of *Leishmania* transmission. Finally, parasites are injected into the vertebrate host together with PSG and sand fly saliva. Metacyclic promastigotes deposited into the host skin are swallowed by the phagocytic cells, mainly macrophages, and inside them transform to non-flagellated amastigotes.

MOSQUITOES (DIPTERA: CULICIDAE)

Mosquitoes will be the subject of four major lectures concerning (i) autochthonous introduced malaria cases occurred in Italy in the last three years, (ii) mosquito surveillance in northern Italy, (iii) the introduction of a new mosquito species in Italy and (iv) the cryptic complexity of malaria vectors in Africa.

(i) *Autochthonous introduced malaria cases occurred in Italy in the last three years*

Although soon after the World War II malaria was eliminated from Mediterranean countries, the rise in the average temperature of the earth, environmental modifications, the increase of international travels, and socio-economic constraints recorded in the last decades, have raised the concern about the possible re-emergence of malaria in some of these countries, such as Italy where competent vectors are still present. The recent outbreaks of malaria in Greece, although limited in size, are paradigmatic of this possible public health threat (DANIS *et al.*, 2011). In Italy, one single confirmed case of autochthonous introduced *Plasmodium vivax* malaria has been recorded in 1997 (BALDARI *et al.*, 1998) since the five-year eradication campaign (1947-51). The lecture will deal with two new probable autochthonous introduced malaria cases that occurred in two sites of South-Central Italy respectively in 2009 and 2011.

(ii) *Mosquito surveillance in northern Italy*

The surveillance of mosquito-borne pathogens (MBPs) includes the entomological monitoring, which has different aims and strategies according to the target mosquito species and pathogen. The lecture will report the main results achieved in five years of entomological monitoring in north-eastern Italy for endemic and at risk of introduction MBPs (CAPELLI *et al.*, 2014). In particular, the significance of long and short term studies will be commented, also reporting examples of other researchers. The conclusion is that the current situation of MBPs in northern Italy suggests that entomological monitoring cannot be abandoned in the next future, especially in Veneto region. Efforts need to be done in order to maximize the efficacy of the monitoring systems and at the same time minimize the costs for the community. In this respect, studies on the cost/benefit of entomological monitoring systems are welcome.

(iii) *Introduction of a new mosquito species in Italy*

Aedes koreicus, a new species of exotic mosquito, was recorded in 2011 in north-eastern Italy (MONTARSI *et al.*, 2013). The aim of the lecture is to characterize the biology, the environment and the current distribution of this mosquito species by preliminary field and laboratory experiments, and to report the findings of the surveillance projects. Moreover, the importance to know the biology and the vector competence of a new invasive mosquito species in Italy will be discussed with the aim of minimizing the risk of pathogen transmission.

(iv) *Cryptic complexity of malaria vectors in Africa.*

The Afrotropical *Anopheles gambiae* complex includes the most efficient malaria vector species worldwide. Historically considered a single opportunistic species, these mosquitoes are now recognized as a group of morphologically indistinguishable, but genetically discontinuous breeding units, that display considerable genetically-based ecological and behavioral differences. The first evidence of a remarkable genetic heterogeneity within this species in West Africa originally came from seminal cytogenetic studies by Mario Coluzzi and collaborators (COLUZZI *et al.*, 1985) which led to the description of five co-occurring ‘chromosomal forms’ characterized by different chromosome-2 arrangements and larval ecologies. The speciation continuum and the cryptic heterogeneity observed within the *An. gambiae* complex thrust these organisms into the forefront of research on genomic patterns of species formation. The lecture will focus on the evolutive process ongoing within these species and on the severe epidemiological consequences, as it lends considerable ecological flexibility to the species/forms increasing malaria transmission geographically, seasonally and ecologically.

CULICOIDES (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE)

Culicoides are small biting midges, able to transmit several arboviruses to animals. Among these, Bluetongue (BTV) and Schmallenberg (SBV) viruses affect ruminants and are currently circulating in Italy and in Europe. A National Entomological Surveillance Plan is currently operating for Bluetongue, all over Italy, providing data on *Culicoides* which are also useful for other *Culicoides*-borne diseases, such as SBV. Some highlights on *Culicoides*, particularly as vectors of BTV and SBV (GOFFREDO *et al.*, 2013) in Italy, will be reported, as a result of more than 10 years of surveillance and research, in particular on: (i) ecology and distribution on the main vector species in Italy: *Culicoides imicola*, *Obsoletus* complex and *Pulicaris* complex; (ii) species playing a role in the transmission of Bluetongue and Schmallenberg viruses

TICKS (ACARI: IXODIDAE)

Many factors are involved in determining the latitudinal and altitudinal spread of the important tick vector *Ixodes ricinus* in Europe, as well as in

changes in the distribution within its prior endemic zones. The lecture aims to review the many factors that could have affected the geographical distribution of this tick species in Europe. These can be grouped into: (i) those directly related to climatic change, contributing to *I. ricinus* spreading at extremes of altitude (central Europe), and at extremes of latitude (Scandinavia); (ii) those related to changes in the distribution of tick hosts, particularly roe deer; (iii) other factors such as changes in land management and (iv) human-induced changes (MEDLOCK *et al.*, 2013). These factors are strongly interlinked and often not well quantified. Although a change in climate plays an important role in some geographic regions, for much of Europe it is non-climatic factors that are becoming increasingly important. Changes of habitats on a landscape scale and of distribution and abundance of tick hosts are important considerations for the assessment and management of the public health risks associated with ticks and tick-borne disease.

REFERENCES

- BALDARI M., TAMBURRO A., SABATINELLI G., ROMI R., SEVERINI C., CUCCAGNA P., FIORILLI G., ALLEGRI M.P., BURIANI C., TOTI M., 1998 – *Introduced malaria in Maremma, Italy.* - The Lancet, 351(9111): 1246-1248.
- CAPELLI G., MONTARSI F., RAVAGNAN S., CAZZIN S., MAZZUCATO M., MULATTI P., RUSSO F., MARANGON S., 2014 – *How entomological studies can help the control of mosquito-borne diseases: a five-years experience in north-eastern Italy.* - Proceedings of the 1st Conference on Neglected Vectors and Vector-Borne Diseases (EurNegVec): with Management. Committee and Working Group Meetings of the COST Action TD1303. Parasit. Vectors, 7 (Suppl 1): O30.
- COLUZZI M., PETRARCA V., DI DECO M.A., 1985 – *Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in Anopheles gambiae.* - Bolletino di Zoologia, 52: 45-63.
- DANIS K., BAKA A., LENGLET A., VAN BORTEL W., TERZAKI I., TSERONI M., *et al.*, 2012 – *Autochthonous Plasmodium vivax malaria in Greece.* - Euro Surveill., 16(42): pii=19993. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle>.
- GOFFREDO M., MONACO F., CAPELLI G., QUAGLIA M., FEDERICI V., CATALANI M., MONTARSI F., POLCI A., PINONI C., CALISTRI P., SAVINI G., 2013. – *Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in Culicoides stored during the bluetongue Italian surveillance program.* - Prev. Vet. Med., 111(3-4): 230-6
- JONES K.E., PATE N.G., LEVY M.A., STOREYGARD A., BALK D., GITTLEMAN J.L. *et al.*, 2008 – *Global trends in emerging infectious diseases.* - Nature, 451: 990-3. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nature06536>.
- MAROLI M., FELICIANGELI M.D., BICHAUD L., CHARREL R.N., GRADONI L., 2013 – *Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern.* - Med. Vet. Entomol., 27: 123-147.
- MEDLOCK J.M., HANSFORD K.M., BORMANE A., DERDAKOVA M., ESTRADA-PEÑA A., GEORGE J.C., GOLOVLJOVA I., JAENSON T.G., JENSEN J.K., JENSEN P.M., KAZIMIROVA M., OTEO J.A., PAPA A., PFISTER K., PLANTARD O., RANDOLPH S.E., RIZZOLI A. *et al.*, 2013 – *Driving forces for changes in geographical distribution of Ixodes ricinus ticks in Europe.* - Parasit. Vectors. 2013 Jan 2;6:1. doi: 10.1186/1756-3305-6-
- 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., Oct 10;6:292.

LEISHMANIA DEVELOPMENT IN SAND FLIES AND MAIN ASPECTS OF THIS PARASITE-VECTOR INTERACTION

PETR VOLF (*)

(*) *Department of Parasitology, Faculty of Science, Charles University in Prague, Vinicna 7, 128 44 Czech Republic; e-mail: volf@cesnet.cz*
Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Leishmania development in sand flies and main aspects of this parasite-vector interaction.

Leishmaniases are important vector-borne disease with a wide range of clinical symptoms in humans and domestic animals. *Leishmania* species infecting humans are transmitted by phlebotomine sand flies belonging to genera *Phlebotomus* and *Lutzomyia*. Here we summarize main aspects of *Leishmania* development in sand flies. In the vector, *Leishmania* development is confined to the digestive tract, mainly midgut, where parasites encounter various mechanical or biochemical barriers. The first one is mounted by a proteolytic attack by digestive proteases secreted following a bloodmeal. A second barrier is presented by peritrophic matrix surrounding the bloodmeal. At the end of bloodmeal digestion, when peritrophic matrix breaks, *Leishmania* must attach to midgut epithelium to prevent excretion with the remnants of the bloodmeal. In matured infections parasites migrate towards the thoracic midgut, destroy the stomodeal valve and produce promastigote secretory gel which blocks the midgut lumen. Blocked sand flies have problem to take a bloodmeal, bite repeatedly, increasing the chance of *Leishmania* transmission. Finally, parasites are injected into the vertebrate host together with PSG and sand fly saliva. Metacyclic promastigotes deposited into the host skin are swallowed by the phagocytic cells, mainly macrophages, and inside them transform to non-flagellated amastigotes.

KEY WORDS: *Phlebotomus*, *Leishmania*, parasite-vector interaction, sand fly, midgut.

INTRODUCTION

Leishmaniases are a group of important human and veterinary diseases endemic in 88 countries, putting estimated 350 million people at risk and afflicting 12 million people per year. The causative agents of the disease are parasites of genus *Leishmania*, dixenous flagellates belonging to family Trypanosomatidae. Human infections are worldwide-spread and caused by more than 20 different species of *Leishmania* (ALVAR *et al.*, 2012).

Leishmaniases cause a wide range of clinical symptoms. Some *Leishmania* species, like *L. major*, cause primary skin infections (cutaneous leishmaniases) which may heal even without treatment. However, in several other *Leishmania* species the infection can spread and produce secondary lesions in the skin (diffuse cutaneous leishmaniasis), in the mucosa (muco-cutaneous leishmaniasis) and invade inner organs, mainly the spleen, liver and bone marrow (visceral leishmaniasis). Visceral leishmaniasis is a deadly disease occurring mainly in Indian subcontinent and East Africa, where the causative agent is *Leishmania donovani*. However, VL caused by another species, *L. infantum*, occurs also all

around the Mediterranean basin and in Latin America.

Importantly, leishmaniases are vector-borne diseases transmitted by phlebotomine sand flies (Diptera: Phlebotominae). During their life cycle, *Leishmania* parasites alternate between two major forms: flagellated promastigotes developing inside the digestive tract of sand flies and amastigotes, rounded forms without flagellum which develop inside phagocytic cells of vertebrate hosts. In sand fly, *Leishmania* development is confined to the digestive tract, mainly to the midgut.

Sand flies are tiny and hairy insects grouped in the order Diptera, suborder Nematocera. They seldom exceed 3 mm in body length. They are holometabolous insects and their life cycle includes egg, larva (four instars), pupa and adult. Larvae are terrestrial and develop in environment (soil, rodent burrows etc.) rich in organic content. Both males and females feed on sugar solutions, like nectar. Only females are hematophagous and require a blood meal as a source of proteins for oocyte development. The adult sand flies are active in the evening and during the night. Their flight range is typically very short, seldom exceeding hundreds of meters.

In Mediterranean countries their activity peaks during summer and they have one or two generation per year (KILLICK-KENDRICK, 1999).

Two sand fly genera are involved in transmission of human leishmaniases. While sand flies of genus *Phlebotomus* transmit the disease within the Old World, species of genus *Lutzomyia* serve as the vectors in the New World. In addition to *Leishmania* parasites, sand fly females also transmit other human pathogens, like bacteria (*Bartonella*) and viruses (mainly Bunyaviridae), which further increase their medical significance (MAROLI *et al.*, 2013).

Here we briefly summarize main aspects of *Leishmania* development in phlebotomine sand flies with emphasis to own studies on parasite-vector interaction.

LEISHMANIA DEVELOPMENT WITHIN THE SAND FLY MIDGUT

Sand fly midgut is composed of a single layered epithelium with a brush border of microvilli lining the lumen. In contrast, the foregut (including the stomodeal valve) and the hindgut (including the pyloric triangle) are lined by chitin. In subgenus *Viannia* and in reptile pathogens of genus *Sauroleishmania*, haptomonads attach also to chitin lining of the pylorus region, but members of subgenus *Leishmania* develop exclusively in the midgut and foregut (LAINSON *et al.*, 1977).

Population of *Leishmania* promastigotes in sand fly gut includes several morphological forms which differ in cell shape, flagellum length, motility, surface molecules and other biochemical properties. During the early stage infection, amastigotes ingested along with a bloodmeal into abdominal midgut transform first into procyclic promastigotes, these replicate and in few days transform to long nectomonads. At this stage of infection, barriers to *Leishmania* development may include proteolytic enzymes, immune molecules and the peritrophic matrix surrounding the ingested blood meal (reviewed by DOSTALOVA and VOLF, 2012).

In the midgut of unfed sand flies there is little baseline protease activity but the ingestion of bloodmeal induces secretion of digestive enzymes which can be attributed mainly to serine proteases, namely trypsin- and chymotrypsin-like enzymes (DILLON and LANE, 1993, TELLERIA *et al.*, 2010). *Leishmania* are protected against proteolytic damage by surface glycoconjugates called phosphoglycans, in natural parasite-vector

pair these molecules enable promastigotes to thrive in environment full digestive enzymes (SECUNDINO *et al.*, 2010, SVAROVSKA *et al.*, 2010). However, the role of effector molecules with potential to kill the *Leishmania* awaits further investigation. Alternatively, the killing effect may results from a combined action of midgut trypsin in concert with other, as yet unidentified, factors present in the midgut lysate. Immune-related sand fly molecules, like *P. duboscqi* defensin, when activated, may adversely impact the development of *Leishmania* in the midgut (BOULANGER *et al.*, 2004).

The peritrophic matrix (PM, previously known as peritrophic membrane) represents the main mechanical barrier to *Leishmania* development in the midgut. It is an acellular layer composed of chitin, proteins, and glycoproteins. In most insects encloses ingested blood meal, protects the midgut epithelium against pathogens and abrasion and compartmentalizes digestion between endo- and ectoperitrophic spaces (LEHANE, 1997). In hematophagous insects the PM also performs a central role in heme detoxification (PASCOA *et al.*, 2002). The role of the PM in vector competence seems to be dual. According to some authors (PIMENTA *et al.*, 1997), in the very early stage of infection the PM protect parasites transforming from amastigotes to promastigote stages, i.e., when they are vulnerable to proteolytic damage. Later, however, PM creates a physical barrier that prevents escape of parasites from the endoperitrophic space which may result in their defecation with blood meal remnants (reviewed by BATES, 2008).

The structure of PM is complex and rearranges during the course of blood digestion. Within several hours post blood meal a thin PM composed mainly of chitin fibrils covers the whole surface of the blood bolus. At later stages the PM gets thicker and matures; proteins and glycoproteins are incorporated in its structure and PM darkens due to heme incrustations. Few days later, the PM structure appears wrinkled and then starts to break down (WALTERS *et al.*, 1993, SADLOVA and VOLF, 2009). It was a matter of debate whether the process of disintegration of the PM is caused only by sand fly own chitinases or is accelerated by *Leishmania* derived chitinase. In a natural vector – parasite pair *L. major* – *P. duboscqi* we clearly demonstrated that parasite chitinase has no role in disintegration of the PM: *Leishmania* “wait” until the PM is broken and migrate through its posterior opening. We concluded that the parasites taking advantage of the sand fly chitinolytic activity

within the midgut is the main mechanism for their escape and *Leishmania* chitinase is not required for escape of long nectomonads from the peritrophic matrix-encased blood meal into the midgut lumen (SADLOVA and VOLF, 2009). However, it is important to note that the rate of formation and disintegration of the PM in blood-feeding Diptera is highly species-specific (LEHANE, 1997). As our preliminary experiments comparing PM persistence in various sand flies revealed striking differences between species, the further research on PM is needed. Anyway, this structure should be considered as an important factor contributing to the vector competence of sand flies.

The next important step in parasite life cycle is the establishment within the midgut. As the blood digestion proceeds, parasites need to bind to the midgut epithelium to avoid being excreted with the blood meal remnants. Following the escape from the endoperitrophic space, the parasites attach to the midgut, inserting their flagella between microvilli (reviewed by BATES, 2008). It has been postulated that this binding is the main determinant of parasite-vector specificity (PIMENTA *et al.*, 1994). *Leishmania* gut binding is strictly stage-dependent (SACKS and PERKINS, 1985), is a property of those forms found in the middle phase of development (nectomonad and leptomonad forms), but is absent in the early blood meal and final stages (procyclic and metacyclic forms) (WILSON *et al.*, 2010).

Based upon experimental tests of their ability to support development various *Leishmania* species, sand flies have been classified into two categories. Some sand fly species, namely *P. papatasi*, *P. duboscqi* and *P. sergenti*, display remarkable specificity for *Leishmania* they transmit. There appears to be a close evolutionary fit between *P. papatasi* and *P. duboscqi* with *L. major* and *P. sergenti* with *L. tropica*, as other *Leishmania* species survive poorly in these sand fly hosts. These sand fly species are called “specific” or “restrictive vectors”. In contrast, other *Phlebotomus* and *Lutzomyia* species tested to date support development of multiple *Leishmania* species and are thus called “permissive vectors” (reviewed by VOLF and MYSKOVA, 2007).

In specific vector *P. papatasi*, group of David Sacks showed that attachment is controlled by species-specific receptors for lipophosphoglycan (LPG) the main surface glycoconjugate on parasite surface. This specific receptor for terminal galactose on *L. major* LPG was

identified as galectin (KAMHAWI *et al.*, 2004). Studies using LPG-deficient parasites confirmed the crucial role of LPG in the attachment of *L. major* in the midgut of *P. papatasi* and *P. duboscqi* (SVAROVSKA *et al.*, 2010). On the other hand, in permissive vectors the attachment does not require LPG; parasites deficient in LPG were able to survive well in four permissive vectors *P. arabicus*, *P. argentipes*, *P. perniciosus* and *L. longipalpis* (MYSKOVA *et al.*, 2007, SVAROVSKA *et al.*, 2010).

Research on various sand fly species revealed an interesting correlation between permissivity and presence of N-acetyl-D-galactosamine (NAcGal) - displaying glycoconjugates in the midgut of sand flies. These glycoconjugates were present in *Lutzomyia longipalpis*, *Phlebotomus halepensis*, *P. perniciosus*, *P. argentipes* and *P. arabicus*, all known as permissive vectors. On the other hand, they were not present in *P. papatasi* and *P. sergenti*, two species known as specific vectors of *Leishmania major* and *L. tropica*, respectively. We proposed that these NAcGal-containing glycoconjugates may serve as ligands for *Leishmania* attachment in permissive vectors; they are present on microvillar surface of the midgut, the right place for attachment of promastigotes, and they also bind to *Leishmania* surface *in vitro* (MYSKOVA *et al.*, 2007). This new binding modality implies involvement of a parasite lectin-like receptor, similar to those described by SVOBODOVA *et al.* (1997).

Differences in glycosylation of sand fly midgut may have important consequences for vector competence of sand flies. Permissive vectors should be considered as potential vectors of various *Leishmania* species. In favourable conditions they may even spread *Leishmania* into new areas and establish new foci of leishmaniasis. Probably the most important example is the establishment of *L. infantum* (= *L. chagasi*) in Latin America. In the Old World around Mediterranean Sea, *Leishmania infantum* is transmitted by *P. perniciosus* and other sand fly species belonging to subgenus *Larrousius*. However, when imported into the New World by conquistadores and their dogs, it was able to develop in *Lutzomyia longipalpis*, another highly permissive sand fly with midgut covered by NAcGal-containing glycoconjugates (VOLFF and MYSKOVA, 2007)

Once attached to midgut epithelium and established in the midgut, parasites replicate vigorously and then migrate anteriorly. Parasite forms called short nectomonads (= leptomonads) accumulate in large numbers in the thoracic part of the

midgut. They produce promastigote secretory gel (PSG) containing filamentous proteophosphoglycan and creating a gel-like plug. This gel, together with parasite masses, physically obstructs the gut (ROGERS *et al.*, 2002). Another morphological form, called haptomonad, attaches to cuticular lining of the stomodeal valve through an expanded flagellum containing hemidesmosomal structures and also contributes to obstruction of the digestive tract (VOLF *et al.*, 2004). So called “blocked sand flies” have problem to take a bloodmeal, bite repeatedly, increasing the chance of *Leishmania* transmission (ROGERS and BATES, 2007).

Importantly, in matured infections there are also numerous small, rapid-swimming forms with an elongated flagellum that originate from leptomonads (reviewed by BATES, 2007). These are called metacyclic promastigotes and represent the stage highly infective for vertebrate host (SACKS and PERKINS, 1985). *In vitro* the metacyclogenesis was induced by several ways, like low pH or nutrient depletion, but very little is known about the signals triggering metacyclogenesis in the sand fly midgut. For *L. major* metacyclogenesis in *P. papatasi* the genetic locus encoding HASPs and SHERP, *Leishmania*-specific proteins of unknown function, was shown to be essential (SADLOVA *et al.*, 2010).

The stomodeal valve, which represents the junction between anterior midgut and foregut, plays an extraordinary role in *Leishmania* development in transmission. This valve closes the anterior entrance to the midgut and in non-infected sand flies ensures one way flow of the food. It is composed by typical cylindrical cells covered by chitin lining (SCHLEIN *et al.*, 1992, SADLOVA and VOLF, 2009). Below chitin, there are unique filamentous structures called apical filaments (SADLOVA and VOLF, 2009). The attached parasites cause damage to the structure of the stomodeal valve, interfering with its function and facilitating reflux of parasites from the midgut (SCHLEIN *et al.*, 1992). Stomodeal valve of heavily infected sand flies seems to be permanently open, shape of cells is changed, chitin is separated from the apical end of cells and apical filaments are destroyed (VOLF *et al.*, 2004). The destruction is likely due to the action of *Leishmania* chitinase (ROGERS *et al.*, 2008).

In matured infections, metacyclic promastigotes are concentrated in the anterior part of midgut, close to stomodeal valve, sometimes invading also the pharynx, cibarium and proboscis. Some authors occasionally found *Leishmania* metacyclics in salivary glands of sand flies (KILLICK-

KENDRICK *et al.*, 1996) or in urine discharged by infected females during blood feeding (SADLOVA and VOLF, 1999). However, it is generally accepted that there are two main mechanism of transmission of metacyclic parasites: either small numbers of metacyclics present in the proboscis are deposited into the skin during feeding or parasites masses residing in thoracic midgut behind the stomodeal valve are regurgitated with a backflow of ingested blood (reviewed by BATES, 2008). Therefore, pathological changes of the stomodeal valve, together with obstruction of the thoracic midgut by PSG, are important for parasite transmission. However, in any case of transmission, transformation to metacyclic stages highly infective for the vertebrate host is the important prerequisite for effective transmission.

The cycle is completed when another non-infected female sand fly feeds of the infected host and subsequently spreads parasites to other vertebrates. *Leishmania* parasites are injected into the vertebrate host together with PSG and sand fly saliva. Metacyclic promastigotes deposited into the host skin are swallowed by the phagocytic cells, mainly macrophages, and inside them transform to non-flagellated amastigotes. Both, PSG and saliva has a crucial role in this event, immunomodulating the host and enhancing the virulence of the parasite, however, these interesting interactions are beyond the scope of this short review.

ACKNOWLEDGEMENTS

Author is grateful to Prof. Michele Maroli for his long-lasting help and friendship. The study was partially funded by EU grant FP7-261504 EDENext and the manuscript is cataloged by the EDENext Steering Committee as EDENext 296 (<http://www.edenext.eu>).

RIASSUNTO

Le Leishmaniosi sono importanti malattie trasmesse da vettori, con una vasta gamma di sintomi clinici nell'uomo e negli animali domestici. Le specie di *Leishmania* che infettano l'uomo sono trasmesse da alcune specie di flebotomi (Diptera, Psychodidae appartenenti ai generi e *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. Nella rassegna verranno riassunti gli aspetti principali dello sviluppo di *Leishmania* sp. nei flebotomi. Nel vettore, lo sviluppo di *Leishmania* è limitato al tratto digestivo, soprattutto l'intestino centrale, dove i parassiti incontrano diversi ostacoli meccanici e biochimici. Il primo è dato da un attacco proteolitico da proteasi digestivi secreti in seguito al pasto di sangue. Una seconda barriera è presentato dalla matrice peritrofica che circonda il pasto di sangue. Al termine della digestione del pasto di sangue, quando si

rompe la matrice peritrofica, i parassiti di *Leishmania* devono legarsi all'epitelio dell'intestino medio per prevenire l'escrezione con i resti del pasto di sangue. Nelle infezioni che pogrediscono i parassiti, traformati in promastigoti, migrano verso l'intestino toracico dove distruggono la valvola stomodale e bloccano il lume dell'intestino con un gel noto PSG (Promastigote Secretory Gel). I flebotomi con l'intestino bloccato hanno molte difficoltà a completare un secondo pasto di sangue, e quindi pungendo ripetutamente aumentano la probabilità di trasmissione dei parassiti. Infine, i parassiti sono iniettati nell'ospite vertebrato con PSG misto alla saliva del flebotomo. I promastigoti depositati nella pelle dell'ospite sono inghiottiti dai fagociti, principalmente macrofagi, e al loro interno si trasformano in amastigoti non flagellati.

REFERENCES

- ALVAR J., VELEZ I.D., BERN C., HERRERO M., DEJEUX P., CANO J., JANNIN J., DEN BOER M., 2012 - *Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence*. - PloS One, 7: e35671.
- BATES P.A., 2007 - *Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies*. - Int. J. Parasitol., 37: 1097-1106.
- BATES P.A., 2008 - *Leishmania sand fly interaction: progress and challenges*. - Curr. Opin. Microbiol., 11: 340-344.
- BOULANGER N., LOWENBERGER C., VOLF P., URSIC R., SIGUTOVA L., SABATIER L., SVOBODOVA M., BEVERLEY S.M., SPÄTH G., BRUN R., PESSON B., BULET P., 2004 - *Characterization of a defensin from the sand fly Phlebotomus duboscqi induced by challenge with bacteria or the protozoan parasite Leishmania major*. - Infect Immun., 72: 7140-7146.
- DILLON R.J., LANE R.P., 1993 - *Bloodmeal Digestion in the midgut of Phlebotomus papatasi and Phlebotomus langeroni*. - Med. Vet. Entomol., 7: 225-232.
- DOSTALOVA A., VOLF P., 2012 - *Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions overview*. - Parasites and Vectors, 5: 276.
- KAMHAWI S., 2006 - *Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes?* Trends Parasitol., 22: 439-445.
- KAMHAWI S., RAMALHO-ORTIGAO M., PHAM V.M., KUMAR S., LAWYER P.G., TURCO S.J., BARILLAS-MURY C., SACKS D.L., VALENZUELA J.G., 2004 - *A role for insect galectins in parasite survival*. - Cell, 119: 329-341.
- KILLICK-KENDRICK R., 1999 - *The biology and control of phlebotomine sand flies*. - Clin. Dermatol., 17:279-289.
- KILLICK-KENDRICK R., KILLICK-KENDRICK M., TANG Y., BASTIEN P., 1996 - *Metacyclic promastigotes of Leishmania in the salivary glands of experimentally infected phlebotomine sandflies*. - Parasite, 3: 55-60.
- LAINSON R., WARD R.D., SHAW J.J., 1977 - *Leishmania in phlebotomid sandflies: VI. Importance of hindgut development in distinguishing between parasites of the Leishmania mexicana and L. braziliensis complexes*. - Proc. R. Soc. Lond. Biol., 199: 309-320.
- LEHANE M.J., 1997 - *Peritrophic matrix structure and function*. - Annu. Rev. Entomol., 42: 525-550.
- MAROLI M., FELICIANGELI M.D., BICHAUD L., CHARREL R.N., GRADONI L., 2013 - *Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern*. - Med. Vet. Entomol., 27: 123-147.
- MYSKOVA J., SVOBODOVA M., BEVERLEY S.M., VOLF P., 2007 - *A lipophosphoglycan-independent development of Leishmania in permissive sand flies*. - Microbes Infect., 9: 317-324.
- PASCOA V., OLIVEIRA P.L., DANSA-PETRETSKI M., SILVA J.R., ALVARENGA P.H., JACOBS-LORENA M., LEMOS F.J.A., 2002 - *Aedes aegypti peritrophic matrix and its interaction with heme during blood digestion*. - Insect Biochem. Mol. Biol., 32:517-523.
- PIMENTA P.F.P., MODI G.B., PEREIRA S.T., SHAHABUDDIN M., SACKS D.L., 1997 - *A novel role for the peritrophic matrix in protecting Leishmania from the hydrolytic activities of the sand fly midgut*. - Parasitology, 15:359-369.
- PIMENTA P.F.P., SARAIVA E.M.B., ROWTON E., MODI G.B., GARRAWAY L.A., BEVERLEY S.M., TURCO S.J., SACKS D.L., 1994 - *Evidence that the vectorial competence of phlebotomine sand flies for different species of Leishmania is controlled by structural polymorphisms in the surface lipophosphoglycan*. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 9155-9159.
- ROGERS M.E., CHANCE M.L., BATES P.A., 2002 - *The role of promastigote secretory gel in the origin and transmission of the infective stage of Leishmania mexicana by the sandfly Lutzomyia longipalpis*. - Parasitology, 124: 495-507.
- ROGERS M.E., HAJMOVA M., JOSHI M.B., SADLOVA J., DWYER D.M., VOLF P., BATES P.A., 2008 - *Leishmania chitinase facilitates colonization of sand fly vectors and enhances transmission to mice*. - Cell. Microbiol., 10: 1363-1372.
- ROGERS M.E., BATES P.A., 2007 - *Leishmania manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission*. - Plos Pathogens, 3: 818-825.
- SACKS D.L., PERKINS P.V., 1985 - *Development of infective stage Leishmania promastigotes within phlebotomine sandflies*. - Am. J. Trop. Med. Hyg., 34: 456-459.
- SECUNDINO N., KIMBLIN N., PETERS N.C., LAWYER P., CAPUL A.A., BEVERLEY S.M., TURCO S.J., SACKS D., 2010 - *Proteophosphoglycan confers resistance of Leishmania major to midgut digestive enzymes induced by blood feeding in vector sand flies*. - Cell. Microbiol., 12: 906-918.
- SVAROVSKA A., ANT T.H., SEBLOVA V., JECNA L., BEVERLEY S.M., VOLF P., 2010 - *Leishmania major glycosylation mutants require phosphoglycans (lpg2-) but not lipophosphoglycan (lpg1-) for survival in permissive sand fly vectors*. - PLoS Negl. Trop. Dis., 4: e580.
- SADLOVA J., PRICE H.P., SMITH B.A., VOYTPKA J., VOLF P., SMITH D.F., 2010 - *The stage-regulated HASPB and SHERP proteins are essential for differentiation of the protozoan parasite Leishmania major in its sand fly vector, Phlebotomus papatasi*. - Cell. Microbiol., 12: 1765-1779.
- SADLOVA J., VOLF P., 1999 - *Occurrence of Leishmania major in sandfly urine*. - Parasitology, 118: 455-460.
- SADLOVA J., VOLF P., 2009 - *Peritrophic matrix of Phlebotomus duboscqi and its kinetics during Leishmania major development*. - Cell. Tissue Res., 337: 313-325.
- SCHLEIN Y., JACOBSON R.L., MESSER G., 1992 - *Leishmania infections damage the feeding mechanism of the sandfly vector and implement parasite transmission by bite*. - Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 9944-9948.
- SVOBODOVA M., BATES P.A., VOLF P., 1997 - *Detection of lectin activity in Leishmania promastigotes and amastigotes*. - Acta Trop., 68: 23-35.

- TELLERIA E.L., DE ARAUJO A.P., SECUNDINO N.F., D'AVILA-LEVY C.M., TRAUB-CSEKO Y.M., 2010 - *Trypsin-Like Serine Proteases in Lutzomyia longipalpis - Expression, Activity and Possible Modulation by Leishmania infantum chagasi*. - PLoS One, 5: e10697.
- VOLF P., HAJMOVA M., SADLOVA J., VOTYPKA J., 2004 - *Blocked stomodeal valve of the insect vector: similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models*. - Int. J. Parasitol., 34: 1221-1227.
- VOLF P., MYSKOVA J., 2007 - *Sand flies and Leishmania: specific versus permissive vectors*. - Trends Parasitol., 23: 91-92.
- WALTERS L.I., IRONS K.P., GUZMAN H., TESH R.B., 1993 - *Formation and Composition of the Peritrophic Membrane in the Sand Fly, Phlebotomus perniciosus (Diptera, Psychodidae)*. - J. Med. Entomol., 30: 179-198.
- WILSON R., BATES M.D., DOSTALOVA A., JECNA L., DILLON R.J., VOLF P., BATES P.A., 2010 - *Stage-specific adhesion of Leishmania promastigotes to sand fly midguts assessed using an improved comparative binding assay*. - PLoS Negl. Trop. Dis., 4: e816.

FACTORS AFFECTING THE GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF *IXODES RICINUS* (ACARI: IXODIDAE) AND ITS TRANSMITTED PATHOGENS IN EUROPE

ANNAPAOLA RIZZOLI (*)

(*) *Fondazione Edmund Mach, San Michele all'Adige, TN, Italy; e-mail: annapaola.rizzoli@iasma.it*
Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Factors affecting the geographical distribution of Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) and its transmitted pathogens in Europe

Many biotic and abiotic factors are involved in determining the distribution of the important tick vector *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Europe, as well as in driving changes in its occurrence within its prior endemic zones. This paper aims to review some of the main factors that could have affected the geographical distribution of this tick species and its transmitted pathogens in Europe during the last decades. These factors can be grouped into: (i) those directly related to climatic change, contributing to *I. ricinus* invasion and spreading at extremes of altitude (central Europe), and at extremes of latitude in Europe (Fennoscandia); (ii) those related to changes in the distribution and abundance of tick hosts; (iii) other factors such as changes in land management and (iv) human-induced changes. These factors are strongly interlinked and often their synergic effects is not well quantified and assessed. Although a change in climate plays an important role in some geographic regions, for much of Europe non-climatic factors exert a dominating effect. Changes of habitats structure on a landscape scale and of distribution, assemblage and abundance of tick hosts are important factors to be considered for the pre-assessment of the public health risks associated with the tick *I. ricinus* and its transmitted pathogens.

KEY WORDS: Tick, *Ixodes ricinus*, Italy, Europe, distribution, ecology, tick-borne disease.

INTRODUCTION

Ixodes ricinus, known as the wood tick, belong to order of Acari, family Ixodidae. The need for habitat providing high relative humidity (during free-living cycle), the occurrence of animal hosts as sources for the blood meal for all stages and the possibility of an high dispersion rate among habitat patches are important pre-requisites for *I. ricinus* to survive within a habitat and for the completion of its life cycle (GASSNER *et al.*, 2011). The species cover nowadays a wide European geographic area including Scandinavia, British Isles, central Europe, France, Spain, Italy, the Balkans, eastern Europe and North Africa (ESTRADA-PEÑA, 2001; MEDLOCK *et al.*, 2013). Moreover, this tick species continue to be reported into new territories in Europe and, albeit anecdotally, at ever increasing abundance in known endemic areas including the urban and peri-urban belts thus providing new hot spots for infection hazard (RIZZOLI *et al.*, 2014).

In Italy, *I. ricinus* has been reported in almost all regions where moist forest habitats are present (MAROLI *et al.*, 1995), so that its frequency gradually decreases from subalpine areas in the Apennines and, from these, to the southernmost

Italian regions (MANILLA, 1993), where it is often replaced by another species with it long time confused, *Ixodes gibbosus*, (SARATSIOTIS, BATTELLI, 1972). The rare reports of *I. ricinus* in Sardinia are likely to be referred to *I. gibbosus*.

I. ricinus can harbour a great variety of microorganisms and it is a competent vector of several pathogens of medical and veterinary importance (CARPI *et al.*, 2011, VASSYER-TAUSSAT *et al.*, 2013). In Italy, those of greatest concern have been recently reviewed by OTRANTO *et al.* (2014)

Those which are recognized having the greatest impact on the European human health include tick-borne encephalitis (TBE), caused, in central-western Europe by the western European TBEV subtype (TBEV-Eur) (KUNZE, 2013) and Lyme Borreliosis (LB) caused by spirochetes of the *B. burgdorferi* s.l. complex (HUBALEK, 2009; RIZZOLI *et al.*, 2011) (Table 1). However, the tick *I. ricinus* can also harbor bacteria of rising medical and veterinary relevance belonging to the order Rickettsiales. They include *Anaplasma phagocytophilum* that can lead to granulocytic anaplasmosis in both humans and animals (STUEN *et al.*, 2013), the emerging pathogen "*Candidatus* Neoehrlichia mikurensis" causing febrile illness in immunocompromised patients

Table 1- Pathogens of medical and veterinary importance most commonly transmitted by *I. ricinus*.

Pathogens	Disease
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Lyme borreliosis
<i>Borrelia miyamotoi</i>	Relapsing fever
Tick-borne encephalitis virus	Tick-borne encephalitis
<i>Anaplasma phagocytophilum</i>	Human granulocytic anaplasmosis
<i>Francisella tularensis</i>	Tularaemia
<i>Rickettsia helvetica</i> and <i>R. monacensis</i>	Spotted fever rickettsiosis
<i>Babesia divergens</i> , <i>B. venatorum</i> , <i>B. microti</i>	Babesiosis
<i>Bartonella</i> spp	Bartonellosis
<i>Candidatus Neoehrlichia mikurensis</i>	Neoehrlichiosis

(GRANKVIST *et al.*, 2014); rickettsiae of the spotted fever group (SFG) (*Rickettsia helvetica*, *R. monacensis*) causing rickettsioses in humans (PAROLA *et al.*, 2013), protozoans of the genus *Babesia*, mainly *B. divergens*, *B. microti*, *B. venatorum* causing babesiosis in humans (GRAY *et al.*, 2010). The role of *I. ricinus* in transmission of *Bartonella* species (e.g., *B. quintana* and *B. henselae*) causing bartonellosis in humans was recently confirmed (SOCOLOVSKI *et al.*, 2009; ANGELAKIS *et al.*, 2010). *Francisella tularensis*, causing tularemia, and the Q fever agent *Coxiella burnetii* have also been detected in *I. ricinus*, but the role of this tick species in the epidemiology of these diseases is probably not significant (HAI *et al.*, 2014). Because of the considerable variation in diagnostic procedures and reporting rules (most of these diseases are not notifiable) the actual variation in disease incidence across countries it is difficult to be assessed. However, a real increase in incidence has been demonstrated at least for Lyme borreliosis and, in certain countries, for TBE (HOFHUIS *et al.*, 2015; DORKO *et al.*, 2014).

Among the most likely explanation for this increase the concomitant (i) increase in the number of people exposed to tick bites and (ii) changing geographical distribution, infection rate, density and activity of *I. ricinus*, exert an important role. However, other factors related to the pathogens adaptation and evolution other than changes in human susceptibility to these infections should be considered.

This paper aims to shortly review some of the main factors that could have affected the changes in geographical distribution of this tick species and its transmitted pathogens in Europe.

BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL FEATURES OF *I. RICINUS*

I. ricinus is a relatively small hard ticks. The size of the adult female varies from 4 to 10 mm. It has

a sexual dimorphism, with female larger than male. The stages of development are egg, larva, nymph and adult. The mouthparts are composed of a rostrum, the palps, and the chelicerae. The salivary glands secrete substances cementing, anticoagulants and vasoconstrictor to promote blood meal on the host. In the adult female chitinous shield covers only the front to allow the expansion of the abdomen during the blood meal. There are three pairs of legs in the larval stage, four in the adult stage. The tick does not have eyes, but it has a sensory organ, known as Hallers organ, which is used to detect changes within the environment such as temperature, carbon dioxide, humidity and vibrations, thus indicating the best times to quest the presence of a host. *I. ricinus* quest for hosts using an “ambush” technique whereby they climb to the tips of vegetation and wait for a host to brush pass. During questing, the tick loses moisture so has to climb back down the vegetation into the litter/mat layer to rehydrate. The larvae usually feed on ground dwelling animals other than on those preferred by adults. The former includes small mammals and insectivores, birds, lizards; adult females and nymphs fed on the larger mammals, including humans while the adult male does not feed (MANILLA 1993; MEDLOCK *et al.*, 2013 and references herein). Therefore, the movement of animals, particularly birds and large mammals, with engorged ticks is crucial for the short- and long-range dispersal of this tick. *I. ricinus*, especially at the nymphal stage, do have a high affinity for humans (PAROLA, RAOULT, 2001), making them efficient vectors of human diseases.

Larger hosts, such as wild ungulates or even cattle, are important in maintaining tick populations at high density while in absence of these species populations tends to be lowered or at a number which is below the threshold density of diseases transmission (GRAY *et al.*, 1992; HOODLESS *et al.*, 1998; MEDLOCK *et al.*, 2008; RIZZOLI *et al.*, 2009).

THE IMPACT OF CLIMATE CHANGE

The warming of Earth's climate system is unequivocal and unprecedented. Over the last three decades, the surface temperature of the planet has been successively warmer than any preceding decade since 1850. In the Northern Hemisphere, 1983-2012 was the warmest 30-year period of the last 1400 years and these trends are likely to continue (IPPC, 2013). Climate change is considered among the most important drivers of vector borne disease emergence and spread (SEMENZA, MENNE, 2009). In general, under a global change scenario, ticks deserve particular attention because of the numerous pathogens they are able to maintain and transmit, and their ability to persist and adapt to changing environmental conditions (GRAY *et al.*, 2009). In fact, ticks are very sensitive to local climatic conditions, since this species requires a relative humidity of at least 80% to survive during its off-host periods, and is therefore restricted to areas of moderate to high rainfall with vegetation that retains a high humidity (MEDLOCK *et al.*, 2013 and references herein). This dual life style has led to some debate about the relative roles of climate change versus host and habitat factors in determining both the limits to tick distributional ranges and their evolution (DIAZ *et al.*, 2013). Both factors usually interplay as seen for example in northern Italy where the principal variables affecting the local abundance of questing ticks were climate and deer density, while the most important variable affecting questing nymph activity was the saturation deficit, an index combining temperature and relative humidity (TAGLIAPIETRA *et al.*, 2011).

However, changes in seasonal activity of this tick species linked to variation in climatic conditions has been documented in several countries (MEDLOCK *et al.*, 2013 and references herein). Milder winters/warm springs had already resulted in early questing tick activity while hot summers can result in increased development but also in decrease where hot temperature is followed by high dryness. A longer vegetation period (i.e. period of plant growth) can prolong the period of tick activity, as well as promoting browsing opportunities for tick hosts thus enhancing infection risk. However, reduced snow cover at higher latitudes can affect overwintering survival by exposing ticks to the ground temperature going below zero (JAENSON, LINGREN, 2011).

LAND USE CHANGES

Climate models with warmer and drier summers have been already developed and predict that this

tick species will be driven into higher altitudes and latitudes in some areas while it may disappear from others based on abiotic conditions (ESTRADA-PEÑA *et al.*, 2014). Spatial shift will also affect its transmitted pathogens, as for example TBE and Lyme borreliosis (RANDOLPH, 2001). TBE incidence has been changing in a heterogeneous manner during the last decades, with increase and spatial expansion in some areas but with decrease in others (RANDOLPH, 2001, 2008). However, climatic changes alone are unlikely to explain the surge in TBE incidence over the past three decades, providing the considerable spatial heterogeneity in the increased incidence of TBE in Europe, despite observed uniform patterns of climate change (RANDOLPH, 2013). Other drivers appear to include changing land-use patterns, alterations in recreational and occupational human activity (habitat encroachment), public awareness, vaccination coverage, and tourism. The correlation between land use changes and TBE incidence have been particularly marked in central and eastern European countries, where the reform of agricultural practices has led to significant changes in land cover and land use, most of which act synergistically to improve the habitat for ticks and increase human contact with ticks (SUMILO *et al.*, 2008).

At the same time, forest ownership determines the level of public access to forests, and therefore, the degree of overlap between tick and human activities. In addition, forest management practices, such as clear-cutting, modifies tick habitat and human recreational habits. These factors were shown to affect the incidence of tick-borne disease in Latvia, although not in a straightforward manner (VANWAMBEKE *et al.*, 2010). Instead, the geographical heterogeneity of the TBEV trends at a fine spatial scale in Czech Republic, cannot be explained satisfactorily by fluctuations in climatic or socio-economic conditions alone (ZEMAN *et al.*, 2010).

Changes in tick spatial distribution and TBE foci are however to be linked to other non climatic factors such as the expansion of forest coverage in Europe, land use changes with an increase abandoned areas and the creation of new suitable and fragmented landscape within urban areas (MEDLOCK *et al.*, 2013). Forest management will also greatly affect the future distribution of tick vectors. The EU currently boasts only 5 % of the world's forests, but these have been continuously expanded for over 60 years, although recently at a lower rate. EU forests and other wooded land now cover 155 million ha and 21 million ha, respectively, more than 42 % of EU land area.

European forests are seen as a clear example of vegetation rebound in the Northern Hemisphere, recovering in area and growing stock since the 1950s, after centuries of stock decline and deforestation; however, there are early signs of saturation (NABUURS *et al.*, 2013). For example in northern Italy, between 1950 and 2002, forest coverage increased by 2.2%. Forestry management strategies in this country favour conversion from coppices to high stands forests, except where local communities continue to collect firewood. In these areas there is also a significant correlation between an increase in TBE incidence and an increasing ratio of high stand forest to coppice cover were observed (RIZZOLI *et al.*, 2009). This result may reflect the impact of an increase in high stand forests with a more natural age-distribution of trees on the distribution and abundance of *I. ricinus* tick and the TBE virus reservoirs, more specifically, small mammals. Therefore, the most likely explanation for the significant correlation between TBE incidence in northern Italy and increase in high stand forest cover, is the parallel increase in habitat suitability for the tick and the small mammals, especially *Apodemus* spp (RIZZOLI *et al.*, 2009).

CHANGES IN HOST ABUNDANCE AND DISTRIBUTION

Changes in tick distribution and diseases infection risk may also be connected with variation in tick host presence and abundance. In particular, tick and pathogen dispersal and introduction into new areas is favoured by the movement of several animal species (mammals of various sizes but also birds). For example, birds, particularly passerines, can be parasitized by the tick *Ixodes ricinus*. The prevalence of ticks on birds varies by year, season, locality and species and the prevalence of ticks on different species depends mainly on time spent ground-feeding (HORNOK *et al.*, 2014). In Europe, the *Turdus* spp., especially the blackbird, *T. merula*, appears to be most important ground-feeding bird which harbour ticks. Birds can potentially transport tick-borne pathogens and act as viraemic or non-viraemic hosts. Knowledge of the bird migration routes and of the spatial distribution of tick species and tick-borne pathogens is crucial for understanding the possible impact of birds as spreaders of ticks and tick-borne pathogens. Successful colonization of new tick species or introduction of new tick-borne pathogens will depend on suitable climate, vegetation and hosts (Hasle, 2013). In addition, ornithologists and biologists have noticed that

spring migration is changing: species are arriving on their breeding grounds earlier each year, and reproduction is often anticipated (HURLBERT, LIANG, 2012). The consequences of such changes on tick and tick borne pathogens ecology is not well known, but the anticipation of the breeding season with more active ground feeding activity of birds when larvae and nymphs quest more actively may represent an additional risk factor.

Among the various vertebrate hosts which are important in affecting *I. ricinus* tick abundance and infection risk, large vertebrates, such as deer (roe deer, red deer, fallow deer) but also other ungulates, such as wild boar, are often cited. Several of these species have increased considerably in density and distribution across several EU countries especially after World War II either due to restocking and other management practices or as a consequence of enlarged forest habitats. Abundance of these hosts is extremely heterogeneous and dependent on both on local habitat conditions and suitability, and national regulations and management activities (APOLLONIO *et al.*, 2010). Climate change also affect ungulate survival and behavior in a complex manner. In fact, how populations respond to climate change depends on the interplay of life history, resource availability, and the intensity of the change (GAILLARD *et al.*, 2013). Roe deer, for example, are considered among the most important tick blood meal suppliers so that variation in abundance and distribution considerably affect tick abundance and spatial spread. Local abundance of roe deer affect tick abundance, so that at very low deer density, tick abundance is too low for supporting for example TBEV amplification (PERKINS *et al.*, 2006; ROSÀ, PUGLIESE 2007, RIZZOLI *et al.*, 2009, CAGNACCI *et al.*, 2012). Instead, an intermediate level of deer density maximizes the number of ticks feeding on competent rodent (CAGNACCI *et al.*, 2012; BOLZONI *et al.*, 2012). This pattern is the result of two competing effects driven by deer: on one hand, deer act as vector amplifiers; on the other hand, they also act as tick bite diverters from rodents. As deer are crucial for the tick life-cycle completion, an increase in their density will produce an increase in the total tick population. Initially, as the total number of ticks increases, more ticks will feed on rodents. However, when total ticks reach sufficiently high levels of abundance, density-dependent constraints set in, slowing down tick population growth. Thus, further increases in deer density will have only a marginal effect on the increase in the tick population, while their effect on diverting bites

from other hosts may become more relevant, triggering the decrease of feeding ticks on rodents and diluting TBE transmission but allowing a great amplification of other pathogens (CAGNACCI *et al.*, 2012; BOLZONI *et al.*, 2012).

The effect of variation in abundance and spatial distribution of roe deer on *I. ricinus* and incidence of Lyme borreliosis and TBE have been analysed in several European. In Italy, the rise in roe deer and red deer population, occurred mostly within north eastern territories but not in the western part, where the same climatic trend has been observed, has been associated to the increase in TBE incidence (RIZZOLI *et al.*, 2009). In Fennoscandia the latitudinal shift of *I. ricinus* and TBE is particularly evident. However, during the last decades there was no apparent change in land use that could explain such a tick expansion, but an increase in roe deer populations that was generally accepted as the cause, and a recent review has argued convincingly that the expansion of the roe deer population and the warmer climate are the two main factors permitting *I. ricinus* and its transmitted pathogens to spread so rapidly and extensively to many previously tick-free localities of northern Sweden (JAENSON *et al.*, 2012).

The tick-rodent-deer interaction is a dynamic process, and variation in the abundance of one of these players has an effect on tick borne pathogen transmission, at least for those maintained by these two species. For example, excluding deer by artificial fencing to control tick abundance results, at least temporarily, with an initial increase of tick abundance on the rodent host thus facilitating TBE and Lyme borreliosis transmission (PERKINS *et al.*, 2006).

At a larger spatial scale, variation in roe deer abundance also exert a considerable effect on tick borne disease risk. In Sweden for example, the annual incidence of human TBE rose significantly from 2011 to 2012 (JAENSON *et al.*, 2012). The number of roe deer has been high for more than three decades and resulted in a very large tick population. However, deer numbers have gradually declined from the early 1990s to the present. This decline may have made the populations of small reservoir-competent rodents gradually more important as hosts for the immature ticks; consequently, the abundance of TBEV-infected ticks has increased. Two harsh winters in 2009-2011 caused a more abrupt decline in roe deer numbers. This likely forced a substantial proportion of the “host-seeking” ticks to feed on bank voles (*Myodes glareolus*), which had suddenly had become very numerous, rather than on roe deer. Thus, the bank vole population peak in 2010 most likely meant that many tick larvae fed on reservoir-competent rodents, presumably resulting

in increased transmission of TBEV among ticks and an increased density of infected ticks the following year. The unusually prolonged reproductive period in 2011 permitted nymphs and adult ticks to quest for hosts nearly all days of that year; simultaneously, these same weather conditions stimulated many people to spend time outdoors in areas where they were at risk of being attacked by infective nymphs, resulting in at least 284 human cases of overt TBE. The tick season of 2012 also started early with an exceptionally warm March, and the abundance of TBEV-infective “hungry” ticks was presumably still relatively high, and precipitation during June and July led to an exceptional mushroom season, encouraging further outdoor activities by humans, and higher TBE risk (JAENSON *et al.*, 2012).

In general, the combined effect of climate on questing tick activity and infection risk has to be considered. In a study carried out in northern Italy (TAGLIAPIETRA *et al.*, 2011) while the principal variables affecting the local abundance of questing ticks were red deer density, the most important variable affecting questing nymph activity was saturation deficit, an index combining temperature and relative humidity.

Although deer are commonly the most important wild animal sustaining *I. ricinus* populations, other vertebrate species may play that role. For example, in certain parts of Germany, where roe deer populations have reportedly remained stable, large increases in populations of wild boar have been linked with increases in *I. ricinus* abundance (SCHWARZ *et al.*, 2009). On some small isolated islands in the Baltic Sea, such as Gotska Sandön and others along the Fennoscandian coastline, cervids are absent, but *I. ricinus* populations are maintained by mountain hares (*Lepus timidus*) that are the only hosts for all active stages of the tick populations (JAENSON, TÄLLEKLINT, 1996).

Variation in rodent density is another very important component of the tick borne disease risk. In Europe, rodent density fluctuate over space and time and is dependent on several factors which vary among biomes and climatic ranges with different ecological factors affecting rodents population dynamics in mainland temperate Europe as compared to boreal northern Europe (OLSSON *et al.*, 2010). Several rodents hosting ticks in temperate central and southern Europe show population irruptions following mast seeding events and subsequent increased abundance of food (TERSAGO *et al.*, 2009). Masting events are triggered by climatic factors that induce the formation of flower buds on, in particular, the European beech (*Fagus sylvatica*) and pedunculate oak (*Quercus robur*), and subsequent fruit setting and development of beech nuts

and acorns. The climatic factors promoting masting in the European beech are high temperature combined with low precipitation in the summer (in particular July) during the year before masting, while heavy rains, frost, hailstorms, or strong wind may destroy the flower buds. Similarly, high temperature during summer of the previous year and during spring favours acorn production, while, in contrast to its effect on beech nuts, summer drought has a negative effect on acorn production in the following year. These contrasting effects of summer drought help explain why mast seeding not always occurs simultaneously for the two tree species. The frequency of beech masting appears to have increased over the past three decades. As a consequence of climate change and increased temperatures in the areas concerned, mast seeding events may continue to increase in frequency or may stabilize at this higher frequency. These conditions could support higher numbers of the rodents that serve as the principal hosts of a number of tick borne pathogens as tick borne encephalitis virus and *B. burgdorferi* sl.

CONCLUSIONS

Many factors are involved in the latitudinal and altitudinal spread of *I. ricinus* and its transmitted pathogens as well as in changes in the distribution and abundance within its known endemic zones. They include (i) those directly related to climatic change, (ii) those related to changes in the distribution of tick hosts or (iii) other ecological and anthropogenic induced habitat changes. These factors are strongly interlinked and often not well understood or quantified. Better understanding and mapping of the spatial variation of *I. ricinus* is however essential to provide a proper risk-pre-assessment of its transmitted diseases. Standardised tick surveillance with harmonized approaches under a One Health framework is therefore recommended.

ACKNOWLEDGEMENTS

I wish to thank warmly Dr Michele Maroli for his invaluable support, input and advices.

RIASSUNTO

Molti fattori biotici e abiotici possono condizionare la distribuzione di *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae) in Europa. Questa nota si propone di riassumere alcuni dei principali fattori che potrebbero aver influenzato la sua distribuzione geografica nel corso degli ultimi decenni. Questi fattori possono essere raggruppati in: (i) quelli direttamente legati ai cambiamenti climatici, che hanno

contribuito alla diffusione di *I. ricinus* sia ad altitudini estreme dell'Europa centrale, che a latitudini estreme (Fennoscandia); (ii) quelli relativi ai cambiamenti dell'abbondanza e distribuzione degli ospiti delle zecche; (iii) quelli legati alla gestione del territorio e (iv) quelli indotti dall'uomo stesso. Questi fattori sono strettamente interconnessi fra di loro e spesso gli effetti sinergici non sono ben quantificati e valutati. I cambiamenti climatici hanno giocato un ruolo determinante nella distribuzione di *I. ricinus* solo in alcune regioni dell'Europa. Altri fattori, non climatici, sono dominanti nel favorire la presenza e diffusione di questa specie. In conclusione, i fattori che vanno considerati nella valutazione dei rischi per la salute pubblica connessi alla zecca *I. ricinus* ed agli agenti patogeni trasmessi sono molteplici e includono non solo i cambiamenti climatici ma anche le variazioni di presenza e abbondanza delle specie ospiti e le modifiche agli habitat dovute a cambiamenti di uso del suolo.

REFERENCES

- ANGELAKIS E., PULCINI C., WATON J., IMBERT P., SOCOLOVSKI C., EDOUARD S., DELLAMONICA P., RAOULT D., 2010 – *Scalp eschar and neck lymphadenopathy caused by Bartonella henselae after tick bite*. - Clin. Infect. Dis., 50(4): 549-51. doi:10.1086/650172.
- APOLLONIO M., ANDERSEN R.; PUTMAN R., 2010 – *European Ungulates and Their Management in the 21st Century*, Cambridge University Press: Cambridge, UK, 618 pp.
- BOLZONI L., ROSÀ R., CAGNACCI F., RIZZOLI A., 2012 – *Effect of deer density on tick infestation of rodents and TBE hazard. Part II: population and infection models*. - Int. J. Parasitol., 42: 373-381.
- CAGNACCI F., BOLZONI L., ROSÀ R., CARPI G., HAUFFE H.C., VALENT M., TAGLIAPIETRA V., KAZIMIROVA M., KOCI J., STANKO M., LUKAN M., HENTTONEN H., RIZZOLI A., 2012 – *Effect of deer density on tick infestation of rodents and TBE hazard. Part I: empirical assessment*. - Int. J. Parasitol., 42: 365-372.
- CARPI G., CAGNACCI F., WITTEKINDT N.E., ZHAO F., QI J., TOMSHO L.P., DRAUTZ D., RIZZOLI A., SCHUSTER S., 2011 – *Metagenomic profile of the bacterial communities associated with Ixodes ricinus Ticks* - PLoS ONE 6(10): e25604. doi:10.1371/journal.pone.0025604
- DIAZ L.A., FLORES F.S., QUAGLIA A., CONTIGIANI M.S., 2013 – *Intertwined arbovirus transmission activity: reassessing the transmission cycle paradigm*. - Front. Physiol., 3: 493. doi: 10.3389/fphys.2012.00493.
- DORKO E., RIMÁROVÁ K., KIZEK P., STEBNICKÝ M., ZÁKUTNÁ L., 2014 – *Increasing incidence of tick-borne encephalitis and its importance in the Slovak Republic*. - Cent. Eur. J. Public Health. 22(4): 277-8).
- ESTRADA-PEÑA A, ESTRADA-SÁNCHEZ A, ESTRADA-SÁNCHEZ D., 2014 – *Methodological caveats in the environmental modelling and projections of climate niche for ticks, with examples for Ixodes ricinus (Ixodidae)*. - Vet. Parasitol., pii: S0304-4017(14) 00650-5. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.12.016.
- ESTRADA-PEÑA A., 2001 – *Forecasting habitat suitability for ticks and prevention of tick-borne disease*. - Vet. Parasitol., 98(1-3): 111-132.
- GAILLARD J.M., HEWISON A.J., KLEIN F., PLARD F., DOUHARD M., DAVISON R., BONENFANT C., 2013 – *How does climate change influence demographic processes of*

- widespread species? Lessons from the comparative analysis of contrasted populations of roe deer. - *Ecol Lett.* May;16 Suppl 1:48-57. doi: 10.1111/ele.12059.
- GASSNER F., VAN VLIET A.J.H., BURGERS S.L.G.E., JACOBS F., VERBAARSCHOT P., HOVIUS E.K.E., MULDER S., VERHULST N.O., VAN OVERBEEK L.S., TAKKEN W., 2011 – *Geographic and temporal variations in population dynamics of Ixodes ricinus and associated Borrelia infections in The Netherlands* - *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 11(5): 523-32.
- GRANKVIST A., ANDERSSON P.O., MATSSON M., SENDER M., VAHT K., HÖPER L., SAKINIENE E., TRYSBERG E., STENSON M., FEHR J., PEKOVA S., BOGDAN C., BLOEMBERG G., WENNERÅS C., 2014 – *Infections with the tick-borne bacterium “Candidatus Neohhrlichia mikurensis” mimic non-infectious conditions in patients with B cell malignancies or autoimmune diseases.* - *Clin. Infect. Dis.*, 58(12): 1716-22. doi:10.1093/cid/ciu189
- GRAY J., ZINTL A., HILDEBRANDT A., HUNFELD K-P., WEISS L., 2010 – *Zoonotic babesiosis: overview of the disease and novel aspects of pathogen identity.* - *Ticks Tick Borne Dis.*, 1: 3-10. doi:10.1016/j.ttbdis.2009.11.003.
- GRAY J.S., DAUTEL H., ESTRADA- PEÑA A., KAHL O., LINDGREN E., 2009 – *Effects of Climate Change on Ticks and Tick-Borne Diseases in Europe.* - *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.*, doi 10.1155/2009/593232. Review.
- GRAY J.S., KAHL O., JANETZKI C., STEIN J., 1992 – *Studies on the ecology of Lyme disease in a deer forest in County Galway, Ireland.* – *J. Med. Entomol.*, 29 (6): 915-920.
- HAI V.V., ALMERAS L., SOCOLOVSKI C., RAOULT D., PAROLA P., PAGÈS F., 2014 – *Monitoring human tick-borne disease risk and tick bite exposure in Europe: available tools and promising future methods.* - *Ticks Tick Borne Dis.*, 5: 607-19. doi:10.1016/j.ttbdis.2014.07.022.
- HASSLE G., 2013 – *Transport of ixodid ticks and tick-borne pathogens by migratory birds.* – *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 3: 48. doi 10.3389/fcimb.2013.00048.
- HOFHUIS A., HARMS M., VAN DEN WIJNGAARD C., SPRONG H., VAN PELT W., 2015 – *Continuing increase of tick bites and Lyme disease between 1994 and 2009.* - *Ticks Tick Borne Dis.*, 6(1): 69-74. doi: 10.1016/j.ttbdis.2014.09.006.
- HOFHUIS A., VAN DER GIESSEN J.W.B., BORGSTEEDE F.H.M., WIELINGA P.R., NOTERMANS D.W., VAN PERT W., 2014 – *Lyme borelliosis in the Netherlands: strong increase in GP consultations and hospital admissions in past 10 years.* - *Euro Surveill.*, 11(6):E060629.5.
- HOODLESS A.N., KURTENBACH K., PEACEY M., NUTTALL P.A., RANDOLPH S.E., 1998 – *The role of pheasants (Phasianus colchicus) as hosts for ticks (Ixodes ricinus) and Lyme disease spirochaetes (Borrelia burgdorferi) in southern England.* *Game Wildlife*, 15: 477-489.
- HORNOK S., KOVÁTS D., CSÖRGP T., MELI M.L., GÖNCZI E., HADNAGY Z., TAKÁCS N., FARKAS R., HOFMANN-LEHMANN R., 2014 – *Birds as potential reservoirs of tick-borne pathogens: first evidence of bacteraemia with Rickettsia helvetica.* - *Parasit Vectors*, 7: 128. doi: 10.1186/1756-3305-7-128.
- HUBALEK Z., 2009 – *Epidemiology of Lyme borreliosis.* - *Curr. Probl. Dermatol.*, 37: 31-50.
- HURLBERT A.H., LIANG Z., 2012 – *Spatiotemporal variation in avian migration phenology: citizen science reveals effects of climate change.* *PLoS One*, 7, (e31662), doi 10.1371/journal.pone.0031662.
- IPCC, 2013 – *Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change* [Stocker, T.F., D. Qin, G.-K. Plattner, M. Tignor, S.K. Allen, J. Boschung, A. Nauels, Y. Xia, V. Bex and P.M. Midgley (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA, 1535 pp.
- JAENSON T.G., HJERTQVIST M., BERGSTRÖM T., LUNDKVIST A., 2012 – *Why is tick-borne encephalitis increasing? A review of the key factors causing the increasing incidence of human TBE in Sweden.* *Parasit. Vectors*, 5: 184. doi: 10.1186/1756-3305-5-184. Review.
- JAENSON T.G., JAENSON D.G., EISEN L., PETERSSON E., LINDGREN E., 2012 – *Changes in the geographical distribution and abundance of the tick Ixodes ricinus during the past 30 years in Sweden.* *Parasit. Vectors*, 10: (5-8), doi 10.1186/1756-3305-5-8.
- JAENSON T.G., TÄLLEKLINT L., 1996 – *Lyme borreliosis spirochetes in Ixodes ricinus (Acari: Ixodidae) and the varying hare on isolated islands in the Baltic, Sea.* *J. Med. Entomol.*, 33(3): 339-43.
- JAENSON T.G., LINDGREN E., 2011 – *The range of Ixodes ricinus and the risk of contracting Lyme borreliosis will increase northwards when the vegetation period becomes longer.* - *Ticks Tick Borne Dis.*, 2(1): 44-9. doi: 10.1016/j.ttbdis.2010.10.006.
- KUNZE U., ISW-TBE, 2013 – *Tick-borne encephalitis - a notifiable disease: report of the 15th annual meeting of the International Scientific Working Group on tick-borne encephalitis (ISW-TBE).* - *Ticks Tick Borne Dis.*, 4: 363-5.
- MANILLA G., 1993 – *Sulla “malattia di Lyme” in Italia. I. Distribuzione di Ixodes ricinus (L.).* - *Riv. Parassitol.*, 54 (2): 191-200.
- MAROLI M., KHOURY C., FRUSTERI L., 1995 – *Diffusione di Ixodes ricinus in Italia. Ecobiologia e ruolo della specie nella trasmissione di Patogeni.* - *Gio. It. Mal. Inf.* 1(5): 269-277.
- MEDLOCK J.M., HANSFORD K.M., BORMANE A., DERDAKOVA M., ESTRADA-PEÑA A., GEORGE J.C., GOLOVLJOVA I., JAENSON T.G., JENSEN J.K., JENSEN P.M., KAZIMIROVA M., OTEO J.A., PAPA A., PFISTER K., PLANTARD O., RANDOLPH S.E., RIZZOLI A., SANTOS-SILVA M.M., SPRONG H., VIAL L., HENDRICKX G., ZELLER H., VAN BORTEL W., 2013 – *Driving forces for changes in geographical distribution of Ixodes ricinus ticks in Europe.* - *Parasit. Vectors*, 6:1. doi: 10.1186/1756-3305-6-1.
- MEDLOCK J.M., PIETZSCH M.E., PATEL N.V.P., JONES L., KERROD E., AVENELL D., LOS S., RATCLIFFE N., LEACH S., BUTT T., 2008 – *Investigation of ecological and environmental determinants for the presence of questing Ixodes ricinus(Acari: Ixodidae) on Gower, south Wales.* *J. Med. Entomol.*, 45 (2): 314-325.
- NABUURS G.-J., LINDNER M., VERKERK P.J., GUNIA K., DEDA P., MICHALAK R., GRASSI G., 2013 – *First signs of carbon sink saturation in European forest biomass.* - *Nature Climate Change*, 3: 792-796. doi:10.1038/nclimate1853.
- OLSSON G.E., LEIRS H., HENTTONEN H., 2010 – *Hantaviruses and their hosts in Europe: reservoirs here and there, but not everywhere?* - *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 10(6): 549-61.
- OTRANTO D., DANTAS-TORRES F., GIANNELLI A., LATROFA M.S., CASCIO A., CAZZIN S., RAVAGNAN S., MONTARSI F., ZANZANI S.A., MANFREDI M.T., CAPELLI G., 2014 –

- Ticks infesting humans in Italy and associated pathogens.* - Parasit. Vectors, 7: 328. doi: 10.1186/1756-3305-7-328.
- PAROLA P., PADDOCK C.D., SOCOLOVSKI C., LABRUNA M.B., MEDIANNIKOV O., KERNIF T., ABDAD M.Y., STENOS J., BITAM I., FOURNIER P.E., RAOULT D., 2013 – *Update on tick-borne rickettsioses around the world: a Geographic approach.* - Clin. Microbiol. Rev., 26(4): 657–702. doi:10.1128/CMR.00032-13).
- PAROLA P., RAOULT D., 2001 – *Tick-borne bacterial diseases emerging in Europe.* - Clin. Microbiol. Infect., 7(2): 80–83.
- PERKINS S.E., CATTADORI I.M., TAGLIAPIETRA V., RIZZOLI A.P., HUDSON P.J., 2006 – *Localized deer absence leads to tick amplification.* Ecology, 87: 1981–1986.
- RANDOLPH S.E., 2001 – *The shifting landscape of tick-borne zoonoses: tick-borne encephalitis and Lyme borreliosis in Europe.* - Philosophical Trans. Roy. Soc. London Series B: Biol. Sci., 356: 1045–1056
- RANDOLPH S.E., 2008 – *Tick-borne encephalitis incidence in Central and Eastern Europe: consequences of political transition.* - Microbes and Infect., 10: 209–216.
- RANDOLPH S.E., 2013 – *Is expert opinion enough? A critical assessment of the evidence for potential impacts of climate change on tick-borne diseases.* Anim. Health Res. Rev., 26: 1–5.
- RIZZOLI A., HAUFFE H., TAGLIAPIETRA V., NETELER M., ROSÀ R., 2009 – *Forest structure and roe deer abundance predict tick-borne encephalitis risk in Italy.* Plos ONE, 4(2) E4336
- RIZZOLI A., HAUFFE H.C., CARPI G., VOURC'H G.I., NETELER M., ROSÀ R., 2011 – *Lyme borreliosis in Europe.* - Euro Surveill., 16(27): 19906.
- RIZZOLI A., SILAGHI C., OBIEGALA A., RUDOLF I., HUBÁLEK Z., FÖLDVÁRI G., PLANTARD O., VAYSSIER-TAUSSAT M., BONNET S., SPITALSKÁ E., KAZIMÍROVÁ M., 2014 – *Ixodes ricinus and its transmitted pathogens in urban and peri-urban areas in Europe: New hazards and relevance for public health.* - Front. Public Health, 2: 251. doi: 10.3389/fpubh.2014.00251. Review.
- ROSÀ R., PUGLIESE A., 2007 – *Effects of tick population dynamics and host densities on the persistence of tick-borne infections.* Math. Biosci., 208: 216–240.
- SARATSIOTIS A., BATTELLI C., 1972 – *Comparaison morphologique d'une nouvelle espèce de tique dans la faune d'Italie: Ixodes gibbosus Nuttall, 1916 avec les espèces voisines.* - Parasitologia 14 (1): 183–192.
- SCHWARZ A., MAIER W.A., KISTEMANN T., KAMPEN H., 2009 – *Analysis of the distribution of the tick Ixodes ricinus L. (Acari: Ixodidae) in a nature reserve of western Germany using Geographic Information Systems.* - Int. J. Hyg. Environ. Health., 212(1): 87–96. doi: 10.1016/j.ijheh.2007.
- SEMENZA J.C., MENNE B., 2009 – *Climate change and infectious diseases in Europe.* - Lancet Infect Dis, 9, (365–375), doi 10.1016/S1473-3099(09)70104-5. Review.
- SOCOLOVSKI C., MEDIANNIKOV O., RAOULT D., PAROLA P., 2009 – *Update on tick-borne bacterial diseases in Europe.* Parasite, 16: 259–73. doi:10.1051/parasite/2009164259).
- STUEN S., GRANQUIST E.G., SILAGHI C., 2013 - *Anaplasma phagocytophilum - a widespread multi-host pathogen with highly adaptive strategies.* - Front. Cell. Infect. Microbiol., 3: 31. doi:10.3389/fcimb.2013.00031.
- SUMILO D., BORMANE A., ASOKLIENE L., VASILENKO V., GOLOVLJOVA I., AVSIC-ZUPANC T., HUBALEK Z., RANDOLPH S.E., 2008 – *Socio-economic factors in the differential upsurge of tick-borne encephalitis in Central and Eastern Europe.* - Rev. Med. Virol., 18, (81–95), doi 10.1002/rmv.566. Review
- TAGLIAPIETRA V., ROSÀ R., ARNOLDI D., CAGNACCI F., CAPELLI G., MONTARSI F., HAUFFE H.C., RIZZOLI A.P., 2011 – *Saturation deficit and deer density affect questing activity and local abundance of Ixodes ricinus (Acari, Ixodidae) in Italy.* Vet. Parasitol., 183: 114–124.
- TERSAGO K., VERHAGEN R., SERVAIS A., HEYMAN P., DUCOFFRE G., LEIRS H., 2009 – *Hantavirus disease (nephropathia epidemica) in Belgium: effects of tree seed production and climate.* - Epidemiol. Infect., 137(2): 250–6.
- VANWAMBEKE S.O., SUMILO D., BORMANE A., LAMBIN E.F., RANDOLPH S.E., 2010 – *Landscape predictors of tick-borne encephalitis in Latvia: land cover, land use, and land ownership.* - Vector Borne Zoonotic Dis., 10, (497–506) doi 10.1089/vbz.2009.0116.
- VAYSSIER-TAUSSAT M., MOUTAILLER S., MICHELET L., DEVILLERS E., BONNET S., CHEVAL J., HEBERT C., ELOIT M., 2013 – *Next generation sequencing uncovers unexpected bacterial pathogens in ticks in Western Europe,* PloS One, 8:e81439
- ZEMAN P., PAZDIORA P., BENES C., 2010 – *Spatio-temporal variation of tick-borne encephalitis (TBE) incidence in the Czech Republic: is the current explanation of the disease's rise satisfactory?* - Ticks Tick Borne Dis., 1, (129–140), doi 10.1016/j.ttbdis.2010.05.003.

THE CRYPTIC COMPLEXITY OF MALARIA VECTORS IN AFRICA: FROM *ANOPHELES GAMBIAE* CHROMOSOMAL FORMS TO *ANOPHELES COLUZZII*

ALESSANDRA DELLA TORRE (*)

(*) Istituto Pasteur-Fondazione Cenci-Bolognetti, Dipartimento di Sanità Pubblica e Malattie Infettive, Università "Sapienza", Piazzale Aldo Moro 5, 00185, Rome, Italy; e-mail: ale.dellatorre@uniroma1.it
Letture tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

The cryptic complexity of malaria vectors in Africa: from Anopheles gambiae chromosomal forms to Anopheles coluzzii

The Afrotropical *Anopheles gambiae* complex includes the most efficient malaria vector species worldwide. Historically considered a single variable and opportunistic species, these mosquitoes are now recognized as a group of morphologically indistinguishable, but genetically discontinuous breeding units, that display considerable genetically-based ecological and behavioral differences. This ranges from clearly defined, although morphologically indistinguishable, *bonae* species to recently diverged/incipient species and 'forms' within *An. gambiae sensu stricto* Gillies - the species with the largest range of distribution and the highest malaria vectorial capacity. The first evidence of a remarkable genetic heterogeneity within this species in West Africa originally came from seminal cytogenetic studies by Mario Coluzzi and collaborators which led to the description of 5 co-occurring 'chromosomal forms' characterized by different chromosome-2 arrangements and larval ecologies. Molecular studies have later revealed the existence of two 'molecular forms' which exhibit high level of ecological and genetic divergence and strong assortative mating in most of their sympatric range in West Africa, based of which the M molecular form was recently raised to formal taxonomic status, as *Anopheles coluzzii*. Further subdivision within both species are observed. This system does not only represent a unique model of ecological speciation, but also a considerable challenge to the control of malaria transmission in Africa.

KEY WORDS: malaria vectors, *Anopheles gambiae* complex, *Anopheles coluzzii*, Africa

BACKGROUND

One of the major questions in evolutionary biology is the mechanism by which biological diversification leads to adaptation and species formation. Ecological speciation - which occurs when adaptation to divergent environments, such as different resources or habitats, leads to the evolution of reproductive isolation - is thought to be a primary driving force in evolutionary diversification. Specifically, divergent selection between environments causes the adaptive divergence of populations, which leads to the evolution of reproductive barriers that decrease, and ultimately cease, gene flow. Studying related populations at different stages along a speciation continuum is expected to contribute to a better understanding of mechanisms of ecological speciation. A speciation continuum is clearly evident within the *Anopheles gambiae* complex - the most extensively studied insect group, due to the medical relevance of some of its members as major vectors of human malaria in the sub-Saharan Africa.

THE AFROTROPICAL *ANOPHELES GAMBIAE* COMPLEX

The Afrotropical *Anopheles gambiae* complex includes the most efficient malaria vector species worldwide. Historically considered a single variable and opportunistic species, these mosquitoes are now recognized as a group of morphologically indistinguishable, but genetically discontinuous breeding units, that display considerable genetically-based ecological and behavioral differences. This ranges from clearly defined, although morphologically indistinguishable, *bonae* species (showing sterility in hybrid males and different larval ecologies and host-preferences) to recently diverged/incipient species and 'forms' within *An. gambiae sensu stricto* (s.s.) Gillies - the species with the largest range of distribution and the highest malaria vectorial capacity. The first evidence of a remarkable genetic heterogeneity within this species in West Africa originally came from seminal cytogenetic studies by Mario Coluzzi and collaborators which led to the description of five co-occurring 'chromosomal forms' characterized

by different chromosome-2 arrangements and larval ecologies (i.e. FOREST, SAVANNA, MOPTI, BAMAKO and BISSAU) (COLUZZI *et al.*, 1985, 2002). Afterwards, molecular discontinuities in the IGS and ITS regions of ribosomal DNA led to the identification of two non-panmictic units provisionally named with a non-Linnean nomenclature as M- and S-molecular forms (DELLA TORRE *et al.*, 2001, 2002, 2005). While the S-form exploits ephemeral rain-dependent larval habitats, the M-form, thanks to its higher ability to escape predators (LEHMANN and DIABATE, 2008), utilizes more stable anthropogenic water bodies, thus extending its spatial/temporal distribution to drier areas/seasons. In forested areas, M- and S-forms are homokaryotypic on chromosome-2 (i.e. FOREST chromosomal form), while in dry savannahs they show high frequencies of chromosome-2 inversion polymorphisms. S-form is mainly characterized by arrangements typical of SAVANNA and BAMAKO chromosomal forms and M-form by arrangements typical of MOPTI and/or SAVANNA and/or BISSAU, depending on its geographical origin. Based on extensive evidence of ecological (LEHMANN and DIABATE, 2008), and widespread, although not uniformly distributed throughout the genome, genetic divergence (NEAFSEY *et al.*, 2010; REIDENBACH *et al.*, 2012) and the existence of pre-mating barriers, the M-form was recently raised to formal taxonomic species status, as *Anopheles coluzzii*, (COETZEE *et al.*, 2013) despite the two forms/species are interfertile under laboratory condition and assortative mating may periodically or locally break down. (DELLA TORRE *et al.*, 2005; LEE *et al.*, 2013a; CAPUTO *et al.*, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2008).

The same process of genetic adaptation to complex and changing environments that drove historical diversification of the *An. gambiae* complex is continuing to act within species. In fact, further intra-specific genetic subdivisions have been observed at a macro-geographical scale: within *An. coluzzii* between forest and savannah biomes in West Africa (PINTO *et al.*, 2013) and within *An. gambiae* westward and eastward of the Rift Valley. LEHMANN *et al.*, 1999, 2003; WANG-SATTLER *et al.*, 2007). Moreover, at a lower geo-graphic scale, very high levels of differentiation, comparable to those observed between *An. gambiae* and *An. coluzzii*, are also observed within *An. gambiae* between BAMAKO and SAVANNA chromosomal forms in Mali (MANOUKIS *et al.*, 2008; LEE *et al.*, 2013b) and between *An. gambiae* coastal and inland populations from The Gambia (CAPUTO *et al.*, 2014) and from southward neighbouring regions (unpublished data). In both cases, the dif-

ferentiation is mostly/exclusively present in the centromeric region of chromosome-X (where also differentiation between *An. gambiae* and *An. coluzzii* is highest), leading to the hypothesis that common X-linked genes may modulate reproductive isolation, as shown for other insect. Interestingly, in the putative secondary contact region between *An. gambiae* and *An. coluzzii* in the westernmost extreme of the species range (OLIVEIRA *et al.*, 2008; CAPUTO *et al.*, 2011; MARSDEN *et al.*, 2011; WEETMAN *et al.*, 2012; NWAKANMA *et al.*, 2013) inter-specific differentiation appears almost exclusively restricted to the centromeric region of chromosome-X.

CONCLUSION

In conclusion, the speciation continuum and the cryptic heterogeneity observed within the *An. gambiae* complex thrust these organisms into the forefront of research on genomic patterns of species formation. Moreover, it should never be neglected that since this complex includes the major malaria vectors of the Afrotropical region, the evolutive process ongoing within these species has severe epidemiological consequences, as it lends considerable ecological flexibility to the species/forms increasing malaria transmission geographically, seasonally and ecologically.

RIASSUNTO

Il complesso *Anopheles gambiae* comprende i più efficienti vettori di malaria della regione Afrotropicale. Storicamente considerato come una singola specie variabile ed opportunista, le zanzare di questo complesso sono ormai riconosciute come un gruppo di specie morfologicamente indistinguibili, ma geneticamente separate, che mostrano notevoli differenze ecologiche e comportamentali su basi geniche. La prima indicazione di una notevole eterogeneità genetica all'interno di questo complesso di specie deriva dagli studi citogenetici di Mario Coluzzi e collaboratori che hanno portato alla descrizione di cinque “forme cromosomiche”. Studi molecolari hanno successivamente rivelato l'esistenza di due “forme molecolari” riproduttivamente isolate nel loro areale di simpatia in Africa occidentale. In base all'alto grado di differenziamento genetico ed ecologico, la forma molecolare M è stata recentemente elevata al rango di specie, come *Anopheles coluzzii*. Ulteriori sotto-divisioni sono state evidenziate all'interno di entrambe le specie, dimostrando l'esistenza di un processo evolutivo ancora oggi in atto. Tale processo, oltre a rappresentare un modello unico di speciazione ecologica, ha gravi conseguenze epidemiologiche, in quanto conferisce una notevole flessibilità ecologica alle specie/forme aumentando così il rischio di trasmissione della malaria sia a livello geografico che stagionale.

REFERENCES

- CAPUTO B., NWAKANMA D., CAPUTO F.P., JAWARA M., ORIERO E.C., HAMID-ADIAMOH M., DIA I., KONATE L., PETRARCA V., PINTO J., CONWAY D.J., DELLA TORRE A., 2014 - *Prominent intra-specific genetic divergence within Anopheles gambiae sibling species triggered by habitat discontinuities across a riverine landscape*. - *Mol. Ecol.*, 23(18): 4574-89.
- CAPUTO B., SANTOLAMAZZA F., VICENTE J.L., NWAKANMA D.C., JAWARA M., PALSSON K., JAENSON T., WHITE B.J., MANCINI E., PETRARCA V., CONWAY D.J., BESANSKY N.J., PINTO J., DELLA TORRE A., 2011 - *The "Far-West" of Anopheles gambiae Molecular Forms*. - *PLoS ONE*, 6:e16415.
- CAPUTO B., NWAKANMA D., JAWARA M., ADIAMOH M., DIA I., KONATE L., PETRARCA V., CONWAY D.J., DELLA TORRE A., 2008 - *Anopheles gambiae complex along The Gambia river, with particular reference to the molecular forms of An. gambiae s.s.* - *Malaria Journal*, 7:182.
- COETZEE M., HUNT R.H., WILKERSON R., DELLA TORRE A., COULIBALY M.B., BESANSKY N.J., 2013 - *Anopheles coluzzii and Anopheles amharicus, new members of the Anopheles gambiae complex*. - *Zootaxa*, 3619: 246-274.
- COLUZZI M., PETRARCA V., DI DECO M.A., 1985 - *Chromosomal inversion intergradation and incipient speciation in Anopheles gambiae*. - *Bolletino di Zoologia*, 52: 45-63.
- COLUZZI M., SABATINI A., DELLA TORRE A., DECO M.A.D., PETRARCA V., 2002 - *A Polytene Chromosome Analysis of the Anopheles gambiae Species Complex*. - *Science*, 298: 1415-1418.
- DELLA TORRE A., TU Z., PETRARCA V., 2005 - *On the distribution and genetic differentiation of Anopheles gambiae s.s. molecular forms*. - *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 35: 755-769.
- DELLA TORRE A., COSTANTINI C., BESANSKY N.J., CACCONE A., CA V., POWELL J.R., COLUZZI M., 2002 - *Incipient speciation in Anopheles gambiae: the glass is half-full*. *Science*, 298: 115-117.
- DELLA TORRE A., FANELLO C., AKOGBETO M., DOSSOU-YOVO J., FAVIA G., PETRARCA V., COLUZZI M., 2001 - *Molecular evidence of incipient speciation within Anopheles gambiae s.s. in West Africa*. - *Insect Mol. Biol.*, 10: 9-18.
- LEE Y., MARSDEN C.D., NORRIS L.C., COLLIER T.C., MAIN B.J., FOFANA A., CORNEL A.J., LANZARO G.C., 2013a - *Spatiotemporal dynamics of gene flow and hybrid fitness between the M and S forms of the malaria mosquito, Anopheles gambiae*. - *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 110 (49): 19854-9.
- LEE Y., COLLIER T.C., SANFORD M.R., MARSDEN C.D., FOFANA A., CORNEL A.J., LANZARO G.C., 2013b - *Chromosome inversions, genomic differentiation and speciation in the African malaria mosquito Anopheles gambiae*. - *PLoS ONE* 8(3): e57887.
- LEHMANN T., DIABATE A., 2008 - *The molecular forms of Anopheles gambiae: A phenotypic perspective*. - *Infect. Genet. Evol.*, 8: 737-746.
- LEHMANN T., LICHT M., ELISSA N., MAEGA B.T.A., CHIMUMBWA J.M., WATSENGA F.T., WONDJI C.S., SIMARD F., HAWLEY W.A., 2003 - *Population Structure of Anopheles gambiae in Africa*. - *J. Hered.*, 94: 133-147.
- LEHMANN T., HAWLEY W.A., GREBERT H., DANGA M., ATIEMI F., COLLINS F.H., 1999 - *The Rift Valley complex as a barrier to gene flow for Anopheles gambiae in Kenya*. - *J. Hered.*, 90: 613-621.
- MANOUKIS N.C., POWELL J.R., TOURÉ M.B., SACKO A., EDILLO F.E., COULIBALY M.B., TRAORÉ S.F., TAYLOR C.E., BESANSKY N.J., 2008 - *A test of the chromosomal theory of ecotypic speciation in Anopheles gambiae*. - *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 105: 2940-2945.
- MARSDEN C.D., LEE Y., NIEMAN C.C., SANFORD M.R., DINIS J., MARTINS C., RODRIGUES A., CORNEL A.J., LANZARO G.C., 2011 - *Asymmetric introgression between the M and S forms of the malaria vector, Anopheles gambiae, maintains divergence despite extensive hybridization*. - *Mol. Ecol.*, 20: 4983-4994.
- NEAFSEY D.E., LAWNICZAK M.K.N., PARK D.J., et al., 2010 - *SNP Genotyping Defines Complex Gene-Flow Boundaries Among African Malaria Vector Mosquitoes*. - *Science* 330: 514-517.
- NWAKANMA D.C., NEAFSEY D.E., JAWARA M., ADIAMOH M., LUND E., RODRIGUES A., LOUA K.M., KONATE L., SY N., DIA I., AWOLOLA T.S., MUSKAVITCH M.A., CONWAY D.J., 2013 - *Breakdown in the Process of Incipient Speciation in Anopheles gambiae*. - *Genetics*, 193: 1221-1231.
- OLIVEIRA E., SALGUEIRO P., PALSSON K., VICENTE J.L., AREZ A.P., JAENSON T.G., CACCONE A., PINTO J., 2008 - *High levels of hybridization between molecular forms of Anopheles gambiae from Guinea Bissau*. - *J. Med. Entomol.*, 45: 1057-1063.
- PINTO J., YAWSON A.E., VICENTE J.L., GOMES B., SANTOLAMAZZA F., MORENO M., CHARLWOOD J.D., SIMARD F., ELISSA N., WEETMAN D., DONNELLYM., CACCONE A., DELLA TORRE A., 2013 - *Geographic population structure of the African malaria vector Anopheles gambiae suggests a role for the forest-savannah biome transition as a barrier to gene flow*. - *Evol. Appl.*, 6: 910-924.
- REIDENBACH K.R., NEAFSEY D.E., COSTANTINI C., SAGNON N., SIMARD F., RAGLAND G.J., EGAN S.P., FEDER J.L., MUSKAVITCH M.A., BESANSKY N.J., 2012 - *Patterns of genomic differentiation between ecologically differentiated M and S Forms of Anopheles gambiae in West and Central Africa*. - *Genome Biol. Evol.*, 4: 1202-1212.
- WANG-SATTTLER R., BLANDIN S., NING Y., BLASS C., DOLO G., TOURÉ Y.T., DELLA TORRE A., LANZARO G.C., STEINMETZ L.M., KAFATOS F.C., ZHENG L., 2007 - *Mosaic genome architecture of the Anopheles gambiae species complex*. - *PLoS One*, 2:e1249.
- WEETMAN D., WILDING C.S., STEEN K., PINTO J., DONNELLY M.J., 2012 - *Gene flow-dependent genomic divergence between Anopheles gambiae M and S Forms*. - *Mol. Biol. Evol.*, 29: 279-291.

TWO PROBABLE AUTOCHTHONOUS INTRODUCED MALARIA CASES IN ITALY IN 2009 AND 2011 AND THE RISK OF SPORADIC LOCAL TRANSMISSION

ROBERTO ROMI (*)

(*) *Istituto Superiore di Sanità, Department of Infectious, Parasitic and Immune Mediated Diseases, Unit of Vector-borne Diseases, Rome, Italy; e-mail: roberto.romi@iss.it*

Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Two probable autochthonous introduced malaria cases in Italy in 2009-2011 and the risk of sporadic local transmission

We describe two cases of probable autochthonous introduced *Plasmodium vivax* malaria that occurred in two sites of South-Central Italy respectively in 2009 and 2011. Although the sources of infection were not detected, the conclusion of the epidemiological investigation was in favor of local transmission and therefore the cases were classified as autochthonous. Sporadic *P. vivax* cases transmitted by indigenous vectors may be considered possible in some areas of the country where vector abundance and environmental conditions are favorable to malaria transmission. We report on the possible risk of local vector-borne malaria transmission in territories of Italy where the vector abundance and environmental conditions are favorable.

KEY WORDS: *Plasmodium vivax*, autochthonous introduced malaria, Italy.

INTRODUCTION

Although soon after the World War II malaria was eliminated from Mediterranean countries, the rise in the average temperature of the earth (GOULD and HIGGS, 2009), environmental modifications, the increase of international travel, and socio-economic constraints recorded in the last decades (VORA, 2008), have raised the concern about the possible re-emergence of malaria in some of these countries, such as Italy, where malaria had been endemic before (TAKKEN and KNOLS, 2007) and where competent vectors are still present. The recent outbreaks of malaria in Greece, although limited in size, are paradigmatic of this possible public health threat (DANIS *et al.*, 2011). In Italy, since the five-year eradication campaign in 1947-1951, one single confirmed case of autochthonous introduced *P. vivax* malaria has been recorded in Grosseto, Tuscany Region in 1997 (BALDARI *et al.*, 1998). Hereby, we report two probable but not proved autochthonous introduced malaria cases that occurred in Italy in the last three years.

CASE REPORTS

Case 1, 2009

A 41-year-old Caucasian man living in the outskirts of Rome was admitted to the intensive care

unit of the local Hospital=following microscopic (blood smear observation, thick and thin films) and molecular (nested PCR analysis) (SNOUNOU and SINGH, 2002) diagnosis of *P. vivax* malaria. The patient had no history of previous malaria and reported a travel outside Italy in Santo Domingo, Dominican Republic, where he spent one-week holiday in 2003 and in 2004 in Sharm el Sheikh, Egypt, but he didn't undertake any malaria prophylactic treatment on these occasions. He had no history of blood transfusions, tissue/organ transplantation, intravenous drug use, and no event of high fever in the previous six years. In July 2009, the month before the onset of symptoms, he had spent two weeks in two different holiday farms, one in Terracina, between 4 and 5 July, and the other in Pontinia, between 25 and 26 July. Both sites are located in the former 'Pontine marshes', a rural coastal plain of Central Italy, where malaria was hyperendemic until 1946. Although long term *P. vivax* relapses have been reported (DURANTE MANGONI *et al.*, 2008) and could not be entirely ruled out in this case, the short stay in Santo Domingo, where foci of malaria still exist in limited areas, and the lack of a history of febrile attacks shortly after the travel made unlikely the hypothesis of a travel-acquired infection-orienting towards the hypothesis of an autochthonous case. After the detection of this case, the search for potential sources of infection was directed to the identification of migrants gametocyte carriers

from endemic countries. A large number of regular migrants from India and Sri Lanka, employed in buffalo rearing and horticulture in green houses, live in a site which was very close to both holiday farms but no malaria case was identified among these people in 2009, through the regular surveillance system. Considering a minimum of 10–12 days for the malaria infection was probably acquired in the first half of July. Due to the late notification of the case to our reference centre at Istituto Superiore di Sanità, the entomological investigation started one month after malaria diagnosis. A single specimen of *Anopheles maculipennis* s.s. engorged female was found and collected in one of the animal shelters in the farms. Potential breeding sites suitable for anopheline larvae (few small canals for water supplying agriculture) were investigated but no adult mosquitoes or larvae were found. The entomological investigation conducted around the house of the patient in Rome also gave negative results (no adult of anopheline mosquitoes or suitable larval breeding sites were found).

Case 2, 2011

A 39-year-old Caucasian man resident in the mid town of Rende, a residential district close to the town of Cosenza, in Calabria Region, southern Italy, was hospitalized on 15 September 2011 with the same symptoms of Case 1 (high remittent fever, peaking every 48 hours and classical paroxysms with alternate cold, hot and sweating stages), although the onset of symptoms occurred on 1 September. Microscopic and molecular diagnosis of *P. vivax* malaria was performed as reported above. The patient did not report any blood transfusions, tissue/organ transplantation and intravenous drug use, and no remarkable febrile attacks during the previous six years. In his travel history he reported no recent travel in malaria-endemic areas, but a holiday in the Island of Santorini, Greece, in 2003 and a cruise along the coasts of the Mediterranean Sea in 2005. In August 2011, he spent the weekends in the village of Scalea, located along the Tyrrhenian coast, where there are some historically productive breeding sites where both *An. labranchiae* and *An. superpictus* occur (ROMI *et al.*, 2001). Two investigations were carried out around the summer house in Scalea and in the area of the habitual residence in Rende to identify the source of infection but no gametocyte carriers were found. Three reception centers for African and Asian refugees, located in Cosenza Province, were not considered in our investigation because they were more than 10 km away from both houses of the index case and because the refugee people were under medical control (i.e. they were screened

for infectious diseases upon arrival in Italy and had easy access to medical care when sick). The infection was probably acquired in mid-August, and the entomological investigation conducted on 27 and 28 September (a couple of weeks after malaria diagnosis) in the town of Scalea, revealed the presence of a possible anopheline breeding site in a canal that crosses the plain area of the town before flowing into the sea, close to the house of the patient. The canal was almost dry, with few residual pools of water along the edges, due to the presence of heavy vegetation. No anopheline larvae were found in those pools. Among the animal shelters inspected, only one resulted positive for anopheline mosquitoes: two engorged females of *An. labranchiae* were found in a cow shed of a farm located about 600 m from the summer residence of the patient. In Rende, only a single animal shelter was detected in the surrounding of the habitual residence: it was a small goat shelter located in a public garden about 200 m away from the case's house, where 26 *Anopheles* mosquitoes belonging to the *An. maculipennis* complex were found, 21 of which were identified as *An. labranchiae* by ITS2 sequence analysis (DI LUCA *et al.*, 2004). One *An. maculipennis* s.s. IV instar larva was found in one of the two streams which were considered suitable breeding sites, located at 150 m and 600 m from the case's house, respectively.

DISCUSSION

During the last 15 years (1997-2011), a total of 17 possible local cases of malaria occurred in Italy. Only one of them was likely transmitted by local vectors, thus fitting the criteria for an introduced case (WHO, 1963). The other 14 cases were classified as induced (nosocomial infection (n=7), post-transfusion (n=3), and post-transplant (n=1) or imported (infected mosquitoes imported with baggage (n=3) (ROMI *et al.*, 2010). The remaining two cases, discussed in this report, were classified as autochthonous introduced

In Italy, as well as in other Mediterranean countries recently investigated for the risk of malaria reintroduction, the return to a situation of endemic malaria is unlikely, but the occurrence of sporadic, isolated cases of introduced *P. vivax* malaria may still be considered possible (DI LUCA *et al.*, 200; ROMI *et al.*, 2012). Even if the vulnerability of the Italian territory during the summer months seemed to be very low between 2000 and 2011 as shown in Fig. 1, recent entomological surveys carried out in areas historically considered 'at risk' for malaria showed a remarkable presence (or even high abundance in some places) of the main

indigenous vector *An. labranchiae*, and confirmed its ability to bite humans both in the presence and in the absence of alternative hosts, indoors as well as outdoors [12-14]. A map displaying the current distribution of the potential malaria vectors and

the regions of the country considered 'at risk', based on our own recent field collected data (2005-2011), is showed in Fig. 2. It should also be stressed that several direct or indirect effects of human activities in rural areas may quickly modify

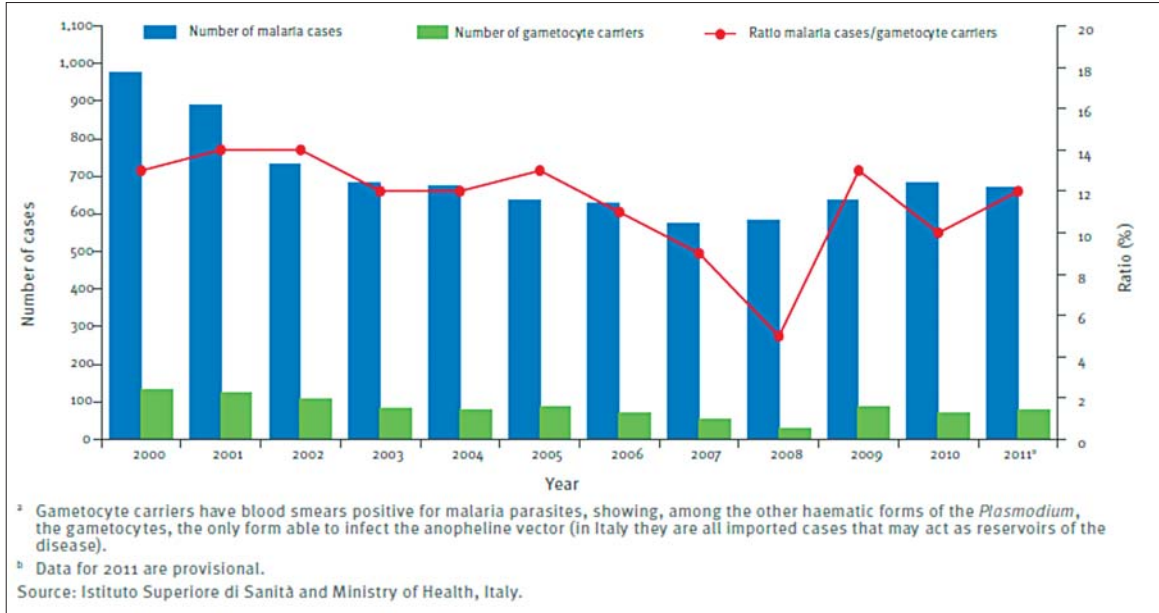


Figure 1 – Annual imported malaria cases and gametocyte carriers, Italy, 2000-2011.

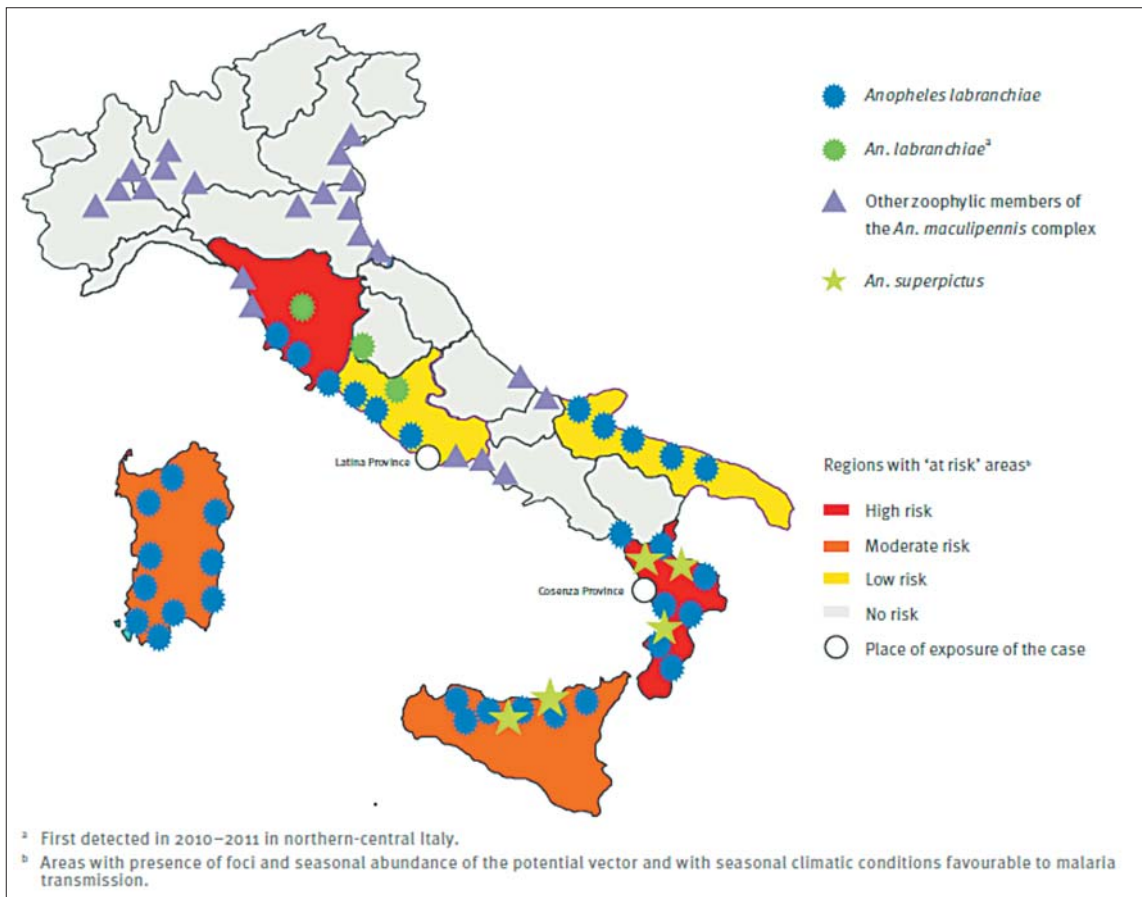


Figure 2 – Distribution of the potential malaria vectors and regions considered at risk of malaria reintroduction, Italy, 2005-2011.

the distribution and the abundance of the vectors, and may promote the contacts between mosquitoes and gametocyte carriers; these factors, together with the presence of a large non-immune human population, may have an impact on malaria reintroduction in newly vulnerable areas (BOCCOLINI *et al.*, 2012).

In the light of the recent malaria outbreaks that occurred in Greece, the two cases reported here stress the importance of vigilance for this disease and the need to improve existing epidemiological and entomological surveillance systems for malaria. Finally, it should be mentioned that the occurrence of cases of autochthonous transmission of exotic vector borne infections in Europe may concern infections other than malaria. The recent outbreaks that occurred in some European countries such as Italy (West Nile and Chikungunya viruses) France, Croatia, and Portugal (Dengue virus) (REZZA *et al.*, 2007; GOULD *et al.*, 2010; LA RUCHE *et al.*, 2010; GRANDADM *et al.*, 2010; GENERO-MARGON *et al.*, 2010; ECDC, 2012), and the widespread presence and abundance of the potential vectors of these diseases in our country, represent a clear threat to the public health which needs adequate counter measures.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. C. Gnesivo (Department of Prevention, Local Health Unit Rome D), Dr F. Perelli and Dr I. Valentini (Department of Prevention, Local Health Unit of Cosenza), Dr. F. Fabiano (Director of UOC Igiene Pubblica-Medicina Preventiva, Cosenza), Dr. F. Cesario (Department of Infectious Diseases, Hospital of Cosenza), Dr. P. Cavalcanti (Laboratory of Microbiology, Hospital of Cosenza), Dr. F. Pagnotta (Veterinary Services of the Local Health Unit of Cosenza) for their precious support in both logistic organization and epidemiological inquiries. A special thanks to D. Boccolini, A. Carinci, M. Di Luca, L. Gradoni, M. Menegon, G. Rezza, C. Severini, F. Severini, L. Toma, who collaborated to the epidemiological investigation

RIASSUNTO

Il presente lavoro riporta la segnalazione di due possibili casi di malaria autoctona introdotta, ovvero trasmessa da un vettore indigeno infettatosi su un caso d'importazione e il resoconto delle inchieste epidemiologiche che hanno fatto loro seguito. I casi, entrambi dovuti a *Plasmodium vivax*, sono occorsi nel basso Lazio (LT) e in Calabria (CS), rispettivamente nel 2009 e nel 2011, in due

aree rurali considerate tra quelle zone del centro-sud del nostro Paese che ancora presentano condizioni ambientali favorevoli all'evento. Nonostante le approfondite indagini, peraltro condotte sul territorio con ritardo dovuto alla tardiva segnalazione da parte della Locale A.S., le inchieste non sono riuscite ad individuare con certezza le fonti dell'infestazione, pertanto i due casi sono stati archiviati come "criptici" ovvero di origine sconosciuta.

REFERENCES

- BALDARI M., TAMBURRO A., SABATINELLI G., ROMI R., SEVERINI C., CUCCAGNA P., FIORILLI G., ALLEGRI M.P., BURIANI C., TOTI M., 1998 - *Introduced malaria in Maremma, Italy.* - The Lancet, 351(9111): 1246-1248.
- BOCCOLINI D., TOMA L., DI LUCA M., SEVERINI F., COCCHI M., BELLA A., ET AL., 2012 - *Impact of environmental changes and human-related factors on the potential malaria vector, Anopheles labranchiae (Diptera: Culicidae), in Maremma, Central Italy.* - J. Med. Entomol., 49(4): 833-42.
- DANIS K., BAKA A., LENGLET A., VAN BORTEL W., TERZAKI I., TSERONI M., ET AL., 2012 - *Autochthonous Plasmodium vivax malaria in Greece.* - Euro Surveill., 16(42): pii=19993. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle>.
- DI LUCA M., BOCCOLINI D., MARINUCCI M., ROMI R., 2004 - *Intra-population polymorphism in Anopheles messeae (An. Maculipennis complex) inferred by molecular analysis.* - J. Med. Entomol., 41(4): 582-6.
- DI LUCA M., BOCCOLINI D., SEVERINI F., TOMA L., BARBIERI F.M., MASSA A., ET AL., 2009 - *A 2-year entomological study of potential malaria vectors in Central Italy.* - Vector Borne Zoonotic Dis., 9(6): 03-11.
- DURANTE MANGONI E., SEVERINI C., MENEGON M., ROMI R., RUGGIERO G., MAJORI G., 2003 - *Case report: An unusual late relapse of Plasmodium vivax malaria.* - Am. J. Trop. Med. Hyg., 68(2): 159-60.
- ECDC, 2012 (European Centre for Disease Prevention and Control). *Communicable Disease Threats- Report (CDTR). Week 43, 21-27. October 2012.* Stockholm: ECDC. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ECDC_CDT_R_wee
- GENERO-MARGAN I., ALERAJ B., KRAJCAR D., LESNIKAR V., KLOBUČAR A., PEM-NOVOSEL I., ET AL., 2011 - *Autochthonous dengue fever in Croatia, August-September 2010.* - Euro Surveill., 16(9):pii=1980 Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19805>
- GOULD E.A., GALLIAN P., DE LAMBALLERIE X., CHARREL R.N., 2010 - *First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality!* - Clin. Microbiol. Infect., 16(12): 1702-4.
- GOULD E.A., HIGGS S., 2009 - *Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases.* Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 103(2): 109-21.
- GRANDADAM M., CARO V., PLUMET S., THIBERGE J.M., SOUARÈS Y., FAILLOUX A.B., ET AL., 2010 - *Chikungunya virus: Southeastern France.* - Emerg. Infect. Dis., 17(5):910-3.
- LA RUCHE G., SOUARÈS Y., ARMENGAUD A., PELOUX-PETIOT F., DELAUNAY P., DESPRÈS P., ET AL., 2010 - *First two autochthonous denguevirus infections in metropolitan France, September 2010.* - Euro Surveill.,

- 5(39): pii=19676. Available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19676>.
- REZZA G., NICOLETTI L., ANGELINI R., ROMI R., FINARELLI A.C., PANNING M., ET AL., 2007 - *Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region.* – Lancet, 370 (9602): 1840-6.
- ROMI R., BOCCOLINI D., D'AMATO S., CENCI C., POMPA M.G., MAJORI G., 2010 - *Malaria surveillance in Italy: the 2000-2008 national pattern of imported cases.* - Italian J. Trop. Med., 15(1-4): 35-8.
- ROMI R., BOCCOLINI D., VALLORANI R., SEVERINI F., TOMA .L, COCCHI M., ET AL., 2012 - *Assessment of the risk of malaria re-introduction in the Maremma Plain (Central Italy) using a multi factorial approach.*- Malaria J., 11: 98.
- ROMI R., SABATINELLI G., MAJORI G., 2001 - *Could malaria reappear in Italy?* – Emerg. Infect. Dis., 7(6): 915-19.
- SNOUNOU G., SINGH B., 2002 - *Nested PCR analysis of Plasmodium parasites.* - Methods Mol Med., 72:189-203.
- TAKKEN W., KNOLS B.G.J., 2007 - *Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. Ecology and control of vector-borne diseases.* Volume 1. Wageningen (The Netherlands):Wageningen Academic Publishers.
- VORA N., 2008 - *Impact of anthropogenic environmental alterations onvector-borne diseases.* - Medscape J. Med., 10(10): 238-44.
- WHO, 1963 - *Terminology of malaria and malaria eradication.* - Report of a Drifting Committee. Geneva, Available from:<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/39007/1/9241540141.pdf>

THE IMPORTANCE AND SIGNIFICANCE OF ENTOMOLOGICAL MONITORING FOR NEW AND OLD PATHOGENS TRANSMITTED BY CULICIDAE

GIOIA CAPELLI (*) - SIMONE MARTINI (**) - SARA CARLIN (*) - STEFANIA CAZZIN (*)
SILVIA CIOCCHETTA (***) - PAOLO MULATTI (*) - MATTEO MAZZUCATO (*) - MANLIO PALEI (****)
FRANCESCA RUSSO (*****) - SILVIA RAVAGNAN (*) - STEFANO MARANGON (*) - FABRIZIO MONTARSI (*)

(*) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10; 35020 Legnaro (Padua), Italy; e-mail: gcapelli@izsvenezie.it

(**) Entostudiosnc, Brugine (Padua), Italy

(***) Mosquito Control Laboratory, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Brisbane, Queensland, Australia

(****) Friuli Venezia Giulia region, Udine, Italy

(*****) Veneto Region, Venice, Italy

Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

The importance and significance of entomological monitoring for new and old pathogens transmitted by Culicidae

Mosquito-borne pathogens (MBPs) include viruses, protozoa and helminths affecting animals and humans worldwide. When a vector is established in an area there is a real and predictable risk of introduction of new MBPs or expansion of old ones, due to the global movement of goods, animals and humans. The global trade also enhanced the likelihood to import alien species, which pose new threats for the transmission of local and exotic MBPs. The surveillance of MBPs includes the entomological monitoring, which has different aims and strategies according to the target mosquito and pathogen. Here we report the main results achieved in five years of entomological monitoring in north-eastern Italy for endemic and at risk of introduction MBPs. In particular the significance of long and short term studies is commented, also reporting examples of other researchers. Our conclusion is that the current situation of MBPs in northern Italy suggests entomological monitoring cannot be abandoned in the next future, especially in Veneto region. Efforts need to be done in order to maximize the efficacy of the monitoring systems and at the same time minimize the costs for the community. In this respect studies on the cost/benefit of entomological monitoring systems are welcome.

KEY WORDS: entomological surveillance, mosquito-borne pathogens, *Culex pipiens*, *Aedes albopictus*.

BACKGROUND

Mosquito-borne pathogens (MBPs) include viruses, protozoa and helminths affecting animals and humans worldwide (ENGLER *et al.*, 2013; OTRANTO *et al.*, 2013). In north-eastern Italy some MBPs are endemic, with different spatial and temporal distribution, such as *Dirofilaria immitis* and *D.repens* (LATROFA *et al.*, 2012; CAPELLI *et al.*, 2013a), *Setaria labiatopapillosa* (PIETROBELLI *et al.*, 1995; CANCRINI *et al.*, 1997), West Nile (WNV) and Usutu virus (USUV) (CAPELLI *et al.*, 2013b), protozoa circulating among birds (*Plasmodium*, filariae) and in the past, also human malaria (MAJORI, 2012; ROMI *et al.*, 2012). When a vector is established in an area there is a real and predictable risk of introduction of new MBPs or expansion of old ones, due to the global movement of goods, animals and humans. The recent outbreak of chikungunya virus in Emilia-Romagna (ANGELINI *et al.*, 2007), the emergence of WNV in northern Italy (BUSANI *et al.*, 2011) and the expansion of *D. immitis* in southern regions (OTRANTO *et al.*, 2009)

are paradigmatic examples of such occurrences. The global trade also enhanced the likelihood to import alien species, which pose new threats for the transmission of local and exotic MBPs (MEDLOCK *et al.*, 2012). The surveillance of MBPs is based on passive and active monitoring of humans and susceptible animals (MULATTI *et al.*, 2013) coupled with the entomological monitoring, which has different aims and strategies according to the target mosquito and pathogen.

In general the entomological monitoring has the following main aims: (i) to define the mosquito species composition, their relative density and seasonal dynamics; (ii) to early detect the re-activation of endemic pathogens; to assess the mosquito infection rate and therefore quantify the risk of transmission to vertebrates; (iii) to detect new circulating pathogens; (iv) to detect new mosquito species. The reachability of these aims are affected by the spatial and temporal intensity of the monitoring, the skills of the people involved and, last but not least, the budget availability.

ENDEMIC PATHOGENS AND *CULEX PIPPIENS* L.

The north-eastern part of Italy (Veneto and Friuli Venezia Giulia regions) seems to be particularly suitable for the mosquito survival, likely due to its climate, landscape and abundance of wild/domestic animals. After the emergence of WNV in 2008 (MACINI *et al.*, 2008; BUSANI *et al.*, 2011), several entomological studies were implemented, including long term monitoring systems and short term studies to answer specific questions. For long term monitoring, a range of 24-66 CDC-CO₂ traps were activated weekly or fortnightly from May to October 2009-2013. The mosquitoes were screened by RT-PCR for Flaviviridae (RAVAGNAN *et al.*, 2011). More than 700,000 mosquitoes were collected, being *Cx.pipiens* the most abundant (80%) followed by *Ochlerotatus caspius* and *Aedes vexans*. *Cx.pipiens* was the only vector of WNV and USUV in this area.

From 2010 to 2013, the WNV positive samples were characterized by partial sequencing of NS5 and NS3 genes. The phylogenetic analyses showed the occurrence of WNV lineage 1 and 2, and of two different strains of WNV-1 that have been circulating with different spatial and temporal patterns. This highlights that new viral introductions have occurred in few years and also indicates the capability of these viruses to become endemic and to rapidly evolve and emerge in different sites (CAPELLI *et al.*, 2013b; RAVAGNAN *et al.*, 2014).

Mapping, modeling and spatial analyses were done using the entomological data to identify correlations with climate, landscape, animal and human infections (MULATTI *et al.*, 2014). The results showed for the first time that the contribution of density-dependence in regulating vector population growth was greater than any other environmental factor on its own. Overall the most significant predictors of *Cx.pipiens* dynamics included length of daylight, population density and temperature in the 15 days prior to sampling. Precipitation, number of rainy days and humidity had limited importance. Also linear models detected significant relationships between WNV in humans and mosquitoes. Spatial analysis detected clusters of WNV occurrences for all the hosts, identifying an area where to focus surveillance and promptly detect WNV re-activation (MULATTI *et al.*, 2013).

Beside annual monitoring, short term studies were organized. In one site, captures with CDC and gravid traps were done every 2hrs for 24hrs all over the season. The "diel activity" showed that *Cx.pipiens* changed its host searching activity

according to the season and highlighted the period of the day at major risk of *Cx.pipiens* biting (MONTARSI *et al.*, 2015). This may help to target personal protection against mosquitoes based on the higher risk of human bite and WNV transmission.

In other three sites pre- and post-disinfestation captures were done (CARLIN *et al.*, 2014). In only one site a significant mosquito reduction (75%) was achieved. The success of the control measures in reducing *Cx.pipiens* density varied according to the methods used, calling for the need of harmonic guidelines for disinfestation procedures. This may help to choose the most effective method for mosquito control in case of emergency.

The host preference of *Cx.pipiens* was assessed by PCR blood meal analysis of fed females and human landing captures (MONTARSI *et al.*, 2014). *Cx.pipiens* fed preferentially on birds (76%), mainly blackbird, sparrow, magpie and collared dove, indicating possible bird targets for a better WNV surveillance. The low biting rates of humans and the absence of detection of human blood into mosquitoes in the sites examined confirm that *Cx.pipiens* is scarcely attracted by humans. The results of this study could explain the relative low incidence of WNV clinical cases in horses and humans compared to other infected areas of eastern Europe and USA. The data provided are also of importance for WNV transmission risk models in the area affected.

PATHOGENS AT RISK OF INTRODUCTION AND *Aedes albopictus* (SKUSE)

In Italy every year a variable number of human imported dengue and chikungunya cases are reported (GOBBI *et al.*, 2012). If these cases occur in summer in an area infested by the tiger mosquito the risk of transmission is real and increases according to the density of the mosquitoes and people. Consequently, the knowledge of the degree of the infestation in an area is pivotal to promptly intervene with the disinfestation actions according to the National Program of Surveillance. The best examples of a large scale entomological monitoring is the one set up in the Emilia Romagna region, where urban areas are constantly monitored by more than 2,700 ovitraps (CARRIERI *et al.*, 2011). Using the series of historical data, the mean number of eggs laid in ovitraps were compared to different estimates of adult mosquito abundance, human landing collection and number of bites declared by citizens. It was then possible to calculate a disease

risk threshold in terms of number of eggs per ovitrap above which an arbovirus epidemic may occur (CARRIERI *et al.*, 2012).

DETECTION OF NEW SPECIES

In Veneto region the entomological monitoring for the tiger mosquito allowed the detection of *Aedes koreicus* (Edwards), a new invasive mosquito species (CAPELLI *et al.*, 2011), potential vector of arboviruses and filariae. The biology and ecology of this mosquito need to be studied (MONTARSI *et al.*, 2013), such as the host preference (CAZZIN *et al.*, 2014) and the vector competence for helminthes and viruses. Invasive *Aedes* species may pose new threats for animal and human health (MEDLOCK *et al.*, 2012). For more details see MONTARSI *et al.* in this issue.

THE RETROSPECTIVE STUDIES

When a vector monitoring system is set up for years a consistent bank of samples is usually stored. A sub-sample of the mosquitoes collected in previous years was screened for Bunyaviridae. Tahyna virus was isolated from *Ochlerotatus caspius* (Pallas) in Veneto and Emilia Romagna Regions and Batai virus from *Anopheles maculipennis* s.l. (Meigen) in Emilia Romagna only (CALZOLARI *et al.*, 2010, CAPELLI *et al.*, 2014). These findings help to enhance the preparedness of the Health System to face the possible emergence of these viruses. Using the DNA extracted from mosquitoes in 2010 it was also possible to map the distribution of *D. immitis* and *D. repens* in mosquitoes in Veneto, giving new insights on the risk of transmission for animals and humans (LATROFA *et al.*, 2012).

Another interesting example of the usefulness of retrospective studies is the evidence of the Schmallenberg virus (SBV) into *Culicoides* samples stored in 2012 in Italy. In this case, it was possible to demonstrate that SBV had circulated in at least three Italian provinces since early September 2011, nearly 5 months prior the first detected case in 2012 (GOFFREDO *et al.*, 2013).

CONCLUSIONS

The current status of MBPs in northern Italy suggests that entomological monitoring cannot be abandoned in the next future. In particular, Veneto region is the only area of Italy where WNV has been

circulating continuously in animals, humans and vectors since its emergence in 2008. Efforts need to be done in order to maximize the efficacy of the monitoring systems and at the same time minimize the costs for the community. In this respect studies on the cost/benefit of entomological monitoring systems are welcome. For pathogens at risk of introduction a recent review of ROGERS *et al.* (2014) concluded that "The threat of dengue to Europe at present is considered to be low but sufficiently uncertain to warrant monitoring in those areas of greatest predicted environmental suitability, especially in northern Italy and parts of Austria, Slovenia and Croatia, Bosnia and Herzegovina, Serbia and Montenegro, Albania, Greece, south-eastern France, Germany and Switzerland, and in smaller regions elsewhere". The paradigmatic example of chikungunya outbreak in Emilia Romagna region is a lesson that we must not forget.

RIASSUNTO

Fra gli agenti patogeni trasmessi dalle zanzare vi sono virus, protozoi ed elminti che possono infettare gli animali e l'uomo in tutto il mondo. Se una specie di zanzara vettore è ben stabilita in un territorio vi è un alto rischio di introduzione di nuovi patogeni o di espansione di quelli già presenti, a causa del movimento globale delle merci, degli animali e degli esseri umani. Il commercio globale ha aumentato poi il rischio di importare specie aliene di zanzare insieme agli agenti infettivi da loro trasmessi sia locali che esotici. La sorveglianza del fenomeno si basa sul monitoraggio entomologico, che ha diversi obiettivi e strategie in base alla specie di zanzara target e al tipo di patogeno trasmesso. Nella rassegna sono riportati i principali risultati conseguiti in cinque anni di monitoraggio entomologico in aree endemiche dell'Italia nord-orientale a rischio di introduzione di nuovi patogeni trasmessi dalle zanzare. In particolare viene discussa l'importanza di studi a lungo e breve termine, riportando anche esempi di altri gruppi di ricerca. Dall'analisi dei dati raccolti in nord Italia risulta che allo stato attuale il monitoraggio entomologico non può essere abbandonato in particolare nel Veneto. In futuro sarà necessario massimizzare l'efficacia dei sistemi di monitoraggio allo scopo di ridurre i costi per la comunità.

REFERENCES

- ANGELINI R., FINARELLI A.C., ANGELINI P., PO C., PETROPULACOS K., MACINI P., FIORENTINI C., FORTUNA C., VENTURI G., ROMI R., MAJORI G., NICOLETTI L., REZZA G., CASSONE A., 2007 - *An outbreak of chikungunya fever in the province of Ravenna, Italy.* - Euro Surveill., 12(9): E070906.1.
- BUSANI L., CAPELLI G., CECCHINATO M., LORENZETTO M., SAVINI G., TERREGINO C., VIO P., BONFANTI L., POZZA M.D., MARANGON S., 2011 - *West Nile virus circulation in Veneto region in 2008-2009.* - Epidemiol. Infect., 139(6): 818-25.
- CALZOLARI M., BONILAUDI P., BELLINI R., CAIMI M., DEFILIPPO F., MAIOLI G., ALBIERI A., MEDICI A.,

- VERONESI R., PILANI R., GELATI A., ANGELINI P., PARCO V., FABBI M., BARBIERI I., LELLI D., LAVAZZA A., CORDIOLI P., DOTTORI M., 2010 - *Arboviral survey of mosquitoes in two northern Italian regions in 2007 and 2008*. - Vector Borne Zoonotic Dis., 10(9): 875-84.
- CANCRI G., PIETROBELLI M., FRANGIPANE DI REGALBONO A., TAMPINERI M.P., 1997 - *Mosquitoes as vectors of Setaria labiatopapillosa*. - Int. J. Parasitol., Sep;27(9): 1061-4.
- 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.
- CAPELLI G., MONTARSI F., RAVAGNAN S., CAZZIN S., MAZZUCATO M., MULATTI P., RUSSO F., MARANGON S., 2014-*How entomological studies can help the control of mosquito-borne diseases: a five-years experience in north-eastern Italy*. - Parasit. Vectors 2014, 7(Suppl 1):O30. Proceedings of the 1st Conference on Neglected Vectors and Vector-Borne Diseases (EurNegVec): with Management Committee and Working Group Meetings of the COST Action TD1303.
- CAPELLI G., RAVAGNAN S., MONTARSI F., FABRIZIO S., CAZZIN S., BONFANTI L., DI GENNARO A., PORTANTI O., MULATTI P., MONNE I., CATTOLI G., CESTER G., RUSSO F., SAVINI G., MARANGON S., 2013b -*Further evidence of lineage 2 West Nile Virus in Culex pipiens of North-Eastern Italy*. - Vet. Ital., 49(3): 263-8.
- CAPELLI G., FRANGIPANE DI REGALBONO A., SIMONATO G., CASSINI R., CAZZIN S., CANCRINI G., OTRANTO D., PIETROBELLI M., 2013a -*Risk of canine and human exposure to Dirofilaria immitis infected mosquitoes in endemic areas of Italy*. - Parasit. Vectors, 6: 60.
- CARLIN S., MARTINI S., SIGNORINI M., SCREMIN M., NICOLARDI L., FORONI M., RUSSO F., CAPELLI G., MONTARSI F., 2014 - *Efficacy of disinfection against adult of Culex pipiens mosquitoes in West Nile virus positive sites of north-eastern Italy*. - Atti del XXVIII Congresso Nazionale SoIPa:107.
- CARRIERI M., ALBIERI A., ANGELINI P., BALDACCHINI F., VENTURELLI C., ZEO S.M., BELLINI R., 2011 -*Surveillance of the chikungunya vector Aedes albopictus (Skuse) in Emilia-Romagna (northern Italy): organizational and technical aspects of a large scale monitoring system*. - J.Vector.Ecol., Jun; 36(1): 108-16.
- CARRIERI M., ANGELINI P., VENTURELLI C., MACCAGNANI B., BELLINI R., 2012 -*Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) population size survey in the 2007 chikungunya outbreak area in Italy. II: Estimating epidemic thresholds*. - J.Med.Entomol., 49(2): 388-99.
- CAZZIN S., CIOCCHETTA S., RAVAGNAN S., DRAGO A., CARLIN S., CAPELLI G., MONTARSI F., 2014- *Host preference of the invasive mosquito Aedes koreicus [Hulecoeteomyiakoreica]*. - Atti del XXVIII Congresso Nazionale SoIPa: 80.
- ENGLER O., SAVINI G., PAPA A., FIGUEROLA J., GROSCHUP M.H., KAMPEN H., MEDLOCK J., VAUX A., WILSON A.J., WERNER D., JÖST H., GOFFREDO M., CAPELLI G., FEDERICI V., TONOLLA M., PATOCCHI N., FLACIO E., PORTMANN J., ROSSI-PEDRUZZI A., MOURELATOS S., RUIZ S., VÁZQUEZ A., CALZOLARI M., BONILAUDI P., DOTTORI M., SCHAFFNER F., MATHIS A., JOHNSON N., 2013 -*European surveillance for West Nile virus in mosquito populations*. -Int. J.Environ. Res. Public Health., 10(10): 4869-95.
- GOBBI F., BARZON L., CAPELLI G., ANGHEBEN A., PACENTI M., NAPOLETANO G., PIOVESAN C., MONTARSI F., MARTINI S., RIGOLI R., CATTELAN A.M., RINALDI R., CONFORTO M., RUSSO F., PALÙ G., BISOFFI Z. VENETO SUMMER FEVER STUDY GROUP, 2012 - *Surveillance for West Nile, dengue, and chikungunya virus infections, Veneto Region, Italy, 2010*. - Emerg. Infect. Dis., Apr;18(4): 671-3.
- GOFFREDO M., MONACO F., CAPELLI G., QUAGLIA M., FEDERICI V., CATALANI M., MONTARSI F., POLCI A., PINONI C., CALISTRI P., SAVINI G., 2013 -*Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in Culicoides stored during the bluetongue Italian surveillance program*. - Prev.Vet.Med., 111(3-4): 230-6.
- LATROFA M.S., MONTARSI F., CIOCCHETTA S., ANNOSCIA G., DANTAS-TORRES F., RAVAGNAN S., CAPELLI G., OTRANTO D., 2012 - *Molecular xenomonitoring of Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in mosquitoes from north-eastern Italy by real-time PCR coupled with melting curve analysis*. - Parasit. Vectors, 5: 76.
- MACINI P., SQUINTANI G., FINARELLI A.C., ANGELINI P., MARTINI E., TAMBA M., DOTTORI M., BELLINI R., SANTI A., LOLI PICCOLOMINI L., PO C., 2008 -*Detection of West Nile virus infection in horses, Italy, September 2008*. -Euro Surveill., Sep 25;13(39).
- MAJORI G., 2012 -*Short history of malaria and its eradication in Italy with shortnotes on the fight against the infection in the Mediterranean basin*. - Mediterr. J. Hematol. Infect. Dis., 4(1): e2012016.
- MEDLOCK J.M., HANSFORD K.M., SCHAFFNER F., VERSTEIRT V., HENDRICKX G., ZELLER H., VAN BORTEL W., 2012 - *A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options*. - Vector Borne Zoonotic Dis.,12(6): 435-47.
- MONTARSI F., DANESI P., MARTINI S., DRAGO A., CAZZIN S., FRANGIPANE DI REGALBONO A., CAPELLI G., 2014 - *Biting rate and host preference of Culex pipiens in an area repeatedly affected by West Nile virus*. Atti del XXVIII Congresso Nazionale SoIPa: 79.
- 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 [Hulecoeteomyiakoreica], a new potential vector and pest in north-eastern Italy*. - Parasit. Vectors., Oct 10;6: 292.
- MONTARSI F., MAZZON L., CAZZIN S., CIOCCHETTA S., CAPELLI G., 2015 - *Seasonal and Daily Activity Patterns of Mosquitoes (Diptera: Culicidae) Vectors of Pathogens in North-Eastern Italy*. - Med. Entomol., 52(1): 56-62.
- MULATTI P., BONFANTI L., CAPELLI G., CAPELLO K., LORENZETTO M., TERREGINO C., MONACO F., FERRI G., MARANGON S., 2013 - *West Nile virus in north-eastern Italy, 2011: entomological and equine IgM-based surveillance to detect active virus circulation*. - Zoonoses Public Health, 60(5): 375-82.
- MULATTI P., FERGUSON H.M., BONFANTI L., MONTARSI F., CAPELLI G., MARANGON S., 2014 - *Determinants of the population growth of the West Nile virus mosquito vector Culex pipiens in a repeatedly affected area in Italy*. - Parasit. Vectors, 7: 26.
- OTRANTO D., CAPELLI G., GENCHI C., 2009 - *Changing distribution patterns of canine vector borne diseases in Italy: leishmaniosis vs. dirofilariosis*. - Parasit. Vectors, 2 Suppl 1: S2.
- OTRANTO D., DANTAS-TORRES F., BRIANTI E., TRAVERSA D.,

- PETRI D., GENCHI C., CAPELLI G., 2013 - *Vector-borne helminths of dogs and humans in Europe*. - *Parasit. Vectors*, 16;6: 16.
- PIETROBELLI M., FRANGIPANE DI REGALBONO A., SEGATO L., TAMPIERI M.P., 1995 - *Bovine setariasis in Friuli Venezia Giulia*. - *Parassitologia*, 37(1):69-74.
- RAVAGNAN S., CAZZIN S., DA ROLD G., SALVIATO A., PALEI M., RUSSO F., MONTARSI F., MARANGON S., CAPELLI G., 2014 - *Temporal and spatial patterns of different lineages and strains of West Nile viruses in north-eastern Italy in the mosquito vector Culex pipiens*. - *Atti del XXVIII Congresso Nazionale SoIPa*: 61.
- RAVAGNAN S., GRANATO A., PORCELLATO E., CAZZIN S., DE NARDI R., MAZZACAN E., DE BATTISTI C., MARANGON S., CAPELLI G., 2011 - *Development of a one-step realtime PCR assay for detection of flaviviruses in pooled mosquitoes*. In 5th Annual Meeting EPIZONE, 11-14 April 2011, The Netherlands.
- ROGERS D.J., SUK J.E., SEMENZA J.C., 2014 - *Using global maps to predict the risk of dengue in Europe*. - *Acta Trop.*, 129: 1-14.
- ROMI, R., BOCCOLINI, D., MENEGON, M., AND G. REZZA., 2012 - *Probable autochthonous introduced malaria cases in Italy in 2009-2011 and the risk of local vector-borne transmission*. - *Euro Surveill.*, 17: 20325.

CULICOIDES IN ITALY: HIGHLIGHTS ON BLUETONGUE AND SCHMALLEMBERG VECTORS

MARIA GOFFREDO (*)

(*) Istituto Zooprofilattico Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise "G. Caporale" - Teramo - Italy; e-mail: m.goffredo@izs.it
Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Culicoides in Italy: highlights on Bluetongue and Schmallenberg vectors

Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) are small biting midges, able to transmit several arboviruses to animals. Among these, Bluetongue (BTV) and Schmallenberg (SBV) viruses affect ruminants and are currently circulating in Italy and in Europe. A National Entomological Surveillance Plan is currently operating for Bluetongue, all over Italy, providing data on *Culicoides* which are also useful for other *Culicoides*-borne diseases, such as SBV. Some highlights on *Culicoides*, particularly as vectors of BTV and SBV in Italy, are here reported, as a result of more than 10 years of surveillance and research, in particular on: (i) ecology and distribution on the main vector species in Italy: *Culicoides imicola*, *Obsoletus* complex and *Pulicaris* complex; (ii) species playing a role in the transmission of Bluetongue and Schmallenberg viruses.

KEY WORDS: *Culicoides imicola*, *Obsoletus* complex, Bluetongue and Schmallenberg viruses, Reoviridae, Bunyaviridae.

INTRODUCTION

Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) are small pests, 1 to 3 mm in size, blood-suckers feeding on mammals, birds, humans and reptiles. These biting midges are able to cause seasonal dermatitis in horses and to bother humans with heavy attacks in some areas. Furthermore they act as vectors of protozoa, filarial nematodes and arboviruses. More than 75 arboviruses have been isolated from *Culicoides*, worldwide, mainly belonging to the families Reoviridae, Bunyaviridae, Rhabdoviridae. Among these, Bluetongue (BTV) and Schmallenberg (SBV) viruses, affecting ruminants, are currently circulating in Italy and Europe. BTV belongs to the genus *Orbivirus* (family Reoviridae) and circulates in Italy since 2000, whereas SBV is a "new" *Orthobunyavirus* (family Bunyaviridae), isolated for the first time in Northern Europe in 2011, and then reported also in Italy the following years. In Italy a National Entomological Surveillance Plan is currently operating for Bluetongue, all over the Country. The entomological activities, performed in the framework of this Plan, are also useful for other *Culicoides*-borne diseases, such as SBV. Some highlights on *Culicoides*, particularly as vectors of BTV and SBV in Italy, are here reported, as a result of more than 10 years of surveillance and research.

CULICOIDES BITING MIDGES: COLLECTION, IDENTIFICATION AND LIFE CYCLE.

Culicoides midges are mainly active at dusk, however diurnal activity might occur in some species. The collection of *Culicoides* is currently performed mainly by using suction blacklight traps, working overnight in proximity of livestock (GOFFREDO and MEISWINKEL, 2004).

The species identification of *Culicoides* biting midges is based on morphology, by using a stereoscope and, when needed, a compound microscope on slide-mounted specimens. However, to identify cryptic species belonging to species complexes (i.e. *Obsoletus* complex), molecular tools have been set up (CAMPBELL and PELHAM-CLINTON, 1960; DELECOLLE, 1985; GOMULSKI et al., 2005; MATHIEU et al., 2007). There are four larval instars in the life cycle of *Culicoides*. The eggs are laid singly or in small batches in the breeding sites, which can vary according to the species. Some species breed in mud (water-soil interface), others in animal dung, others in microhabitats as tree holes or rock cavities, others in rotting vegetation (MEISWINKEL et al., 2004b). The larval stages last for days or weeks, according to the temperature, however may also last for several months. The adults usually can live for few weeks, however, under laboratory conditions, adult females can survive at least three months (GOFFREDO et al., 2004). The majority of

species are univoltine, but some have several generations through the year, depending on local conditions. Male midges do not take blood, whereas females require a blood meal to produce a batch of eggs. However some species are able to mature a first batch of eggs autogenously, but then they need a blood meal for the following egg batches. Transovarial transmission has not been demonstrated in *Culicoides*, thus only the adult females are relevant for virus transmission.

VECTOR SPECIES

More than 1,400 species of *Culicoides* biting midges occur worldwide, but less than 3% of them are related to virus transmission: *C. sonorensis* is the main vector in Northern America, *C. insignis* and *C. pusillus* in Southern America; *C. imicola* and *C. bolitinos* are the most important *Culicoides* vector species in Africa, whereas in the East and in Australia *C. brevitarsis*, *C. wadai*, *C. fulvus*, *C. actoni*, *C. oxystoma* could be listed; in Europe the most important vector species are *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. dewulfi*, *C. chiopterus* and *C. pulicaris*. In Italy, the European and African epistystems overlap: the African vector *C. imicola* and the European vector species, belonging to the *Obsoletus* and *Pulicaris* complexes, are well established in our Country.

CULICOIDES IMICOLA

C. imicola was found for the first time in Italy in July 2000, just few weeks before the occurrence of the first outbreak of Bluetongue. A strong monitoring system for this species is in place all over Italy since then, based on a net of >100 traps weekly running in all the Italian Provinces. The species is particularly abundant in Sardinia island, and its distribution area includes Calabria, Sicily and the western coast of Italy, with some occasional reports in Southern and Central Italy. The northernmost records of the species are above the 44th parallel. The breeding sites of *C. imicola* consist of muddy environments rich in organic matter, even artificial and man-made, sunny, with low vegetation. This important vector species is mainly exophilic, with a crepuscular flying activity. The seasonal peak of this species occurs in late summer, which usually is also the occurring period of Bluetongue (CONTE *et al.*, 2007a; MEISWINKEL *et al.*, 2004b). Several prediction and classification models have been developed for *C. imicola*, at different scales. The *C. imicola* pattern across Italy is mainly driven by temperature and elevation above the sea level (CONTE *et al.*,

2003), but local factors can strongly influence its distribution at a local scale, like the soil type in Calabria region where clay soil results the most important factor explaining the *C. imicola* distribution (CONTE *et al.*, 2007b). A detailed distribution and abundance map of *C. imicola* in Italy was drawn in 2000-2001, based on more than 4,500 collections in nearly 1,900 sites. These findings were carefully compared to all the *Culicoides* collections reported before 2000, but unfortunately no comparable data recorded before 2000 were found in the literature: there were fundamental differences between the new and previous trappings in terms of sampling intensity, type of traps, location and timing of collections (GOFFREDO *et al.*, 2003). The question about a possible recent invasion of the species, supporting the emergence of BT in Southern Europe, suddenly arose. To answer this question a net of permanent traps working all over the country was established and the distribution/abundance data of the species, collected from 2000 to 2007, were statistically analyzed (CONTE *et al.*, 2009). In addition, different scenarios of invasion of Italy from North Africa were tested, using a genetic approach based on microsatellites (MARDULYN *et al.*, 2013). These approaches showed no evidence of *C. imicola* geographical range expansion in Italy, and the hypothesis of an ancient presence of the species is strongly favoured.

THE OBSOLETUS COMPLEX

The *Obsoletus* complex in Italy includes the cryptic species *C. obsoletus sensu stricto*, *C. scoticus* and *C. montanus*. The so-called “*C. obsoletus* group” is a broader group of species that comprises also *C. dewulfi* and *C. chiopterus*, which are morphologically very similar to the *Obsoletus* complex (MEISWINKEL *et al.*, 2004a). Females of *C. chiopterus* and *C. dewulfi* can be morphologically distinguished from the *Obsoletus* complex (CAMPBELL and PELHAM-CLINTON, 1960; DELECOLLE, 1985; GOFFREDO and MEISWINKEL, 2004), whereas to identify the sibling species of the *Obsoletus* complex further molecular assays are needed, such as multiplex RT-PCR (GOMULSKI *et al.*, 2005; GARROS *et al.*, 2014). Compared to Northern Europe, *C. chiopterus* is a rare species in Italy, whereas *C. dewulfi*, even if present in Southern, Central and Northern Italy, is not a common and abundant species on livestock. These two species breed in the dung of cattle or horses. The *Obsoletus* complex is very common and abundant all over Italy. On the opposite of *C. imicola*, this complex prefers rotting vegetation in shady areas as breeding sites, it is able to fly during daytime

and it shows a certain degree of endophagy and endophily (MEISWINKEL *et al.*, 2008). The seasonal peak of the *Obsoletus* complex occurs in late spring, however a second peak may sometimes occur in late summer. Adults can survive under laboratory conditions more than three months. Furthermore they are able to fly also during winter, with low temperatures, thus the possible role of this complex in overwintering the viruses should be taken into account. Within the complex, *C. obsoletus sensu stricto* is the most common and abundant species. It is often associated to urban and cultivated areas, whereas *C. scoticus* appears to be more habitat selective, favoring naturally vegetated areas, including forests. *Culicoides montanus* is the rarest of the three species and has been found mainly at lower altitudes in Southern Italy (GOFFREDO *et al.*, 2015a, *in press*).

THE PULICARIS COMPLEX

Differently from the *Obsoletus* complex and *C. imicola*, which belong to the subgenus *Culicoides* (*Avaritia*), the *Pulicaris* complex belongs to the subgenus *Culicoides* (*Culicoides*). The taxonomy of this subgenus is still not well defined, however the three species *C. pulicaris*, *C. punctatus* and *C. newsteadi* are the most common in Italy. BTV has been isolated from *C. pulicaris* (CARACAPPA *et al.*, 2003), whereas the other two species have been recently found positive in the field by RT-PCR, for SBV and BTV (LARSKA *et al.*, 2013; GOFFREDO *et al.*, 2015b, *in press*).

BLUETONGUE VECTORS IN ITALY

After the first incursion of Bluetongue virus in Italy in 2000, several BTV serotypes spread in the Country in the following years. The last heavy epidemic occurred in 2014, due to BTV serotype 1. Besides *C. imicola*, only *C. pulicaris* and *C. obsoletus* were considered potential vectors of BTV in 2000. Currently additional species of the subgenera *Avaritia* and *Culicoides* have been involved as vectors in Italy: *C. obsoletus*, *C. scoticus*, *C. pulicaris*, *C. dewulfi*, *C. newsteadi*, *C. punctatus*. (CARACAPPA *et al.*, 2003; DE LIBERATO *et al.*, 2005; SAVINI *et al.*, 2005; GOFFREDO *et al.*, 2015b, *in press*).

SCHMALLEMBERG VECTORS IN ITALY

At the end of 2011, the Schmallenberg virus, a “new” *Orthobunyavirus* within the family *Bunyaviridae*, spread across Northern Europe,

infecting ruminants. In Italy the first outbreak of SBV occurred in Veneto region in February 2012 and, at the end of the same year, SBV cases were confirmed also in other Italian Regions. Field and laboratory studies have demonstrated that at least *C. obsoletus*, *C. scoticus* and *C. imicola* might act as SBV vectors in Italy. Following the confirmation of SBV circulation in Northern Italy, a retrospective survey in the area surrounding the outbreak was performed, on midges collected and stored as part of the national entomological surveillance program for BTV. Samples of *Culicoides* specimens, collected in 6 different sites between June 2011 and June 2012, were tested for virus detection by real-time RT-PCR. The entomological survey demonstrated, retrospectively, that SBV was circulating in at least 3 provinces, nearly five months before and 40 km far from the first reported outbreak in Veneto region. The virus was detected also in *C. obsoletus* collected in May 2012, three months after the outbreak, suggesting the possibility of virus overwintering within infected midges (GOFFREDO *et al.*, 2013). When SBV cases occurred in Sardinia in late summer 2012, an entomological survey was performed between October and December 2012: *C. imicola* dominated the collections, suggesting that species could act as SBV vector. Furthermore SBV was detected in *C. imicola* pools, collected in a province where SBV outbreaks were not reported at the time (BALENGHIEN *et al.*, 2014).

RIASSUNTO

I *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) sono piccoli insetti ematofagi in grado di trasmettere diversi arbovirus agli animali. Tra questi, i virus della Bluetongue (BTV) e dello Schmallenberg (SBV) colpiscono i ruminanti e sono attualmente circolanti in Italia e in Europa. Un Piano Nazionale di Sorveglianza Entomologica è attualmente in atto per la Bluetongue, su tutto il territorio italiano, ed i dati raccolti in questo ambito possono essere utili anche per altre malattie trasmesse da *Culicoides*, come a esempio la malattia di Schmallenberg. La presente relazione riporta alcuni aspetti salienti sui *Culicoides* ed in particolare sul loro ruolo di vettori di BTV e SBV in Italia, a seguito di oltre 10 anni di sorveglianza e studi sulla loro ecologia, distribuzione geografica e competenza vettoriale.

REFERENCES

- BALENGHIEN T., PAGÈS N., GOFFREDO M., CARPENTER S., AUGOT D., JACQUIER E., TALAVERA S., MONACO F., DEPAQUIT J., GRILLET C., PUJOLS J., SATTÀ G., KASBARI M., SETIER-RIO M.L., IZZO F., ALKAN C., DELÉCOLLE J.C., QUAGLIA M., CHARREL R., POLCI A., BRÉARD E., FEDERICI V., CÈTRE-SOSSAH C., GARROS C., 2014 - *The emergence of Schmallenberg virus across Culicoides communities and ecosystems in Europe.* - *Prev. Vet. Med.*, Mar 18. pii: S0167-5877(14)00102-0. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.007.

- CAMPBELL J.A., PELHAM-CLINTON E.C., 1960 - *A taxonomic review of the British species Culicoides Latreille (Diptera, Ceratopogonidae)*. - Proceedings of the Royal Society of Edinburgh (B), 67, 181-302.
- 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. 153, 3: 71-4.
- CONTE A., GILBERT M., GOFFREDO M., 2009 - *Eight years of entomological surveillance in Italy show no evidence of Culicoides imicola geographical range expansion*. - J. Appl. Ecol., 46(6): 1332-1339.
- CONTE A., GIOVANNINI A., SAVINI L., GOFFREDO M., CALISTRI P., MEISWINKEL R., 2003. - *The effect of climate on the presence of Culicoides imicola in Italy*. - J. Vet. Med. Series B, 50(3): 139-147.
- CONTE A., GOFFREDO M., IPPOLITI C., MEISWINKEL R., 2007a - *Influence of biotic and abiotic factors on the distribution and abundance of Culicoides imicola and the Obsoletus Complex in Italy*. - Vet. Parasitol., 150/4: 333-344.
- CONTE A., IPPOLITI C., SAVINI L., GOFFREDO M., MEISWINKEL R., 2007b - *Novel environmental factors influencing the distribution and abundance of Culicoides imicola and the Obsoletus Complex in Italy*. - Vet. Ital., 43 (3): 571 – 580.
- DELECOLLE J.C., 1985. - *Nouvelle contribution à l'étude systématique et iconographique des espèces du genre Culicoides (Diptera: Ceratopogonidae) du Nord-Est de la France*. - Thesis, Université Louis Pasteur de Strasbourg, U.E.R sciences, Vie et Terre”, 238 pp.
- DE LIBERATO C., SCAVIA G., LORENZETTI R., SCARAMOZZINO P., AMADDEO D., CARDATI 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.
- GARROS C., BALENGHIEN T., CARPENTER S., DELÉCOLLE J.C., MEISWINKEL R., PÉDARRIEU A., RAKOTOARIVONY I., GARDÈS L., GOLDING N., BARBER J., MIRANDA M., BORRÀS BORRÀS D., GOFFREDO M., MONACO F., PAGÈS N., SGHAIER S., HAMMAMI S., CALVO J., LUCIENTES J., GEYSEN D., DE DEKEN G., SARTO I MONTEYS V., SCHWENKENBECHER J., KAMPEN H., HOFFMANN B., LEHMANN K., WERNER D., BALDET T., LANCELOT R., CÈTRE-SOSSAH C., 2014. - *Towards the PCR-based identification of Palaearctic Culicoides biting midges (Diptera: Ceratopogonidae): results from an international ring trial targeting four species of the subgenus Avaritia*. - Parasites & Vectors, 7(1): 1-9.
- GOFFREDO M., CONTE A., COCCIOLITO R., MEISWINKEL R., 2003. - *Distribution and abundance of Culicoides imicola in Italy*. - Vet. Ital., 47: 22-32.
- GOFFREDO M., MEISWINKEL R., 2004. - *Entomological surveillance of bluetongue in Italy: methods of capture, catch analysis and identification of Culicoides biting midges*. - Vet. Ital., 40: 260-265.
- GOFFREDO M., MEISWINKEL R., IPPOLITI C., CATALANI M., QUAGLIA M., SANTILLI A., CONTE A., SAVINI G., 2015a. - *Relative abundance, geographic range, and Bluetongue virus vector role of the species of 'Culicoides obsoletus group' in Italy*. - IV International Conference "Bluetongue and related orbiviruses". Rome, 5-7 November 2014. Proceeding in press.
- GOFFREDO M., MONACO F., CAPELLI G., QUAGLIA M., FEDERICI V., CATALANI M., MONTARSI F., POLCI A., PINONI C., CALISTRI P., SAVINI G., 2013. - *Schmallenberg virus in Italy: a retrospective survey in Culicoides stored during the bluetongue Italian surveillance program*. - Prev. Vet. Med., 111(3-4): 230-6.
- GOFFREDO M., ROMEO G., MONACO F., DI GENNARO A., SAVINI G., 2004. - *Laboratory survival and blood feeding response of wild-caught Culicoides obsoletus complex (Diptera: Ceratopogonidae) through natural and artificial membranes*. - Proceedings of the Third Bluetongue International Symposium, 26-29 October 2003. Taormina – Italy. Vet. Ital. 40 (3): 282-285.
- GOFFREDO M., SATTA G., CABRAS P., CATALANI M., QUAGLIA M., TEODORI L., MARINI V., LEONE A., PORTANTI O., CONTE A., MEISWINKEL R., SAVINI G., 2015b - *The 2012-2013 Bluetongue epidemic in Sardinia: multiple Culicoides species incriminated as possible vectors*. - IV International Conference "Bluetongue and related orbiviruses". Rome, 5-7 November 2014. Proceeding in press.
- GOMULSKI L.M., MEISWINKEL R., DELECOLLE J.C., GOFFREDO M., GASPERI G., 2005. - *Phylogenetic relationships of the subgenus Avaritia Fox, 1955 including Culicoides obsoletus (Diptera, Ceratopogonidae) in Italy based on internal transcribed spacer 2 ribosomal DNA sequences*. - Syst. Entomol., 30: 619-631.
- LARSKA M., LECHOWSKI L., GROCHOWSKA M., ŻMUDZIŃSKI J.F., 2013. - *Detection of the Schmallenberg virus in nulliparous Culicoides obsoletus/scoticus complex and C. punctatus*. - *The possibility of transovarial virus transmission in the midge population and of a new vector*. - Vet. Microbiol., 166(3): 467-473.
- MARDULYN P., GOFFREDO M., CONTEA., HENDRICKXG., MEISWINKEL R., BALENGHIEN T., SGHAIER S., LOHRY., GILBERTM., 2013. - *Climate change and the spread of vector borne diseases: using approximate Bayesian computation to compare invasion scenarios for the bluetongue virus vector Culicoides imicola in Italy*. - Mol. Ecol. 22 (9): 2456–2466.
- MATHIEU B., PERRIN A., BALDET T., DELÉCOLLE J. C., ALBINA E., CÈTRE-SOSSAH C., 2007. - *Molecular identification of Western European Species of Obsoletus Complex (Diptera: Ceratopogonidae) by Internal Transcribed Spacer-1 rDNA Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay*. - J. Med. Entomol., 44, 6: 1019-1025.
- MEISWINKEL R., GOFFREDO M., DIJKSTRAE.G.M., VAN DER VENI.J.K., BALDET T., ELBERS A., 2008. - *Endophily in Culicoides associated with BTV-infected cattle in the province of Limburg, south-eastern Netherlands, 2006*. - Prev. Vet. Med., 87(1-2):182-95.
- MEISWINKEL R., GOMULSKI L., DELÉCOLLE J.C., GOFFREDO M., GASPERI G., 2004a - *The biosystematics of Culicoides vector complexes – unfinished business*. - Proceeding of the Third International Symposium on Bluetongue, Taormina, Italy, 26-29 October. - Vet. Ital., 40 (3): 151-159.
- MEISWINKEL R., VENTER G.J., NEVILL E.M., 2004b - *Vectors: Culicoides spp. In: Infectious Disease of Livestock*, Edited by: Coetzer, J.A.W., Tustin R.C., Second Edition, Oxford University Press, Cape town, 93-136.
- SAVINI G., GOFFREDO M., MONACO F., DI GENNARO A., CAFIERO M.A., BALDI L., DE SANTI S.P., MEISWINKEL R., CAPORALE V., 2005. - *Bluetongue virus isolations from midges belonging to the Obsoletus complex (Culicoides, Diptera: Ceratopogonidae) in Italy*. - Vet. Rec., 157: 133-143.

CURRENT KNOWLEDGE ON THE DISTRIBUTION AND BIOLOGY OF THE RECENTLY INTRODUCED INVASIVE MOSQUITO *Aedes koreicus* (DIPTERA: CULICIDAE)

FABRIZIO MONTARSI (*) - ANDREA DRAGO (**) - MARCO DAL PONT (***) - NICOLA DELAI (****)
SARA CARLIN (*) - STEFANIA CAZZIN (*) - SILVIA CIOCCHETTA (*****) - DANIELE ARNOLDI (*****)
FREDERIC BALDACCHINO (*****) - ANNAPAOLA RIZZOLI (*****) - FRANCESCA RUSSO (*****)
GIOIA CAPELLI (*)

(*) Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, 10; 35020 Legnaro (Padua), Italy; e-mail: fmontarsi@izsvenezie.it
(**) Entostudio snc, Brugine (Padua), Italy;
(***) ULSS 1, Public Health Department of Belluno, Belluno, Italy;
(****) ULSS 2, Public Health Department of Feltre, Feltre (BL), Italy;
(*****) Mosquito Control Laboratory, QIMR Berghofer Medical Research Institute, Brisbane, Queensland, Australia;
(*****) Edmund Mach Foundation, S. Michele all'Adige (TN), Italy
(*****) Veneto Region, Direzione Prevenzione, Servizio Promozione e Sviluppo Igiene e Sanità Pubblica, Venice, Italy
Lettura tenuta durante il Seminario "Arthropod vectors of diseases in humans and domestic animals", in onore dell'Accademico Mario Coluzzi. Seduta pubblica dell'Accademia - Roma, 3 ottobre 2014.

Current knowledge on the distribution and biology of the recently introduced invasive mosquito Aedes koreicus (Diptera: Culicidae)

Aedes koreicus, a new species of exotic mosquito, was recorded in 2011 in north-eastern Italy. The aim of this work was to characterize the biology, the environment and the current distribution of this mosquito by preliminary field and laboratory experiments, and to report the findings of the surveillance projects. Different studies were carried out to monitor the distribution of *Ae. koreicus* and to better understand its behaviour and vector competence: breeding sites and larval monitoring, ovitrap collection, adult mosquitoes collection, laboratory and field tests. *Ae. koreicus* was found in 46/105 monitored municipalities (43.8%) in a range of altitude from 173 to 1250 m a.s.l. The most positive breeding sites were artificial water containers (41.0%). The period of activity ranged from March to October. Ovitrap and adult mosquito traps were efficient to collect *Ae. koreicus* specimens. Adults were also collected by human landing captures. In the laboratory studies, females fed on blood collected from dogs, cattle, sheep, chickens and humans, while in field conditions they clearly showed a preference for humans. *Ae. koreicus* seems to be a suitable intermediate host for *Dirofilaria immitis*; indeed the infective L3 stage was observed in all body districts including the proboscis showing it may be involved in the natural cycle of *D. immitis*. This work, once again, stresses the importance to know the biology and vector competence of invasive mosquitoes for an early detection in order to control their further spread and minimize the risk of pathogen transmission.

KEY WORDS: *Aedes koreicus*, invasive species, entomological surveillance, exotic mosquito, north-eastern Italy.

INTRODUCTION

Over the last decades the container-breeding mosquito species belonging to the genus *Aedes* (Meigen) were frequently detected out of their place of origin (REITER, 1998). Invasive *Aedes* species may be of public health relevance when they are able to establish in a new area and their competence to transmit disease agents is proven (LUNDSTROM, 1999; MEDLOCK *et al.*, 2007).

Italy is characterized by temperature and environments that offer many suitable habitats to different species of mosquitoes; therefore invasive *Aedes* mosquitoes may have the opportunity to establish after their introduction (ROMI *et al.*, 2009). Since the discovery of the most invasive mosquito species *Aedes albopictus* (Skuse) or tiger

mosquito, many local surveillance and control programs were started. In 2011, during a surveillance activity in a tiger mosquito-free area of the Veneto Region, an unexpected mosquito was noticed which clearly did not belong to the recorded Italian fauna. Larvae and adults were then morphologically and molecularly identified as *Aedes (Finlaya) koreicus* (Edwards) (CAPELLI *et al.*, 2011).

The biology and ecology of *Ae. koreicus* are poorly known. This species is native to the south-east of Asia, is reported to feed on humans and domestic animals and seems to be well adapted to urban environment (MYIAGI, 1971). Larvae develop in all types of artificial containers close to houses and in natural receptacles such as rock pools or tree holes. Adults seem to bite humans

mainly during the daytime. Like other species of the genus *Aedes*, *Ae. koreicus* overwinters at the egg stage, hatching in the spring when the snow melts (LACASSE and YAMAGUTI, 1950; MYIAGI, 1971). In the past, *Ae. koreicus* was considered being a variety of *Ae. (Finlaya) japonicus* (Theobald) and was often confused with other similar species (MYIAGI, 1971); for this reason, information on its biology and behaviour is needed, in particular out of its place of origin.

The finding of *Ae. koreicus* in Italy represents the second incursion in Europe (CAPELLI *et al.*, 2011), after a previous report in Belgium in 2008 (VERSTEIRT *et al.*, 2012). After the first Italian finding, a more intensive surveillance was carried out until now to follow the distribution of *Ae. koreicus* and to collect biological data on its life cycle.

In this work we report the results of four years of surveillance on the presence and spreading of *Ae. koreicus* in Italy. Preliminary results on the biology, behaviour and vector competence for human and animals diseases are also described. Different studies were carried out to monitor the distribution of *Ae. koreicus* and to better understand its behaviour and vector competence: breeding sites and larval monitoring, ovitrap collection, adult mosquitoes collection, laboratory and field tests.

MATERIALS AND METHODS

Breeding sites and larval monitoring

The monitoring started in 2011 from Valbelluna, Province of Belluno, northern Italy, where the first *Ae. koreicus* mosquitoes were found. Then, it was extended in the whole Province of Belluno and in the neighbouring Provinces of Vicenza, Treviso

and Trento from 2012 until now. All possible breeding sites, such as catch basins, man-made containers, fountain basins, tires, vases and natural mosquito larval habitats (tree holes, water in plants, puddles) were checked. The places visited included private and public places, i.e. private gardens, garden centres and florists, tire markets, cemeteries, farms and houses. Larvae were collected using a standard dipper. The specimens were morphologically identified (MYIAGI, 1971; ROMI *et al.*, 1997) in case of doubtful morphological identification or findings in new areas, a molecular confirmation was carried out using a PCR (CAMERON *et al.*, 2010).

Ovitrap collection

Aedes eggs were collected with standard ovitraps: black vases of 8 cm upper diameter filled with 300 ml of water, with strips of masonite™ as support for oviposition. Surveillance was provided by Local Health Units of Belluno Province in 2011-2012 using 34 ovitraps, then a new investigation started as part of the Lexem project (www.lexem.eu) setting 332 ovitraps in three provinces (Trento, Belluno and Vicenza).

Adult mosquitoes collection

Adults were collected using BG-Sentinel™ traps (Fig. 1, a) baited with CO₂ and BG-lure™ testing the ability of these two different traps to catch this species. Adults were also collected by manual aspiration (Fig. 1, b) and using sticky traps (Fig. 1, c). During larval collection, adults trying to land on the personnel were also hand-picked up. Adults and larvae obtained from the hatching of eggs were examined. The end of *Ae. koreicus* activity was defined when there were no more adults, larvae or positive ovitraps.

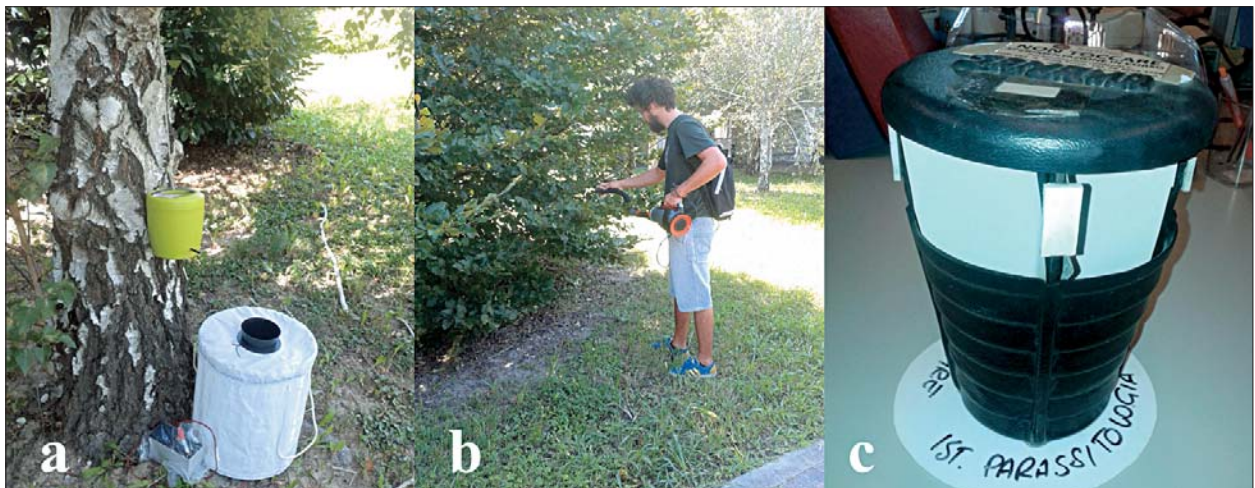


Fig. 1 – Traps used to collect adult mosquitoes. a) BG-Sentinel, b) manual aspiration, c) sticky traps.

Laboratory and field tests

Blood-fed females were isolated from mosquitoes collected by aspiration, BG-Sentinel traps and sticky traps. DNA was extracted from the blood meal of the engorged female to assess the feeding preference. All samples were analysed with a specific set of primers described by ALCAIDE *et al.* (2009). *A. koreicus* were also fed in the laboratory using an artificial feeding system (Hemotek™) providing blood from different hosts (dogs, cattle, sheep, chickens and humans). Human landing captures (HLC) were performed to assess the human attractiveness and the biting activity of *Ae. koreicus*. The tests were set in three sites in Belluno province running before the dusk, approx. from 17:00 to 20:30 hours; each collections lasted 30 min.

A. koreicus specimens were experimentally infected with *D. immitis* to evaluate the development of filarial larval stages in different body parts. They were fed by the artificial feeding system using naturally infected dog blood (3000 microfilariae/ml). Mosquitoes naturally dead and specimens killed at fixed days post infection were dissected; head, thorax and abdomen were examined separately by microscopic observation, and in case of filariae larvae observation a molecular confirmation by PCR was performed (LATROFA *et al.*, 2012).

RESULTS

Distribution, habitat and period of activity

Aedes koreicus was discovered on May 24, 2011 in the Sospirolo village (BL). The monitoring run from the beginning of June to the beginning of November in 2011, from the end of March to the end of September in 2012 and in 2013, and from mid-March to mid-November in 2014. In 2011, the beginning of the *Ae. koreicus* activity remained unknown as the survey started after the first identification at the end of May; the last adults were collected on September 13, but ovitraps remained positive until October. In 2012 the first larvae were caught on March 29, adults were active until the end of September, and larvae were observed until the end of October. In 2013 the first larvae were observed on April 04, and adults were active until the end of September. In 2014 the first larvae were collected on March 13, and adults and larvae were observed on November 17.

A total of 105 municipalities were monitored between 14-1645 m a.s.l., and 46 (43.8%) were positive for the presence of *Ae. koreicus* (Tab. 1) in a range of altitude between 173 and 1250 m a.s.l.

Overall, 259 different types of potential larval habitats were monitored (Tab. 2), and the most positive breeding sites were artificial water containers (41.0%) (Tab. 3).

Table 1 – Prevalence values of positive municipalities for *Aedes koreicus* recorded during a four years period (2011-2014) in north-eastern Italy.

Province	Municipalities monitored/present (%)	Municipalities positive/monitored (%)
2011		
Belluno	23/69 (33.3)	17/23 (73.9)
Treviso	2/95 (2.1)	0/2 (0.0)
2012		
Belluno	45/69 (65.2)	23/45 (51.1)
Treviso	18/95 (18.9)	4/18 (28.6)
Vicenza	13/121 (10.7)	3/13 (25.0)
Trento	8/217 (3.7)	0/8 (0.0)
2013		
Belluno	52/69 (75.3)	34/52 (65.4)
Treviso	21/95 (22.1)	6/21 (28.6)
Trento	9/217 (4.1)	2/9 (22.2)
2014		
Belluno	17/67 (24.6)	11/17 (64.7)
Vicenza	5/121 (4.1)	3/5 (60.0)
Trento	15/217 (6.9)	3/15 (20.0)
2011-2014		
Total monitored	105	46/105 (43.8)

Table 2 – Results of positive and surveyed habitat for the presence of larval breeding sites for *Aedes koreicus* in 2011-2014 in Veneto region.

Habitat	Positive/monitored (%)
Cemeteries	20/101 (19.8)
Garden centers	13/19 (68.4)
Private gardens	32/49 (65.3)
Public parks	2/9 (22.2)
Tiremarkets	4/8 (50.0)
Streets/squares	28/48 (58.3)
Depots	4/5 (80.0)
Buildings	6/11 (54.5)
Farms	2/6 (33.3)
Forests	2/3 (66.7)
Total	113/259 (43.6)

Table 3 – Results of positive and surveyed larval breeding sites for *Aedes koreicus* in 2011-2014 in Veneto region.

Breeding sites	Positive/monitored for <i>Ae. koreicus</i> (%)
Vases	16/93 (17.2)
Water container	57/139 (41.0)
Catch basins	18/47 (38.3)
Puddles	3/6 (50.0)
Tires	4/9 (44.4)
Basin of fountains	6/9 (66.6)
Dunghill	0/1 (0.0)
Treeholes	0/1 (0.0)
Total	104/305 (34.1)

Mosquito collections by traps

As for *Ae. albopictus*, ovitraps were attractive for adult females resulting in the high rate of positivity 15/21 (71.4%) from 2011 to 2013, and 18/52 (34.6%) in 2014 (part of the Lexem project). *Ae. koreicus* was prevalent in sites between 400-600 m a.s.l. (71.4%) whereas *Ae. albopictus* was prevalent in locations under 200 m a.s.l. (Fig. 2). *Ae. koreicus* was also well represented at an altitude between 800-1000 m a.s.l. (28.1%) and was found in two sites above 1000 m a.s.l., where *Ae. albopictus* was absent. In total 32 CO₂ baited BG-Sentinel traps run in Veneto region in 2014 but only few specimens (15.9%) were caught. Adults were also capture inside a house and while they were trying to bite the collectors. Overall, 239 mosquitoes were collected by aspiration from 13 sites. Twenty-five samples (10.4%) were found positive to blood meal analysis. Sequencing of the PCR products identified human (*Homo sapiens*) blood in 23 samples, and cattle (*Bos taurus*) and dog (*Canis lupus familiaris*) blood in one sample each. In the laboratory, engorgement and completion of the life cycle was successfully achieved with dog (85%), human (76.5%) and chicken (65.4%) blood. During HLC *Ae. koreicus* were captured 12 times out of 18 collections (mean 0.6) mainly around 18:00 h.

Vector competence test for *Dirofilaria immitis*

A total of 46 mosquitoes were fed with dog blood infected with microfilariae (85%) and 31 mosquitoes (67%) were infected. The mosquito mortality rate was 52% during the first nine days. The average of microfilariae, L1 (sausage stage) and L3 larval stage observed into the mosquitoes was 14.67, 8.56 and 3.15, respectively. Second stage larvae were observed only once. First stage larvae were first observed at 3 days post infection (dpi) whereas L3 were observed at 8 dpi. The

latter were found in salivary glands and proboscis starting on 16 till 28 dpi.

DISCUSSION AND CONCLUSIONS

The results of our survey show that *Ae. koreicus* was well established in an area of about 3000 km² of north-eastern Italy till 2013, but recent findings point out that its spreading is still ongoing reaching other areas of North Italy (Verona province and Lombardia region) (Fig. 3). It was not possible to clearly demonstrate the time of arrival and the route of entry of this mosquito in this part of Italy, but this species was likely introduced at least 3-4 years ago. The way of introduction was likely through eggs within small containers, tires or plants, as happened in the past for *Ae. albopictus* (REITER, 1998; ROMI *et al.*, 2009; MEDLOCK *et al.*, 2012). *Ae. koreicus* larvae were present in the spring, much earlier than the similar species *Ae. albopictus*. Unlike *Ae. albopictus*, the cold season is not a limiting factor to the establishment and spread of *Ae. koreicus* all over the central Europe.

Our observations confirmed that *Ae. koreicus* was well adapted to urban settlements. The main sites colonized were urban and private areas (gardens, streets, squares, etc.) where it bred in a variety of artificial man-made containers. Larval coexistence of *Ae. koreicus* and *Ae. Albopictus* or other species were observed but not common. The standard ovitraps used for tiger mosquito monitoring and the CO₂ baited BG-sentinel traps showed to be suitable for *Ae. koreicus* collection. Accordingly, the surveillance by ovitraps is now complicated by the presence of two similar species in the same environment involving time-consuming in the laboratory and requiring well trained personnel for identification.

In the laboratory studies *Ae. koreicus* demonstrated its ability to complete the life cycle feeding in a wide range of animal blood. However, in field conditions it clearly showed a preference for humans. The anthropophilic behaviour of this species is confirmed by HLC and by the nuisance reported by the residents in areas where only *Ae. koreicus* occurs (MONTARSI *et al.*, 2013). Further studies are needed to assess if humans are preferential hosts or if the anthropophily is opportunistic.

Aedes koreicus seems to be a suitable intermediate host for *D. immitis*. Despite the low initial number of microfilariae ingested, the infective L3 stage was observed in all body parts including the proboscis. This results show that *Ae. koreicus* may be involved in the natural cycle of *D. immitis*, increasing the risk of exposure for dogs and humans.

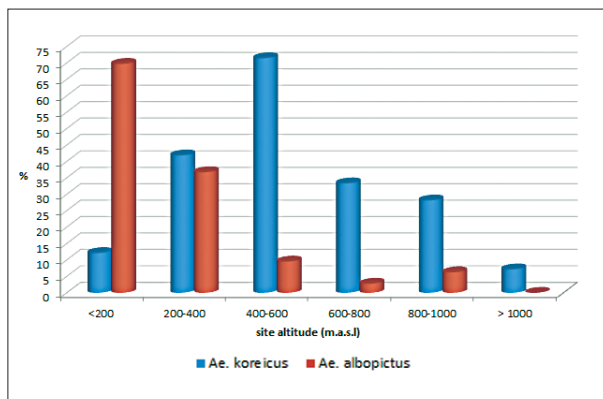


Fig. 2 – Distribution of *Aedes koreicus* and *Aedes albopictus* according to altitude in north-eastern Italy, 2011-2012.

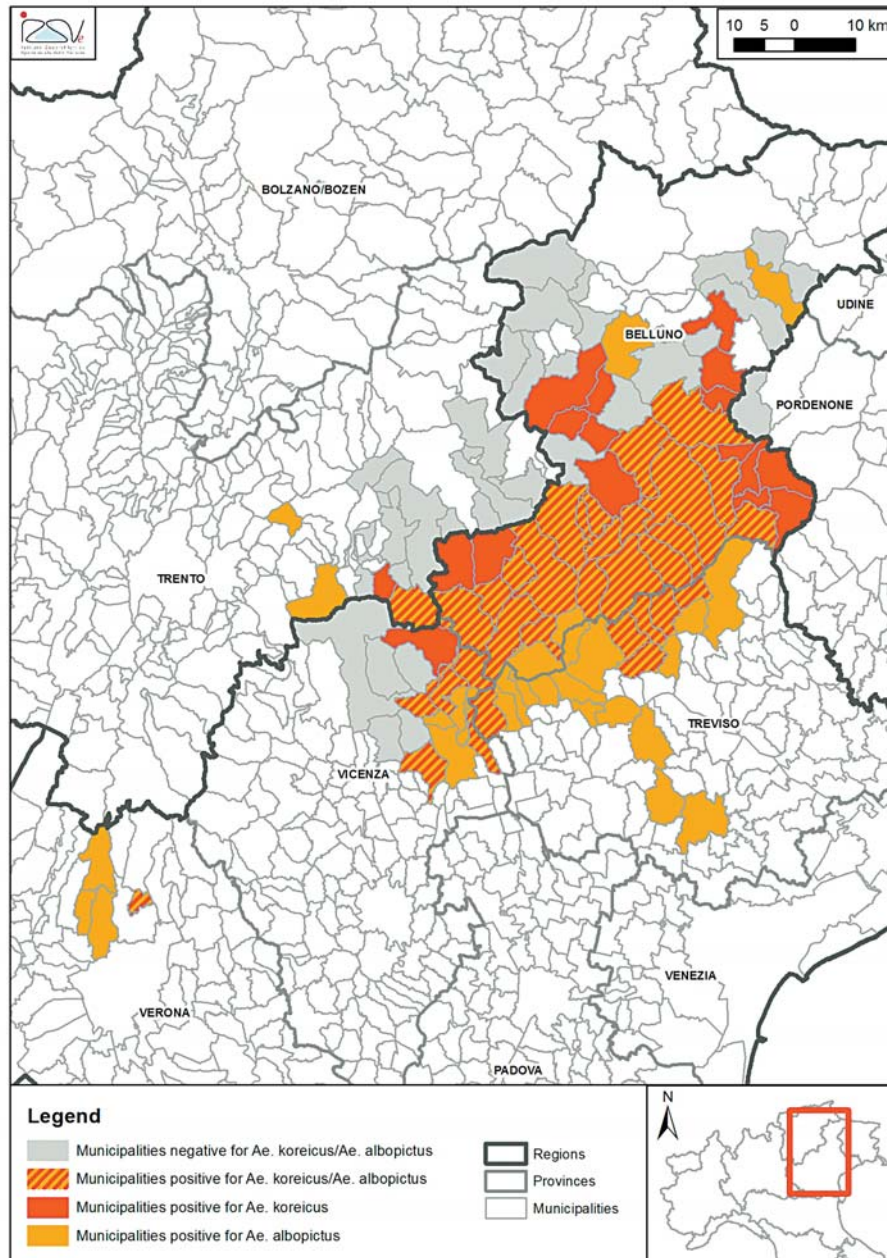


Fig. 3 – Map of monitored municipalities in north-eastern Italy, 2011-2014. Legend: municipalities positive for the presence of *Aedes koreicus*, *Aedes albopictus* and their overlapping areas.

Other aspects of the biology of *Ae. koreicus* need urgently to be clarified, such as the life cycle, the coexistence with other mosquito larvae and the vector competence for viruses. Little and old information on *Ae. koreicus* vector competence are available; experimental transmission of Japanese encephalitis virus (JEV) has been proven, but the virus has not been isolated from wild-caught mosquitoes (SHESTAKOV and MIKEEVA, 1966; GUTSEVICH *et al.*, 1971). Other arboviruses, such West Nile and Usutu viruses, are endemic in Veneto region (BUSANI *et al.*, 2011; CAPELLI *et al.*, 2013) and others, such as Chikungunya and

Dengue viruses, are regularly introduced by infected humans every year (GOBBI *et al.*, 2012). If *Ae. koreicus* will be demonstrated to be competent for some of these viruses, the risk of transmission will be extended in this new colonized area, especially at high altitudes, i.e. in places previously regarded as a negligible risk of animal and human outbreaks.

This work, once again, stresses the importance to know the biology and vector competence of invasive mosquitoes for an early detection in order to control their further spread and to minimize the risk of pathogen transmission.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors thank Simone Martini (Entostudio), Gianluca Soncin and Luca Tripepi for the samples collection; Silvia Ravagnan (IZSVE) for the contribution to the molecular identification; Matteo Mazzucato for drawing the maps (IZSVE). We thank all the colleagues and friends that helped in some way our effort. This work was carried out with the financial support of Veneto Region, and some studies are part of the LExEM project funded by the Autonomous Province of Trento (Research funds for Grandi Progetti).

RIASSUNTO

Aedes koreicus, una specie di zanzara esotica, è stata reperita per la prima volta nel nord-est d'Italia nel 2011. Dalla prima segnalazione sono stati condotti diversi studi sia di laboratorio che di campo con lo scopo di monitorare la sua diffusione e la sue competenze vettoriali. Dagli studi di sorveglianza risulta che attualmente *Ae. koreicus* è presente in ben 46/105 comuni monitorati (43,8%) localizzati ad una altitudine compresa fra i 173-1250 m s.l.m. I siti di riproduzione più idonei alla sua riproduzione sono i contenitori di acqua artificiali (41,0%). Il periodo di attività degli adulti è compreso tra marzo e ottobre. In laboratorio, le femmine possono essere nutrite di sangue raccolti da cani, bovini, pecore, galline e uomo, mentre in condizioni di campo hanno chiaramente mostrato una preferenza per gli esseri umani. *Ae. koreicus* sembra essere un idoneo ospite intermedio per *Dirofilaria immitis*; in infezioni sperimentali di laboratorio, la fase infettiva L3 della filaria è stata osservata in tutti i distretti del corpo della zanzara, tra cui la proboscide.

REFERENCES

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 blood meals*. - PLoS One., Sep. 21; 4(9):e7092.

BUSANI L., CAPELLI G., CECCHINATO M., LORENZETTO M., SAVINI G., TERREGINO C., VIO P., BONFANTI L., DALLA POZZA M., MARANGON S., 2011 - *West Nile virus circulation in Veneto region in 2008-2009*. - Epidemiol. Infect., 139(6): 818-25.

CAMERON E.C., WILKERSON R.C., MOGI M., MIYAGI I., TOMA T., KIM H.C., FONSECA D.M., 2010 - *Molecular phylogenetics of Aedes japonicus, a disease vector that recently invaded Western Europe, North America, and the Hawaiian islands*. - J. Med. Entomol., 47(4):527-35.

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.

CAPELLI G., RAVAGNAN S., MONTARSI F., CAZZIN S., BONFANTI L., DI GENNARO A., PORTANTI O., MULATTI P., MONNE I.,

CATTOLI G., CESTER G., RUSSO F., SAVINI G., MARANGON S., 2013 - *Further evidence of lineage 2 West Nile Virus in Culex pipiens of North-Eastern Italy*. - Vet. Ital., Jul-Sep; 49(3):263-8.

GOBBI F., BARZON L., CAPELLI G., ANGHEBEN A., PACENTI M., NAPOLETANO G., PIOVESAN C., MONTARSI F., MARTINI S., RIGOLI R., CATTELAN A.M., RINALDI R., CONFORTO M., RUSSO F., PALÙ G., BISOFFI Z. VENETO SUMMER FEVER STUDY GROUP, 2012 - *Surveillance for West Nile, dengue, and chikungunya virus infections, Veneto Region, Italy, 2010*. - Emerg. Infect. Dis., Apr;18(4):671-3.

GUTSEVICH A.V., MONCHADSKII STACKEL'BERG A.A., 1971 - *Mosquitoes, Family Culicidae*. In: Fauna of the U.S.S.R.-Diptera. Vol. III, No. 4. Edited by Bykhovskii BE: Acad. Sci. SSSR, Zool. Inst., Leningrad, pp.73-405.

LACASSE W.J., YAMAGUTI S., 1950 - *The mosquito fauna of Japan and Korea*. - Off. Surg. Hg. 8th U.S. Army, Japan, pp. 496.

LATROFA M.S., MONTARSI F., CIOCCHETTA S., ANNOSCIA G., DANTAS-TORRES F., RAVAGNAN S., CAPELLI G., OTRANTO D., 2012 - *Molecular xenomonitoring of Dirofilaria immitis and Dirofilaria repens in mosquitoes from north-eastern Italy by real-time PCR coupled with melting curve analysis*. - Parasit. Vectors, 5: 76.

LUNDSTROM J.O., 1999 - *Mosquito-borne viruses in Western Europe: a review*. - J.Vect.Ecol., 24: 1-39.

MEDLOCK J.M., SNOW K.R., LEACH S., 2007 - *Possible ecology and epidemiology of medically important mosquito-borne arboviruses in Great Britain*. - Epidemiol. Infect., 135(3): 466-482.

MEDLOCK J.M., HANSFORD K.M., SCHAFFNER F., VERSTEIRT V., HENDRICKX G., ZELLER H., VAN BORTEL W., 2012 - *A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options*. - Vector Borne Zoonotic Dis., Jun;12(6): 435-47.

MIYAGI I., 1971 - *Notes on the Aedes (Finlaya) chrysolineatus Subgroup in Japan and Korea (Diptera: Culicidae)*. - Trop. Med., 13(3):141-151.

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., Oct 10;6:292.

REITER P., 1998 - *Aedes albopictus and the world trade in used tires, 1988-1995: The shape of things to come*. - J. Am. Mosq. Contr. Assoc., 14: 83-94.

ROMI R., SABATINELLI G., PONTUALE G., 1997- *Le zanzare italiane: generalità e identificazione degli stadi preimmaginali (Diptera, Culicidae)*. - Fragm. Entomol., 29(Suppl): 1-141. (in italian).

ROMI R., TOMA L., SEVERINI F., DI LUCA M., 2009 - *Twenty years of presence of Aedes albopictus in Italy: from the annoying pest mosquito to real diseases vector*. - Eur. Infect. Dis., 2(2): 98-101.

SHESTAKOV V.I., MIKHEEVA A.L., 1966 - *Contribution to study of Japanese encephalitis vectors in Primorye region*. - Med. Parazit., 35: 545-550.

VERSTEIRT V., PECOR J.E., FONSECA D.M., COOSEMANS M., VAN BORTEL W., 2012 - *Confirmation of Aedes koreicus (Diptera: Culicidae) in Belgium and description of morphological differences between Korean and Belgian specimens validated by molecular identification*. - Zootaxa, 3191:21-32.

SEDUTA PUBBLICA, FIRENZE 14 NOVEMBRE 2014

Tavola Rotonda su:

INSETTI VETTORI DI AGENTI FITOPATOGENI

Coordinatore:

ALBERTO ALMA, Accademico

STATO DELLE CONOSCENZE SULLE MALATTIE DOVUTE A PROCARIOTI FITOPATOGENI

ASSUNTA BERTACCINI (*)

(*) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alma Mater Studiorum - Università di Bologna, viale G. Fanin 42, 40127 Bologna; e-mail: assunta.bertaccini@unibo.it*
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Insetti vettori di agenti fitopatogeni". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 14 novembre 2014.

Knowledge update about phytopathogenic prokaryote diseases

A review of the most dangerous plant diseases due to phytopathogenic prokaryotes was carried out. Main phytoplasma associated diseases and their epidemiologic features are summarized together with their synoptic classification. Main diseases due to the presence of '*Candidatus Liberibacter*' spp. are also described in connection to their geographic distribution and insect vectors worldwide and finally outline of diseases due to *Xylella fastidiosa* subspecies are reported with special emphasis on the recent outbreaks in olive trees.

KEY WORDS: '*Candidatus Phytoplasma* spp.', '*Candidatus Liberibacter* spp.', *Xylella fastidiosa*, insect vectors, plant diseases.

INTRODUZIONE

I procarioti fitopatogeni sono storicamente un gruppo molto numeroso di agenti di malattie diverse delle piante che comprende i batteri propriamente detti, noti e studiati da decine di anni, e batteri denominati in un primo tempo "fastidiosi" per la difficoltà di coltivazione in substrato artificiale. A queste classiche categorie occorre però aggiungere due gruppi di procarioti dalle caratteristiche abbastanza speciali dovute principalmente alle modalità della loro scoperta. Si tratta dei '*Candidatus Phytoplasma* (fitoplasmi) e dei '*Candidatus liberibacter*', individuati nel corso degli ultimi cinquanta anni mediante tecniche di microscopia elettronica e di diagnostica molecolare rispettivamente. Sia i batteri "fastidiosi" che questi ultimi due gruppi di microorganismi sono caratterizzati dalla possibilità di essere trasmessi anche mediante insetti vettori che a seconda dell'habitat dei microorganismi sono xilemomizi o floemomizi. Gli studi sui rapporti insetto-procariote sono abbastanza sviluppati solo per alcune combinazioni di organismi in particolare per quelle cui sono associate malattie risultate devastanti in alcune aree geografiche nel mondo (Tab. 1).

'*CANDIDATUS PHYTOPLASMA*'

I fitoplasmi sono batteri privi di parete localizzati nel floema delle piante, trasmessi mediante

insetti floemomizi principalmente in maniera persistente propagativa; essi sono trasmessi anche mediante innesto, propagazione vegetativa e micropropagazione. Per alcuni dei fitoplasmi è stato possibile verificare che, oltre alle suddette modalità di trasmissione, sono presenti anche una trasmissione transovarica ed una via seme (ALMA *et al.*, 1997; CALARI *et al.*, 2011; BERTACCINI *et al.*, 2014) di cui peraltro non sono ancora state verificate a fondo le implicazioni epidemiologiche.

I fitoplasmi, studiati inizialmente solo mediante osservazioni al microscopio elettronico, hanno trovato una identità grazie agli studi tassonomici effettuati sul gene ribosomico 16S il cui utilizzo ha permesso di chiarire anche la tassonomia di molti gruppi batterici propriamente detti, integrando le conoscenze fenotipiche tradizionalmente impiegate a scopo tassonomico. I fitoplasmi sono oggi classificati secondo due modalità entrambe basate su questo gene. L'analisi del polimorfismo delle lunghezze dei frammenti di restrizione (RFLP) li suddivide in gruppi e sottogruppi (LEE *et al.*, 1998a) mentre il sequenziamento di questo gene permette di separarli in categorie pre-tassonomiche mediante la differenziazione in '*Candidatus Phytoplasma*' specie diverse (Tabella 2) (IRPCM, 2004). Non essendo possibile in base ai suddetti criteri classificare tutti i fitoplasmi associati a malattie agronomicamente rilevanti in '*Candidatus*' diversi, si preferisce al momento

Tabella 1 – Procarioti fitopatogeni trasmessi da insetti.

	Procarioti	Habitat	Insetti vettori	Principali malattie
Gram positivi e Mollicutes	' <i>Candidatus Phytoplasma</i> ' spp.	Floema delle piante ed emolinfa degli insetti	Floemomizi	Fitoplasmosi di centinaia di specie di piante
	<i>Spiroplasma</i> spp.	Floema delle piante ed emolinfa degli insetti	Floemomizi	"Corn stunt" "Citrus stubborn"
Gram negativi	<i>Xylella</i> spp.	Xilema delle piante ed emocele degli insetti???	Xilemomizi e floemomizi ??	
	' <i>Candidatus liberibacter</i> ' spp.	Floema delle piante ed emolinfa degli insetti	Floemomizi	"Huanglongbing" "Zebra chips" giallumi, arrossamenti in solanacee ed ombrellifere

Tabella 2 - Classificazione dei fitoplasmi basata su analisi RFLP e/o sequenziamento del DNA ribosomico 16S (modificata da BERTACCINI *et al.*, 2014).

SOTTOGRUPPO 16SR	CEPPO (ACRONIMO) 'CANDIDATUS SP.'	N° GENBANK
16SrI: Aster yellows (America, Europa, Asia, Africa)		
I-B	Aster yellows (MAY) ' <i>Ca. P. asteris</i> '	M30790
I-Y	"Brote grande" del pomodoro ' <i>Ca. P. lycopersici</i> '	EF199549
16SrII: Peanut witches' broom (America, Africa, Europa, Asia, Australia)		
II-B	Lime witches' broom (WBDL) ' <i>Ca. P. aurantifolia</i> '	U15442
II-D	Papaya mosaic (PpM) ' <i>Ca. P. australasia</i> '	Y10096
16SrIII: X-disease (America, Europa, Asia)		
III-A	Peach X-disease (PX11CT1) ' <i>Ca. P. pruni</i> '	JQ044392/JQ044393
16SrIV: Coconut lethal yellows (America, Africa)		
16SrV: Elm yellows (Europa, America, Asia, Africa)		
V-A	Elm yellows (EY) ' <i>Ca. P. ulmi</i> '	AY197655
V-B	Jujube witches' broom (JWB-G1) ' <i>Ca. P. ziziphi</i> '	AB052876
V-E	Rubus stunt (RuS) ' <i>Ca. P. rubi</i> '	AY197648
V-F	Balanite witches' broom (BltWB) ' <i>Ca. P. balanitae</i> '	AB689678
16SrVI: Clover proliferation (Europa, America, Asia)		
VI-A	Clover proliferation (CP) ' <i>Ca. P. trifolii</i> '	AY390261
VI-I	Passionfruit (WB-Br4) ' <i>Ca. P. sudamericanum</i> '	GU292081
16SrVII: Ash yellows (America, Europa)		
VII-A	Ash yellows (AshY) ' <i>Ca. P. fraxini</i> '	AF092209
16SrVIII: Loofah witches' broom (Asia)		
16SrIX: Pigeon pea witches' broom (Europa, Asia, America)		
IX-B	Almond witches' broom (AlWB) ' <i>Ca. P. phoenicium</i> '	AF515636
16SrX: Apple proliferation (Europa, America)		
X-A	Apple proliferation (AP) ' <i>Ca. P. mali</i> '	AJ542541
X-B	European stone fruit yellows (ESFY) ' <i>Ca. P. prunorum</i> '	AJ542544
X-C	Pear decline (PD) ' <i>Ca. P. pyri</i> '	AJ54254
X-D	Spartium witches' broom (SpaWB) ' <i>Ca. P. spartii</i> '	X92869
16SrXI: Rice yellow dwarf (Europa, Asia, Africa)		
XI-A	Rice yellow dwarf (RYD) ' <i>Ca. P. oryzae</i> '	AB052873

(segue)

Segue Tabella 2.

SOTTOGRUPPO 16SR	CEPPO (ACRONIMO) 'CANDIDATUS SP.'	N° GENBANK
16SrXII: Stolbur (Europa, Asia, America, Africa, Australia)		
XII-A	Stolbur (STOL11) 'Ca. P. solani'	AF248959
XII-B	Australian grapevine yellows (AUSGY) 'Ca. P. australiense'	L76865
XII-D	Japanese hydrangea phyllody 'Ca. P. japonicum'	AB010425
XII-H	Bindweed yellows (BY-S57/11) 'Ca. P. convolvuli'	JN833705
16SrXIII: Mexican periwinkle virescence (America)		
16SrXIV: Bermudagrass white leaf (Europe)		
XIV-A	Bermudagrass white leaf (BGWL) 'Ca. P. cynodontis'	AJ550984
16SrXV: Hibiscus witches' broom (America)		
XV-A	Hibiscus witches' broom (HibWB) 'Ca. P. brasiliense'	AF147708
16SrXVI: Sugarcane yellow leaf syndrome (America)		
XVI-A	Sugarcane yellow leaf syndrome 'Ca. P. graminis'	AY725228
16SrXVII: Papaya bunchy top (America)		
XVII-A	Papaya bunchy top 'Ca. P. caricae'	AY725234
16SrXVIII: American potato purple top wilt (America)		
XVIII-A	American potato purple top wilt 'Ca. P. americanum'	DQ174122
16SrXIX: Chestnut witches' broom (Asia)		
XIX-A	Chestnut witches' broom 'Ca. P. castaneae'	B054986
16SrXX: Rhamnus witches' broom (Europe)		
XX-A	Rhamnus witches' broom 'Ca. P. rhamni'	AJ583009
16SrXXI: Pinus phytoplasmas (Europe)		
XXI-A	Pinus phytoplasma (PinP) 'Ca. P. pini'	AJ310849
16SrXXII: Lethal yellow disease (Africa)		
XXII-A	Lethal yellow disease Mozambique (LYDM) 'Ca. P. palmicola'	KF751387
16SrXXIII:	Buckland Valley grapevine yellows	AY083605
16SrXXIV:	Sorghum bunchy shoot	AF509322
16SrXXV:	Weeping tea witches broom	AF521672
16SrXXVI:	Sugarcane phytoplasma D3T1	AJ539179
16SrXXVII:	Sugarcane phytoplasma D3T2	AY539180
16SrXXVIII:	Derbid phytoplasma	AY744945
16SXXIX: Cassia witches' broom (Asia)		
XXIX-A	Cassia witches' broom (CaWB) 'Ca. P. omanense'	EF666051
16SXXX: Salt cedar witches' broom (Asia)		
XXX-A	Salt cedar witches' broom 'Ca. P. tamaricis'	FJ432664
XXXI: Soybean stunt (America)		
XXXI-A	Soybean stunt (SoyST1c1) 'Ca. P. costaricanum'	HQ225630
16SXXXII: Malaysian periwinkle virescence and phyllody (Asia)		
XXXII-A	Malaysian p. virescence (MaPV) 'Ca. P. malaysianum'	EU371934
16SXXXIII: <i>Allocauarina muelleriana</i> phytoplasma (Australia)		
XXXIII-A	<i>Allocauarina</i> phytoplasma 'Ca. P. allocauarinae'	AY135523

mantenere entrambi i tipi di classificazione per permettere lo studio di tutte le malattie rilevanti associate a questi procarioti.

In aggiunta alla classificazione basata sul gene 16Sr, vengono utilizzati anche altri geni meno conservati per incrementare la possibilità di differenziazione molecolare dei diversi ceppi di fitoplasmi. Si tratta dei geni che codificano la regione spaziatrice compresa tra 16S e 23S rDNA, il fattore di allungamento tuf, le proteine di membrana secA e secY (subunità del sistema di traslocazione Sec), le proteine ribosomiche rp, la proteina immunodominante di membrana Amp e quella GroEL (SMART *et al.*, 1996; SCHNEIDER *et al.*, 1997; MARTINI *et al.*, 2002, 2007; LEE *et al.*, 2006; 2010; HODGETTS *et al.*, 2008; MITROVIC *et al.*, 2011).

Le malattie associate alla presenza di fitoplasmi presentano sintomi che sono indicativi di disturbi nel normale equilibrio degli ormoni delle piante e tipicamente consistono in virescenza/fillodia (sviluppo di foglie al posto delle strutture fiorali), sterilità dei fiori, proliferazione di gemme ascellari che danno luogo alla formazione di scopazzi, anormale allungamento degli internodi e generale arresto di crescita (BERTACCINI *et al.*, 2014). Sintomi meno specifici sono spesso più comuni nelle piante legnose ed includono ingiallimento, arrossamento ed arrotolamento fogliare, defogliazione precoce, foglie piccole e frutti sottodimensionati; in casi rari, possono anche essere presenti piante infette che nel corso della loro vita appaiono completamente asintomatiche, si possono inoltre avere fenomeni di remissione permanente o temporanea dei sintomi.

I fitoplasmi sono trasmessi da insetti appartenenti alle famiglie Cicadellidae, Cixidae, Psyllidae, Delphacidae e Derbidae (WEINTRAUB & BEANLAND, 2006). Questi vettori dotati di apparato boccale pungente-succhiatore, infiggendo lo stiletto boccale nel tessuto floematico delle piante infette, assumono la linfa nella quale sono presenti anche le cellule dei fitoplasmi e trascorso un determinato periodo di incubazione, li trasmettono da una pianta ospite all'altra attraverso punture trofiche. Gli insetti vettori possono essere generalisti o specialisti, a seconda delle abitudini alimentari, e questo ha un'enorme influenza sulla loro capacità di trasmettere una o più specie di fitoplasmi o ceppi degli stessi, ad esempio 'Candidatus Phytoplasma asteris', possono essere trasmessi a diversi generi di piante, da più di una specie di insetti (LEE *et al.*, 1998b). Recentemente è stato possibile coltivare i fitoplasmi di diversi gruppi ribosomici su substrati artificiali di crescita (CONTALDO *et al.*, 2012), ma le ricerche

su questo argomento sono in una fase ancora iniziale.

SPIROPLASMI

Gli spiroplasmi come i fitoplasmi sono Mollicutes associati principalmente ad artropodi in simbiosi che possono sfociare in manipolazioni dell'abilità riproduttiva o patogenicità. Possono colonizzare il floema delle piante e causare malattie di rilevanza economica, in questi casi vengono trasmessi da insetti floemomizi. I principali spiroplasmi fitopatogeni conosciuti sono *Spiroplasma citri*, *S. kunkelii*, e *S. phoenicium* e per essi si è ottenuta non solo la coltura in substrato axenico ma anche la prova di patogenicità mediante la soddisfazione dei postulati di Kock (MARKHAM *et al.*, 1974; WILLIAMSON & WHITCOMB, 1975; SAILLARD *et al.*, 1987). Pur essendo patogeni per diverse specie vegetali i danni economici maggiori sono causati in agrumi da *S. citri* i cui insetti vettori appartengono ai generi *Circulifer* e *Neoliturus*, fra cui i più comuni sono *C. haematiceps*, *C. tenellus*, and *N. haematiceps* (AMMAR & HOGENHOUT, 2006). Importanti malattie sono dovute anche alla presenza di *S. kunkelii* e si sono registrate in America centro meridionale in mais. Il più efficiente vettore di quest'ultimo procariote risulta essere il cicadellide *Dalbulus maidis* (AMMAR & HOGENHOUT, 2006).

'CANDIDATUS LIBERIBACTER' spp.

Questi batteri sono Gram-negativi ed appartengono alla famiglia delle Rhizobiaceae. Non risultano coltivabili in substrati axenici tranne *Liberibacter crescens* (LEONARD *et al.*, 2012) e sono stati individuati ed identificati mediante lo studio del DNA ribosomico 16S. Alcuni dei membri di questo genere 'Candidatus' sono fitopatogeni e vengono trasmessi da psillidi diversi (Tabella 3).

La distribuzione di questi procarioti nel mondo appare circoscritta alle aree tropicali e subtropicali e limitata ad agrumi, solanacee e poche altre specie. La malattia più rilevante dovuta a liberibacter è "huanglongbing" (HLB, dal termine cinese malattia del dragone giallo), presente nella maggior parte delle zone agrumicole di Asia, Africa ed America e dovuta alla presenza di tre specie diverse di liberibacter (Tabella 3).

Mentre 'Ca. L. africanus' è localizzato in Africa, 'Ca. L. asiaticus', descritto per la prima volta in Asia, è stato individuato anche in America dove è stato descritto anche 'Ca. L. americanus' (TEIXEIRA *et al.*,

Tabella 3 – ‘*Candidatus liberibacter*’ spp. individuati nel mondo.

‘CANDIDATUS LIBERIBACTER’	DIFFUSIONE GEOGRAFICA	MALATTIA ASSOCIATA	PSILLIDE VETTORE	BIBLIOGRAFIA
‘ <i>Ca. L. africanus</i> ’	Africa	“Huanglongbing” o “greening” degli agrumi	<i>Trioza erytrae</i>	GARNIER <i>et al.</i> , 2000
‘ <i>Ca. L. americanus</i> ’	Brasile	“Huanglongbing” o “greening” degli agrumi	<i>Diaphorina citri</i>	TEXEIRA <i>et al.</i> , 2005
‘ <i>Ca. L. asiaticus</i> ’	Asia	“Huanglongbing” o “greening” degli agrumi	<i>Diaphorina citri</i>	SECHLER <i>et al.</i> , 2009
‘ <i>Ca. L. solanacearum</i> ’ (‘ <i>Ca. L. psyllaureus</i> ’ = LsoA)	aplotipi LsoA e LsoB in solanacee in Nord America, LsoC, LsoD e LsoE in carota e sedano in Europa	“Zebra chip” in patata	<i>Bactericera cockerelli</i>	LIN <i>et al.</i> , 2011
‘ <i>Ca. L. europaeus</i> ’	Italia	Asintomatico in pero	<i>Cacopsylla pyri</i>	RADDADI <i>et al.</i> , 2011
‘ <i>Ca. L. crescens</i> ’	Porto Rico	Asintomatico in papaia		FAGEN <i>et al.</i> , 2014

2005a; 2005b; LOPES *et al.*, 2009). Questi procarioti che in Europa sono organismi da quarantena sono trasmessi da psillidi, e precisamente *Diaphorina citri* in Asia ed America e *Trioza erytrae* in Africa.

HLB ha avuto impatti devastanti recentemente in Brasile ed in Florida dove la malattia viene tenuta sotto controllo mediante continue ispezioni sul territorio accompagnate da monitoraggi ed analisi di laboratorio per individuare la presenza del patogeno in piante sia sintomatiche che asintomatiche. Questa strategia applicata continuamente ed in maniera rigorosa ha permesso di effettuare una veloce eradicazione dei principali focolai di infezione. Contemporaneamente la lotta si è anche focalizzata sull’uso di *Tetrastichus dryii* e *Tamarixia radiata* risultati validi parassitoidi per controllare il vettore dei patogeni brasiliani *D. citri*.

‘*Ca. L. solanacearum*’ è un procariote associato a sintomi di giallume e di “zebra chips” in solanacee in Nuova Zelanda ed in America, ed è risultato presente anche in carota in Europa (HANSEN *et al.*, 2008; ABAD *et al.*, 2009; LIEFTING *et al.*, 2009; MUNYANEZA *et al.*, 2012; NELSON *et al.*, 2013). Il vettore in patata è lo psillide *Bactericera cockerelli* (HANSEN *et al.*, 2008), mentre gli aplotipi identificati in carota sono veicolati da *Bactericera trigonica* e *Trioza apicalis* (MUNYANEZA *et al.*, 2010; NELSON *et al.*, 2013).

Un ulteriore liberibacter individuato in Europa in *Cacopsylla* spp. ed in rosacee è ‘*Ca. L. europaeus*’, che però non è stato correlato a sintomi di malattia e viene ritenuto un endofita (RADDADI *et al.*, 2011) anche se in Nuova Zelanda la sua presenza è stata associata a scopazzi in *Cytisus scoparius* infestato da *Arytainilla spartiophila* risultato anch’esso positivo (THOMPSON *et al.*, 2013).

XYLELLA FASTIDIOSA WELLES *et al.* (1987)

Si tratta di un batterio Gram-negativo non sporigeno ad elevata variabilità genetica e fenotipica le cui varianti patogeniche sono spesso ospite-specifiche (CHEN *et al.*, 1992; SCHAAD *et al.*, 2004). In totale le specie di piante ospiti di *Xylella fastidiosa* sono oltre 150, fra le quali molte infestanti (HOPKINS & ADLERZ, 1988). Il batterio è stato coltivato in substrato artificiale ed è quindi classificato classicamente (Wells *et al.*, 1983; 1987); gli studi effettuati sinora hanno permesso di confermarlo come agente eziologico di alcune malattie e come agente associato ad altre malattie in quanto in alcuni casi non sono stati soddisfatti i postulati di Koch.

Il genere *Xylella fastidiosa* subsp. *fastidiosa* è l’agente della malattia di Pierce della vite descritta in California (USA) sin dal 1880 che è ora segnalata anche in Messico, Costa Rica e Venezuela; sono stati descritti ceppi che sono patogeni anche in medica, mandorlo ed acero (RAJU *et al.*, 1982; HOPKINS & ADLERZ, 1988; ALMEIDA & PURCELL, 2003). Gli insetti vettori vengono classificati come Hemiptera, Cicadomorpha e sono inclusi nelle famiglie Cicadellidae e Aphrophoridae.

La malattia colpisce principalmente *Vitis vinifera* ma anche le specie americane *V. labrusca* e *V. riparia* (GOHEEN & HOPKINS, 1988). La sintomatologia si manifesta con risveglio vegetativo ritardato, emissione di germogli poco vigorosi e con internodi raccorciati, sulle foglie i sintomi sono simili a quelli del mal dell’esca con macchie necrotiche contornate da aloni, le foglie assumono un aspetto a triangolo e cadono lasciando il picciolo

attaccato. Si può avere emissione di grandi quantità di polloni, disidratazione dei grappoli e maturazione irregolare del legno, la pianta muore nel giro di 1-4 anni.

Il batterio trasmesso originariamente da *Graphocephala atropunctata* e successivamente anche da *Draeculacephala minerva*, *Xyphon* (*Carneocephala*) *fulgida*, *Homalodisca coagulata* ed *Homalodisca vitripennis* agisce mediante la produzione di tossine e l'ostruzione dei vasi xilematici mediante tille e gomme. La pianta colpita presenta ridotta traspirazione e fotosintesi, alta concentrazione di acido abscissico, glucosio, calcio e magnesio, bassa presenza di potassio (PURCELL *et al.*, 1979; PURCELL, 1981). La vicinanza ai vigneti di agrumeti accentua la minaccia di diffusione epidemica perché gli agrumi non sono soltanto un ospite per le uova di *H. vitripennis*, ma anche un rifugio di svernamento importante per l'insetto.

X. fastidiosa subsp. *multiplex* causa una malattia nota come mal del pennacchio del pesco ma ha ceppi che sono patogeni in olmo, susino, mandorlo, gelso e platano (RAJU *et al.*, 1982; KOSTKA *et al.*, 1986; SHERALD *et al.*, 1987; ANDERSON & FRENCH, 1987; CHANG & WALKER, 1988; SHERALD, 1993). Dal 1980 il patogeno in New Jersey, (USA) ha causato danni progressivamente devastanti nei boschi e nelle piante di quercia ove è agente della bruscatura infettiva che si manifesta con disseccamenti fogliari che portano in breve tempo a morte le piante.

X. fastidiosa subsp. *sandyi* è agente di disseccamenti in oleandro, mentre *X. fastidiosa* subsp. *pauca* è agente di una clorosi variegata degli agrumi descritta in Brasile ed in Florida (USA) (LEE *et al.*, 1991; BERETTA *et al.*, 1992; ROSATO *et al.*, 1998) che ha ceppi patogeni anche in caffè (LI *et al.*, 2001). I principali vettori descritti in Brasile sono *Acrogonia terminalis*, *Dilobopterus costalimai* ed *Oncometopia fascialis*. Più recentemente a Taiwan sono state individuate alcune specie di *X. fastidiosa* che causano bruscatura fogliare infettiva in pero (LEU & SU, 1993).

Il batterio si diffonde facilmente su brevi e lunghe distanze con il materiale di propagazione o in piante intere ed anche tramite innesto. La trasmissione più efficiente è però operata da insetti che si nutrono della linfa xilematica. Questo tipo di trasmissione è di norma molto rapido poiché manca nell'insetto il periodo di latenza.

Il batterio è presente in America settentrionale (California, Florida e Canada); (GOODWIN & ZHANG, 1997), centro meridionale (Perù, Argentina, Costa Rica, Messico, Brasile e Venezuela) (JIMENEZ, 1985; BRLANSKY *et al.*, 1991; GUEVARA, 1997; MONTERO-

ASTÚA, 2008), Asia (India, Taiwan) (JINDAL & SHARMA, 1987; LEU & SU, 1993) ed in Turchia ed Iran (GULDR *et al.*, 2005; AMANIFAR *et al.*, 2014).

In Europa vi sono state alcune segnalazioni (Francia) quali quelle di una pianta di albicocco positiva in cui però la presenza del batterio non è stata confermata. Nel 2012 il batterio è stato individuato in piante di caffè coltivate in serra, ma il focolaio risulta eradicato. Più recentemente vi sono state intercettazioni non confermate in materiali di vite importati dagli USA (EPPO, 2013).

In Italia la presenza di *Xylella* spp. è stata recentemente associata al disseccamento rapido degli olivi in Puglia che dal 2013 si sta diffondendo in maniera epidemica fra gli olivi del Salento ed è stato individuata anche in potenziali insetti vettori (SAPONARI *et al.*, 2013; CARLUCCI *et al.*, 2013; ELBAINO *et al.*, 2014). La presenza e la patogenicità del batterio in olivo insieme a suoi potenziali insetti vettori sono studiati anche in California ove da alcuni anni viene descritta una sindrome in olivo che pare associata a *X. fastidiosa* la cui diagnosi non è però ancora stata confermata a livello sperimentale (KRUGNER *et al.*, 2014).

RIASSUNTO

Viene riportata una rassegna delle più pericolose malattie delle piante dovute a procarioti fitopatogeni. Vengono sommariamente descritte le principali malattie associate alla presenza di fitoplasmii insieme alle caratteristiche sintomatologiche distintive ed ad una classificazione che riassume la situazione tassonomica attuale. Vengono altresì descritte le principali malattie dovute alla presenza di diverse specie di 'Candidatus Liberibacter', i loro insetti vettori e la loro distribuzione geografica nel mondo. Infine viene effettuato un breve riassunto delle malattie dovute alle varie sottospecie di *Xylella fastidiosa* con particolare riferimento alla recente problematica sull'olivo ancora in studio nel Salento (Puglia).

BIBLIOGRAFIA

- ABAD J.A., BANDLA M., FRENCH-MONAR R.D., LIEFTING L.W., CLOVER G.R.G., 2009 - First report of the detection of 'Candidatus Liberibacter' species in zebra chip disease infected potato plants in the United States. - Plant Dis., 93: 108.
- ALMA A., BOSCO D., DANIELLI A., BERTACCINI A., VIBIO M., ARZONE A., 1997 - Identification of phytoplasmas in eggs, nymphs of Scaphoideus titanus Ball reared on healthy plants. - Insect Molecular Biology, 2: 115-121.
- ALMEIDA R.P.P., PURCELL A.H., 2003 - Biological traits of Xylella fastidiosa strains from grapes and almonds. - Appl. Environm. Microbiol., 69: 7447-7452.
- AMANIFAR N., TAGHAVI M., IZADPANAH K., BABAEI G., 2014 - Isolation and pathogenicity of Xylella fastidiosa

- from grapevine and almond in Iran. - *Phytopath. Medit.*, 53(2): 318-327.
- AMMAR E.-D., HOGENHOUT S., 2006 - *Mollicutes associated with arthropods and plants*. In: Bourtzis K and Miller T.A. Eds.), *Insect Symbiosis*, Vol. 2, Taylor & Francis group, Boca Raton, FL, pp. 97-118.
- ANDERSON P.C., FRENCH W.J., 1987 - *Biophysical characteristics of peach trees infected with phony peach disease*. - *Physiol. Mol. Pl. Pathol.*, 31: 25-40.
- BERETTA M.J.G., LEE R.F., DERRICK K.S., DAVIS C.L., BARTHE G.A., 1994 - *Culture and serology of a Xylella fastidiosa associated with citrus variegated chlorosis in Brazil*. *Proc. Int. Soc. Citriculture*. Vol. 2 cultural practices, diseases and their control: 7th Int. Citrus Congr., Acireale, Italy, 8-13 March, 1992: 830-831. .
- BERTACCINI A., DUDUK B., PALTRINIERI S., CONTALDO N., 2014 - *Phytoplasmas and phytoplasma diseases: a severe threat to agriculture*. - *Am. J. Pl. Sci.*, 5: 1763-1788.
- BRLANSKY R.H., DAVIS C.L., TIMMER L.W., HOWD D.S., CONTRERAS J., 1991 - *Xylem-limited bacteria in citrus from Argentina with symptoms of citrus variegated chlorosis*. - *Phytopathology*, 81: 1210.
- CALARI A., PALTRINIERI S., CONTALDO N., SAKALIEVA D., MORI N., DUDUK B., BERTACCINI A., 2011 - *Molecular evidence of phytoplasmas in winter oilseed rape, tomato and corn seedlings*. - *Bull. of Insect.*, 64(Suppl.): S157-S158.
- CARLUCCI A., LOPS F., MARCHI G., MUGNAI L., SURICO G., 2013 - *Has Xylella fastidiosa "chosen" olive trees to establish in the Mediterranean basin?* - *Phytopath. Medit.*, 52(3): 541-544.
- CHANG C.J., WALKER J.T., 1988 - *Bacterial leaf scorch of northern red oak: isolation, cultivation, and pathogenicity of a xylem-limited bacterium*. - *Pl. Disease*, 72: 730-733.
- CHEN J., CHANG C.J., JARRET R.L., GAWEL N., 1992 - *Genetic variation among Xylella fastidiosa strains*. - *Phytopathology*, 82(9): 973-977.
- CONTALDO N., BERTACCINI A., PALTRINIERI S., WINDSOR H.M., WINDSOR G.D., 2012 - *Axenic culture of plant pathogenic phytoplasmas*. - *Phytopath. Medit.*, 51: 607-617.
- ELBEAINO T., YASEEN T., VALENTINI F., BENMOUSSA I.E., MAZZONI V., D'OGHIA A.M., 2014 - *Identification of three potential insect vectors of Xylella fastidiosa in southern Italy*. - *Phytopath. Medit.*, 53(1): 328-332.
- EPP0, 2013 - *First report of Xylella fastidiosa in the EPP0 region*. Special Alert. Paris, France: European and Mediterranean Plant Protection Organization. http://www.eppo.int/QUARANTINE/special_topics/Xylella_fastidiosa/Xylella_fastidiosa.htm
- FAGEN J.R., LEONARD M.T., COYLE J.F., MCCULLOUGH C.M., DAVIS-RICHARDSON A.G., DAVIS M.J., TRIPLETT E.W., 2014 - *Liberibacter crescens gen.nov; sp. nov. first cultured member of the Liberibacter genus*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 64: 2461-2466.
- GARNIER M., JAGOUEIX-EVEILLARD S., CRONJE P.R., LE ROUX H.F., BOVÉ J.M., 2000 - *Genomic characterization of a liberibacter present in an ornamental rutaceous tree, Calodendrum capense, in the Western Cape Province of South Africa. Proposal of 'Candidatus Liberibacter africanus subsp. capensis'*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 50: 2119-2125.
- GOHEEN A.C., HOPKINS D.L., 1988 - *Pierce's disease*. In: *Compendium of grape diseases*, pp. 44-45. APS Press, St Paul, Minnesota, USA.
- GOODWIN P.H., ZHANG S., 1997 - *Distribution of Xylella fastidiosa in southern Ontario as determined by the polymerase chain reaction*. - *Can. J. Pl. Pathol.*, 19: 13-18.
- GUEVARA J., 1997 - *Occurrence of Pierce's Disease (Xylella fastidiosa) in grape of the Guadalupe Valley, Baja California, Mexico*. - *Phytopathology*, 87: S36.
- GULDR M.E., CAGLAR B.K., CASTELLANO M.A., 2005 - *First report of almond leaf scorch in Turkey*. - *J. Pl. Pathol.*, 87: 246.
- HANSEN A.K., TRUMBLE J.T., STOUTHAMER R., PAINE T.D., 2008 - *New Huanglongbing species, 'Candidatus Liberibacter psyllaourous' found to infect tomato and potato, is vectored by the psyllid Bactericera cockerelli (Sulc)*. - *Appl. Environ. Microbiol.*, 74: 5862-5865.
- HODGETTS J., BOONHAM N., MUMFORD R., HARRISON N., DICKINSON M., 2008 - *Phytoplasma phylogenetics based on analysis of secA and 23S rRNA gene sequences for improved resolution of candidate species of 'Candidatus Phytoplasma'*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 58: 1826-1837.
- HOPKINS D.L., ADLERZ W.C., 1988 - *Natural hosts of Xylella fastidiosa in Florida*. - *Pl. Disease*, 72: 429-431.
- IRPCM., 2004 - *'Candidatus Phytoplasma', a taxon for the wall-less, non-helical prokaryotes that colonise plant phloem and insects*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54: 1243-1255.
- JIMENEZ A., 1985 - *Immunological evidence of Pierce's disease of grapevine in Venezuela*. - *Turrialba*, 35: 243-247.
- JINDAL K.K., SHARMA R.C. 1987 - *Outbreaks and new records. Almond leaf scorch - a new disease from India*. - *FAO Plant Protection Bulletin*, 35: 64-65.
- KOSTKA S.J., TATTAR T.A., SHERALD J.L., HURTT S.S., 1986 - *Mulberry leaf scorch, new disease caused by a fastidious xylem-inhabiting bacterium*. - *Pl. Disease*, 70: 690-693.
- KRUGNER R., SISTERTON M.S., CHEN J.C., STENGER D.C., JOHNSON M.W., 2014 - *Evaluation of olive as a host of Xylella fastidiosa and associated sharpshooter vectors*. - *Pl. Disease*, 98(9): 1186-1193.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D.E., DAVIS R.E., BARTOSZYK I.M., 1998a - *Revised classification scheme of phytoplasmas based on RFLP analyses of 16s rRNA and ribosomal protein gene sequences*. - *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 48: 1153-1169.
- LEE I.-M., GUNDERSEN-RINDAL D.E., BERTACCINI A., 1998b - *Phytoplasma: ecology and genomic diversity*. - *Phytopathology*, 88: 1359-1366.
- LEE I.-M., ZHAO Y., BOTTNER K.D., 2006 - *SecY gene sequence analysis for finer differentiation of diverse strains in the aster yellows phytoplasma group*. - *Mol. Cell. Probes*, 20: 87-91.
- LEE I.-M., BOTTNER K.D., ZHAO Y., DAVIS R.E., HARRISON N.A., 2010 - *Phylogenetic analysis and delineation of phytoplasmas based on SecY gene sequences*. - *Int. J. Syst. Evol. Microb.*, 60: 2887-2897.
- LEE R.F., DERRICK K.S., BERETTA M.J.G., CHAGAS C.M., ROSETTI V., 1991 - *Citrus variegated chlorosis: a new destructive disease of citrus in Brazil*. - *Citrus Industry*, October 1991: 12-14.
- LEONARD M.T., FAGEN J.R., DAVIS-RICHARDSON A.G., DAVIS M.J., TRIPLETT E.W., 2012 - *Complete genome sequence of Liberibacter crescens BT-1*. - *Standards in Genomic Sciences*, 7: 271-283.
- LEU L.S., SU C.C., 1993 - *Isolation, cultivation, and pathogenicity of Xylella fastidiosa, the causal bacterium of pear leaf scorch disease in Taiwan*. - *Pl. Disease*, 77: 642-646.

- LI W.B., PRIA W.D., TEIXEIRA C., MIRANDA V.S., AYRES A.J., FRANCO C.F., COSTA M.G., HE C.X., COSTA P.I., HARTUNG J.S., 2001 - *Coffee leaf scorch caused by a strain of Xylella fastidiosa from citrus*. - *Pl. Disease*, 85: 501-505.
- LIEFTING L.W., WEIR B.S., PENNYCOOK S.R., CLOVER G.R., 2009 - 'Candidatus *Liberibacter solanacearum*', associated with plants in the family *Solanaceae*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 59: 2274-2276.
- LIN H., LOU B., GLYNN J.M., DODDAPANENI H., CIVEROLO E.L., CHEN C., DUAN Y., ZHOU L., VAHLING C.M., 2011 - *The complete genome sequence of 'Candidatus Liberibacter solanacearum', the bacterium associated with potato zebra chip disease*. - *PLoS ONE*, 6: e19135.
- LOPES S.A., FRARE G.F., BERTOLINI E., CAMBRA M., FERNANDES N.G., AYRES A.J., MARIN D.R., BOVÉ J.M., 2009 - *Liberibacters associated with citrus huanglongbing in Brazil: 'Candidatus Liberibacter asiaticus' is heat tolerant, 'Ca. L. americanus' is heat sensitive*. - *Plant. Dis.*, 93: 257-262.
- MARKHAM P.G., TOWNSEND R., BAR-JOSEPH M., DANIELS M.J., PLASKITT A., MEDDINS B.M., 1974 - *Spiroplasmas are the causal agents of citrus little-leaf disease*. - *Ann. Appl. Biol.*, 78: 49-57.
- MARTINI M., BOTTI S., MARCONE C., MARZACHÌ C., CASATI P., BIANCO P.A., BENEDETTI R., BERTACCINI A., 2002 - *Genetic variability among Flavescence dorée phytoplasmas from different origins in Italy and France*. - *Mol. Cell. Probes*, 16: 197-208.
- MARTINI M., LEE I-M. BOTTNER K.D., ZHAO Y., BOTTI S., BERTACCINI A., HARRISON N.A., CARRARO L., MARCONE C., KHAN J., OSLER R., 2007 - *Ribosomal protein gene-based filogeny for finer differentiation and classification of phytoplasmas*. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 57: 2037-2051.
- MITROVI J., KAKIZAWA S., DUDUK B., OSHIMA K., NAMBA S., BERTACCINI A., 2011 - *The groEL gene as an additional marker for finer differentiation of 'Candidatus Phytoplasma asteris'-related strains*. - *Ann. Appl. Biol.*, 159: 41-48.
- MONTERO-ASTÚA M., 2008 - *Isolation and molecular characterization of Xylella fastidiosa from coffee plants in Costa Rica*. - *J. Microbiol.*, 46: 482-490.
- MUNYANEZA J.E., FISHER T.W., SENGODA V.G., FARCZYNSKI S.F., NISSINEN A., LEMMETTY A., 2010 - *Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with the psyllid Trioza apicalis (Hemiptera: Triozidae) in Europe*. - *J. Econ. Entomol.*, 103(4): 1060-1070.
- MUNYANEZA J.E., SENGODA V.G., SUNDHEIM L., MEADOW R., 2012 - *First report on 'Candidatus Liberibacter solanacearum' associated with psyllid-infected carrots in Norway*. - *Pl. Disease*, 96: 454.
- NELSON W.R., SENGODA V.G., ALFARO-FERNANDEZ A.O., FONT M.I., CROSSLIN J.M., MUNYANEZA J.E., 2013 - *A new haplotype of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' identified in the Mediterranean region*. - *Eur. J. Plant Pathol.*, 135: 633-639.
- PURCELL A.H., 1981 - *Vector preference and inoculation efficiency as components of varietal resistance to Pierce's disease in European grapes*. - *Phytopathology*, 71: 429-435.
- PURCELL A.H., FINLAY A.H., MCLEAN D.L., 1979 - *Pierce's disease bacterium: mechanism of transmission by leafhopper vectors*. - *Science*, 206: 944-946.
- RADDADI N., GONELLA E., CAMEROTA C., PIZZINAT A., TEDESCHI R., CROTTI E., MANDRIOLI M., BIANCO P.A., DAFFONCHIO D., ALMA A., 2011 - '*Candidatus Liberibacter europaeus*' sp. nov. that is associated with and transmitted by the psyllid *Cacopsylla pyri* apparently behaves as an endophyte rather than a pathogen. - *Env. Microbiol.*, 13(2): 414-426.
- RAJU B.C., WELLS J.M., NYLAND G., BRLANSKY R.H., LOWE S.K., 1982 - *Plum leaf scald: isolation, culture, and pathogenicity of the causal agent*. - *Phytopathology*, 72: 1460-1466.
- ROSATO Y.B., RODRIGUES N.J., MIRANDA V.S., CARLOS E.F., MANFIO G.P., 1998 - *Diversity of a Xylella fastidiosa population isolated from Citrus sinensis affected by citrus variegated chlorosis in Brazil*. - *Syst. & Appl. Microbiol.*, 21: 593-598.
- SAILLARD C., VIGNAULT J.C., BOVÉ J.M., RAIE A., TULLY J.G., WILLIAMSON D.L., FOS A., GARNIER M., GADEAU A., CARLE P., WHITCOMB R.F., 1987 - *Spiroplasma phoeniceum* sp. nov., a new plant-pathogenic species from Syria. - *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37: 106-115.
- SAPONARI M., BOSCIA D., NIGRO F., MARTELLI G.P., 2013 - *Identification of DNA sequences related to Xylella fastidiosa in oleander, almond and olive trees exhibiting leaf scorch symptoms in Apulia (Southern Italy)*. - *J. Pl. Pathol.*, 95: 659-668.
- SCHAAD N.W., POSTNIKOVA E., LACY G., FATMI M., CHANG C.J., 2004 - *Xylella fastidiosa subspecies: X. fastidiosa subsp. [correction] fastidiosa [correction] subsp. nov., X. fastidiosa subsp. multiplex subsp. nov., and X. fastidiosa subsp. pauca subsp. nov.* - *Syst. Appl. Microbiol.*, 27: 290-300. *Erratum* in: *Syst. Appl. Microbiol.*, 27: 763.
- SCHNEIDER B., GIBB K.S., SEEMÜLLER E., 1997 - *Sequence and RFLP analysis of the elongation factor Tu gene used in differentiation and classification of phytoplasmas*. - *Microbiology*, 143: 3381-3389.
- SECHLER A., SCHUENZEL E.L., COOKE P., DONNUA S., THAVEECHAI N., POSTNIKOVA E., STONE A.L., SCHNEIDER W.L., DAMSTEEGT V.D., SCHAAD N.W., 2009 - *Cultivation of 'Candidatus Liberibacter asiaticus', 'Ca. L. africanus', and 'Ca. L. americanus' associated with huanglongbing*. - *Phytopathology*, 99: 480-486.
- SHERALD J.L., 1993 - *Pathogenicity of Xylella fastidiosa in American elm and failure of reciprocal transmission between strains from elm and sycamore*. - *Pl. Disease*, 77: 200-203.
- SHERALD J.L., WELLS J.M., HURTT S.S., KOSTKA S.J., 1987 - *Association of fastidious xylem-limited bacteria with leaf scorch in red maple*. - *Pl. Disease*, 71: 930-933.
- SMART C.D., SCHNEIDER B., BLOMQUIST C.L., GUERRA L.J., HARRISON N.A., AHRENS U., LORENZ K.H., SEEMÜLLER E., KIRKPATRICK B.C., 1996 - *Phytoplasma-specific PCR primers based on sequences of the 16-23S rRNA spacer region*. - *Appl. Environm. Microbiol.*, 62: 2988-2993.
- TEIXEIRA D.C., DANET J.L., EVEILLARD S., MARTINS E.C., CINTRA DE JESUS W.JR, YAMAMOTO P.T., APARECIDO LOPES S., BEOZZO BASSANEZI R., JULIANO AYRES A., SAILLARD C., BOVÉ J.M., 2005a - *Citrus huanglongbing in São Paulo State, Brazil: PCR detection of the 'Candidatus Liberibacter' species associated with the disease*. - *Mol. Cell. Probes*, 19: 173-179.
- TEIXEIRA D.C., SAILLARD C., EVEILLARD S., DANET J.L., DA COSTA P.I., AYRES A.J., BOVE J., 2005b - '*Candidatus Liberibacter americanus*', associated with citrus huanglongbing (greening disease) in Sao Paulo State, Brazil. - *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 55: 1857-1862.

- THOMPSON S., FLETCHER J.D., ZIEBELL H., BEARD S., PANDA P., JORGENSEN N., FOWLER S.V., LIEFTING L.W., BERRY N., PITMAN A.R., 2013 - *First report of 'Candidatus Liberibacter europaeus' associated with psyllid infested Scotch broom.* - *New Disease Reports*, 27: 6.
- WEINTRAUB P. G., BEANLAND L., 2006 - *Insect vectors of phytoplasmas.* - *Ann. Rev. Entomol.*, 51: 91-111.
- WELLS J.M., RAJU B.C., HUNG H.Y., WEISBURG W.G., MANDELCO-PAUL L., BRENNER D.J., 1987 - *Xylella fastidiosa gen. nov., sp. nov.: Gram-negative, xylem-limited fastidious plant bacteria related to Xanthomonas spp.* - *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37: 136-143.
- WELLS J.M., RAJU B.C., NYLAND G., 1983 - *Isolation, culture and pathogenicity of the bacterium causing phony disease of peach.* - *Phytopathology*, 73: 859-862.
- WILLIAMSON D.L., WHITCOMB R.F., 1975 - *Plant mycoplasmas: a cultivable spiroplasma causes corn stunt disease.* - *Science*, 188: 1018-1020.

XYLELLA FASTIDIOSA: VETTORI ACCERTATI E POTENZIALI IN AMERICA E IN EUROPA

DOMENICO BOSCO (*)

(*) Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Alimentari, Università degli Studi di Torino, Largo Paolo Braccini, 2 – 10095 Grugliasco (TO); e-mail: domenico.bosco@unito.it
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Insetti vettori di agenti fitopatogeni”. Seduta pubblica dell’Accademia – Firenze, 14 novembre 2014.

Xylella fastidiosa: vectors and potential vectors in America and Europe.

The recent introduction of *X. fastidiosa* (*Xf*) in the Apulian Region of Italy, where it is associated with a severe dieback syndrome of olive trees, prompted research on the insect vectors of the bacterium in the new infected area. *X. fastidiosa* is a xylem-restricted bacterium transmitted by xylem-sap feeding insects. These latter belong to the order Hemiptera, families Cercopidae and Aphrophoridae (spittlebugs), Cicadidae and Tibiciniidae (cicadas) and Cicadellidae (sharpshooters). The transmission of *Xf* by insects is peculiar in that it does not require a latent period, yet the bacteria are persistently transmitted. Bacteria are restricted to the alimentary canal and do not infect systemically the insect body. They adhere to and multiply in the pre-cibarium. Although *Xf* transmission is restricted to xylem-sap feeding insects, there is no species-specificity and all xylem-sap feeders should be considered potential vectors. Transmission efficiency varies substantially depending on insect species, host plant, and *Xf* genotype. The main vector species of *Xf* in North America, associated with the Pierce’s Disease of grapevine, and in South America, associated with Citrus Variegated Chlorosis, are listed. The potential insect vectors in Europe are discussed according to their reported presence by the Fauna Europaea database. So far, among the potential vector species, only the spittlebug *Philaenus spumarius* has been identified as a vector of the olive strain of *Xf* in Apulia. It is concluded that, while in Northern and Southern America sharpshooter vectors have been primarily associated with *Xf* epidemics, in Europe xylem-sap feeders other than sharpshooters might play a more important role in the spread of *Xf*.

KEY WORDS: *Xylella fastidiosa*, transmission, spittlebugs, sharpshooters, cicadas.

INTRODUZIONE

Xylella fastidiosa (*Xf*) è un gammaproteobatterio della famiglia Xanthomonadaceae che rappresenta l’unica specie del genere. *Xf* è caratterizzata da una grande variabilità genetica che ha portato alla descrizione di almeno quattro sottospecie, ssp. *fastidiosa*, ssp. *pauca*, ssp. *multiplex* e ssp. *sandyi* (SCHAAD *et al.*, 2004; SCHUENZEL *et al.*, 2005). Inoltre sono presenti varianti genetiche non ascrivibili con certezza alle sottospecie, tali genotipi sono presumibilmente generati da ricombinazione omologa tra ceppi di diverse sottospecie e testimoniano della grande plasticità genetica di questo batterio. La sottospecie più conosciuta è *fastidiosa*, l’unica capace di infettare la vite, a cui causa la malattia di Pierce (Pierce’s Disease; PD) in Nord America (NUNNEY *et al.*, 2010); questa sottospecie è stata recentemente introdotta a Taiwan dove infetta la vite (SU *et al.*, 2013). Isolati della ssp. *pauca*, prevalentemente presenti nell’America del Sud e centrale, sono responsabili della malattia degli agrumi conosciuta come citrus variegated chlorosis (CVC) diffusa in Brasile, gli isolati della sottospecie *multiplex* sembrano avere

un’ampia gamma di piante ospiti e sono presenti in Nord e Sud America mentre gli isolati della sottospecie *sandyi*, identificati soltanto negli Stati Uniti, sono poco caratterizzati e la loro biologia poco conosciuta. L’isolato di *Xf* recentemente identificato in olivo in Puglia e associato al complesso del disseccamento rapido, CoDiRO, appartiene alla ssp. *pauca* (CARIDDI *et al.*, 2014). Sebbene la distinzione in sottospecie sia molto utile per fini pratici è però più corretto, alla luce della capacità di ricombinazione omologa e di generazione di genotipi non chiaramente ascrivibili alle sottospecie descritte, considerare *Xf* in quanto specie piuttosto che come sottospecie chiaramente distinte. Globalmente *Xf* presenta una gamma di piante ospiti eccezionalmente ampia, più di 300 specie, arboree ed erbacee (EFSA, 2015) ed è presente prevalentemente in aree subtropicali, tropicali e temperate con inverni miti.

INSETTI VETTORI E TRASMISSIONE

X. fastidiosa colonizza esclusivamente i vasi xilematici delle piante ospiti ed è trasmessa da insetti

succhiatori dello xilema, detti xilemomizi. Gli insetti xilemomizi sono Emitteri Cicadoidei, Cercopoidei e Cicadellidi. Mentre le specie delle prime due superfamiglie (cicale e sputacchine) hanno tutte comportamento nutrizionale xilemomizo, tra i Cicadellidi (cicaline) soltanto le specie della sottofamiglia Cicadellinae sono xilemomize. La trasmissione di *Xf* ad opera degli insetti vettori è del tutto peculiare e riunisce caratteristiche della trasmissione persistente e non persistente. I vettori di *Xf* sono capaci di inoculare il patogeno immediatamente dopo la nutrizione infettante, senza la necessità di un periodo di incubazione (come nella trasmissione non persistente), l'infettività può essere mantenuta per tutta la vita (come nella trasmissione persistente), ma non attraverso la muta (come nella trasmissione non persistente). Questa anomala modalità di trasmissione si spiega con il fatto che, nonostante l'infezione sia persistente, il batterio si localizza soltanto nella prima parte del digerente, di origine ectodermica e quindi non è circolativo. In particolare le cellule batteriche, dopo essere state acquisite dal vettore, aderiscono alle pareti del precibario, dove sono in grado di moltiplicarsi e possono essere ritenute per tutta la vita dell'insetto (ALMEIDA *et al.*, 2005). Poiché la specificità di trasmissione di *Xf* sembra limitata al comportamento nutrizionale xilemomizo, tutti gli insetti che si nutrono della linfa grezza contenuta nei vasi xilematici (sputacchine, cicaline, cicale) sono da considerarsi potenziali vettori (PURCELL, 1989; ALMEIDA *et al.*, 2005). Le relazioni tra *Xf* e il vettore sono complesse e implicano la capacità del batterio di sondare l'ambiente in cui vive ed effettuare un drastico cambiamento nell'espressione genica tra l'ospite vegetale e animale. In particolare nell'ospite vegetale il batterio esprime attivamente geni che facilitano la mobilità e la colonizzazione di nuovi elementi xilematici in modo da invadere sistemicamente la pianta mentre nell'ospite insetto esprime attivamente geni responsabili per la produzione di sostanze gomose e adesive, che portano ad una adesione alle pareti del precibario e alla formazione di biofilm (CHATTERJEE *et al.* 2008). E' stato infatti dimostrato che l'insetto vettore è in grado di acquisire e successivamente trasmettere il patogeno se si nutre su una pianta preventivamente inoculata meccanicamente a partire da cellule di *Xf* in coltura axenica usando la tecnica della "needle inoculation". Al contrario, se il vettore si nutre direttamente di cellule di *Xf* da coltura axenica aggiunte al substrato artificiale di nutrizione, è incapace di trasmetterle. Questo fenomeno testimonia il ciclo "dioico" di *Xf*, che deve necessariamente passare da una fase infettante il vegetale ad una fase infet-

tante il vettore per compiere il suo ciclo (KILLINY e ALMEIDA, 2009). Inoltre, l'epidemiologia di *Xf* è regolata da fattori ecologici e comportamentali che influenzano la probabilità di incontro tra il vettore e il batterio per l'acquisizione e la successiva inoculazione a piante sane. Tra i fattori comportamentali del vettore è importante la preferenza di pianta ospite e, all'interno della stessa pianta, di tessuto (germogli apicali o basali) (DAUGHERTY *et al.*, 2011) e il numero di punture di nutrizione (DAUGHERTY *et al.*, 2009). Tra le caratteristiche della pianta ospite giocano un ruolo importante nella trasmissione il titolo con cui il batterio infetta la pianta e l'abbondanza di elementi xilematici "saturi" di cellule di *Xf* che contengono cellule in fase di "aggregazione-adesione" (HILL e PURCELL, 1997; ALMEIDA *et al.*, 2005). L'epidemiologia delle malattie causate da *Xf* è perciò molto variabile ed è il risultato di complesse interazioni biotiche e abiotiche che coinvolgono la specie vettrice (in relazione al ciclo biologico e al voltinismo, al comportamento nutrizionale, alla capacità di spostamento attivo), il genotipo del batterio (in relazione allo specifico "host-range" dei diversi genotipi, anche all'interno della stessa sottospecie e alla capacità di ricombinazione omologa tra ceppi differenti), le piante ospiti coltivate e spontanee (in relazione alla loro permissività alla moltiplicazione del batterio e alla loro attrattività per il vettore). Tutte queste interazioni rendono difficilmente prevedibile l'epidemiologia delle fitopatie associate a *Xf* in nuove situazioni geografiche/climatiche/agronomiche e le conoscenze acquisite nelle associazioni batterio-vettore-pianta ospite conosciute hanno un valore limitato.

INSETTI VETTORI NELLE AMERICHE

Le specie vettrici di *Xf* sono ben conosciute in America, continente che rappresenta l'area di originale distribuzione di *Xf* e dove i vettori principali sono gli "sharpshooter" (Cicadellidae Cicadellinae), mentre gli altri xilemomizi hanno un ruolo secondario. Le più importanti specie vettrici di *Xf* in Nord America sono i cicadellidi *Graphocephala atropunctata* (Signoret) e *Homalodisca vitripennis* (Germar). Ambedue le specie svernano come adulto ma mentre la prima è monovoltina (poche femmine possono dare una parziale seconda generazione ma la maggior parte di esse necessita di un periodo di freddo per maturare le uova), la seconda compie due generazioni per anno, almeno nelle condizioni della California meridionale e raggiunge livelli di popolazioni estremamente elevati. Ambedue le specie sono vettrici di PD a vite ma sostengono una diversa

diffusione della fitopatìa. In California settentrionale e centrale le infezioni, dovute principalmente a *G. atropunctata*, sono di tipo primario, cioè dovute a cicaline che infettatesi su piante ripariali si trasferiscono successivamente su vite, soprattutto nei bordi dei vigneti (PURCELL, 1974). Nella California meridionale *H. vitripennis*, oltre a svolgere due generazioni l'anno, sverna negli agrumeti adiacenti ai vigneti raggiungendo perciò livelli di popolazione elevatissimi in vigneto (COVIELLA *et al.*, 2006) e sostenendo probabilmente anche la diffusione secondaria da vite a vite (PERRING *et al.*, 2001). Le più importanti specie vettrici in Sud America sono i cicadellini *Bucephalagonia xanthophis* (Berg), *Dilobopterus costalimai* Young, *Acrogonia citrina* (Marucci e Cavichioli) e *Oncomeopia facialis* (Signoret), tutti riconosciuti vettori del "citrus variegatus chlorosis" (CVC) degli agrumi. L'epidemiologia di CVC in Brasile è dovuta principalmente a infezioni secondarie, da *Citrus* a *Citrus*, ad opera dei cicadellidi citati. Le specie vettrici di *Xf* sono state elencate nella quasi totalità da REDAK *et al.* (2004) che annovera 37 cicadellini e 5 sputacchine tra i vettori noti. Esistono inoltre due contributi che riportano la capacità delle cicale (Hemiptera Cicadoidea) di trasmettere *Xf* (PAIAO *et al.*, 2002; KRELL *et al.*, 2007). Il ruolo delle cicale deve però ancora essere verificato. I principali vettori di *Xf* nelle Americhe sono elencati in tabella 1.

INSETTI POTENZIALI VETTORI IN EUROPA

La recente segnalazione in Italia, in provincia di Lecce, di *Xf* associata alla sindrome del complesso del disseccamento rapido dell'olivo (CoDiRO) (CARIDDI *et al.*, 2014), che si è diffusa epidemica-

mente negli oliveti salentini con esiti drammatici, ha scatenato, oltre a un enorme impatto mediatico, anche l'immediata ricerca delle specie vettrici responsabili della diffusione epidemica. A questo proposito è importante notare come in Europa i cicadellini siano estremamente poco rappresentati, mentre molto più numerose sono le specie degli altri gruppi di xilemomizi potenziali vettori, sputacchine e cicale (DE JONG, 2013). Infatti tra i cicadellini l'unica specie ampiamente diffusa e localmente abbondante in Europa è *Cicadella viridis* (L.), e complessivamente l'intera sottofamiglia non conta più di nove specie originarie o introdotte in Europa. Al contrario, tra le sputacchine si annoverano 26 specie della famiglia Aphrophoridae (tra cui alcune estremamente comuni e abbondanti, come *Philaenus spumarius* L.) e sette specie di Cercopidae (DE JONG, 2013). Ancora più rappresentate sono le specie di cicale, con una cinquantina di specie nella famiglia Tibicinidae e 11 specie nella famiglia Cicadidae, tra cui specie estremamente comuni e abbondanti come *Cicada orni* L., la cui densità, in particolare su pino e olivo, è stata stimata in migliaia di individui ad ettaro nella Maremma Toscana (PATTERSON *et al.*, 1997) e può quindi essere localmente anche più elevata. In indagini di campo svolte recentemente negli oliveti del Salento sono state identificate quattro specie xilemomize candidate vettrici, le sputacchine *P. spumarius*, *Neophilaenus campestris* Fallen, *Cercopsis sanguinolenta* Scopoli e la cicala *C. orni* (ELBEAINO *et al.*, 2014; CORNARA *et al.*, 2014). Ad oggi soltanto per *P. spumarius* è stata provata la capacità di trasmettere *Xf* del ceppo CoDiRO (SAPONARI *et al.*, 2014). I principali potenziali vettori di *Xf* in Europa sono elencati in tabella 2.

Tabella 1 – Vettori di *Xylella fastidiosa* nelle Americhe.

Gruppo tassonomico	Specie più importanti	Distribuzione geografica	Ruolo nella diffusione di <i>X. fastidiosa</i>
Cicadellidae Cicadellinae (38 specie)	<i>Bucephalagonia xanthophis</i>	Argentina, Bolivia, Brasile, Paraguay	Associata a epidemie di CVC negli agrumeti
	<i>Dilobopterus costalimai</i>	Brasile	Associata a epidemie di CVC negli agrumeti
	<i>Graphocephala atropunctata</i>	Stati Uniti e America Centrale	Associata a epidemie di PD nei vigneti della California settentrionale e centrale
	<i>Homalodisca vitripennis</i>	Stati Uniti meridionali, Messico, Polinesia Francese, Haway, Isola di Pasqua	Associata a epidemie di PD nei vigneti della California meridionale
Cercopoidea (6 specie)	<i>Philaenus leucophthalmus</i>	Stati Uniti	Non associato a fitopatie epidemiche
Cicadoidea (2 specie)	<i>Diceroprocta apache</i>	Stati Uniti meridionali, Messico	Ruolo non confermato
	<i>Dorisiana viridis</i>	Stati Uniti meridionali, Messico	Ruolo non confermato

Tabella 2 – Potenziali vettori di *Xylella fastidiosa* in Europa.

Gruppo tassonomico	Specie più importanti	Distribuzione geografica	Ruolo potenziale nella diffusione di <i>X. fastidiosa</i>
Cicadellidae Cicadellinae (7 specie)	<i>Cicadella viridis</i>	Ubiquitaria in Europa	Molto comune, polifaga ma limitata ad ambienti umidi
Cercopoidea (34 specie)	<i>Aphrophora alni</i>	Ubiquitaria in Europa	Comune, polifaga
	<i>Aphrophora salicina</i>	Ubiquitaria in Europa	Comune, oligofaga
	<i>Philaenus spumarius</i>	Ubiquitaria in Europa	Molto comune, polifaga*
	<i>Cercopis vulnerata</i>	Assente nel Nord Europa	Comune, associata principalmente a piante erbacee
Cicadoidea (54 specie)	<i>Cicada orni</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Cicadatra atra</i>	Balcani, Italia e Francia	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Lyristes plebejus</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Cicadivetta tibialis</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione
	<i>Tibicina haematodes</i>	Assente nel Nord Europa	Nessuna informazione sulla capacità di trasmissione

* *P. spumarius* è vettore accertato del ceppo di *Xf* identificato nel Salento (Saponari et al., 2014)

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

È molto probabile che *P. spumarius* sia il vettore principale del ceppo CoDiRO epidemico in Salento, ma non si può certo escludere il ruolo di altre specie, in particolare di *N. campestris*. Finora tutte le specie di xilemomizi catturate nell'agroecosistema oliveto appartengono al gruppo delle sputacchine (Aphrophoridae e Cercopidae) e i cicadellini sembrano essere assai rari, confermando l'ipotesi che, a differenza delle Americhe, dove i cicadellini sono associati a tutte le epidemie di *Xf*, nel Salento (ma anche nel resto d'Europa se sarà contaminata) le sputacchine siano i principali vettori. In conclusione molte ricerche devono essere condotte sia per caratterizzare meglio le modalità di trasmissione del ceppo di *Xf* associato al disseccamento dell'olivo sia per accertare un eventuale ruolo delle cicale. Lo studio dell'ecologia e della dinamica di popolazione della/e specie vettrice/i nel Salento è altrettanto indispensabile al fine di poter predisporre un razionale piano di controllo integrato dei vettori e della batteriosi, poiché l'eradicazione di *Xf* dall'area di introduzione non è verosimilmente realizzabile.

RIASSUNTO

La recente introduzione di *Xylella fastidiosa* (*Xf*) nel Salento, dove il batterio è associato al complesso del disseccamento rapido dell'olivo (CoDiRO), ha portato alla ricerca degli insetti vettori nella nuova zona infetta. *X. fastidiosa* è un batterio xilematico trasmesso da insetti xilemomizi che appartengono all'ordine degli Emitteri, famiglie Cercopidae e Aphrophoridae (sputacchine), Cicadidae e Tibicinidae (cicale) e Cicadellidae (cicaline). La trasmissione di *Xf* ad opera degli insetti vettori è del tutto peculiare e riunisce caratteristiche

della trasmissione persistente e non persistente. Infatti il batterio è trasmesso in modo persistente anche in assenza di un periodo di latenza. I batteri colonizzano soltanto lo stomodeo, in particolare il pre-cibario, dove si moltiplicano, e non infettano sistemicamente l'insetto. Sebbene soltanto gli insetti succhiatori di succo xilematico possano trasmettere *Xf*, non è conosciuta una specificità di trasmissione e perciò tutti gli insetti xilemomizi sono da considerarsi potenziali vettori. Vengono elencate le principali specie vettrici di *Xf* in Nord America, associate alla malattia di Pierce della vite, e quelle del Sud America, associate alla clorosi variegata degli agrumi. I potenziali vettori di *Xf* in Europa sono discussi in relazione alla loro presenza e distribuzione come riportata dalla Fauna Europaea. Fino ad ora soltanto la sputacchina *Philaenus spumarius* è stata accertata come vettore del ceppo CoDiRO di *Xf*. Si conclude che, mentre in America le cicaline sono i principali vettori di *Xf*, nel Salento (e in altre aree del continente se contaminate) le sputacchine rappresentano i più importanti vettori potenziali.

BIBLIOGRAFIA

- ALMEIDA R.P.P., BLUA M.J., LOPES J.R., PURCELL A.H., 2005 - *Vector transmission of Xylella fastidiosa: Applying fundamental knowledge to generate disease management strategies.* - Ann. Entomol. Soc. Am., 98: 775-786.
- CARIDDI C., SAPONARI M., BOSCIA D., DE STRADIS A., LOCONSOLE G., NIGRO F., PORCELLI F., POTERE O., MARTELLI G.P., 2014 - *Isolation of a Xylella fastidiosa strain infecting olive and oleander in Apulia, Italy.* - J. Plant Pathol., 96(2): 425-429.
- CHATTERJEE S., ALMEIDA R.P.P., LINDOW S., 2008 - *Living in two worlds: the plant and insect lifestyles of Xylella fastidiosa.* - Annu. Rev. Phytopathol., 46: 243-71.
- CORNARA D., LOCONSOLE G., BOSCIA D., DE STRADIS A., YOKOMI R.Y., BOSCO D., PORCELLI F., SAPONARI M., 2014 - *Survey of the Auchenorrhyncha in the Salento peninsula searching for vectors of Xylella fastidiosa pauca codiro strain.* Proc. Int. Symp. European outbreak of *Xylella fastidiosa* in Olive. Gallipoli, Locorotondo, Italy 21-24 October 2014, p. 31.
- COVIELLA C.E., GARCIA J.F., JESKE D.R., REDAK R.A., LUCK R. F., 2006 - *Feasibility of tracking within-field movements of Homalodisca coagulata (Hemiptera: Cicadellidae) and*

- estimating its densities using fluorescent dusts in mark-release-recapture experiments. - J. Econ. Entomol., 99(4): 1051-1057.
- DAUGHERTY M.P., BOSCO D., ALMEIDA R.P.P., 2009 - Temperature mediates transmission efficiency: inoculum supply and plant infection dynamics. - Ann. Appl. Biol., 155: 361-369.
- DAUGHERTY M.P., RASHED A., ALMEIDA R.P., PERRING T.M., 2011 - Vector preference for hosts differing in infection status: sharpshooter movement and *Xylella fastidiosa* transmission. - Ecol. Entomol., 36(5): 654-662.
- DE JONG YSDM, 2013 - *Fauna Europaea version 2.6. Ed. de Jong YSDM*. Web Service. Available online: <http://www.faunaeur.org>
- ELBEAINO T., YASEEN T., VALENTINI F., MOUSSA I.E.B., MAZZONI V., D'ONGHIA A.M., 2014 - Identification of three potential insect vectors of *Xylella fastidiosa* in southern Italy. - Phytopath. Medit., 53(2): 328-332.
- EFSA PLH PANEL (EFSA PANEL ON PLANT HEALTH), 2015 - Scientific Opinion on the risks to plant health posed by *Xylella fastidiosa* in the EU territory, with the identification and evaluation of risk reduction options. - EFSA J. 2015;13(1):3989, 262 pp., doi:10.2903/j.efsa.2015.3989.
- HILL B.L., PURCELL A.H., 1997 - Populations of *Xylella fastidiosa* in plants required for transmission by an efficient vector. - Phytopathology, 87(12): 1197-1201.
- KILLINY N., ALMEIDA R.P.P., 2009 - *Xylella fastidiosa* afimbrial adhesins mediate cell transmission to plants by leafhopper vectors. - Appl. Environ. Microbiol., 75(2): 521-528.
- KRELL R.K., BOYD E.A., NAY J.E., PARK Y.L., PERRING T.M., 2007 - Mechanical and Insect Transmission of *Xylella fastidiosa* to *Vitis vinifera*. - Am. J. Enol. Vitic., 58: 211-216.
- NUNNEY L., YUAN X., BROMLEY R.E., STOUTHAMER R., 2010 - Population genomic analysis of a bacterial plant pathogen: novel insight into the origin of Pierce's disease of grapevine in the U.S. PLoS One 5: e15488.
- PAIAO F.G., MENEGUIM A.M., CASAGRANDE E.C., LEITE R.P., 2002 - Envolvimento de cigarras (Homoptera, Cicadidae) na transmissão de *Xylella fastidiosa* em cafeeiro. - Fitopatol. Brasileira, 27: 67.
- PATTERSON I.J., MASSEI G., GENOV P., 1997 - The density of cicadas *Cicada orni* in Mediterranean coastal habitats. - Ital. J. Zool., 64(2): 141-146.
- PERRING T., FARRAR C., BLUA M., 2001 - Proximity to citrus influences Pierce's disease in Temecula Valley vineyards. - California Agric., 55(4): 13-18.
- PURCELL A.H., 1974 - Spatial patterns of Pierce's disease in the Napa Valley. - Am. J. Enol. Vitic., 25: 162-167.
- PURCELL A.H., 1989 - Homopteran transmission of xylem-inhabiting bacteria. In: Advances in disease vector research, Vol. 6, Harris K.F. Ed., Springer, New York, pp. 243-266.
- REDAK R.A., PURCELL A.H., LOPES J.R.S., BLUA M.J., MIZELL III R.F., ANDERSEN P.C., 2004 - The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of *Xylella fastidiosa* and their relation to disease epidemiology. - Ann. Rev. Entomol., 49: 243-270.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.K., DE STRADIS A., BOSCIA D., BOSCO D., MARTELLI G.P., KRUGNER R., PORCELLI F., 2014 - Infectivity and Transmission of *Xylella fastidiosa* by *Philaenus spumarius* (Hemiptera: Aphrophoridae) in Apulia, Italy. - J. Econ. Entomol., 107(4): 1316-1319
- SCHAAD N.W., POSTNIKOVA E., LACY G., FATMI M., CHANG C.J., 2004 - *Xylella fastidiosa* subspecies: *X. fastidiosa* subsp. *piercei*, subsp. nov., *X. fastidiosa* subsp. *multiplex* subsp. nov., and *X. fastidiosa* subsp. *pauca* subsp. nov. - Syst. Appl. Microbiol., 27(3): 290-300.
- SCHUENZEL E.L., SCALLY M., STOUTHAMER R., NUNNEY L., 2005 - A multigene phylogenetic study of clonal diversity and divergence in North American strains of the plant pathogen *Xylella fastidiosa*. - Appl. Environ. Microbiol., 71: 3832-3839.
- SU C.C., CHANG C.J., CHANG C.M., SHIH H.T., TZENG K.C., JAN F.J., KAO C.W., DENG W.L., 2013 - Pierce's Disease of grapevines in Taiwan: isolation, cultivation and pathogenicity of *Xylella fastidiosa*. - J. Phytopathol., 161: 389-396.

VETTORI DI MALATTIE DEGLI AGRUMI: STATO ATTUALE DELLE CONOSCENZE E PROBLEMI EMERGENTI

GIUSEPPE E. MASSIMINO COCUZZA (*) - SEBASTIANO BARBAGALLO (*)

(*) Dipartimento di Agricoltura, Alimentazione e Ambiente, Università di Catania, via S. Sofia 100, 95123 Catania, Italy; e-mail: cocuzza@unict.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Insetti vettori di agenti fitopatogeni". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 14 novembre 2014.

Vectors of Citrus disease: state of knowledge and emerging problems

This note points out the current knowledge on the most important arthropod vectors of main diseases caused by virus and virus-like agents on citrus, as well as the mode of transmission, the damages and the actual control possibilities. Several vectors and pathogens are not yet present in the Italian territory and phytosanitary checks should be addressed to prevent their entry to protect citriculture.

KEY WORDS: Vector-borne citrus disease, aphids, tristeza, psyllids, huanglongbing, leafhoppers, citrus variegated chlorosis

INTRODUZIONE

Nel panorama delle numerose malattie degli agrumi causate da virus e organismi procarioti (inclusi i batteri), che inducono nelle stesse piante manifestazioni sintomatiche virus-simili, in almeno una decina di casi un ruolo determinante viene svolto da alcuni artropodi fitomizi appartenenti ai Rincoti o agli Acari che veicolano la trasmissione dei patogeni in causa. L'importanza di questi vettori si connette sempre e direttamente alla loro attività alimentare, ed è collegata alle interrelazioni biologiche con gli stessi agrumi, a seconda che quest'ultimi fungano da piante ospiti abituali ovvero occasionali. Nel primo caso l'agente vettore permane sugli agrumi per svolgere il proprio ciclo biologico. Nel secondo caso la presenza dell'insetto vettore sugli agrumi può essere sporadica o limitata nel tempo e può dipendere dall'habitat circostante l'agrumeto medesimo.

A tale riguardo, la situazione in Italia è alquanto varia e a rischio di peggioramento nel tempo, dal momento che, in aggiunta a quelli già presenti, potrebbero facilmente insediarsi sia gli agenti patogeni che i loro potenziali vettori, già peraltro presenti in altre aree del Mediterraneo o in importanti territori agrumicoli più lontani. Allo stato attuale fra tutte le malattie degli agrumi ad eziologia virale o batterica trasmissibili per mezzo di artropodi, in Italia risulta presente soltanto la "tristezza". Per altri casi sono quivi presenti i vettori ma non le malattie. Dall'analisi della situazione italiana appare pertanto evidente l'importanza di

conoscere i vettori responsabili e le manifestazioni della malattia al fine di impedire, con un'attenta sorveglianza fitosanitaria, che quest'ultime possano pervenire nelle nostre regioni agrumicole. La presente nota ha lo scopo di approfondire gli aspetti legati agli organismi vettori e agli agenti patogeni, con particolare attenzione al loro attuale areale di diffusione e ai pericoli che deriverebbero dalla loro introduzione nel territorio italiano.

VETTORI E MALATTIE DA VIRUS TRASMESSE DA INSETTI E ACARI

Fra le numerose malattie da virus degli agrumi almeno sei sono trasmissibili per mezzo di artropodi vettori. Più precisamente sono quattro (tristezza, citrus sudden death, enazione delle nervature/galle legnose e decolorazione gialla delle nervature) quelle trasmesse da afidi, una (citrus chlorotic dwarf) veicolata da aleirodi e un'altra (citrus leprosis) trasmessa da acari.

Fra tutte indubbiamente emerge per dannosità la *Tristezza* (CTV, *Citrus Tristeza Virus*) ritenuta, la malattia virale economicamente più importante per l'arancio in tutto l'areale del Mediterraneo (CAMBRA *et al.*, 2000; MORENO *et al.*, 2008). Il virus è trasmesso in modo semipersistente dalla maggior parte degli afidi che infestano gli agrumi. L'agente patogeno si può considerare ormai endemico nelle principali aree agrumicole del Continente Asiatico, Australia, Africa meridionale, Centro e Sud America, nonché nei principali

Tabella 1 – Malattie degli agrumi trasmesse da artropodi vettori.

Malattie da virus e da procarioti			Agenti vettori delle malattie		
Malattia e Agente patogeno	Distribuzione	Presenza in Italia	Specie responsabili	Distribuzione	Modalità di trasmissione
Tristeza – Virus (CTV)	Cosmopolita	Si	<i>Toxoptera citricidus</i> (assente in Italia), <i>Aphis gossypii</i> , <i>A. spiraeicola</i>	<i>T. citricidus</i> (Continente americano, Asia, Africa, Spagna); <i>A. gossypii</i> e <i>A. spiraeicola</i> (cosmopoliti)	Semi-persistente
Citrus Sudden Death – Virus (CS-DaV)	Brasile	No	Probabilmente afidi (<i>Toxoptera citricidus</i> (assente in Italia), <i>Aphis gossypii</i> , <i>A. spiraeicola</i>)	<i>T. citricidus</i> (Continente americano, Asia, Africa, Spagna); <i>A. gossypii</i> e <i>A. spiraeicola</i> (cosmopoliti)	Sconosciuta
Citrus Vein Enation-Woody Galls disease – Virus (CVEV)	Bacino del Mediterraneo	No	<i>Toxoptera citricidus</i> (assente in Italia), <i>Aphis gossypii</i>	<i>T. citricidus</i> (Continente americano, Asia, Africa, Spagna); <i>A. gossypii</i> e <i>Myzus persicae</i> (cosmopoliti)	Persistente
Citrus Yellow Vein Clearing disease – Virus (CYVCV)	Turchia, India, Pakistan, Cina	No	<i>Aphis craccivora</i> , <i>A. spiraeicola</i>	Cosmopoliti	Sconosciuta
Citrus Chlorotic Dwarf disease – Virus (CCDV)	Turchia	No	<i>Parabemisia myricae</i>	Cosmopolita	Persistente o semi-persistente
Citrus Leprosis – Virus (CLV)	Sud America	No	<i>Brevipalpus phoenicis</i> , <i>B. californicus</i> , <i>B. obovatus</i>	Cosmopoliti	Persistente/circolativo (salivare) e propagativo (transovarica)
Huanglongbing (HLB) o Greening - Batterio	Asia, America, Africa	No	<i>Diaphorina citri</i> , <i>Trioza erytreae</i> (assenti in Italia)	<i>D. citri</i> (Asia, America), <i>T. erytreae</i> (Africa, penisola arabica, penisola iberica)	Persistente/circolativo (salivare) e propagativo (transovarica)
Citrus Variegated Chlorosis (CVC) - Batterio	Sud America	No	Varie Cicaline (<i>Homalodisca coagulata</i> , <i>Oncometopia nigricans</i> e altre) assenti in Italia	Continente Americano	Persistente/circolativo
Citrus Stubborn - Batterio	Bacino del Mediterraneo orientale e USA	No	Varie Cicaline (<i>Circulifer tenellus</i> , <i>C. haematoceps</i> , <i>Scaphytopius nitridus</i> , <i>Oncometopia nigricans</i> e altre) assenti in Italia	<i>C. tenellus</i> , <i>Scaphytopius nitridus</i> , <i>Oncometopia nigricans</i> (USA), <i>C. haematoceps</i> (Europa)	Persistente/circolativo
Witches' broom - Batterio	Oman e Iran	No	Cicalina (<i>Hishimonus phycitis</i>) assente in Italia	Penisola arabica e Medio Oriente	Sconosciuta

Stati agrumicoli degli U.S.A. (Florida, Texas, Arizona e California). Nel bacino del Mediterraneo la malattia è rimasta per vari anni confinata in Spagna e Israele, diffondendosi in altri paesi (tra cui l'Italia) solo nei primi anni duemila (DAVINO *et al.*, 2003, CATARA *et al.*, 2008). In Spagna, paese con condizioni pedo-climatiche simili a quelle italiane, il virus ha causato la morte di oltre 40 milioni di piante. La principale causa dell'enorme incidenza della malattia su arancio dolce è da ricercarsi nel generale uso dell'arancio amaro come portinnesto e nell'elevata suscettibilità di quest'ultimo al patogeno. Nel territorio italiano la malattia è molto probabilmente arrivata attraverso materiale di propagazione infetto proveniente da paesi nei quali essa era già insediata (CATARA *et al.*, 2008). A oggi la tristezza ha manifestato i suoi danni soprattutto in Sicilia (DAVINO *et al.*, 2003) ma la sua presenza è stata accertata

anche in Puglia (SAPONARI *et al.*, 2009) e Calabria (CARUSO *et al.*, 2006). Si ritiene che la diffusione del patogeno nelle aree agrumicole siciliane sia avvenuta principalmente per mezzo della trasmissione operata da *Aphis gossypii* Glover (Afide del cotone e delle Cucurbitacee) e di *A. spiraeicola* Patch (Afide verde degli agrumi). La prima specie è quella che evidenzia maggiore capacità vettrice tra gli afidi presenti in Italia, mentre si ritiene che *A. spiraeicola* abbia una minore efficienza. Altre specie che potenzialmente possono trasmettere il virus sono *A. craccivora* Koch e *Toxoptera aurantii* (B.d.F.), la cui efficacia di trasmissione, tuttavia, è piuttosto bassa o marginale (DAVINO *et al.*, 1989). A oggi non è presente nel territorio italiano *T. citricidus* (Kirkaldy) (Afide tropicale degli agrumi), che rappresenta in assoluto la specie con maggiore efficienza di trasmissione. Questa specie, originaria dal Sud-Est Asiatico, è oggi diffusa

in tutti i principali comprensori agrumicoli della fascia circumtropicale (BLACKMAN & EASTOP, 2000; BARBAGALLO *et al.*, 2007). In Europa la specie è stata rinvenuta per la prima volta nel 2004 in un'area a nord del Portogallo (ILHARCO *et al.*, 2005), per diffondersi successivamente fino alla fascia nord della Spagna (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 2008; ILHARCO & SOUSA-SILVA., 2009). La diffusione dell'afide ha evidenziato un'insolita capacità adattativa della specie alle condizioni di clima temperato freddo di quell'area il che, probabilmente, ne ha rallentato l'ulteriore espansione verso le regioni agrumicole più meridionali della stessa penisola. Ivi l'afide si è insediato su piante di agrumi coltivate a scopo ornamentale o per frutticoltura di tipo familiare, risparmiando finora la coltivazione estensiva degli agrumi che è tipica dei comprensori del sud-est spagnolo e del sud del Portogallo. In Spagna gli spostamenti di *T. citricidus* sono tenuti sotto stretta osservazione attraverso il monitoraggio effettuato da operatori fitosanitari e con una capillare azione di pubblicizzazione e sensibilizzazione degli operatori agricoli delle Regioni attualmente interessate e di quelle immediatamente attigue (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 2008). *T. citricidus* vive essenzialmente su piante del genere *Citrus*, anche se sono state segnalate delle piante ospiti appartenenti persino ad altre famiglie botaniche. Tuttavia, su quest'ultimo aspetto è probabile che alcune segnalazioni derivino da errate identificazioni, dovute alla somiglianza della specie con *T. aurantii* (MICHAUD, 1998). Le due specie sono, infatti, distinguibili solo attraverso pochissimi caratteri morfologici, rilevabili soprattutto nelle forme alate. Attualmente l'identificazione delle due specie si può ottenere facilmente anche con l'analisi del DNA barcoding (WANG & QIAO, 2009) ovvero per via morfologica tradizionale (STROYAN, 1961). Come prima accennato, la diffusione di CTV in Sicilia è avvenuta principalmente a opera di *A. gossypii* e *A. spiraecola*, afidi comunissimi su arancio soprattutto nel periodo primaverile e finché permane vegetazione tenera sulle piante. Con l'indurimento dei germogli e l'innalzamento delle temperature, le alate abbandonano in massa le piante per cercare altri agrumi in idoneo stato vegetativo o specie botaniche diverse ma suscettibili alle loro infestazioni. In tal senso, *A. gossypii* si contraddistingue per una notevole vagilità e può effettuare spostamenti lunghi anche diversi chilometri, in quanto le alate si lasciano trasportare dalle correnti aeree che possono quindi determinare il loro rapido spostamento a distanza. Questo modo di dispersione si riflette anche sulla diffusione di CTV che, rispetto a un determinato

punto d'infezione, è definita a “macchia di leopardo”; le alate di *T. citricidus* non effettuano invece grandi spostamenti, per cui l'infezione si espande a “macchia d'olio” (GOTTWALD *et al.*, 1996). Probabilmente, nell'irregolare diffusione di CTV registrata in Sicilia negli ultimi anni, ha influito la diversa direzione delle correnti aeree che influenzano i momenti di sciamatura degli afidi. L'importanza di *A. spiraecola* nella diffusione del virus non è invero ben conosciuta e potrebbe essere stata sottovalutata, soprattutto in considerazione della frequenza delle sue popolazioni e della loro più lunga permanenza (le sue colonie, con idonee condizioni di umidità e in presenza di succhioni, possono svilupparsi ininterrottamente tutto l'anno) sugli agrumi rispetto ad *A. gossypii* (BROWN *et al.*, 1988).

In seno al virus della tristezza sono stati individuati diversi ceppi che differiscono per la loro virulenza, ovvero per la diversa sintomatologia indotta su piante indicatrici (CATARA *et al.*, 2008). I due ceppi “stem-pitting” e “seedling yellows” sono attualmente presenti soltanto nell'emisfero australe; essi causano rispettivamente buttratura o altre alterazioni del legno su arancio dolce nonché su pompelmo Duncan e, rispettivamente, giallumi associati a nanismo su arancio amaro. Il ceppo “quick decline” causa il repentino decesso delle piante di arancio dolce innestate su arancio amaro. Ma vi sono anche ceppi blandi della tristezza, le cui infezioni rimangono asintomatiche. Questi diversi ceppi sono in grado di influenzare l'efficienza con cui vengono trasmessi dagli afidi (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1988).

Il metodo più efficace per controllare la malattia consiste nel reimpianto degli agrumeti utilizzando portinnesti tolleranti al virus (come ad esempio Citrange “troyer” o “carrizo” ibridi di arancio x *Poncirus trifoliata*) (LO GIUDICE, 2009). L'adozione dei portinnesti tolleranti potrebbe tuttavia non garantire in assoluto il superamento del problema. Alcuni studi hanno dimostrato, infatti, che il virus può differenziare ceppi in grado di superare la naturale resistenza di *P. trifoliata* (DAWSON & MOONEY, 2000; HARPER *et al.*, 2010). La futura ricerca deve quindi indirizzarsi allo sviluppo di portinnesti con una maggiore capacità di tolleranza e adatti alle diverse condizioni pedo-climatiche delle varie aree agrumicole. Poco utile appare altresì, come dimostrato in vari studi, la lotta chimica ai vettori effettuata al fine di limitare la diffusione del virus (GOTTWALD *et al.*, 2002; POWELL *et al.*, 2005). Inoltre, sarebbe auspicabile attuare un'attenta azione di sorveglianza per evitare l'introduzione dell'afide *T. citricidus*, ovvero applicare un tempestivo programma di eradica-

zione qualora si dovesse individuare qualche focolaio d'infestazione di quest'afide nel nostro territorio nazionale.

Il *Citrus Sudden Death* (CSDaV), è una grave malattia rilevata in Brasile, negli Stati di Minas Gerais e San Paolo, alla fine degli anni '90 su piante di arancio e mandarino innestate su limetta di Rangpur e limone volkameriano. I sintomi della malattia sono molto simili a quelli osservabili sulle piante colpite dal ceppo di CTV denominato "quick decline". A oggi non si conosce bene l'agente causale, ma le ricerche hanno accertato che le piante infette presentano l'associazione di CTV con un Marafivirus appartenete alla famiglia dei Tymoviridae, per cui la malattia viene definita come *Citrus Sudden Death associated Virus* (MACCHERONI *et al.*, 2005; BOVÉ & AYRES, 2007). Non ha avuto riscontro l'ipotesi che il CSDaV sia una forma mutata di CTV, mentre è accertato l'attivo ruolo svolto da *T. citricidus*, *A. gossypii* e *A. spiraeicola* nella diffusione della fitopatia (YAMAMOTO *et al.*, 2011; LOEZA-KUK *et al.*, 2008).

L'*Enazione delle nervature/galle legnose* il cui agente causale è il *Citrus vein enation/woody gall virus* (CVEV) è una malattia di minore importanza, in quanto la maggior parte degli agrumi infetti è asintomatica alla presenza del virus. I sintomi sono in effetti evidenti su limone rugoso, limone volkameriano e su limetta messicana, comunque senza conseguenze sulla produzione. La malattia è presente in diversi paesi mediterranei ma non è stata ancora rilevata in Italia. Il danno economico è tuttavia determinato dalla non certificabilità come "virus-esenti" delle piante infette prodotte in vivaio. La trasmissibilità del virus da parte di *T. citricidus*, *A. gossypii* e *Myzus persicae* è stata provata solo in condizioni di laboratorio (HERMOSO DE MENDOZA *et al.*, 1993; MAHARAJ & DA GRAÇA, 1989).

La *Decolorazione gialla delle nervature*, il cui agente causale viene indicato come *Citrus yellow vein clearing virus* (CYVVCV), è anch'essa una malattia di secondaria importanza, segnalata in Pakistan, Turchia, India e Cina su limone e arancio amaro (BAR-JOSEPH & CATARA, 2010). Come nel precedente caso, anche qui la capacità di trasmissione da parte di *A. spiraeicola* e *A. craccivora* è stata verificata solo in condizioni di laboratorio (ÖNELGE *et al.*, 2011).

A differenza delle precedenti fitopatie trasmesse da afidi, il *Citrus chlorotic dwarf disease* (agente causale – *Citrus Chlorotic Dwarf Virus* – CCDV) è veicolato dall'aleirode *Parabemisia myricae* (Kuwana) (KORKMAZ *et al.*, 1995). La malattia appare confinata nelle province di Mersin e Adana, le principali aree agrumicole della

Turchia. Le specie di agrumi attaccate sono limone, pompelmo, clementine e arancio amaro, mentre l'arancio dolce sembra tollerante al virus. L'insetto vettore è uno dei vari Aleirodi che infestano gli agrumi, diffuso soprattutto nelle aree orientali dell'Asia. Esso è pervenuto accidentalmente in Italia (Sicilia) una ventina di anni addietro, alimentando cospicue infestazioni in diversi agrumeti (RAPISARDA *et al.*, 1990). Oggi le pullulazioni di *P. myricae* sono quivi fortemente regredite al punto da potersi considerare virtualmente assenti nelle nostre coltivazioni agrumicole.

Un'ultima grave malattia da virus è la *Leprosi* il cui agente causale, *Citrus Leprosis Virus* (CLV), è trasmesso dagli Acari Brevipalpidi: *Brevipalpus phoenicis* (Geijskes), *B. obovatus* Donnadieu e *B. californicus* (Banks). Gli agrumi suscettibili sono soprattutto arancio dolce, arancio amaro e mandarino. La malattia è diffusa in centro e sud America, nonostante gli acari vettori siano pressoché cosmopoliti. Alcune ricerche spiegano questo fenomeno con il fatto che il virus si diffonde solo se le popolazioni degli acari raggiungono elevate densità di popolazione, circostanza che si verifica in condizioni di caldo-umido nelle aree tropicali e sub-tropicali. Un'indiretta azione di contenimento delle popolazioni di *Brevipalpus* avviene con i trattamenti antiparassitari effettuati contro altri fitofagi. Questo potrebbe spiegare la scomparsa della malattia in Florida avvenuta alla fine degli anni '70 e la presenza della stessa solo negli agrumeti del centro e sud dell'America in cui è basso l'impiego di mezzi chimici per il controllo di altri fitofagi. I predetti acari vettori sono conosciuti da tempo negli agrumeti siciliani, dove alimentano saltuarie e sporadiche infestazioni (su limone, arancio e mandarino), peraltro senza arrecare danni di rilievo o generalizzati. In ogni caso non si è mai avuto riscontro della malattia virale di cui trattasi nei nostri territori.

VETTORI DI MALATTIE VIRUS-SIMILI SOSTENUTE DA ORGANISMI PROCARIOTI

Nell'ambito delle malattie batteriche a trasmissione entomatica si hanno alcuni casi di rilevante interesse economico per l'agrumicoltura. Fra queste emerge lo *Huanglongbing* (HLB) o *Greening disease*, paventata come una malattia di gran lunga più pericolosa della stessa tristezza (BOVÉ, 2006). A tutt'oggi, infatti, non sono stati trovati rimedi in grado di controllare questa fitopatia già responsabile d'ingenti danni economici. In Brasile, ad esempio, nel solo Stato di San Paolo a causa dello HLB sono state eradicte 18 milioni di piante tra

il 2005 e il 2012 (ADAMI *et al.*, 2014). Negli Stati meridionali degli USA e in Messico, dove è presente sia l'agente patogeno sia il vettore, sono state effettuate delle stime sulle perdite economiche potenziali che si avrebbero qualora la malattia si diffondesse seguendo le modalità già osservate in Brasile (SALCEDO *et al.*, 2010). Queste indicano chiaramente che i riflessi negativi sarebbero tali da compromettere l'intero comparto agrumicolo dei comprensori con un aumento dei costi (mancata produzione, sostituzione delle piante, trattamenti antiparassitari) talmente elevato da rendere non remunerativa la prosecuzione della stessa attività colturale.

La malattia è sostenuta da un protobatterio che invade i vasi floematici della pianta provocandone l'occlusione con conseguente disseccamento della pianta stessa (KIM *et al.*, 2009). Oggi sono riconosciute tre distinte specie del batterio agente causale dello HLB, distinguibili attraverso l'analisi del tratto di DNA 16s: *Candidatus Liberibacter africanus* presente in Africa, *Ca. L. americanus* rinvenuto solo in Brasile e Cina, *Ca. L. asiaticus* segnalato in Asia e nell'intero continente americano, che rappresenta la specie più diffusa nel mondo. La pianta, di norma, mostra i sintomi della malattia dopo due anni dall'infezione e muore nel volgere di 5-7 anni. Gli agenti vettori dei batteri sono gli Emitteri Psillidi *Diaphorina citri* Kuwayama e *Trioza erytreae* (Del Guercio) (AUBERT, 1987). La prima specie è originaria del Sud-Est Asiatico e in seguito diffusasi in Sud America e negli Stati meridionali degli USA. *T. erytreae* è presente nella parte centro-meridionale dell'Africa, in Arabia Saudita e nell'isola di Madeira. Essa manifesta una minore capacità di adattamento rispetto alla precedente specie, riuscendo apparentemente a svolgere il ciclo biologico soltanto in zone con clima fresco (in Africa è presente in aree collinari a 500-600 m di quota). Tuttavia è proprio attuale (febbraio 2015) la segnalazione che *T. erytreae* ha raggiunto la Spagna, nella regione della Galizia (province di Pontevedra e La Coruña) e Portogallo (area di Oporto), dove sono state intercettate colonie dell'insetto su piante di limone e di arancio (PÉREZ-OTERO *et al.*, 2015). Ivi sono state predisposte immediate iniziative volte al possibile eradicamento dell'insetto vettore. Tuttavia, la vicenda lascia indiscutibili timori sul rischio d'immissione della temuta malattia, anche se i test sinora effettuati dai colleghi spagnoli hanno dato esito negativo. L'altra psilla vettrice, *D. citri*, è responsabile della trasmissione di *Ca. L. asiaticus* e *Ca. L. americanus*, mentre *T. erytreae* è vettore di *Ca. L. africanus*, benché sia stato verificato sperimentalmente che essa può trasmettere anche *Ca. L. asiaticus*

(MASSONIE *et al.*, 1976). Sia le due psille sia gli agenti patogeni sono strettamente vincolati alle Rutacee, con una netta preferenza per le piante dei generi *Citrus* e *Murraya*. A quest'ultimo genere afferiscono specie coltivate a scopo ornamentale e, in particolare, *M. paniculata* è largamente coltivata in tutto il continente americano affermandosi, nell'ultimo decennio, anche in Europa. Negli USA la pianta ha una produzione continua di germogli e svolge un ruolo molto importante (quindi negativo) nel mantenimento delle popolazioni di *D. citri* nei periodi in cui gli agrumi sono in riposo vegetativo (TSAI *et al.*, 2002). Un recente studio condotto in Florida e in Brasile ha comunque ridimensionato il ruolo di *M. paniculata*, nella quale risulta bassa la quantità di *Ca. L. asiaticus* presente sulla pianta e, di conseguenza, quella acquisibile da parte dalla psilla (WALTER *et al.*, 2012). Tuttavia, non è da sottovalutare la capacità da parte di *D. citri* di utilizzare ulteriori piante ospiti alternative per svolgere il proprio ciclo biologico, come a esempio *Severinia buxifolia*, *Zanthoxylum* spp., *Casimiroa edulis* (tutte Rutacee) (HALBERT & MANJUNATH, 2004) ma anche *Ilex glabra* (Aquifoliaceae) (MARTINI *et al.*, 2014). In seno agli agrumi le specie più gravemente attaccate sono arancio dolce, mandarino, tangelo, pompelmo, limone e arancio amaro (BOVÉ, 2006; TSAI *et al.*, 2006). Tuttavia, sono note alcune specie tolleranti al batterio, come a esempio *C. indica* e *C. macroptera* (BHAGABATI, 1993) mentre piante di pummelo e kumquat, considerate a lungo come immuni, hanno poi manifestato improvvisamente i sintomi della malattia. Questo indicherebbe che l'agente patogeno ha la capacità di mutare e superare la resistenza opposta dalla pianta (WANG & TRIVEDI, 2013). Le psille possono acquisire l'agente della malattia durante il 4°-5° stadio ninfale o quello di adulto. Tuttavia, la maggior efficienza di acquisizione (60-100%) è quella degli stadi giovanili (INOUE *et al.*, 2009). Negli adulti l'acquisizione dell'agente patogeno avverrebbe soltanto dopo una settimana di alimentazione su una pianta infetta e con un'efficienza crescente dalla seconda alla quinta settimana (PELZ-STELINSKI *et al.*, 2010). Il batterio, infatti, una volta acquisito, attraversa un periodo di latenza durante il quale si moltiplica all'interno delle ghiandole salivari e il canale digerente (XU *et al.*, 1988). La capacità di trasmissione avviene dopo 1-8 giorni dall'acquisizione e si mantiene per tutta la vita dell'insetto (HUNG *et al.*, 2004). L'efficienza di trasmissione è comunque condizionata dall'ambiente, dall'età e dallo stato fisiologico della pianta, nonché dalla specie e varietà della stessa (GOTTWALD, 2007).

A oggi non si conoscono efficaci metodi di con-

trollo della malattia. In Brasile è obbligatorio l'immediato espianto delle piante che manifestano i primi sintomi dello HLB. Inoltre, si fa larghissimo uso di trattamenti con fitofarmaci (12-24 trattamenti annui!) nel tentativo di tenere sotto controllo la presenza della psilla vettrice (BELASQUE *et al.*, 2010). In Florida, Texas e Arizona, Stati in cui la presenza della malattia e del vettore è conclamata, la strategia di controllo si sviluppa attraverso un'intensa attività di monitoraggio finalizzata a individuare le piante sintomatiche e procedere al loro immediato espianto. Inoltre il programma di controllo prevede trattamenti chimici sulle popolazioni di *D. citri* e l'uso di sostanze minerali somministrate per via fogliare per sostenere lo stato fisiologico delle piante (STANSLY *et al.*, 2014; BRLANSKY *et al.*, 2014). In California si sta operando soprattutto con un'intensa attività di monitoraggio al fine di sopprimere tempestivamente i focolai d'infezione e limitare la diffusione della malattia (WANG & TRIVEDI, 2013). L'imenottero parassitoide *Tamarixia radiata* (Waterston) ha mostrato una discreta efficacia nel controllo delle popolazioni di *D. citri* seppure non sia sufficiente ai fini del controllo della malattia (QURESHI *et al.*, 2009). Un altro parassitoide di provenienza cinese, *Diaphorencyrtus aligarhensis* (Shafee, Alam & Agarwal), viene studiato per valutarne l'efficacia e la capacità di acclimatamento in Florida e California (ROHRIG *et al.*, 2012).

L'agente patogeno della *Clorosi variegata degli agrumi* (*Citrus Variegated Chlorosis* – CVC) è la sottospecie *pauca* del batterio *Xylella fastidiosa*. La malattia è attualmente segnalata in Brasile, Argentina e Paraguay; nel primo di questi paesi essa ha interessato il 43% degli agrumi coltivati negli Stati di San Paolo e Minas Gerais (BOVÉ & AYRES, 2007). Si tratta di un batterio xilematico la cui dannosità è data dall'occlusione dei vasi conduttori con conseguente blocco del flusso linfatico. Quest'organismo patogeno si caratterizza per la grande variabilità genetica e l'elevato numero di piante ospiti suscettibili alle sue infezioni. La malattia è particolarmente temibile per l'agricoltura della regione euro-mediterranea e pertanto risulta inserita nella lista A1 dell'EPPO (EPPO, 2014). Appena poco più di un anno addietro, *X. fastidiosa pauca* è stata purtroppo rinvenuta per la prima volta in Europa nell'area del Salento (Puglia) su olivo, sul quale ha già causato estese morie (CARLUCCI *et al.*, 2013). Dopo i primi riscontri della malattia, più approfondite indagini molecolari hanno accertato che l'agente patogeno è definibile per caratteristiche proprie (ceppo CoDiRO, abbreviazione di Complesso del Disseccamento rapido dell'Olivo) (CARIDDI *et al.*,

2014) e che lo stesso, nel territorio interessato dalla malattia, è presente anche su oleandro e mandarloro, ma non su agrumi (ALMEIDA *et al.*, 2014).

Sugli agrumi la malattia si manifesta con clorosi generale, sensibile calo della produzione e morte delle piante colpite in pochi anni. Tutti gli agrumi risultano sensibili al patogeno in causa, sebbene limone, lime, alcune varietà di mandarino e pumelo siano piuttosto tolleranti. I vettori del batterio finora identificati sono cicaline e sputacchine di famiglie diverse (Cicadellidi, Afroforidi e Cercopidi), le quali lo assumono con l'alimentazione da piante infette per poi inocularlo con modalità persistente a quelle sane (REDAK *et al.*, 2004). In Brasile sono state segnalate quasi una dozzina di cicaline vettrici, ma si suppone che il loro numero sia maggiore (SERRANO *et al.*, 2010). L'efficienza di trasmissione è stata stimata dallo 0,3 al 30%, secondo la specie coinvolta (KRÜGNER *et al.*, 2000). In Puglia, *X. fastidiosa* è stata ritrovata negli oliveti sulla comune sputacchina *Xyphinema (=Philaenus) spumarius* (L.) (SAPONARI *et al.*, 2014), specie che comunemente vive su svariate piante erbacee, ma che spesso si localizza anche sui polloni dell'olivo, mentre è assai raramente riscontrabile sugli agrumi. Negli USA non è segnalata la clorosi variegata degli agrumi, ma è comune il Cicadellide *Homalodisca coagulata*, che viene indicata quale efficiente vettore di *X. fastidiosa* ssp. *fastidiosa*, agente causale della malattia di Pierce della vite. Quivi è stato provato che *H. coagulata* può vivere anche su agrumi e trasmettervi la ssp. *pauca*, agente di CVC (CASTLE *et al.*, 2005; DAMSTEEGT *et al.*, 2006). Questa cicalina è da considerare pertanto quale specie di temuta introduzione in Italia, dove potrebbe facilmente adattarsi alle condizioni climatiche delle principali aree viticole e in particolare a quelle più meridionali (LESSIO *et al.*, 2011) e quindi con potenziale pregiudizio anche per gli agrumi.

Lo *Stubborn* (*Citrus Stubborn Disease* – CSD) è una malattia presente in alcuni paesi Mediterraneo-orientali e negli USA. Essa è sostenuta dal batterio *Spiroplasma citri* che alligna principalmente in aree aride a clima secco e la cui dannosità si appalesa con alterazioni ai frutti (che rimangono piccoli e induriti) e forte riduzione produttiva. Le piante stesse si avviano a lento e progressivo declino, mentre se infettate da giovani, rimangono piccole e improduttive (MELLO *et al.*, 2010). La trasmissione del batterio, avviene con l'innesto ovvero mediante vettori appartenenti alla famiglia dei Cicadellidi. Nell'area mediterranea è coinvolto *Circulifer haematiceps* (Mulsant & Rey), mentre negli USA si segnalano *C.*

tenellus (Baker), *Scaphytopius nitridus* DeLong e *Oncometopia nigricans* Stal. La trasmissione avviene soprattutto nei periodi più aridi dell'anno, in cui le cicaline, per alimentarsi, si spostano dalle piante erbacee ormai secche a quelle degli agrumi (BOVÉ, 1986a). È interessante notare che l'agente patogeno si rinviene anche su varie piante spontanee (es. diverse Crucifere e Ombrellifere) le quali rappresentano quindi i naturali serbatoi della malattia (BAR-JOSEPH & CATARA, 2010).

Un'ultima malattia di relativa recente scoperta è il *Witches' broom disease of lime* (WBDL), il cui agente causale è il fitoplasma *Candidatus Phytoplasma aurantifolia*, segnalato per i danni causati su limetta in Oman (BOVÉ, 1986b) e su un ibrido di mandarino in Iran (DJAVEHERI & RAHIMIAN, 2004). Per quanto conosciuto, quest'agente patogeno è trasmesso dalla cicalina *Hishimonus phycitis* (Distant) (BAGHERI *et al.*, 2009).

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Alcune malattie degli agrumi sostenute da agenti patogeni di origine virale o virus-simile (procarioti) trovano la loro naturale diffusione a opera di organismi vettori (insetti e acari).

Fra esse la tristezza, manifestatasi da circa un decennio in forma epidemica in Italia, ha assunto un'importanza economica di primo livello poiché comporta, in tempi brevi dalla prima manifestazione dei sintomi, mancata produzione e successiva morte delle piante colpite. Il virus viene trasmesso da afidi vari e, come ben noto, attacca essenzialmente l'arancio innestato su arancio amaro, combinazione d'innesto largamente utilizzata nell'agrumicoltura italiana. Per impedire quest'inconveniente oggi si ricorre a portinnesti tolleranti che garantiscono il controllo della malattia. Tuttavia il panorama epidemiologico potrebbe ulteriormente deteriorarsi con l'accidentale introduzione di ceppi dello stesso virus in grado di superare la resistenza dei portinnesti tolleranti, ovvero con l'accesso accidentale dell'afide tropicale degli agrumi, ritenuto a elevata capacità di trasmissione del virus.

In aggiunta alla "tristezza", permane elevato il rischio d'introduzione o di ulteriore diffusione nell'area del Mediterraneo e quindi anche in Italia di altre temute malattie a sintomatologia virus-simile sostenute da batteri. Fra queste, preminente gravità possono assumere la clorosi variegata, lo stubborn e lo huanglongbing, le prime due veicolate da cicaline e la terza da psille. La clorosi variegata è sostenuta da un bacillo polifago che si differenzia in vari ceppi, uno dei quali si è purtrop-

po insediato in Italia nel Salento su olivo. Di conseguenza si teme adesso che lo stesso agente patogeno possa attaccare anche gli agrumi. Analogo rischio, sebbene più attenuato, potrebbe comportare lo stubborn, diffuso in estese aree del Mediterraneo orientale, sebbene in condizioni pedoclimatiche differenti da quelle delle regioni agrumicole italiane. Infine, lo huanglongbing rappresenta un'altra malattia diffusa su estesi territori in Asia, Africa e Sud America e che da qualche anno sta dilagando in Centro America e in tutti gli Stati meridionali degli USA. L'agente patogeno è trasmesso da due specie di psille che vivono sugli agrumi. La malattia non è ancora giunta nell'area del Mediterraneo, ma uno dei suoi vettori, *Trioza erytreae*, è stato recentemente rinvenuto in Galizia (Spagna). Quest'ultimo fatto deve fare ancor più innalzare le misure di allerta verso il rischio di accidentale introduzione dei vettori e della malattia, poiché l'intensità dei commerci di prodotti agricoli a livello ormai globale non mette al riparo alcun territorio.

Da quanto brevemente tracciato si può facilmente evincere come sia oltremodo importante eseguire a livello fitosanitario regionale e nazionale un'attenta azione di vigilanza preventiva e di monitoraggio volta a impedire accidentali introduzioni o a localizzare tempestivamente eventuali focolai d'infestazione a tutela dell'agrumicoltura italiana.

RIASSUNTO

Nella presente nota vengono riportate le attuali conoscenze sui più importanti artropodi vettori delle principali malattie da virus e da virus-simili degli agrumi, nonché le modalità di trasmissione, i danni che possono arrecare alle piante e le possibilità di controllo. Diversi vettori e agenti patogeni non sono ancora presenti nel territorio italiano e i controlli fitosanitari devono essere indirizzati a impedirne l'ingresso a tutela dell'agrumicoltura.

BIBLIOGRAFIA

- ADAMI A.C.O., MIRANDA S.H.G., BASSANEZI R.B., 2014 – *Benefit-cost analysis of Huanglongbing management in Sao Paulo, Brazil*. – J. Citrus Pathol., 1: 218.
- ALMEIDA R.P.P., BOSCO D., PORCELLI F., 2014 – *Xylella fastidiosa in Italia – aspetti entomologici di un problema agrario emergente*. – XXIV Congr. Naz. It. Entom., Orosei (NU) 9 giugno 2014, 97-98.
- AUBERT B., 1987 – *Trioza erytreae (Del Guercio) and Diaphorina citri Kuwayama (Homoptera: Psylloidea), the two vectors of citrus greening disease: biological aspects and possible control strategies*. – Fruits, 42: 149-162.
- BAGHERI A.N., SALEHI M., FAGHIHI M.M., SAMAVI S., SADEGHI A., 2009 – *Transmission of Candidatus Phytoplasma aurantifolia to Mexican lime by the*

- leafhopper* Hishimonus phycitis in Iran. J. Plant Pathol., 91: 84-105.
- BARBAGALLO S., COCUZZA G., CRAVEDI P., KOMAZAKI S., 2007 – *IPM case studies: tropical and Subtropical fruit trees*. In: van Emden H.F., Harrington R. (eds.). Aphids as crop pests. CAB International; Wallingford, UK, 663-676.
- BAR-JOSEPH M., CATARA A., 2010 – *Endemic and emerging vector-borne Mediterranean citrus diseases and their epidemiological consequences*. In: Vacante V. & Gerson U. (Eds.). *Integrated Control of Citrus Pests in the Mediterranean Region*. Bentham Science Publ., 137-155.
- BELASQUE J.R., BASSANEZI R.B., YAMAMOTO P.T., AYRES A.J., TACHIBANA A., VIOLANTE A.R., TANK A. JR., DI GIORGI F., TERSI F.E.A., MENEZES G.M., DRAGONE J., JANK R.H.JR., BOVÉ J.M., 2010 – *Lessons from Huanglongbing management in São Paulo State, Brazil*. – J. Plant Pathol., 92: 285-302.
- BHAGABATI K.N., 1993 – *Survey of greening disease of mandarin orange in the north-eastern states of India*. – Proc. 12th Conf. IOCV, Riverside, California, 441-442.
- BLACKMAN R.L., EASTOP V.F., 2000 – *Aphids on the World's Crops: an identification and information guide*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 1-476.
- BOVÉ J.M., 1986a – *Stubborn and its natural transmission in the Mediterranean area in the Near East*. FAO Plant Protection Bulletin, 34: 15-23.
- BOVÉ J.M., 1986b – *Outbreaks and new records. Oman. Witches' broom disease of lime*. FAO Plant Protection Bulletin, 34: 217-218.
- BOVÉ J.M., 2006 – *Huanglongbing: a destructive, newly emerging, century-old disease of citrus*. – J. Pl. Pathol., 88: 7-37.
- BOVÉ J.M., AYRES A.J., 2007 – *Etiology of three recent diseases of Citrus in São Paulo State: Sudden Death, Variegated Chlorosis and Huanglongbing*. – IUBMB Life, 59: 346-354.
- BRLANSKY R.H., DEWDNEY M.M., ROGERS M.E., 2014 – *Florida Citrus Pest Management Guide: Huanglongbing (Citrus Greening)*. – UF/IFAS Extension, Univ. Florida. <http://edis.ifas.ufl.edu/ch086>
- BROWN L.G., DENMARK H.A., YOKOMI R.K., 1988 – *Citrus Tristeza Virus and its vectors in Florida*. – Plant Pathology Circular n. 311-1988.
- CAMBRA M., GORRIS M.T., MARROQUÍN C., ROMÁN M.P., OLMOS A., MARTÍNEZ M.C., HERMOSO DE MENDOZA A., LÓPEZ A., NAVARRO L., 2000 – *Incidence and epidemiology of Citrus tristeza virus in the Valencian Community of Spain*. – Virus Res., 71: 85-95.
- CARIDDI C., SAPONARI M., BOSCIA D., DE STRADIS A., LOCONSOLE G., NIGRO F., PORCELLI F., POTERE O., MARTELLI G.P., 2014 – *Isolation of a Xylella fastidiosa strain infecting olive and oleander in Apulia*. J. Pl. Pathol., 96: 425-429.
- CARLUCCI A., LOPS F., MARCHI G., MUGNAI L., SURICO G., 213 – *Has Xylella fastidiosa "chosen" olive trees to establish in the Mediterranean basin?* Phytopathologia Mediterranea, 52: 541-544.
- CARUSO A., DAVINO M., DAVINO S., AGOSTEO G.E., SORRENTINO G., 2006 – *Gravi infestazioni del virus della "Tristeza" degli agrumi (CTV) mettono a rischio l'agrumicoltura calabrese*. - Inf. Agrario, 56: 5-6.
- CASTLE S.J., NARANJO S.E., BI J.L., BYRNE F.J., TOSCANO N.C., 2005 – *Phenology and demography of Homalodisca coagulata (Hemiptera: Cicadellidae) in southern California citrus and implications for management*. – Bull. Entom. Res., 95: 621-634.
- CATARA A., BARBAGALLO S., SAPONARI M., 2008 – *Il caso "tristeza" degli agrumi*. In: I Georgofili - Quaderni 2007-VI, giornata di studio "Globalizzazione e difesa delle colture", 27 novembre 2007. Ed. Polistampa, Firenze, 123-138.
- DAMSTEEGT V.D., BRLANSKY R.H., PHILLIPS P.A., ROY A., 2006 – *Transmission of Xylella fastidiosa, causal agent of citrus variegated chlorosis by the glassy-winged sharpshooter, Homalodisca coagulata*. – Plant Disease, 90: 567-570.
- DAVINO M., AREDDIA A., POLIZZI G., PATTI I., 1989 – *Aphid transmissibility of some isolates of citrus tristeza virus (CTV) under restrict environment in Sicily*. Proc. Meeting of the EC-Expert Group, Euraphid Network: Trapping and Aphid prognosis, Catania, 7-9 November 1988, 237-244.
- DAVINO S., DAVINO M., SAMBADE A., GUARDO M., CARUSO A., 2003 – *The first Citrus tristeza virus outbreaks found in a relevant Citrus producing area of Sicily, Italy*. – Plant Disease, 87: 314.
- DAWSON T.R., MOONEY P.A., 2000 – *Evidence for trifoliolate resistance breaking isolates of Citrus Tristeza Virus in New Zealand*. – Proc. 14th Conf., Riverside, California: 69-76.
- DJAVAHERI M., RAHIMIAN H., 2004 – *Witches' broom in Bakraee (Citrus reticulata hybrid) in Iran*. Plant Disease, 88: 683.
- EPPO, 2014 – www.eppo.int/quarantine/bacteria/xylella_fastidiosa/xylella_ds.pdf
- GOTTFWALD T.R., GARNSEY S.M., CAMBRA M., MORENO P., IREY M., BARBÓN J., 1996 – *Differential effects of Toxoptera citricida vs. Aphis gossypii on temporal increase and spatial spread of citrus Tristeza*. – Proc. 13th IOCV, Riverside, California, 120-129.
- GOTTFWALD T., ABREU-RODRIGUEZ E., YOKOMI R., STANSLY P., RILEY T., 2002 – *Effects of chemical of aphid vectors control and cross-protection on the increase and spread of CTV*. – Proc. 15th Conf. IOCV, Riverside, California, 117-130.
- GOTTFWALD T.R., 2007 – *Citrus canker and citrus Huanglongbing, two exotic bacterial diseases threatening the citrus industry of the Western hemisphere*. – Outlooks on Pest Management, 18: 274-279.
- HALBERT S.E., MANJUNATH K.L., 2004 – *Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease of citrus: a literature review and assessment of risk in Florida*. – Fla Entomol., 87: 330-353.
- HARPER S.J., DAWSON T.E., PEARSON M.N., 2010 – *Isolates of Citrus Tristeza Virus that overcome Poncirus trifoliolate resistance comprise a novel strain*. – Arch. Virol., 155: 471-480.
- HERMOSO DE MENDOZA A., BALLESTER-OLMOS J.F., PINA J.A., 1988 – *Comparative aphid transmission of a common Citrus Tristeza virus isolate and a seedling yellows isolate recently introduced into Spain*. – Proc. 10th Conf. IOCV, Riverside, California, 68-70.
- HERMOSO DE MENDOZA A., PINA J.A., BALLESTER-OLMOS J.F., NAVARRO F., 1993 – *Persistent transmission of Citrus Vein Enation Virus by Aphis gossypii and Myzus persicae*. – Proc. 12th Conf. IOCV, Riverside, California, 361-362.
- HERMOSO DE MENDOZA A., ÁLVAREZ A., MICHELENA J.M., GONZÁLEZ P., CAMBRA M., 2008 – *Toxoptera citricida (Kirkaldy) (hemiptera, Aphididae) and its natural enemies in Spain*. – IOBC/wpers Bull. Vol. 38: 225-232.
- HUNG T.H., HUNG S.C., CHEN C.N., HSU M.S., SU H.J.,

- 2004 – *Detection by PCR of 'Candidatus Liberibacter asiaticus', the bacterium causing citrus huanglongbing in vector psyllids: application to the study of vector-pathogen relationships.* – Plant Pathol., 53: 96-102.
- ILHARCO F.A., SOUSA-SILVA C.R., ÁLVAREZ A.A., 2005 – *First report of Toxoptera citricidus (Kirkaldy) in Spain and Continental Portugal (Homoptera, Aphidoidea).* – Agronomia Lusitana, 51: 19-21.
- ILHARCO F.A., SOUSA-SILVA C.R., 2009 – *Toxoptera citricidus (Kirkaldy, 1907) (Homoptera, Aphidoidea), the tropical citrus aphid in Continental Portugal.* – Options Méditerranéennes B, 65: 53-58.
- INOUE H., OHNISHI J., ITO T., TOMIMURA K., MIYATA S., IWANAMI T., ASHIHARA W., 2009 – *Enhanced proliferation and efficient transmission of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' by adult Diaphorina citri after acquisition feeding in the nymphal stage.* – Ann. Appl. Biol., 155: 29-36.
- KIM J.S., SAGARAM U.S., BURNS J.K., LI J.L., WANG N., 2009 – *Response of sweet orange (Citrus sinensis) to 'Candidatus Liberibacter asiaticus' infection: microscopy and microarray analyses.* – Phytopathology, 99: 50-57.
- KORKMAZ S., ÇINAR A., KERSTING U., GARNSEY S.M., 1995 – *Citrus chlorotic dwarf: a new whitefly-transmitted virus-like disease of Citrus in Turkey.* – Plant Disease, 79: 1074.
- KRÜGNER R., LOPES M.T.V., SANTOS J.S., BERETTA M.J., G., LOPES J.R.S., 2000 – *Transmission efficiency of Xylella fastidiosa to citrus by sharpshooters and identification of two new vector species.* Proc. 14th Conf. IOCV, Riverside, California, 423.
- LESSIO F., FERRACINI C., ALMA A., 2011 – *Gli insetti esotici della vite: due specie di temuta introduzione per la Sicilia.* – Biogeographia, 30: 543-550.
- LOEZA-KUK E., OCHOA-MARTÍNEZ D.L., MORA-AGUILERA G., RIVAS-VALENCIA P., GUTIÉRREZ-ESPINOSA A.A., CINTRA DE JESÚS JUNIOR W., VILLEGAS-MONTER Á., ARNO-WULFF N., PEREZ-MOLPHE-BALCH E., 2008 – *Detection of Citrus sudden death-associated virus and haplotypes of Citrus tristeza virus in Toxoptera citricida and Aphis spiraecola and implication on citrus sudden death in Brazil.* – Agrociencia, 42: 669-678.
- LO GIUDICE V., 2009 – *Contro la tristeza degli agrumi è preferibile il reimpianto.* – Inf. Agrario, 13: 63-65.
- MACCHERONI W., ALEGRIA M.C., GREGGIO C.C., PIAZZA J.P., KAMLA R.F., ZACHARIAS P.R., BAR-JOSEPH M., KITAJIMA E.W., ASSUMPTO L.C., CAMAROTTE G., CARDOZO J., CASAGRANDE E.C., FERRARI F., FRANCO S.F., GIACHETTO P.F., GIRASOL A., JORDÃO H.JR., SILVA V.H., SOUZA L.C., AGUILAR-VILDOSO C.I., ZANCA A.S., ARRUDA P., KITAJIMA J.P., REINACH F.C., FERRO J.A., DA SILVA A.C., 2005 – *Identification and genomic characterization of a new virus (Tymoviridae Family) associated with Citrus Death Disease.* – J. Virol., 79: 3028-3057.
- MAHARAJ S.B., DA GRAÇA J.V., 1989 – *Transmission of Citrus Vein Enation Virus by Toxoptera citricidus.* – Phytophylactica, 21: 81-82.
- MARTINI X., ADDISON T., FLEMING B., JACKSON I., STELINSKI L.L., 2014 – *Occurrence of Diaphorina citri Kuwayama in an unexpected ecosystem: the Lake Kissimmee State Park Forest, Florida.* – J. Citrus Pathol., 1: 102.
- MASSONIE G., GARNIER M., BOVÉ J.M., 1976 – *Transmission of Indian citrus decline by Trioza erytrae, the vector of South African greening.* – Proc. 7th Conf. IOCV, Riverside, California, 18-20.
- MELLO A.F.S., YOKOMI R.K., FLETCHER J., 2010 – *Assessment of citrus stubborn disease incidence in Citrus.* – Proc. 17th Conf. IOCV, Riverside, California, 123-130.
- MICHAUD J.P., 1998 – *A review of the literature on Toxoptera citricida (Kirkaldy) (Homoptera: Aphididae).* – Fla Entom., 81: 37-61.
- MORENO P., AMBRÓS S., ALBIACH-MARTÍ M.R., GUERRI J., PEÑA L., 2008 – *Citrus tristeza virus: a pathogen that changed the course of citrus industry.* – Mol. Plant Pathol., 9: 251-268.
- ÖNELGE N., SATAR S., ELIBÜYÜK Ö., BOZAN O., KAMBERO LU M., 2011 – *Transmission studies on Citrus yellow vein clearing virus.* – Proc. 18th Conf. IOCV, Riverside, California.
- PELZ-STELINSKY K.S., BRLANSKY R.H., EBERT T.A., ROGERS M.E., 2010 – *Transmission parameters for 'Candidatus Liberibacter asiaticus' by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae).* – J. Econ. Entomol., 103: 1531-1541.
- PÉREZ-OTERO R., MANSILLA J.P., DEL ESTAL P., 2015 – *Detección de la psila Africana de los cítricos, Trioza erytrae (Del Guercio, 1918) (Hemiptera: Psylloidea: Triozidae), en la Península Ibérica.* – Archivos Entomológicos Galegos, 13: 119-122.
- POWELL C.A., PELOSI R.R., BURTON M.S., RUNDELL P.A., RITENOUR M.A., BULLOCK R.C., 2005 – *Natural field spread of decline and nondecline inducing isolates of Citrus Tristeza Virus in Florida after the introduction of the brown citrus aphid.* – HortScience, 40: 691-693.
- QURESHI J.A., ROGERS M.E., HALL D.G., STANSLY P.A., 2009 – *Incidence of invasive Diaphorina citri (Hemiptera: Psyllidae) and its introduced parasitoid Tamarixia radiata (Hymenoptera: Eulophidae) in Florida citrus.* – J. Econ. Entomol., 102: 247-256.
- RAPISARDA C., SISCARO G., LEOCATA S. & C. ASERO, 1990 – *Parabemisia myricae, un nuovo aleirode degli agrumi in Italia.* – Inf. Fitopatol., 40: 25-30.
- REDAK R.A., PURCELL A.H., LOPES J.R.S., BLUA M.J., MIZELL III R.F., ANDERSON P.C., 2004 – *The biology of xylem fluid-feeding insect vectors of Xylella fastidiosa and their relation to disease epidemiology.* – Ann. Rev. Entom., 49: 243-270.
- ROHRIG E.A., HALL D.G., QURESHI J.A., STANSLY P.A., 2012 – *Field release in Florida of Diaphorencyrtus aligarhensis (Hymenoptera: Encyrtidae), an endoparasitoid of Diaphorina citri (Homoptera: Psyllidae), from mainland China.* – Fla Entom., 95: 479-481.
- SALCEDO D., HINOJOSA H., MORA G., COVARRUVIAS I., DEPAOLIS F., CÍNTORA C., MORA S., 2010 – *Evaluación del impacto económico de Huanglongbing (HLB) en la cadena citrícola mexicana.* – Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. <http://www.iica.int/Esp/regiones/norte/mexico/Publicaciones%20de%20la%20Oficina/B2009e.pdf>
- SAPONARI M., ABOU KUBAA R., LOCONSOLE G., PERCOCO A., SAVINO V., 2009 – *Low genetic complexity in the Citrus Tristeza Virus population spreading in Apulia.* J. Pl. Pathol., 91: 87.
- SAPONARI M., LOCONSOLE G., CORNARA D., YOKOMI R.K., DE STRADIS A., BOSCIA D., BOSCO D., MARTELLI G.P., KRUGNER R., PORCELLI F., 2014 – *Infectivity and transmission of Xylella fastidiosa Salento strain by Philaenus spumarius L. (Hemiptera: Cercopidae) in Apulia, Italy.* – J. Econ. Entomol., 107: 1316-1319.
- SERRANO D., SERRANO E., DEWDNEY M., SOUTHWICK C.,

- 2010 – *Citrus Diseases*. USDA/APHIS/PPQ Center for plant health Science and Technology. <http://idtools.org/id/citrus/diseases/factsheet>.
- STANSLY P.A., AREVALO H.A., QURESHI J.A., JONES M.M., HENDRICKS K., ROBERTS P.D., ROKA F.M., 2014 – *Vector control and foliar nutrition to maintain economic sustainability of bearing citrus in Florida groves affected by huanglongbing*. – *Pest Manag. Sci.*, DOI 10.1002/PS.3577.
- STROYAN H.L.G., 1961 – *Identification of aphids living on Citrus*. FAO Plant Protection Bulletin, 9: 45-65.
- TSAI J.H., WANG J.J., LIU Y.H., 2002 – *Seasonal abundance of the Asian citrus psyllid, Diaphorina citri (Homoptera: Psyllidae) in Southern Florida*. – *Fla Entomol.*, 85: 446-451.
- TSAI C.H., SU H.J., LIAO Y.C., HUNG T.H., 2006 – *First report of the causal agent of huanglongbing ('Candidatus Liberibacter asiaticus') infesting kumquat in Taiwan*. – *Plant Disease*, 90: 1360.
- WALTER A.J., HALL D.G., DUAN Y.-P., 2012 – *Low incidence of 'Candidatus Liberibacter asiaticus' in Murraya paniculata and associated Diaphorina citri*. – *Plant Disease*, 96: 827-832.
- WANG J.F., QIAO G.-X., 2009 – *DNA barcoding of genus Toxoptera Koch (Hemiptera: Aphididae): identification and molecular phylogeny inferred from mitochondrial COI sequences*. – *Insect Science*, 16: 457-484.
- WANG N., TRIVEDI P., 2013 – *Citrus Huanglongbing: a newly relevant disease presents unprecedented challenges*. – *Phytopathology*, 103: 652-665.
- XU C.F., XIA Y.H., LI K.B., KE C., 1988 – *Further study of the transmission of citrus Huanglongbing by a psyllid, Diaphorina citri Kuwayama*. – *Proc. 10th Conf IOCV*, Riverside, California, 243.248.
- YAMAMOTO P.T., BASSANEZI R.B., WULFF N.A., SANTOS M.A., SANCHEZ A.L., TOLOY R.S., GIMENES-FERNANDES N., AYRES A.J., 2011 – *Citrus sudden death is transmitted by graft-inoculation and natural transmission is prevented by individual insect-proof cages*. – *Plant Disease*, 95:104-112.

VETTORI DI AGENTI FITOPATOGENI: NUOVE ACQUISIZIONI SUL COMPORTAMENTO PER LO STUDIO DELL'EPIDEMIOLOGIA E LA GESTIONE

ROSEMARIE TEDESCHI (*)

(*) Dipartimento di Scienze Agrarie, Forestali e Ambientali (DISAFA), Università degli Studi di Torino, Largo P. Braccini 2, 10095 Grugliasco (TO); e-mail: rosemarie.tedeschi@unito.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Insetti vettori di agenti fitopatogeni". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 14 novembre 2014.

Insect vectors of plant pathogens: new attainments on the behavior for the study of the epidemiology and the management.

The epidemiology of plant diseases caused by insect-carried plant pathogens is a complex situation involving several components: the pathogen, the insect, the plant and the environment. Among them the insect vector has a key role. The deep knowledge of its biology, ethology, temporal and spatial dynamics as well as interactions with the pathogen can explain and in some cases predict the epidemiology of crop diseases. For these reasons these aspects are also the basis for the implementation of well-timed and efficient control strategies.

New attainments on some psyllids, leafhoppers and planthoppers as vectors of important plant disease agents are shown and new control strategies proposed.

KEY WORDS: psyllids, leafhoppers, planthoppers, phytoplasma, liberibacter

INTRODUZIONE

L'epidemiologia delle malattie delle piante causate da patogeni trasmessi da insetti vettori è un fenomeno nel quale intervengono diversi protagonisti: il patogeno, l'insetto, la pianta e l'ambiente nonché le rispettive interazioni. L'incidenza del patogeno è determinata dal suo ceppo e dalla quantità e dislocazione nella pianta. La reazione della pianta invece è funzione della sua suscettibilità al patogeno, delle eventuali infezioni multiple da diversi patogeni e/o diversi ceppi dello stesso patogeno, della suscettibilità nei confronti dell'insetto e dello stadio di sviluppo quando esposta al patogeno o all'insetto. Il ruolo dell'insetto dipende dalla dimensione della popolazione, dal numero di generazioni, dalla longevità, dai modelli di dispersione, dall'attività trofica e dalle interazioni con il patogeno. Infine i fattori ambientali, quali la temperatura, l'umidità, le correnti d'aria e le pratiche colturali aggiungono ulteriore complessità al sistema. Una conoscenza approfondita di tutti questi aspetti permette di comprendere meglio e in alcuni casi di prevedere la comparsa e la diffusione delle malattie delle colture e di conseguenza di poter mettere a punto delle strategie di controllo più mirate e tempestive.

Buona parte degli insetti vettori di agenti fitopatogeni appartengono all'ordine Hemiptera, sot-

tordine Homoptera, dove troviamo sia vettori di virus come aleirodidi e cocciniglie sia vettori di fitoplasmi, liberibacter e altri batteri, quali psillidi, cicadelle e cixiidi.

Verranno qui esposte nuove importanti acquisizioni su alcuni insetti che sono oggi preoccupanti per l'Europa intera e nello specifico per l'Italia, perché vettori di agenti fitopatogeni già molto diffusi e con serie ripercussioni su colture economicamente rilevanti o di patogeni emergenti che potrebbero rappresentare un grave rischio per il prossimo futuro.

CACOPSYLLA MELANONEURA VETTORE DI 'CANDIDATUS PHYTOPLASMA MALI' AL MELO

Lo psillide *Cacopsylla melanoneura* (Förster) è il vettore di 'Candidatus Phytoplasma mali', agente causale della malattia degli scopazzi del melo. L'insetto, che compie una generazione all'anno, completa il suo sviluppo, si accoppia e ovidepone sulle due piante ospiti: melo e biancospino. Gli adulti neofarfallati, che compaiono nel mese di maggio, permangono su tali ospiti per breve tempo per poi migrare su conifere, piante rifugio per l'estivazione e lo svernamento. *C. melanoneura* è in grado di raggiungere questi rifugi grazie

alle correnti calde ascensionali che risalgono le vallate in tarda primavera, mentre in tardo inverno le piante ospiti vengono raggiunte grazie alle correnti fredde discendenti (CERMAK e LAUTERER, 2008). Solo recentemente sono stati intrapresi degli studi per approfondire le conoscenze, ancora scarse, sui siti di estivazione e svernamento e sulle interazioni psilla/piante rifugio.

Campionamenti mediante retino entomologico con manico telescopico allungabile fino a 5 m, eseguiti in Valle d'Aosta e in Piemonte a diverse altitudini, in località selezionate grazie alla presenza di correnti calde ascensionali, hanno permesso di evidenziare una maggiore concentrazione di *C. melanoneura* su piante di abete rosso, la specie dominante nelle zone indagate, ad altitudini comprese tra 1300 e 1600 m s.l.m. (PIZZINAT *et al.*, 2011). *C. melanoneura* sembra comunque avere una certa predilezione per l'abete bianco, seguito in egual misura da abete rosso e pino cembro, potendo pur sopravvivere, anche se in misura nettamente inferiore, su pino silvestre e su larice, fintanto che questo mantiene gli aghi (PIZZINAT *et al.*, 2011). La possibilità di seguire l'intero ciclo biologico dell'insetto e il fatto di aver individuato alcuni dei siti di estivazione e svernamento, dove *C. melanoneura* trascorre gran parte dell'anno e dove parrebbe svolgere una certa attività trofica, apre nuove opportunità sullo studio delle interazioni tra vettore e fitoplasma e quindi sull'epidemiologia della malattia al fine anche di delineare strategie di difesa più mirate e tempestive. Di particolare interesse è la definizione di tutti quei fattori che influenzano l'inizio della migrazione in tardo inverno, in modo da poter prevedere l'arrivo della psilla su melo.

In questa ottica è stato messo a punto in Valsugana un indice di immigrazione basato sulle temperature rilevate in meletto e più precisamente sulla media delle temperature massime dei 7 giorni precedenti, su una soglia di immigrazione che nella zona oggetto di studio è pari a 9,5°C e sul numero di ore, rilevato sempre nei 7 giorni precedenti, con temperatura superiore a tale soglia (TEDESCHI *et al.*, 2012). Tale indice permette di prevedere l'arrivo in frutteto di *C. melanoneura*; è stato infatti dimostrato che la migrazione inizia quando l'indice di immigrazione è superiore a 0, mentre le psille iniziano a vedersi in meletto solo quando l'indice è maggiore a 2. Questi valori sono validi in Valsugana dove il modello è stato costruito, ma potrà essere facilmente validato anche in altre località aggiustando la soglia di immigrazione sulla base di dati storici di cattura della psilla in meletto o programmando campionamenti periodici "ad hoc". Non bisogna infatti sottovalutare fat-

tori geografici, quali l'orografia locale o la distanza dei siti di estivazione e svernamento dai meleti che possono diversamente influenzare gli spostamenti di *C. melanoneura*.

TRIOZA APICALIS VETTORE DI 'CANDIDATUS LIBERIBACTER SOLANACEARUM' ALLA CAROTA

Trioza apicalis Föster è una psilla originaria dell'Eurasia settentrionale e, come vettore dell'aplotipo C di 'Ca. Liberibacter solanacearum', sta causando seri danni alle coltivazioni di carota nell'Europa settentrionale, in particolare in Finlandia, Svezia e Norvegia, dove è in grado di causare fino al 100% di perdita di raccolto (MARKKULA *et al.*, 1976; BURCKHARDT, 1986; NEHLIN *et al.*, 1994; KRISTOFFERSEN e ANDERBRANT, 2007; NISSINEN *et al.*, 2007; MEADOW, 2010; MUNYANEZA *et al.*, 2010; 2014), e occasionalmente in Svizzera (BURCKHARDT e FREULER, 2000). La gravità dei danni desta notevole preoccupazione per una possibile diffusione della malattia in tutto il resto dell'Europa, alla luce anche di recenti segnalazioni in Marocco (TAHZIMA *et al.*, 2014) e in Francia (LOISEAU *et al.*, 2014), dove però il vettore non è ancora stato accertato.

'Ca. Liberibacter solanacearum' danneggia i vasi floematici delle piante di carota determinando ingiallimenti, arrossamenti e bronzature fogliari con riduzione delle dimensioni del fittone e proliferazione di radici avventizie (MUNYANEZA *et al.*, 2011).

T. apicalis si nutre e si riproduce su carota, mentre la nuova generazione, che sfarfalla tra giugno e luglio, migra su conifere, piante rifugio per l'estivazione e lo svernamento (KRISTOFFERSEN e ANDERBRANT, 2007). Gli adulti svernanti abbandonano le conifere in tarda primavera, generalmente quando le piante ospiti, la carota coltivata *Daucus carota* L. subsp. *sativus* e la carota selvatica *Daucus carota* L. subsp. *carota* stanno germogliando, nella seconda metà di maggio (LÁSKA, 2011). Recentemente sono stati fatti degli studi sui voli di *T. apicalis* a diverse latitudini (Finlandia, Norvegia, Lettonia, Repubblica Ceca, Germania meridionale, Svizzera) allo scopo di individuare i fattori determinanti l'inizio delle migrazioni, in primavera, verso la pianta ospite (LÁSKA, 2013). Tali ricerche hanno evidenziato che l'arrivo delle psille su carota è influenzato più dal fotoperiodo (sono necessarie 17 ore di luce, indipendentemente dalla latitudine) che dallo stadio fenologico della pianta ospite. È stato infatti notato che l'inizio dei voli in Finlandia e nella Repubblica Ceca è sfalsato di soli 5 giorni, mentre c'è un mese di differenza per quanto riguarda lo stadio fenologico

della pianta ospite. Questo risultato mette in luce come nei paesi più settentrionali, la psilla arriva su carota quando le piantine sono ancora molto giovani ed è per questo che i maggiori danni sono stati riscontrati nel Nord Europa. Ciò farebbe supporre una difficile diffusione del binomio *T. apicalis*/'Ca. *Phytoplasma solanacearum*' nei paesi più meridionali, anche se non si può escludere l'esistenza di altri vettori per lo stesso patogeno.

La lotta alla psilla della carota risulta particolarmente difficile, perché gli insetticidi ammessi sulla coltura spesso risultano inefficaci, probabilmente a causa della facile insorgenza di resistenze (MEADOW, 2010). Per questo motivo sono stati proposti metodi di lotta alternativi, quali per esempio l'uso di segatura di abete o di pino, che grazie alla presenza di monoterpeni svolge un'azione repellente e/o di confusione nei confronti della psilla con riduzione delle ovideposizioni e del danno. Ma il metodo più efficace e anche più promettente per combattere la psilla consiste nell'impiego di reti escludi-insetto per una copertura totale della coltura. A causa delle piccole dimensioni dell'insetto, tali reti devono avere maglie molto fini, ma ciò può comportare la creazione di un microclima caratterizzato da elevata umidità ed elevata temperatura che favoriscono lo sviluppo di diversi patogeni e di squilibri fisiologici della pianta. Per questo motivo sono state proposte delle barriere realizzate con reti escludi-insetto colorate e trattate con insetticidi in grado di attrarre gli insetti in volo e ucciderli secondo il principio dell'"attract and kill" (MEADOW, 2010).

SCAPHOIDEUS TITANUS VETTORE DEL FITOPLASMA DELLA FLAVESCENZA DORATA ALLA VITE

Scaphoideus titanus Ball, vettore del fitoplasma della Flavescenza dorata, è una specie nearctica monofaga su vite, per la quale sono previsti trattamenti chimici obbligatori: uno o due all'anno in Italia (BELLI *et al.*, 2010), due in Svizzera (JERMINI *et al.*, 2007) e 2-3 in Francia (CHUCHE e THIÉRY, 2014). Permangono però ancora diversi ecosistemi che favoriscono lo sviluppo e la diffusione di *S. titanus*, quali vigneti non trattati, a gestione biologica o abbandonati, e incolti colonizzati da viti inselvatichite (derivanti prevalentemente da ricacci di portainnesti *Vitis rupestris*, Kober 5bb, *V. riparia*×*berlandieri*, etc.).

Recentemente, nell'ambito dello studio dell'epidemiologia della Flavescenza dorata, particolare attenzione è stata posta a queste viti inselvatichite in quanto in grado di ospitare sia l'insetto vettore sia fitoplasmi del gruppo 16SrV, agenti causali

della malattia. In particolare la dispersione di *S. titanus* da viti selvatiche a viti coltivate è stata studiata con un metodo di marcatura e cattura, mediante la distribuzione di traccianti proteici (latte o albume) sugli incolti. In questo modo l'insetto, camminando sulla vegetazione trattata, si "sporca" con questi traccianti. L'applicazione della tecnica ELISA per il rilevamento del tracciante sugli insetti, catturati per mezzo di trappole cromotattiche gialle poste sia in vigneto, sia negli incolti, ha permesso di studiare la dispersione di *S. titanus* e le distanze di volo (LESSIO *et al.*, 2014).

Scaphoideus titanus è in grado di compiere sia spostamenti brevi che spostamenti lunghi dalle viti selvatiche alle viti coltivate. L'80% degli individui marcati è stato catturato entro i 30 m di distanza, ma alcuni individui hanno percorso distanze maggiori, da 330 m (LESSIO *et al.*, 2014), fino a oltre 2 Km (ALMA, 2015). Considerando che le viti selvatiche sono in grado di ospitare anche il fitoplasma della Flavescenza dorata (LESSIO *et al.*, 2007), questi movimenti dell'insetto hanno un ruolo cruciale per la dispersione della malattia. Già PAVAN *et al.* (2012) avevano notato una maggiore concentrazione di viti sintomatiche in corrispondenza dei bordi dei vigneti confinanti con incolti in cui erano presenti viti selvatiche, individuando in queste una sorgente di inoculo da non trascurare. Un'altra peculiarità di *S. titanus* è quella di disperdersi prevalentemente lungo i filari dei vigneti (LESSIO *et al.*, 2009): pertanto, se i filari sono orientati perpendicolarmente rispetto al fronte dell'incolto, il movimento del vettore e di conseguenza la trasmissione del fitoplasma della Flavescenza dorata potrà interessare un maggior numero di piante. Analogamente, la dispersione di *S. titanus* sembra seguire prevalentemente i corridoi ecologici costituiti dai vigneti e dalle viti inselvatichite (LESSIO *et al.*, 2014; ALMA, 2015). Risulta quindi fondamentale una razionale gestione degli incolti confinanti con i vigneti. Per esempio, in Piemonte, l'estirpo delle viti selvatiche ha permesso di ridurre di più dell'80% la presenza in vigneto di *S. titanus* proveniente da viti selvatiche confinanti (ALMA, 2015). Non sempre però l'estirpo è fattibile e per questo è necessario individuare strategie alternative per ridurre il rischio. Una soluzione potrebbe essere l'utilizzo di barriere con reti escludi-insetto. È stato infatti accertato che l'allestimento di barriere alte 2,5 m sui lati di un vigneto confinanti con viti selvatiche è in grado di ridurre la presenza di *S. titanus* di più del 50% (ALMA, 2015).

Considerato l'elevato grado di specificità del fitoplasma della Flavescenza dorata nei confronti

di *S. titanus*, l'epidemiologia della malattia risulta strettamente correlata con l'attività trofica di questo vettore. Recentemente è stato dimostrato, mediante elettropetrografo (EPG), che *S. titanus*, specie da sempre considerata strettamente floemomiza, possiede anche un'attività xilemomiza. Questa caratteristica è stata osservata in entrambi i sessi, ma mentre i maschi sembrerebbero nutrirsi in egual misura di floema e di xilema, le femmine hanno mostrato una maggiore attività xilemomiza, sia per quanto riguarda il numero delle suzioni che la loro durata (CHUCHE e THIÉRY, 2014). I maschi di *S. titanus* avrebbero quindi una maggiore probabilità di acquisire il fitoplasma e successivamente di inocularlo, risultando più efficienti come vettori rispetto alle femmine. Questi risultati avvalorerebbero studi precedenti che hanno dimostrato una maggiore infettività dei maschi (LESSIO *et al.*, 2009) e dal punto di vista gestionale renderebbero meno preoccupanti le popolazioni di *S. titanus* presenti in vigneto a fine stagione, in quanto composte prevalentemente da femmine (LESSIO *et al.*, 2009).

HYALESTES OBSOLETUS VETTORE DI 'CA. PHYTOPLASMA SOLANI' ALLA VITE

Anche nel caso del binomio *Hyaletthes obsoletus* Signoret/'*Ca. Phytoplasma solani*', l'epidemiologia della malattia del Legno nero è fortemente influenzata dalla dispersione dell'insetto vettore e ancora di più dal range delle piante ospiti. È ormai appurata l'associazione di diverse popolazioni di *H. obsoletus* con diverse piante ospiti e diversi ceppi del fitoplasma tanto che diverse host-races genetiche sono state identificate in Europa centrale, con presenza di cicli distinti in relazione alla presenza di ortica e/o convolvolo, mentre la vite rappresenta solo un ospite finale (IMO *et al.*, 2013). Di conseguenza recentemente è stata data particolare attenzione alle associazioni di *H. obsoletus* con queste piante spontanee allo scopo di sviluppare efficaci strategie di controllo del vettore. Ortica e convolvolo non condividono gli stessi spazi in vigneto: il convolvolo di solito cresce all'interno del vigneto e di conseguenza, quando questo è presente, si nota una distribuzione casuale o raggruppata delle viti infette da '*Ca. Phytoplasma solani*'; al contrario l'ortica è tipicamente concentrata ai bordi del vigneto (lungo le capezzagne o gli incolti) e di conseguenza, in sua presenza, viene osservato un gradiente di piante infette dai bordi al centro del vigneto (MORI *et al.*, 2008). Quindi, a seconda delle associazioni vettore/pianta ospite presenti, la gestione delle piante

spontanee dovrà essere diversa. CARGNUS *et al.* (2012) hanno evidenziato che le popolazioni associate all'ortica sfarfallano più tardi rispetto a quelle associate al convolvolo. Questo è legato al fatto che su convolvolo la totalità degli individui sverna come ninfa di I età, mentre su ortica la maggior parte degli individui sverna come neanide di II età. Questo si ripercuote ovviamente sul momento del picco di volo: appurato che per *H. obsoletus* il picco di volo si osserva 4-5 settimane dopo i primi sfarfallamenti (MAIXNER e JOHANNESSEN, 2014), in vigneti delle province di Reggio Emilia e Modena è stato osservato un picco a metà giugno per popolazioni associate a convolvolo, e un picco a metà luglio per popolazioni associate a ortica (NICOLA MORI, comunicazione personale). Questi risultati permettono di definire delle strategie di intervento più mirate e soprattutto più tempestive a seconda che si debba contenere una popolazione di *H. obsoletus* associata a ortica o convolvolo. È infatti importante poter colpire, con diserbo chimico o meccanico, le piante spontanee solo nel momento in cui esse ospitano gli stadi giovanili, altrimenti si favorirebbe lo spostamento degli adulti su vite (MORI *et al.*, 2011; 2012)

REPTALUS PANZERI VETTORE DI 'CA. PHYTOPLASMA SOLANI' AL MAIS

Sebbene la malattia del Maize Redness, causata da '*Ca. Phytoplasma solani*' sia rimasta circoscritta per più di 50 anni ad alcune parti della Serbia, recentemente è stata segnalata anche nei paesi limitrofi (Bosnia, Bulgaria, Croazia, Romania, Ungheria) e nel 2009 anche nel Nord Italia, nella provincia di Mantova (ACS *et al.*, 2011; CALARI *et al.*, 2010; KOVAČEVIĆ *et al.*, 2014). A causa di questa recente diffusione, la ricerca dell'insetto vettore si è resa una priorità. In Serbia è stata osservata una elevata presenza del cixiide *Reptalus panzeri* (Löw) in prossimità di piante di mais infette e il 20% degli individui è risultato a sua volta infetto (JOVIĆ *et al.*, 2010). *R. panzeri* è sempre stata considerata specie arboricola e il reperimento di un elevato numero di individui, sia giovani che adulti, su piante di mais ha fatto supporre la comparsa di un host-shift di popolazioni di *R. panzeri* da piante arboree e arbustive a mais/frumento con una certa predilezione per il mais. Prove di trasmissione controllata hanno dimostrato l'attività vettrice di questo insetto e la rotazione mais-frumento sembra particolarmente favorevole allo sviluppo degli stadi giovanili e allo svernamento con conseguente sfarfallamento di un elevato numero di adulti infetti. Le uova vengono infatti deposte

nel suolo in vicinanza delle piante di mais a fine luglio-inizio agosto quando il mais è già infetto, le neanidi di 1^a età si nutrono sulle radici di mais, ma quelle di 2^a e le ninfe di 1^a età si sviluppano quando sono già presenti le radici di frumento che viene sovraserminato sul mais e sulle quali svernano. In primavera le ninfe di 2^a e 3^a età si nutrono attivamente sulle radici di frumento, mentre lo sfarfallamento coincide con la raccolta del frumento, quindi gli adulti infetti si spostano su mais e trasmettono il patogeno (JOVIĆ, 2012).

Alla luce di questi risultati, sarà utile evitare la rotazione/vicinanza del mais con cereali vernini, nonché anticipare la semina del mais per evitare l'attacco in una fase fenologica precoce con conseguente maggiori infezioni, maggiore intensità dei sintomi e maggiori perdite del prodotto. Sarà inoltre importante ridurre l'aratura che rende il suolo più favorevole alla sopravvivenza dei giovani.

RIASSUNTO

L'epidemiologia delle fitopatie trasmesse da insetti vettori deriva da un complesso di interazioni tra il patogeno, la pianta, l'insetto e l'ambiente. Di particolare importanza risulta il ruolo degli insetti vettori, infatti una profonda conoscenza della loro biologia, etologia, e dinamiche spazio-temporali è in grado di spiegare e in alcuni casi prevedere l'epidemiologia delle più gravi malattie delle nostre colture. Questi aspetti sono anche alla base della messa a punto di strategie di controllo efficaci e tempestive. Nuove acquisizioni sul comportamento di psillidi, cicaline e cixiidi vettori degli agenti causali di importanti fitoplasmosi ed altre malattie batteriche di attuale interesse vengono descritte e nuove strategie di difesa proposte

BIBLIOGRAFIA

- ACS Z., JOVIĆ J., EMBER I., CVRKOVIĆ T., NAGY Z., TALABER C., GERGELY L., TOŠEVSKI I., KOLBER M., 2011 – *First report of maize redness disease in Hungary*. - B. Insectol., 64: S229-S230.
- ALMA A., 2015 – *Elaborazione di un protocollo di monitoraggio e difesa per Scaphoideus titanus, vettore della Flavescenza dorata*. «UNA BATTAGLIA VITALE» Tre anni di ricerche sulla Flavescenza dorata, 5 febbraio 2015, Asti (<http://www.astidocgblog.com/blog/wp-content/uploads/2015/02/Alma.pdf>).
- BELLI G., BIANCO P.A., CONTI M., 2010. – *Grapevine yellows in Italy: past, present and future*. - J. Plant Pathol., 92(2): 303-326.
- BURCKHARDT D. 1986 – *Taxonomy and host plant relationships of the Trioza apicalis Förster complex (Hemiptera, Homoptera: Triozidae)*. - Entomologica Scandinavica, 16: 415-432.
- BURCKHARDT D., FREULER J., 2000 – *Jumping plantlice (Hemiptera, Psyllodea) from sticky traps in carrot fields in Valais, Switzerland*. - Mitt. Schweiz. entomol. Ges., 73: 191-209.
- CALARI A., CONTALDO N., ARDIZZI S., BERTACCINI A., 2010 – *Phytoplasma detection in corn with reddening in Italy*, In: Current status and perspectives of phytoplasma disease research and management, Bertaccini A., Laviña A., Torres E., Eds.- Sitges, Spain, February 1-2, p. 5.
- CARGNUS E., PAVAN F., MORI N., MARTINI M., 2012 – *Identification and phenology of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cixiidae) nymphal instars*. - B. Entomol. Res., 102: 504-514.
- CERMAK V., LAUTERER P., 2008 – *Overwintering of psyllids in South Moravia (Czech Republic) with respect to the vectors of the apple proliferation cluster phytoplasmas*. - B. Insectol., 61:147-148
- CHUCHE J., THIÉRY D., 2014 – *Can differences in feeding behaviour between Scaphoideus titanus males and females be related to phytoplasma transmission efficiency?* - IOBC-WPRS Bull. 105: 177-183.
- IMO M., MAIXNER M., JOHANNESSEN J., 2013 – *Sympatric diversification vs. immigration: deciphering host-plant specialization in a polyphagous insect, the stolbur phytoplasma vector Hyalesthes obsoletus (Cixiidae)*. - Mol. Ecol., 22 (8): 2188-2203.
- JERMINI M., LINDER C., COLOMBI L., MARAZZI C., 2007 – *Lutte obligatoire contre le vecteur de la flavescence dorée au Tessin*. - Revue suisse Vitic. Arboric., Hortic. 39(2): 102-106.
- JOVIĆ J., 2012 – *Maize redness a serious threat to corn production Disease epidemiology and strategies for control of the insect vector Reptalus panzeri*. "International Symposium on Current Trends in Plant Protection" 25 – 28 September, 2012 Belgrade, Serbia (<http://www.izbis.com/aktuelnosti2012/okrugli-sto/jovic-j-maize-redness-a-serious-threat-to-corn-production.pdf>).
- JOVIĆ J., CVRKOVIĆ T., MITROVIĆ M., PETROVIĆ A., KRSTIĆ O., KRNJAJIĆ S., REDINBAUGH M.G., PRATT R.C., TOŠEVSKI I., 2010 – *Maize redness disease – a host shift by Reptalus panzeri?* Book of Abstracts IXth European Congress of Entomology, 22-27 August 2010, Budapest Hungary: 113.
- KOVAČEVIĆ M., ĐURIĆ Z., JOVIĆ J., PERKOVIĆ G., LOLIĆ B., HRNČIĆ S., TOŠEVSKI I., DELIĆ D., 2014 – *First Report of Stolbur Phytoplasma Associated with Maize Redness Disease of Maize in Bosnia and Herzegovina*. - Plant Dis., 98: 418-418.
- KRISTOFFERSEN L., ANDERBRANT O., 2007 – *Carrot psyllid (Trioza apicalis) winter habitats-insights in shelter plant preference and migratory capacity*. - J. Appl. Entomol., 131: 174-178.
- LASKA P., 2011 – *Biology of Trioza apicalis - A review*. - Plant Prot. Sci., 47: 68-77.
- LASKA P., 2013 – *Migration flight of carrot psyllid (Trioza apicalis) at various latitudes is independent of local phenology*. - Plant Prot. Sci., 49(4): 187-92.
- LESSIO F., BORGOGNO MONDINO E., ALMA A., 2009 – *Spatial correlation of Scaphoideus titanus Ball adults on European grapevine at a plot scale: a case study*. Extended abstracts 16th Meeting of ICVG, Dijon, France, 31 Aug-4 Sept 2009, 166-167.
- LESSIO F., TEDESCHI R., ALMA A., 2007 – *Presence of Scaphoideus titanus Ball on American grapevine in woodlands, and infection with FD phytoplasmas*. - B. Insectol., 60 (2): 373-374.
- LESSIO F., TOTA F., ALMA A., 2014 – *Tracking the dispersion of Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera: Cicadellidae) from wild to cultivated grapevine: use of a novel mark-capture technique*. - Bull. Entomol. Res., 104: 432-443.

- LOISEAU M., GARNIER S., BOIRIN V., MERIEAU M., LEGUAY A., RENAUDIN I., RENVOISÉ J., AND GENTIT P., 2014 – *First report of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in carrot in France.* - Plant Dis., 98: 839.
- MAIXNER M., JOHANNESSEN J. 2014 – *Optimized monitoring of host populations of the Bois noir vector, Hyalesthes obsoletus, based on flight phenology observations.* - IOBC/WPRS Bul., 105: 151-157.
- MARKKULA M., LAUREMA S., TITTANEN K. 1976 – *Systemic damage caused by Trioza apicalis on carrot.* - Symp. Biol. Hung., 16: 153-155.
- MEADOW R., 2010 – *The carrot psyllid, Trioza apicalis-biology and control.* - Bioforsk Report, 151: 1-14.
- MORI N., PAVAN F., BONDAVALLI R., REGGIANI N., PALTRINIERI S., BERTACCINI A., 2008 – *Factors affecting the spread of "Bois Noir" disease in north Italy vineyards.* - VITIS, 47: 65-72.
- MORI N., PAVAN F., REGGIANI N., BACCHIAVINI M., MAZZON L., PALTRINIERI S., BERTACCINI A., 2012. – *Correlation of bois noir disease with nettle and vector abundance in northern Italy vineyards.* - J. Pest Sci., 85: 23-28.
- MORI N., REGGIANI N., POZZEBON A., DUSO C., PAVAN F., 2011 – *Influence of nettle control along a ditch on spatial distribution of Hyalesthes obsoletus Signoret in a neighbouring vineyard.* - IOBC/WPRS Bull., 67: 295-298.
- MUNYANEZA J.E., FISHER T.W., SENGODA V.G., GARCZYNSKI S.F., NISSINEN A., LEMMETTY A., 2010 – *Association of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' with the psyllid, Trioza apicalis (Hemiptera: Triozidae) in Europe.* - J. Econ. Entomol., 103(4): 1060-70.
- MUNYANEZA J.E., LEMMETTY A., NISSINEN A.I., SENGODA V.G., FISHER T.W., 2011 – *Molecular detection of aster yellows phytoplasma and 'Candidatus Liberibacter solanacearum' in carrots affected by the psyllid Trioza apicalis (Hemiptera: Triozidae) in Finland.* - J. Plant Pathol., 93: 697-700.
- MUNYANEZA J.E., SENGODA V.G., SUNDHEIM L., MEADOW R., 2014 – *Survey of 'Candidatus liberibacter solanacearum' in carrot crops affected by the psyllid Trioza apicalis (Hemiptera: Triozidae) in Norway.* - J. Plant Pathol., 96 (2): 397-402.
- NEHLIN G., VALTEROVA I., BORG-KARLSON A.K., 1994 – *Use of conifer volatiles to reduce injury caused by carrot psyllid, Trioza apicalis, Förster (Homoptera, Psylloidea).* - J. Chem. Ecol. 20: 771-783.
- NISSINEN A., VANHALA P., HOLOPAINEN J.K., TILIKKALA K., 2007 – *Short feeding period of carrot psyllid (Trioza apicalis) females at early growth stages of carrot reduces yield and causes leaf discolouration.* - Entomol. Exp. Appl., 125: 277-283.
- PAVAN F., MORI N., BIGOT G., ZANDIGIACOMO P. 2012 – *Border effect in spatial distribution of Flavescence dorée affected grapevines and outside source of Scaphoideus titanus vectors.* - B. Insectol., 65 (2): 281-290.
- PIZZINAT A., TEDESCHI R., ALMA A., 2011 – *Cacopsylla melanoneura (Foerster): aestivation and overwintering habitats in Northwest Italy.* - B. Insectol., 64: S135-S136.
- TAHZIMA R., MAES M., ACHBANI E., SWISHER K., MUNYANEZA J.E., DEJONGHE K. 2014 – *First report of 'Candidatus Liberibacter solanacearum' on carrot in Africa.* - Plant Dis., 98: 1426.
- 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: 322-328.

DIECI ANNI DI STUDI SULLA COMUNICAZIONE VIBRAZIONALE IN *SCAPHOIDEUS TITANUS*: DALLA TEORIA ALLA PRATICA

VALERIO MAZZONI (*) - ANDREA LUCCHI (**)

(*) *Fondazione Edmund Mach, Centro di Ricerca e Innovazione, via Mach San Michele all'Adige - 38010*

(**) *Dipartimento di Scienze Agrarie, Alimentari e Agro-ambientali, Università di Pisa, Via del Borghetto 80, Pisa – 56124.*

valerio.mazzoni@fmach.it; andrea.lucchi@unipi.it

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda “Insetti vettori di agenti fitopatogeni”. Seduta pubblica dell'Accademia – Firenze, 14 novembre 2014.

A ten-year research on vibrational communication in Scaphoideus titanus: from theory to practice.

Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera: Cicadellidae) is a feared Nearctic univoltine leafhopper, vector of Flavescence dorée phytoplasma (FD) in European vineyards. In this insect, pair formation and mating are mediated by substrate-borne vibrational signals. Males call spontaneously, carrying out a specific “call and fly” behaviour followed by a courtship song. Females emit signals only in response to males. Rival males compete for mating, producing a disruptive noise (DN) aimed at interrupting a duet in place between pairs.

Concurrently with the first description of this behavior, which took place at the “3rd European Hemiptera Congress” (St. Petersburg 2004), we started thinking about how to utilize this knowledge in practice. The first step was to speculate on the use of a playback of the male DN in laboratory tests to prevent copula. The extremely positive results obtained stimulated us to take a step forward, testing a system of potted plants in plastic cages interconnected by an iron wire to simulate a vineyard trellis. A vibrational shaker prototype provided by industry (CBC Europe, Milan Branch) was applied to the wire and used to transfer the DN to the plants. Virgin males and females were repeatedly released in the cages for the time of the experiment (18 hours). In this way, about 90% of pairs were disrupted up to 10 meters away from the shaker, whereas 80% of pairs mated in the non-vibrated control plants. Similar positive results were obtained by applying the system, with approximately same materials and methods, on plants of a vineyard. A further experiment included the use of a new prototype of shaker designed to transfer DN to longer distances along the row, while keeping the efficiency and the lowest possible power consumption. This is an important requirement by industry, which is concerned with developing and putting in the market an economically feasible device. In this test we found that 65% of mating disruption is still possible at 45 m and 18 h of shaker operation are necessary to get success in 80% of cases. Now our aim is to further optimize the system in order to: (1) make it an economically sustainable tool for agricultural use; (2) set pilot and demo tests in commercial farms; (3) make the device effective for control of other pests.

KEY WORDS: Hemiptera, Cicadellidae, Sound Communication, Disruptive Signals, Mating Disruption

INTRODUZIONE

La comunicazione vibrazionale via substrato è utilizzata con varie modalità da oltre 150.000 specie di insetti, oltre che da svariati altri artropodi, tra cui in particolare ragni e crostacei. Si tratta con tutta probabilità del sistema di comunicazione in assoluto più diffuso in natura, i cui segnali, detti “vibrazionali”, viaggiano attraverso un substrato solido (piante, suolo etc) (COCROFT & RODRIGUEZ, 2005). Tale caratteristica li distingue da altri segnali acustici in senso lato che, al contrario, viaggiano attraverso il mezzo liquido o gassoso (HILL, 2008).

I segnali vibrazionali possono svolgere innumerevoli funzioni in ambito intra- e interspecifico, permettendo ad esempio l'identificazione di un individuo, la localizzazione di una preda, il corteggiamento di un partner, oppure venendo emessi

nel contesto di atteggiamenti intimidatori nei confronti di rivali o nemici naturali. Tra tutti gli insetti, gli Emitteri annoverano la casistica più ampia, soprattutto in relazione al comportamento riproduttivo (ČOKL & VIRANT-DOBERLET, 2003).

Oggetto del presente contributo è la comunicazione vibrazionale della cicalina della flavescenza dorata *Scaphoideus titanus* Ball, che da circa un decennio è da noi utilizzata come insetto modello per lo studio dei segnali vibrazionali, in vista di un loro possibile utilizzo in campo agrario, in una sorta di confusione sessuale vibrazionale.

S. titanus è dotato di una comunicazione essenzialmente unimodale, nella quale altri sensi come olfatto e vista giocano un ruolo marginale durante le fasi che precedono l'accoppiamento. Nei prossimi paragrafi saranno illustrate le diverse fasi di sviluppo di questa ricerca che, a partire dalla descrizione del comportamento riproduttivo della

specie e dei segnali vibrazionali ad esso associati, è infine giunta alla proposta di un innovativo metodo di confusione sessuale “vibrazionale”, basato sullo sfruttamento di conoscenze fisiologiche e fisiche del sistema insetto/pianta. Esperimenti condotti in pieno campo hanno dimostrato l’effettiva potenzialità del metodo pur evidenziandone alcuni limiti, principalmente legati ad aspetti tecnologici, che al momento, causa gli elevati costi energetici necessari per consentire il trasferimento efficace dei segnali a lunga distanza, ne limitano le possibili applicazioni in vigneto.

STRUMENTI E OBIETTIVI

Strumento indispensabile per lo studio della comunicazione vibrazionale negli insetti è il vibrometro laser. Questo è in grado di rilevare vibrazioni del substrato fino a valori di sensibilità comparabili con quelli dei mecano-recettori di molti insetti, nell’ordine di velocità di vibrazione del substrato di nm/s (MICHELSEN, 2014). Attraverso l’acquisizione dei segnali tramite opportuni hardware e la successiva analisi svolta con specifici software, è possibile elaborare e interpretare i dati raccolti. Nel corso dei nostri studi sono stati usati due modelli di vibrometro laser (Polytec PDV 100; Ometron VQ-500-D-V), uno strumento di acquisizione (LAN XI, Bruel & Kjaer, Nærum, Denmark) e vari software per l’analisi dati (Adobe Audition 3.0, Cool Edit Pro, Raven, Pulse). Le trasmissioni inverse, cioè in playback, dal computer alla pianta, hanno avuto lo scopo di verificare l’effettiva funzione dei segnali, in termini di risposte comportamentali indotte negli insetti. Lo strumento da noi usato per trasmettere le vibrazioni al substrato è stato il ‘minishaker’ (Mod. 4810 Bruel & Kjaer). Tutti gli esperimenti sono stati ripresi con videocamera (Panasonic HDCTM700, Hamburg, Germany) connessa al vibrometro laser e dotata di lente macro (Raynox dcr-25), in modo da poter definire l’effettiva associazione tra insetti, segnali e comportamenti.

RISULTATI

Comportamento Riproduttivo

S. titanus è una specie di origine nearctica rinvenuta in diversi paesi europei a partire dagli anni ’50, dove svolge un ciclo monovoltino e, in natura, è ritenuta monofaga sul genere *Vitis* (VIDANO, 1964; MAZZONI *et al.*, 2005). Gli adulti compaiono in estate, a partire dal mese di luglio, e sono rinvenibili fino ad autunno inoltrato. Causa una certa

proterandria e una ricettività sessuale femminile che inizia ad esprimersi a circa una settimana dallo sfarfallamento, gli accoppiamenti si concentrano principalmente tra la seconda metà di luglio e la fine di agosto (CHUCHE & THIERY, 2014). Il comportamento riproduttivo è guidato pressoché esclusivamente da segnali vibrazionali di substrato. Tale attività è principalmente crepuscolare e avviene a partire dal tardo pomeriggio, con massima frequenza tra le 18 e le 20 (MAZZONI *et al.*, 2009a). In tutto sono stati descritti in *S. titanus* 3 tipologie di duetto, che si differenziano tra loro essenzialmente per due caratteristiche: (1) il tipo di impulso emesso dal maschio e (2) il ritardo con cui un impulso maschile segue quello femminile (POLAJNAR *et al.*, 2014). Esistono due tipologie di impulso maschile, chiamate rispettivamente MP1 e MP2. I maschi in cerca di partner emettono uno o più segnali di “chiamata” (Male Calling Song) costituiti da una serie regolare di MP1 ad intensità crescente (Fig. 1A). Le femmine ricettive possono rispondere con un segnale proprio, l’impulso femminile (Female Pulse, FP) che comporta l’instaurarsi di un duetto maschio/femmina in cui i segnali dei due sessi si alternano. Qualora nessuna femmina risponda alla chiamata, il maschio abbandona la foglia con un salto (strategia detta “call & fly”; di solito il maschio esegue almeno un due chiamate prima di muoversi) (MAZZONI *et al.*, 2009a; POLAJNAR *et al.*, 2014). Se, viceversa, una femmina risponde, si costituisce un duetto di “identificazione” durante il quale il maschio rallenta le emissioni di MP1 in presenza di FP, per cui l’intervallo MP1-MP1 (in assenza di segnale femminile) risulterà uguale a quello FP-MP1 (Fig. 1B). Una volta avvenuta l’identificazione, il maschio inizia a muoversi, camminando sulla pianta alla volta della foglia in cui si trova la femmina. In questa seconda fase si ha un cosiddetto duetto di “localizzazione” in cui il maschio compie delle soste durante le quali di nuovo emette soltanto degli MP1 nelle fasi di ricerca attiva (Fig. 1C). A differenza del duetto precedente, però, in questo caso il maschio non rallenta l’emissione di segnali percependo il FP, per cui l’intervallo FP-MP1 risulterà significativamente inferiore a quello MP1-MP1 non intervallato da un FP (POLAJNAR *et al.*, 2014). Una volta localizzata la femmina (cioè quando i due individui vengono a trovarsi sulla medesima foglia) si attiva il duetto di corteggiamento, nel quale il maschio emette un canto suddiviso in quattro settori, nei primi due dei quali gli impulsi (nel secondo settore anche di tipo MP2) sono accompagnati da un suono a banda stretta in frequenza armonica, onomatopeicamente chiamato “buzz” (Fig. 1D). Il duetto di corteg-

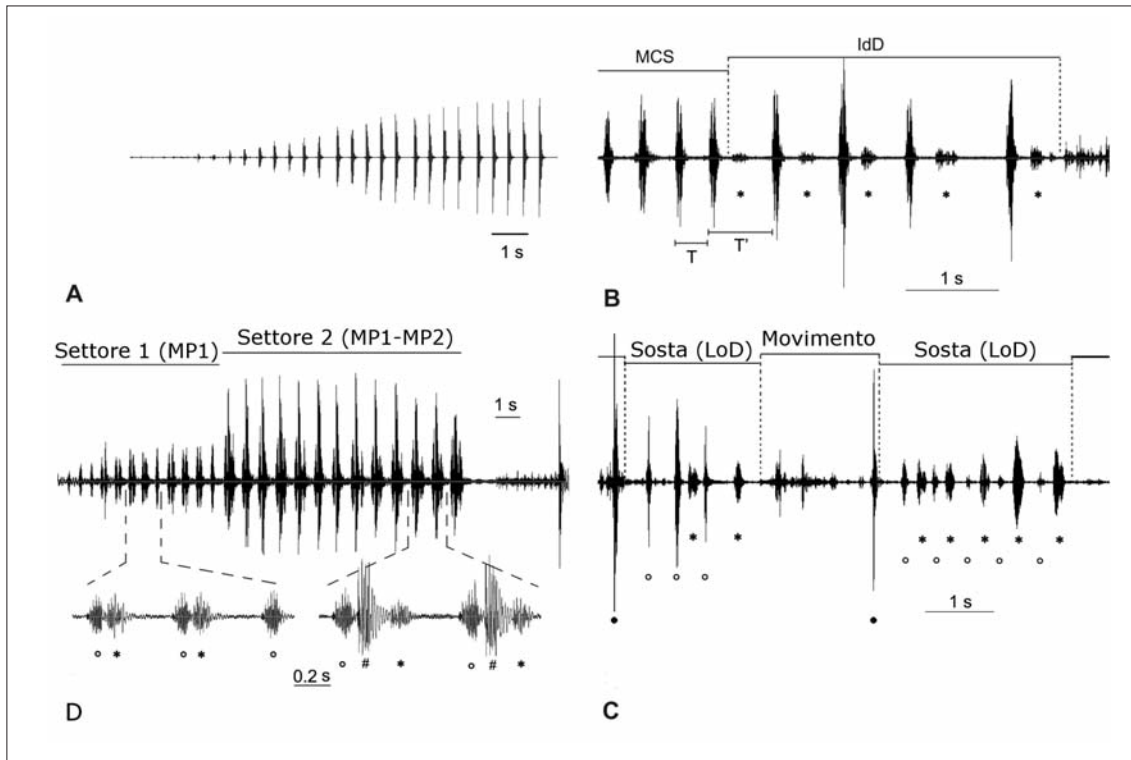


Figura 1

Oscillogrammi dei principali segnali vibrazionali emessi da *S. titanus* nelle fasi che precedono l'accoppiamento. In senso orario: A. Segnale di chiamata del maschio; B. Duetto di Identificazione tra maschio e femmina che segue al segnale di chiamata; C. Duetto di Localizzazione; D. Duetto di corteggiamento con dettaglio a scala ingrandita nei due riquadri in basso. * = MP1; # = MP2; ° = FP; MCS = Segnale di Chiamata del Maschio; IdD = Duetto di Identificazione; LoD = Duetto di Localizzazione.

giamento si conclude con la copula a cui non è associata alcuna emissione di segnali (MAZZONI *et al.*, 2009a).

In realtà esiste anche un altro segnale maschile che viene emesso solo in presenza di altri maschi (potenziali rivali). Si tratta del “segnale di disturbo” (disturbance noise, DN). Il DN copre esattamente la banda di frequenza del FP e serve a mascherare la risposta di una femmina ai sensori del maschio in ascolto. In pratica un maschio usa questo segnale per interrompere un duetto in corso tra una femmina e un altro maschio allo scopo di sostituirvisi (MAZZONI *et al.*, 2009a, b).

Test di confusione sessuale in laboratorio

Per accertare la possibilità di interrompere la comunicazione maschio/femmina nelle fasi che precedono la copula, sono stati testati in laboratorio diversi tipi di segnali “sintetici” (MAZZONI *et al.*, 2009b). Questi sono stati immessi in playback nei tessuti della pianta (foglie di vite su cui erano state poste coppie di *S. titanus*). Tra i segnali utilizzati, due erano in banda di frequenza “pura” (60 Hz, 200 Hz) e due in banda larga (rumore bianco 0-2000 Hz e il DN). Ulteriori test di controllo sono stati l’inserimento di un secondo maschio

(test trio: controllo positivo) e l’assenza di interferenza (controllo negativo).

I risultati del test hanno evidenziato l’interruzione totale di comunicazione tra i sessi per i segnali in banda larga e una riduzione significativa per i toni di frequenza pura (60 Hz: 70%; 200 Hz: 56%). Il controllo negativo ha, viceversa, visto sempre il conseguimento della copula, mentre nel test trio solo in 1 caso (su 15) si è osservato l’accoppiamento.

Questi risultati hanno confermato l’ipotesi che segnali vibrazionali intrusivi, se dotati di opportune caratteristiche spettrali, possano effettivamente indurre l’interruzione del dialogo tra i sessi. Per un approfondimento di tali conoscenze, la natura spettrale dei segnali e le caratteristiche sensoriali dell’insetto sono stati posti come successivi obiettivi delle nostre ricerche.

Caratteristiche del sistema insetto pianta: network dello spazio attivo

In acustica, lo spazio attivo di un segnale è definito come lo spazio tridimensionale in cui l’ampiezza del segnale è sufficientemente al di sopra della soglia di rilevazione dei potenziali riceventi, così da poter di suscitare in essi una risposta com-

portamentale. I fattori che descrivono lo spazio attivo sono: (1) l'ampiezza del segnale alla sorgente; (2) il tasso di attenuazione durante la trasmissione attraverso il mezzo; (3) l'ampiezza del rumore di fondo; (4) la soglia di sensibilità del ricevitore (BRENOWITZ, 1982). Un quinto fattore sarebbe il tempo, allorché considerassimo il periodo del giorno in cui l'insetto emette segnali. Questo aspetto è importante proprio nel caso di *S. titanus*, in quanto la sua azione è per lo più concentrata in una finestra temporale serale, sulla quale incidono anche le condizioni meteorologiche (temperatura, vento, precipitazioni) (MAZZONI *et al.*, 2014c).

Se trasferiamo la definizione di spazio attivo al sistema pianta/insetto, scopriamo che il segnale vibrazionale è legato alla continuità di substrato, restando pertanto confinata ai tessuti vegetali su cui l'insetto emettitore si trova. La maggior parte di arbusti e alberi, presentano un complesso sistema di rami e foglie in cui ogni biforcazione apre un nuovo percorso per il segnale e determina una rete di spazio attivo (ASN). L'ASN può essere, pertanto, definita come la rete (tipo cladogramma) di tessuti, coperta dal segnale attivo, che si diffonde da una fonte vibrazionale. Data però l'ampia eterogeneità dei tessuti di una pianta (parti verdi e legnose, diametro e consistenza dei tessuti etc.) è difficile prevedere con esattezza l'ASN determinato da un insetto in chiamata, e porzioni di piante possono irregolarmente trovarsi sotto la soglia di ricezione del segnale di un individuo in ascolto, con l'esito di creare un ASN variabile e discontinuo (MAZZONI *et al.*, 2014c).

Analizzando col vibrometro laser i valori di intensità del segnale (come velocità di vibrazione substrato in corrispondenza della frequenza dominante) durante il duetto tra maschi e femmine, e posizionando il laser nei pressi del maschio (entro 1 cm), si è riscontrato che per valori percepiti del segnale femminile al di sopra di 1×10^{-5} m/s, tra i due si instaurava un duetto di corteggiamento; nel range tra 1×10^{-5} e 1×10^{-6} si avevano duetti di riconoscimento e di localizzazione, mentre al di sotto di quest'ultimo valore il maschio andava in "call & fly". Da sottolineare come i valori di intensità del segnale che determinavano il duetto di corteggiamento si verificavano quando i due individui venivano a trovarsi su una stessa foglia (picciolo compreso). Viceversa quando i due si trovavano su differenti parti della pianta, l'intensità dei segnali calava di almeno 10 dB, determinando di fatto nel maschio gli altri comportamenti (ERIKSSON *et al.*, 2011; POLAJNAR *et al.*, 2014).

Test di confusione sessuale su piante di vite

La fase conclusiva della ricerca ha visto il trasferimento delle conoscenze precedentemente acqui-

site in laboratorio alla realtà di campo, allo scopo di trasferire alle viti dei segnali di disturbo del tipo DN, con caratteristiche adatte ad interrompere la comunicazione sessuale in *S. titanus* e impedirne così l'accoppiamento (Fig. 2A). Segnali vibrazionali sono stati applicati, in un primo esperimento, a piante in vaso in condizioni di semi-campo e, successivamente, a piante radicate in campo, attraverso il filo metallico di sostegno presente sulla fila. La realizzazione di uno specifico dispensatore di vibrazioni (Fig. 2B), appeso e fissato al filo, ha permesso la trasmissione del segnale di disturbo, che è stato testato su coppie vergini di *S. titanus* allevate in laboratorio e immesse sui germogli di vite in pieno campo, all'interno di manicoli di rete per un tempo di 24h (Fig. 2C). In questo caso il numero di accoppiamenti è sceso al 9% in condizioni di semi-campo e al 4% in vigneto, a fronte di un 80% di accoppiamenti nel controllo.

Dai risultati ottenuti appare evidente come un opportuno utilizzo di segnali vibrazionali sintetici siano in grado di interrompere efficacemente la comunicazione in *S. titanus*, andando ad interferire sui comportamenti di riconoscimento-localizzazione-corteggiamento (ERIKSSON *et al.*, 2012).

PROSPETTIVE FUTURE

Seppur limitati ad una sola specie, i dati in nostro possesso confermano che la confusione sessuale attraverso vibrazioni è un approccio possibile ed efficace, probabilmente estendibile ad altri insetti la cui comunicazione intraspecifica a fini riproduttivi si basi sul ricorso a segnali vibrazionali.

Come nel caso della confusione sessuale con feromoni (IORIATTI *et al.*, 2011), la tecnica vibrazionale può essere utile a portare e mantenere le popolazioni bersaglio ad un livello accettabile riguardo al possibile danno economico per le colture (ČOKL & MILLAR, 2009; POLAJNAR *et al.*, 2015). Infatti, oltre ad una significativa riduzione del numero di accoppiamenti, è pensabile ipotizzare un generale fenomeno di ritardo nella tempistica degli stessi, che a loro volta potrebbero comportare, come nei Lepidotteri (TORRES VILA *et al.*, 2002), una più ridotta fecondità femminile.

Nei casi più difficili, nei quali questa tecnica venga diretta al controllo di insetti vettori di fitoplasmi o virus, dovrebbe necessariamente essere integrata (almeno nei primi anni) con misure di lotta chimica.

Nel vasto e pionieristico mondo del vibrazionale, ancora molti aspetti rimangono oscuri. Sarà determinante, per lo sviluppo del sistema, comprendere gli effetti delle vibrazioni sintetiche su



Figura 2

A. Coppia di adulti di *S. titanus* in copula; B. Uno dei dispensatori di vibrazioni utilizzati per i test di campo. Vari prototipi si sono succeduti nel corso degli anni; C. Vigneto che ha ospitato le ricerche a San Michele all'Adige (TN). Coppie di *S. titanus* venivano rilasciate per 24 h dentro manicotti di rete contenenti un totale di 5-7 foglie pienamente sviluppate.

insetti non bersaglio appartenenti ai diversi livelli trofici, oltre a definire la valenza che le differenti condizioni ambientali (pioggia, vento, pressione atmosferica) possono rivestire in campo aperto.

Ad oggi il vero limite rimane quello tecnologico. Il consumo energetico è il primo fattore da tenere in considerazione, in quanto i dispenser vibrazionali funzionano a corrente elettrica. L'altro punto fondamentale è la necessità di adattare il sistema alle numerose forme di viticoltura esistenti, che si traducono in diverse tipologie di allevamento e di gestione delle piante, con tutto ciò che ne consegue in termini di trasmissione del segnale.

Il merito della ricerca fin qui condotta è quello di aver proposto, per la prima volta a livello mondiale, un nuovo approccio alla gestione di un problema di natura entomologica. Considerando il vasto numero di insetti che utilizzano il linguaggio vibrazionale nella comunicazione intra- ed interspecifica, il potenziale applicativo di questa tecnica innovativa è teoricamente molto elevato e per questo merita in futuro ulteriori approfondimenti nei confronti di altri sistemi insetto/pianta.

RINGRAZIAMENTI

Un sentito ringraziamento va a Vittorio Veronelli e a CBC Europe, per aver finanziato con entusiasmo e lungimiranza le nostre ricerche fin dagli inizi. Un grazie di cuore va ovviamente a tutti coloro che hanno contribuito a vario titolo alle ricerche in oggetto e che hanno partecipato come coautori nei numerosi contributi pubblicati su riviste internazionali di settore (M. Virant-Doberlet, A. Eriksson, G. Anfora, J. Polajnar, A. Čokl, J. Prešern, V. Rossi Stacconi).

RIASSUNTO

La comunicazione vibrazionale è, con tutta probabilità, il sistema di comunicazione più diffuso in natura. I segnali vibrazionali agiscono sia in ambito intra- che interspecifico, permettendo l'identificazione di un conspecifico, la localizzazione di una preda, il corteggiamento di un partner, oppure venendo emessi nel contesto di atteggiamenti intimidatori nei confronti di rivali o nemici naturali. Tra tutti gli insetti, gli Emitteri annoverano la casistica più ampia, soprattutto in relazione al comportamento riproduttivo. Oggetto del presente contributo è la comunica-

zione vibrazionale in *Scaphoideus titanus*, che da circa un decennio è da noi utilizzato come insetto modello per lo studio dei segnali vibrazionali, in vista di un loro possibile utilizzo in campo agrario, in una sorta di confusione sessuale vibrazionale.

A partire dalla descrizione del comportamento riproduttivo della specie e dei segnali vibrazionali ad esso associati, si è giunti alla definizione di un possibile innovativo metodo di confusione sessuale "vibrazionale", basato sullo sfruttamento di conoscenze fisiologiche e fisiche del sistema insetto/pianta. Esperimenti condotti in semicampo e in pieno campo hanno dimostrato l'effettiva potenzialità del metodo, pur evidenziandone alcuni limiti, principalmente legati ad aspetti tecnologici che, richiedendo elevati costi energetici per consentire il trasferimento dei segnali a lunga distanza, ne limitano al momento le possibili applicazioni in vigneto. Il merito della ricerca fin qui condotta è quello di aver proposto, per la prima volta a livello mondiale, un nuovo approccio alla gestione di un problema di natura entomologica. Considerando il vasto numero di insetti che utilizzano il linguaggio vibrazionale nella comunicazione intra- ed interspecifica, il potenziale applicativo di questa tecnica è teoricamente molto elevato e per questo merita in futuro ulteriori approfondimenti nei confronti di altri sistemi insetto/pianta.

BIBLIOGRAFIA

- BRENOWITZ E. A., 1982 - *The active space of red-winged blackbird song*. - Journal of Comparative Physiology, 147 (4): 511-522.
- CHUCHE J., THIÉRY D., 2014 - *Biology and ecology of the Flavescence dorée vector Scaphoideus titanus: a review*. - Agronomy for Sustainable Development, 34 (2): 381-403.
- COCROFT R.B., RODRIGUEZ R.L., 2005 - *The behavioral ecology of insect vibrational communication*. - Bio Science, 55: 323-334.
- ČOKL A., MILLAR J.G., 2009 - *Manipulation of insect signaling for monitoring and control of pest insects*. In: Ishaaya I e Horowitz A.R., *Biorational Control of Arthropod Pests: Application and Resistance Management*, Springer Dordrecht, pp. 279-316.
- ČOKL A., VIRANT-DOBERLET M., 2003 - *Communication with substrate-borne signals in small plant-dwelling insects*. - Annu. Rev. Entomol., 48: 29-50.
- ERIKSSON A., ANFORA G., LUCCHI A., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V., 2011 - *Inter-plant vibrational communication in a leafhopper insect*. - PLoS ONE, 6 (5): e19692.
- ERIKSSON A., ANFORA G., LUCCHI A., LANZO F., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V., 2012 - *Exploitation of insect vibrational signals reveals a new method of pest management*. - PLoS ONE, 7 (3): e32954.
- HILL P.S.M., 2008 - *Vibrational Communication in Animals*. Harvard University Press, Cambridge, MA, 261 pp.
- IORIATTI C., ANFORA G., TASIN M., DE CRISTOFARO A., WITZGALL P., LUCCHI A., 2011 - *Chemical ecology and management of Lobesia botrana (Lepidoptera: Tortricidae)*. - Journal of Economic Entomology, 104 (4): 1125-1137.
- MAZZONI V., ALMA A., LUCCHI A., 2005 - *Cicaline dell'agroecosistema vigneto e loro interazioni con la vite nella trasmissione di fitoplasmii*. - Quaderno A.R.S.I.A. 3/05, LCD srl, Firenze: 55-73.
- MAZZONI V., PREŠERN J., LUCCHI A., VIRANT-DOBERLET M., 2009a - *Reproductive strategy of the Nearctic leafhopper Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera: Cicadellidae)*. - Bull. Entomol. Res., 99: 401-413.
- MAZZONI V., LUCCHI A., ČOKL A., PREŠERN J., VIRANT-DOBERLET M., 2009b - *Disruption of the reproductive behaviour of Scaphoideus titanus by playback of vibrational signals*. - Entomol. Exp. Appl., 133: 174-185.
- MAZZONI V., ERIKSSON A., ANFORA G., LUCCHI A., VIRANT-DOBERLET M. 2014 - *Active space and the role of amplitude in plant-borne vibrational communication. Studying vibrational communication*. - Springer Berlin Heidelberg, 125-145.
- MICHELSSEN A., 2014 - *Physical aspects of vibrational communication. Studying vibrational communication*. - Springer Berlin Heidelberg, 199-213.
- POLAJNAR J., ERIKSSON A., ROSSI STACCONI M.V., LUCCHI A., ANFORA G., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V., 2014. *The process of pair formation mediated by substrate-borne vibrations in a small insect*. - Behavioural processes, 107: 68-78.
- POLAJNAR J., ERIKSSON A., LUCCHI A., ANFORA G., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V. 2015 - *Manipulating behaviour with substrate-borne vibrations, potential for insect pest control*. - Pest Management Science, 71 (1): 15-23.
- TORRES-VILA L.M., RODRIGUEZ-MOLINA M.C., STOCKEL J., 2002 - *Delayed mating reduces reproductive output of female European grapevine moth, Lobesia botrana (Lepidoptera:Tortricidae)*. - Bull. Entomol. Res., 92: 241-249.
- VIDANO C., 1964 - *Scoperta in Italia dello Scaphoideus litoralis Ball, cicalina americana collegata alla «Flavescence dorée» della Vite*. - L'Italia agricola, 101: 1031-1049.

STRATEGIE DI CONTROLLO DEI VETTORI ASSOCIATI AI GIALLUMI DELLA VITE

NICOLA MORI (*) - FRANCESCO PAVAN (**)

(*) Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse Naturali e Ambiente (DAFNAE), Università degli Studi di Padova, viale dell'Università, 16 - 35020 Legnaro (PD); e-mail: nicola.mori@unipd.it

(**) Dipartimento di Scienze Agrarie ed Ambientali (DISA), Università degli Studi di Udine, Via delle Scienze, 206 - 33100 Udine
Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Insetti vettori di agenti fitopatogeni". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 14 novembre 2014.

Control strategies of vectors associated with grapevine yellows diseases

Flavescence dorée and Bois noir are grapevine yellows diseases of great economic importance in European viticulture. They are associated with "*Ca. Phytoplasma vitis*" and "*Ca. Phytoplasma solani*" transmitted by the Cicadellidae *Scaphoideus titanus* Ball and by the Cixiidae *Hyaesthes obsoletus* Signoret, respectively. The control strategies of these diseases are based on rouging of infected plants, source of phytoplasmas, and on vectors control before they are able to inoculate the pathogens in healthy plants. Since plant sources of phytoplasmas external to vineyards are implicated in the epidemiology of these diseases, control strategies must be implemented at territorial level and involve all the growers. From 2014, according to CE Directive 128/2009 on "Sustainable use of pesticides", all growers must adopt alternative methods to chemical control in order to reduce the use of pesticides. In this contribution we aim to review current monitoring and control techniques as well as the new perspectives in the control of the grapevine yellows diseases in an Integrated Pest Management context.

KEY WORDS: IPM, *Scaphoideus titanus*, *Hyaesthes obsoletus*, Flavescence dorée, Bois noir

INTRODUZIONE

Nonostante siano trascorsi più di trenta anni dalla prima segnalazione dei giallumi della vite in Italia, ancora oggi la Flavescenza dorata (FD) ed il Legno nero della vite (LN) sono fortemente temuti dagli operatori della filiera viticola, non solo per i danni che causano alla coltivazione della vite, ma anche per la diffusa presenza nel territorio dei fitoplasmi agenti causali ("*Ca. Phytoplasma vitis*" e "*Ca. Phytoplasma solani*") e dei loro vettori [*Scaphoideus titanus* Ball (Homoptera: Cicadellidae) e *Hyaesthes obsoletus* Signoret (Homoptera: Cixiidae)].

In considerazione del fatto che sia gli agenti causali, sia gli insetti vettori, sono localizzati non solo dentro il vigneto ma anche negli ambienti circostanti (BRESSAN *et al.*, 2007; MORI *et al.*, 2008; PAVAN *et al.*, 2012a; LESSIO *et al.*, 2014), queste patologie sono da considerarsi malattie ambientali (RUI *et al.*, 1987) che interessano l'intero agroecosistema vigneto (MAIXNER, 2010).

Il contenimento dei giallumi della vite si basa sull'eliminazione delle piante ospiti sorgenti dei vettori infetti e sul controllo di questi prima che siano in grado di inoculare il fitoplasma in piante sane (BARBA *et al.*, 2005).

In recepimento della Direttiva CE 128/2009 sull'"Uso sostenibile dei prodotti fitosanitari", dal 1° gennaio

2014, tutti gli operatori agricoli devono attuare la difesa integrata i cui principi generali prevedono che il controllo degli agenti di malattia venga attuato solo al superamento di determinate soglie di intervento, limitando il più possibile l'impiego di sostanze chimiche. I piani di difesa devono prevedere l'esecuzione di tutte le tecniche di prevenzione, il monitoraggio degli organismi nocivi, il supporto di modelli previsionali ed ai metodi chimici devono essere preferiti metodi alternativi quali quelli agronomici. Inoltre, a parità di efficacia, la scelta dei prodotti fitosanitari deve essere fatta in base alla selettività verso la fauna utile e alla tossicità ambientale degli stessi.

STRATEGIE PER IL CONTROLLO DELLA FLAVESCENZA DORATA DELLA VITE

Per contenere la diffusione di FD, in Italia nel 2000 è stato pubblicato un decreto ministeriale di lotta obbligatoria (DM n. 32442, 31/05/2000) che prevede l'applicazione di insetticidi contro il vettore e la rimozione delle piante sintomatiche nei vigneti. Anche l'estirpo dei vigneti abbandonati e delle viti inselvatichite sono misure importanti, in quanto questi possono rappresentare sorgenti di vettori infetti per i vigneti coltivati (LESSIO e ALMA, 2006a; LESSIO *et al.*, 2007; 2014; PAVAN *et*

al., 2012a). Un'altra misura profilattica molto importante è l'utilizzo di materiale vivaistico, non solo sano, ma anche privo di uova svernanti di *S. titanus* (BAGNOLI *et al.*, 2011; LINDER *et al.*, 2011).

Monitoraggio di *Scaphoideus titanus*

Un corretto monitoraggio di *S. titanus* effettuato a livello territoriale è il pre-requisito essenziale per impostare una razionale strategia di controllo dello stesso. Il monitoraggio ha diversi scopi: rilevare la presenza del vettore in un determinato areale, identificare l'età delle sue forme giovanili in modo da posizionare correttamente i trattamenti insetticidi, rilevarne la densità di popolazione al fine di ridurre il numero di applicazioni, verificare l'efficacia delle applicazioni insetticide e degli altri interventi di lotta obbligatoria.

S. titanus è specie monovoltina, che sverna come uovo sotto il ritidoma della vite (VIDANO, 1964). Gli stadi giovanili sono rinvenibili a partire da fine maggio e la loro presenza è parzialmente sovrapponibile con quella degli adulti che si osservano da fine giugno-inizio luglio. Per monitorare le neanidi e le ninfe, sono necessarie ispezioni visive della pagina inferiore delle foglie basali dei germogli (quelle prossime ai siti di deposizione delle uova), da effettuare preferibilmente al mattino presto quando l'insetto è meno mobile. Il campionamento deve coinvolgere viti dislocate su tutto il vigneto e scelte secondo uno schema stabilito *a priori* (PAVAN *et al.*, 2005). Il monitoraggio delle forme giovanili viene generalmente eseguito in giugno allo scopo di posizionare un trattamento insetticida prima che le ninfe abbiano raggiunto la V età, che è già in grado di inoculare il fitoplasma in viti sane. Al fine di ottimizzare il campionamento sono stati anche proposti metodi di campionamento sequenziale (LESSIO e ALMA, 2006b; RIGAMONTI *et al.*, 2013).

Per monitorare gli adulti, possono essere applicati diversi metodi: campionamento diretto sulla vegetazione, tecnica del *frappage* e trappole cromotropiche gialle invischiate. L'utilizzo di queste ultime è di gran lunga il metodo più utilizzato per la sua affidabilità ed efficienza. Le trappole devono essere applicate sul filo di posta a 1-1,5 m dal suolo, preferibilmente in ombra, in posizione verticale rispetto al terreno posizionando una trappola ogni 2.000 m². Le trappole dovranno essere sostituite ogni una o due settimane e collocate nei vigneti a partire dalla fine di giugno. Il monitoraggio degli adulti consente la stima della densità di popolazione del vettore, l'individuazione del picco delle catture, ed è strumento utile per il corretto posizionamento di interventi insetticidi ad azione adulticida.

Il monitoraggio può essere coadiuvato dall'utilizzo di modelli fenologici basati sulle temperature (RIGAMONTI *et al.*, 2011; MAGGI *et al.*, 2013).

Mezzi per il controllo di *Scaphoideus titanus*

Il controllo biologico naturale di *S. titanus* non è sufficiente a contenere le popolazioni del vettore a livelli accettabili. Sono pertanto necessari interventi di lotta che prevedono soprattutto l'impiego di insetticidi. Prima di intervenire con insetticidi, è necessario, adottare tutti i mezzi agronomici che possono aiutare a contenere le popolazioni del vettore. Sulla base del fatto che il ritidoma del legno di due o più anni è il sito preferenziale di ovideposizione di *S. titanus* (BAGNOLI e GARGANI, 2011), si possono adottare due pratiche colturali che contribuiscono a ridurre le popolazioni del vettore: i) rimozione o completa distruzione (sminuzzamento fine e/o interramento con lavorazioni superficiali) dei tralci di potatura; ii) eliminazione dei succhioni che crescono lungo il cordone verticale per rendere difficoltosa la colonizzazione della vite da parte delle neanidi che nascono in tale porzione di legno (CARA *et al.*, 2013). Pratica molto importante è l'estirpo dei vigneti abbandonati e delle viti inselvaticite, in quanto continue sorgenti di vettori infetti, che possono vanificare gli effetti positivi della lotta insetticida effettuata all'interno dei vigneti stessi.

La lotta insetticida rimane, comunque, il mezzo più efficace, ma per un uso sostenibile è necessario limitare al massimo il numero di applicazioni e preferire le sostanze attive più selettive nei confronti della fauna utile. Gli insetticidi sono generalmente applicati due volte all'anno nelle zone caratterizzate da un'elevata incidenza della malattia. Il primo trattamento, mirato contro le forme giovanili, viene applicato nella seconda-terza decade di giugno, a seconda della modalità di azione della sostanza attiva utilizzata. Per evitare effetti negativi sui pronubi, il trattamento deve essere effettuato dopo la fine della fioritura della vite ed essere preceduto dallo sfalcio del cotico erboso per eliminare i fiori. Le sostanze attive che possono essere utilizzate nel primo trattamento sono il regolatore di crescita buprofezin, gli organofosforici chlorpyrifos-ethyl e chlorpyrifos-methyl ed i neonicotinoidi thiamethoxam e acetamiprid. Il secondo trattamento viene generalmente applicato un mese dopo il primo contro gli adulti e le forme giovanili nate dopo il primo intervento, utilizzando chlorpyrifos-ethyl, chlorpyrifos-methyl, thiamethoxam, acetamiprid ed il fenossiderivato etofenprox.

In vigneti in cui la malattia risulta assente o

molto contenuta e la densità di popolazione del vettore è molto bassa, è possibile effettuare un solo trattamento insetticida all'anno (PAVAN *et al.*, 2005; BOSCO e MORI, 2013). In questo caso si deve cercare di far coincidere l'intervento con quello contro altri fitofagi presenti nel vigneto (es. tignole della vite, cicalina verde e cocciniglie), impiegando insetticidi attivi su più bersagli (PAVAN *et al.*, 2005).

Nei vigneti a conduzione biologica è possibile applicare spinosad o il piretro naturale attivato con piperonilbutossido, utilizzando alti volumi di irrorazione e trattando al tramonto con una sospensione leggermente acida (pH 6-6,5) (MORI *et al.*, 2004, 2014b). Una certa efficacia può anche avere l'olio minerale paraffinico.

La presenza di un numero importante di adulti infetti a fine agosto-settembre (ALMA, 2014) potrebbe rendere conveniente una terza applicazione per abbassare le probabilità di trasmissione ma anche per limitare il numero di femmine depontenti. Questo terzo intervento è sempre consigliabile sui filari di bordo di impianti circondati da vigneti abbandonati o da siepi/boschetti con viti inselvaticite, al fine di limitare la colonizzazione dei vigneti stessi. In accordo con il decreto di lotta obbligatoria, è fondamentale ribadire che per il controllo di *S. titanus* è più importante trattare almeno una volta all'anno tutti i vigneti di un'area che trattare ripetutamente pochi vigneti, in quanto è stato dimostrato che in un comprensorio omogeneo la riduzione della popolazione del vettore è meglio garantita dall'ampiezza della superficie trattata piuttosto che da una elevata numerosità di trattamenti su parte della superficie a vigneto (PAVAN *et al.*, 2004).

STRATEGIE PER IL CONTROLLO DEL LEGNO NERO DELLA VITE

Il LN è una fitoplasmosi della vite il cui agente causale viene trasmesso da *H. obsoletus* esclusivamente da piante erbacee a vite (MAIXNER, 2010). Per limitare la diffusione della malattia, non vi è, pertanto, alcuna necessità di rimuovere le viti infette (PAVAN *et al.*, 2012b).

Le fonti di inoculo sono piante erbacee ospiti del fitoplasma, principalmente convolvolo (*Convolvulus arvensis* L.) e ortica (*Urtica dioica* L.), sulle cui radici si sviluppano e possono acquisire il fitoplasma gli stadi giovanili di *H. obsoletus* (MAIXNER, 2007; CARGNUS *et al.*, 2012).

La diffusione di *H. obsoletus* nei vigneti dipende dalla presenza e dalla distribuzione dei suoi ospiti vegetali all'interno e all'esterno dei vigneti

stessi, cosicché la pressione di infezione del fitoplasma è determinata dalle condizioni biotiche e abiotiche dell'intero agroecosistema. Per prevenire la diffusione di LN è pertanto necessario limitare la presenza delle piante ospiti del fitoplasma e del vettore, sia all'interno sia attorno ai vigneti, per sfavorire la colonizzazione delle viti da parte degli adulti del vettore stesso. Poiché nel caso di sorgenti esterne della malattia l'incidenza dei LN è maggiore nei bordi dei vigneti, nei nuovi impianti è utile adottare i seguenti criteri: (i) fare vigneti ampi e di forma regolare al fine di ridurre l'effetto bordo; (ii) piantare le cultivar più suscettibili e sensibili nella parte centrale di vigneti multivarietaali (MORI *et al.*, 2008).

Monitoraggio di *Hyalesthes obsoletus*

Gli stadi giovanili svernanti di *H. obsoletus* possono venire monitorati in primavera con controlli visuali del terreno presente attorno alle radici delle piante ospiti, mentre per gli adulti, che sono presenti a partire da giugno su convolvolo e da luglio su ortica (MAIXNER, 2007; CARGNUS *et al.*, 2012), possono venir monitorati con retino da sfalcio, aspiratore D-Vac o trappole cromotropiche invischiare posizionate a livello del suolo (BRESSAN *et al.*, 2007).

Mezzi per il controllo di *Hyalesthes obsoletus*

I trattamenti insetticidi effettuati nei vigneti non influenzano né le popolazioni del Cixiide né la diffusione della malattia (MORI *et al.*, 2008). Considerando l'inefficacia delle applicazioni insetticide, l'unica forma di lotta contro *H. obsoletus*, e quindi contro LN, è l'eliminazione selettiva delle piante erbacee ospiti del fitoplasma e del vettore al fine di uccidere le ninfe sulle radici, prima che gli adulti infetti possano colonizzare i vigneti.

Poiché il convolvolo e l'ortica sono infettati da ceppi di LN diversi (LANGER e MAIXNER, 2004), la caratterizzazione molecolare del fitoplasma isolato dalle viti sintomatiche consente l'identificazione della pianta serbatoio localmente predominante. Il convolvolo è ampiamente diffuso all'interno dei vigneti con la conseguenza che le viti infette da questo ceppo sono distribuite casualmente nei vigneti (MAIXNER, 2006). Contro questa malerba la soluzione migliore è la semina ed il mantenimento di un cotico di graminacee tra le file (MAIXNER, 2007) e il diserbo chimico sulla fila. Le lavorazioni meccaniche non sono del tutto efficaci per ridurre l'incidenza di *C. arvensis* in quanto è una pianta che colonizza facilmente i vigneti sottoposti a lavorazioni frequenti.

L'ortica, date le necessità in acqua e azoto, è

tipicamente concentrata sui bordi del vigneto, lungo i fossi o le scoline, anche se piccoli cespi possono essere trovati sparsi nel vigneto. In questo caso la distribuzione delle viti sintomatiche presenta tipicamente un gradiente decrescente dai bordi al centro dei vigneti (BREZZAN *et al.*, 2007; MORI *et al.*, 2008; 2012), in quanto gli adulti di *H. obsoletus* colonizzano gli stessi a partire dall'esterno (MORI *et al.*, 2011). Il controllo chimico o meccanico (lavorazioni e sfalci frequenti) dell'ortica sono pratiche colturali efficaci per contenere il vettore (STARK-URNAU e KAST, 2008; MORI *et al.*, 2012; 2014a). La migliore strategia (modalità di controllo, frequenza ed epoche di applicazione) deve essere decisa considerando, oltre che l'efficacia, anche il costo e gli effetti collaterali sull'ambiente. Il contenimento dell'ortica nei vigneti a conduzione biologica, dove non è possibile il diserbo chimico, può essere ottenuta con sfalci frequenti della vegetazione erbacea, tenendo, comunque, presente che la riduzione delle popolazioni del vettore sarà graduale e proporzionale alla riduzione dell'ortica (MORI *et al.*, 2011; 2012). Le lavorazioni del terreno possono essere un'alternativa, ma non sono applicabili su fossi e argini a causa della possibilità di frana del terreno delle rive, quando privato della vegetazione erbacea. I trattamenti diserbanti devono essere eseguiti preferibilmente in primavera, circa sei settimane prima della prevista comparsa degli adulti, quando le ninfe non sono ancora in grado di spostarsi per lunghi tratti (MORI *et al.*, 2014). Per il posizionamento dell'intervento può essere utilizzato un modello fenologico basato sulle temperature dell'aria e del terreno (MAIXNER, 2007). Durante il periodo di volo degli adulti è sconsigliabile qualsiasi intervento, sia chimico che meccanico, in quanto l'indisponibilità della pianta ospite causerebbe una dispersione dei vettori nei vigneti adiacenti aumentando il rischio di infezione per la vite (MORI *et al.*, 2012).

Indipendentemente dal ceppo di LN presente nel vigneto una ulteriore pratica agronomica utile per il contenimento del giallume è la spollonatura del cordone verticale delle viti e la pulizia del sottilo che riducono la colonizzazione della vite da parte di *H. obsoletus* (PICCIAU *et al.*, 2010)

PROSPETTIVE FUTURE PER IL CONTENIMENTO DEI VETTORI

Il neonicotinoidi sono tra gli insetticidi più attivi nella protezione delle piante dalla trasmissione di fitoplasmi (SARACCO *et al.*, 2008), ma il loro impiego può danneggiare le api e gli altri impollinatori. Nel

controllo di *S. titanus*, una maggiore selettività di queste molecole, sia nei confronti dei pronubi sia dei nemici naturali, potrebbe essere ottenuta distribuendo l'insetticida attraverso l'irrigazione, come proposto per il controllo di *Homalodisca vitripennis* (Germar) vettore di *Xylella fastidiosa* (CASTLE *et al.*, 2005). Per il controllo di *S. titanus* interessanti prospettive potrebbero derivare anche da tecniche di disturbo degli accoppiamenti basate su vibrazioni (MAZZONI *et al.*, 2009b; ERIKSSON *et al.*, 2012; POLAJNAR *et al.*, 2014).

Per il controllo degli stadi giovanili di *H. obsoletus* è in fase di sperimentazione l'impiego di funghi entomopatogeni, quali *Metarhizium anisopliae* (LANGER *et al.*, 2005), *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces lilacinus* (REGGIANI *et al.*, 2011), la cui efficacia è risultata, però, essere influenzata dalle precipitazioni, dalle caratteristiche chimico-fisiche del terreno e dalla competizione di altri organismi fungini presenti nello stesso (MORI *et al.*, 2013). *B. bassiana* ha mostrato una buona efficacia anche contro forme giovanili e adulti di *S. titanus* (MORI *et al.*, 2014b).

La colonizzazione dei vigneti da parte di adulti del vettore provenienti dall'esterno potrebbe essere limitata da reti anti-insetto (MAIXNER, dati non pubblicati) o dalla piantumazione, come coltura trappola ai bordi dei vigneti, di *Vitex agnus-castus*, pianta non ospite del fitoplasma (SHARON *et al.*, 2005; 2015).

Per entrambe le specie vettrici, potrebbero essere sviluppati metodi di controllo simbiotico, attraverso l'introduzione di batteri simbiotici, modificati o meno, nei vettori allo scopo di danneggiare il vettore o la sua capacità di trasmettere i fitoplasmi (ALMA *et al.*, 2010; GONELLA *et al.*, 2011; 2012), come pure metodi chemiotropici, basati sull'impiego di semiochimici prodotti da piante da utilizzare come attrattivi (kairomoni), nell'ambito di strategie di cattura massale, o come repellenti (allomoni) (MAZZONI *et al.*, 2009a; RIOLO *et al.*, 2012).

CONCLUSIONI

La complessità epidemiologica di FD e LN rende difficoltoso il contenimento dei giallumi della vite. Affinché la lotta sia efficace, l'eliminazione delle piante sorgenti di vettori infetti deve essere effettuata sia all'interno che all'esterno dei vigneti. La pianificazione delle strategie di difesa deve prevedere anzitutto la messa in atto di tutte le tecniche di prevenzione, la caratterizzazione molecolare dell'agente patogeno ed il monitoraggio dei vettori. Inoltre, in accordo con la recente

normativa sul "Uso sostenibile dei prodotti fitosanitari", tutti i viticoltori dovranno privilegiare metodi alternativi alla lotta chimica. In considerazione del fatto che per poter applicare in pieno campo metodi innovativi di lotta ai vettori saranno necessari ancora anni di studio, nel breve periodo è necessario ridurre al minimo l'impiego di prodotti fitosanitari, adottando opportune soglie di intervento e cercando, ove possibile, di sostituirli con interventi di tipo agronomico.

RIASSUNTO

La Flavescenza dorata e il Legno nero sono due giallumi della vite di grande importanza economica per la viticoltura europea. Le due malattie sono associate ai fitoplasmii "Ca. Phytoplasma vitis" e a "Ca. Phytoplasma solani", trasmessi, rispettivamente, dal cicadellide *Scaphoideus titanus* Ball e dal cixiide *Hyalesthes obsoletus* Signoret. Le strategie di controllo di queste malattie si basano sull'estirpo delle piante infette, sorgente dei fitoplasmii, e sul controllo dei vettori prima che siano in grado di inoculare i patogeni in viti sane. In quanto nella epidemiologia di queste malattie sono coinvolte anche piante sorgenti di fitoplasmii esterne ai vigneti, le strategie di controllo devono essere adottate a livello territoriale coinvolgendo tutti i viticoltori. A partire dal 2014, in accordo con la Direttiva CE 128/2009 sull'"Uso sostenibile degli antiparassitari", tutti gli agricoltori devono adottare mezzi alternativi alla lotta chimica al fine di ridurre l'uso di antiparassitari. In questo contributo si è voluto non solo riassumere le strategie di controllo dei due giallumi attualmente adottate, ma anche delineare le nuove prospettive nell'ambito di strategie di controllo integrato.

BIBLIOGRAFIA

- ALMA A., 2014 – *Scaphoideus titanus nell'agroecosistema vigneto*. In: Incontro "Flavescenza dorata 2000-2014. Dal decreto di lotta obbligatoria alla gestione nel vigneto. Esperienze a confronto". 3 dicembre 2014, Calosso (AT) (in corso di pubblicazione).
- ALMA A., DAFFONCHIO D., GONELLA E., RADDADI N., 2010 – *Microbial symbionts of Auchenorrhyncha transmitting phytoplasmas: a resource for symbiotic control of phytoplasmas*. In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant hosts and Vectors*, Weintraub P.G. & Jones P. Eds, CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 272-292.
- BARBA M., 2005 – *La lotta obbligatoria alla flavescenza dorata e al suo vettore Scaphoideus titanus*. In: *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, Bertaccini A. & Braccini P. Eds. Quaderno ARSIA, 3/2005: 135-138.
- BAGNOLI B., GARGANI E., 2011 – *Survey on Scaphoideus titanus egg distribution on grapevine*. - IOBC/WPRS Bull., 67: 233-237.
- BAGNOLI B., ANGELINI E., BORGO M., FERRETTI L., GARGANI E., PASQUINI G., 2011 – *Valutazione del rischio di diffusione di Scaphoideus titanus mediante il materiale di propagazione della vite*. - Rivista di Viteicoltura e di Enologia, 64: 25-26.
- BOSCO D., MORI N., 2013 – *Flavescence dorée vector control in Italy*. - *Phytopathogenic Mollicutes*, 3: 40-43.
- BRESSAN A., TURATA R., MAIXNER M., SPIAZZI S., BOUDON-PADIEU E., GIROLAMI V., 2007 – *Vector activity of Hyalesthes obsoletus living on nettles and transmitting a stolbur phytoplasma to grapevines: a case study*. - *Ann. Appl. Biol.*, 150: 331-339.
- CARA C., TRIVELLONE V., LINDER C., JUNKERT J., JERMINI M., (2013) – *Influence de la gestion des repousses du tronc et du bois de taille sur les densités de Scaphoideus titanus*. - *Rev. Suisse Vitic. Arboric. Hortic.* 45(2): 114-119.
- CARGNUS E., PAVAN F., MORI N., MARTINI M., 2012 – *Identification and phenology of Hyalesthes obsoletus (Hemiptera: Auchenorrhyncha: Cixiidae) nymphal instars*. - *Bull. Entomol. Res.*, 102: 504-514.
- CASTLE S.J., BYRNE F.J., BI J.L., TOSCANO N.C., 2005 – *Spatial and temporal distribution of imidacloprid and thiamthoxam in citrus and impact on Homalodisca coagulata populations*. - *Pest Manag. Sci.*, 61: 75-84.
- ERIKSSON A., ANFORA G., LUCCHI A., LANZO F., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V., 2012 – *Exploitation of insect vibrational signals reveals a new method of pest management*. - *Plos One* 7: e32954.
- GONELLA E., NEGRI I., MARZORATI M., MANDRIOLI M., SACCHI L., PAJORO M., CROTTI E., RIZZI A., CLEMENTE E., TEDESCHI R., BANDI C., ALMA A., DAFFONCHIO D., 2011 – *Bacterial endosymbiont localization in Hyalesthes obsoletus, the insect vector of Bois noir in Vitis vinifera*. - *Appl. Environ. Microbiol.*, 77: 1423-1435.
- GONELLA E., CROTTI E., RIZZI A., MANDRIOLI M., FAVIA G., DAFFONCHIO D., ALMA A., 2012 – *Horizontal transmission of the symbiotic bacterium Asaia sp. in the leafhopper Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera: Cicadellidae)*. - *BMC Microbiology*, 12 (suppl. 1): S4.
- LANGER M., MAIXNER M., KIRCHMAIR M., HUBER L., 2005 – *Efficacy of Metarhizium anisopliae against Hyalesthes obsoletus (Auchenorrhyncha: Cixiidae)*. - *Vitis*, 44: 99-100.
- LANGER M., MAIXNER M., 2004 – *Molecular characterization of grapevine yellows associated phytoplasmas of the stolbur-group based on RELP-analysis of non-ribosomal DNA*. - *Vitis*, 43: 191-199.
- LESSIO F., ALMA A., 2006a – *Spatial distribution of nymphs of Scaphoideus titanus (Homoptera: Cicadellidae) in grapes, and evaluation of sequential sampling plans*. - *J. Econ. Entomol.*, 99: 578-582.
- LESSIO F., ALMA A., 2006b – *Influence of grapevines presence in different ecosystems on the density of Scaphoideus titanus Ball (Homoptera: Cicadellidae)*. - *IOBC/WPRS Bull.*, 29 (11): 155-159.
- LESSIO F., TEDESCHI R., ALMA A., 2007 – *Presence of Scaphoideus titanus on American grapevine in woodlands, and infection with "flavescence dorée" phytoplasmas*. - *Bull. Insectol.*, 60: 373-374.
- LESSIO F., TOTA F., ALMA A., 2014 – *Tracking the dispersion of Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera: Cicadellidae) from wild to cultivated grapevine: use of a novel mark-capture technique*. - *Bull. Entomol. Res.*, 104: 432-443.
- LINDER C., SCHAUB L., KLÖTZLI-ESTERMANN F., 2011 – *Effectiveness of hot water treatments against the eggs of Scaphoideus titanus Ball*. - *IOBC/WPRS Bull.*, 67: 17-20.
- MAIXNER M., 2006 – *Grapevine yellows - Current developments and unsolved questions*, pp. 1-8 addendum. In: *Extended abstracts, 15th Meeting of the International Council for the study of virus and virus-like diseases of the Grapevine*, Stellenbosch, South Africa, 3-7 April 2006.
- MAIXNER M., 2007 – *Biology of Hyalesthes obsoletus and*

- approaches to control this soilborne vector of Bois noir disease. - IOBC/WPRS Bull., 30(7): 3-9.
- MAIXNER M., 2010 – *Phytoplasmas epidemiological systems with multiple plant hosts*. In: *Phytoplasmas: Genomes, Plant hosts and Vectors*, Weintraub P.G. & Jones P. Eds, CABI Publishing, Wallingford, UK, pp. 213-232.
- MAIXNER M., MORI N., 2013 – *Management of Bois noir through vector control*. - *Phytopathogenic Mollicutes*, 3: 44-46.
- MAGGI F., MARZACHI C., BOSCO D., 2013 – *A stage-structured model of Scaphoideus titanus in vineyards*. - *Environ. Entomol.*, 42: 181-193.
- MAZZONI V., ANFORA G., TRONA F., LUCCHI A., IORIATTI C., 2009a – *Importance of olfaction in host plant detection of Scaphoideus titanus Ball (Hemiptera Cicadellidae) nymphs*. - *J. Econ. Entomol.*, 102: 974-980.
- MAZZONI V., LUCCHI A., COKL A., PRESERN J., 2009b – *Disruption of the reproductive behaviour of Scaphoideus titanus by playback of vibrational signals*. - *Entomol. Exp. Appl.*, 133: 174-185.
- MORI N., BOTTURA N., POSENATO G., SANCASSANI G.P., GIROLAMI V., 2004 – *Lotta contro Scaphoideus titanus Ball nei vigneti a conduzione biologica*. - *Atti Giornate Fitopatologiche 2014*, 1: 111-116.
- MORI N., PAVAN F., BONDAVALLI R., REGGIANI N., PALTRINIERI S., BERTACCINI A., 2008 – *Factors affecting the spread of "Bois Noir" disease in north Italy vineyards*. - *Vitis*, 47: 65-72.
- MORI N., REGGIANI N., POZZEBON A., DUSO C., PAVAN F., 2011 – *Influence of nettle control along a ditch on spatial distribution of Hyalesthes obsoletus Signoret in a neighbouring vineyard*. - *IOBC/WPRS Bull.*, 67: 295-298.
- MORI N., PAVAN F., REGGIANI N., BACCHIAVINI M., MAZZON L., PALTRINIERI S., BERTACCINI A., 2012 – *Correlation of bois noir disease with nettle and vector abundance in northern Italy vineyards*. - *J. Pest Sci.*, 85: 23-28.
- MORI N., FRIGIMELICA G., MARCATO F., REGGIANI N., PAVAN F., 2013 – *Efficacy of entomopathogenic fungi and nematodes against Hyalesthes obsoletus nymphs in field conditions*. In: Ester Torres, Amparo Lavina, Assumció Batlle. *Book of Abstracts 3rd European Bois noir Workshop 2013*; Barcelona, Spain, 20-21 March, p. 75-76.
- MORI N., PAVAN F., MAIXNER M., 2014a – *Control of Hyalesthes obsoletus nymphs based on chemical weeding and insecticides applied on Urtica dioica*. - *Vitis* 53: 103-109.
- MORI N., TONELLO D., POSENATO G., POZZEBON A., DUSO C., 2014b – *Efficacy of biopesticides against Scaphoideus titanus Ball in different experimental conditions*. - *IOBC/WPRS Bull. Vol. 105*: 45-48.
- PAVAN F., STEFANELLI G., VILLANI A., MORI N., POSENATO G., BRESSAN A., GIROLAMI V., 2005 – *Controllo della flavescenza dorata attraverso la lotta contro il vettore Scaphoideus titanus Ball*. In: *Flavescenza dorata e altri giallumi della vite in Toscana e in Italia*, Bertaccini A. & Braccini P. Eds. *Quaderno ARSIA*, 3/2005: 91-108.
- PAVAN F., BELLOMO C., VIDONI F., BIGOT G., OSTAN M., BOCCALON W., BRESSAN S., MUTTON P., FRAUSIN C., DE BIASIO A.C., GOVERNATORI G., MUCIGNAT D., FARFUGIA C., GIORGIUTTI D., GON F., ZANUTTA S., MALISON M., BATTISTON I., MASOTTI M., STASI G., STEFANELLI G., VILLANI A., VINZI L., 2004 – *Efficacia della lotta insetticida contro Scaphoideus titanus Ball in Friuli Venezia Giulia*. - *Supplemento Notiziario ERS*A (2004), 17 (5-6): 11-21.
- PAVAN F., MORI N., BIGOT G., ZANDIGIACOMO P., 2012a. – *Border effect in spatial distribution of Flavescenza dorata affected grapevines and outside source of Scaphoideus titanus vectors*. - *Bull. Insectol.*, 65: 281-290.
- PAVAN F., MORI N., BRESSAN S., MUTTON P., 2012b. – *Control strategies for grapevine phytoplasma diseases: factors influencing the profitability of replacing symptomatic plants*. - *Phytopathol. Mediter.*, 51: 11-22.
- PICCIAU L., LAVEZZARO S., MORANDO A., CESANO A., CUTTINI D., SALADINI M.A., ALMA A., 2010 – *Spollonatura e pulizia sottofila limitano il legno nero della vite*. - *L'Informatore Agrario*, 66 (25): 57-59.
- POLAJNAR J., ERIKSSON A., STACCONI M.V.R., LUCCHI A., ANFORA G., VIRANT-DOBERLET M., MAZZONI V., 2014 – *The process of pair formation mediated by substrate-borne vibrations in a small insect*. - *Behav. Process.*, 107: 68-78.
- REGGIANI N., MORI N., MAISTRELLO L., 2011 – *Control of Hyalesthes obsoletus Signoret, vector of Bois noir, using entomopathogenic agents: preliminary results*. In: *Proceedings of "2nd European Bois noir Workshop 2011"*, Cison di Valmarino (TV) february 27 – march 1st 2011, pp. 83-84.
- RIGAMONTI I., JERMINI M., FUOG D., BAUMGARTNER J., 2011 – *Towards an improved understanding of the dynamics of vineyard-infesting Scaphoideus titanus leafhopper populations for better timing of management activities*. - *Pest Manag. Sci.*, 67: 1222-1229.
- RIGAMONTI I., TRIVELLONE V., BRAMBILLA C., JERMINI M., BAUMGARTNER J., 2011 – *Research and management oriented sampling plans for vine inhabiting Scaphoideus titanus grape leafhopper nymphs*. - *IOBC/WPRS Bull.*, 85: 29-35.
- RIOLO P., MINUZ R.L., ANFORA G., STACCONI M.V.R., CARLIN S., ISIDORO N., ROMANI R., 2012. – *Perception of host plant volatiles in Hyalesthes obsoletus: behavior, morphology, and electrophysiology*. - *J. Chem. Ecol.*, 38: 1017-1030.
- RUI D., BELLI G., FORTUSINI A., PIZZOLI L., TORRESIN G.C., 1987 – *Ulteriore contributo conoscitivo sulla flavescenza dorata della vite nel Veneto*. In: *Atti convegno flavescenza dorata della vite*. Vicenza-Verona, 28-29 maggio 1987, pp. 237-247.
- SARACCO P., MARZACHI C., BOSCO D., 2008 – *Activity of some insecticides in preventing transmission of chrysanthemum yellows phytoplasma ('Candidatus Phytoplasma asteris') by the leafhopper Macrosteles quadripunctulatus Kirschbaum*. - *Crop Prot.*, 27: 130-136.
- SHARON R., SOROKER V., WESLEY S.D., ZAHAVI T., HARARI A., WIENRAUB P.G., 2005 – *Vitex agnus castus is a preferred host plant for Hyalesthes obsoletus*. - *J. Chem. Ecol.*, 31: 1051-1063.
- SHARON R., TOMER M., SOKOLSKY T., SOFER-ARAD C., ZAHAVI T., 2015 – *Trap plants reduces grapevine yellows disease incidence in commercial vineyards*. - *Phytopathogenic Mollicutes*, 5: 107-108.
- STARK-URNAU M., KAST W.K., 2008 – *Maßnahmen zur Eindämmung des Brennesseltyps der Schwarzholzkrankheit bei Weinreben (Vitis vinifera)*. - *Gesunde Pflanzen*, 60: 85-89.

NORME REDAZIONALI

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

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

roberto.nannelli@isza.it

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

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

- Titolo, informativo ma conciso.
- Nome dell'Autore (o degli Autori).
- Istituto di appartenenza dell'Autore (o degli Autori) e indirizzo; e-mail dell'autore corrispondente.
- Titolo in inglese.
- Summary.
- Key words, in inglese, massimo cinque parole, che devono dare brevi informazioni integrative al titolo del lavoro.
- Testo del lavoro con ben indicato l'inizio e la fine di ogni capitolo; i rimandi bibliografici devono essere così indicati: (RAMARKERS, 1983) o RAMARKERS (1983); (RIOM e GERBINOT, 1977) oppure DEUBERT & RHODE (1971); (ROBERTSON *et al.*, 1989).
- Eventuali ringraziamenti.
- Riassunto in italiano.
- Bibliografia indicata come da esempio:
DALLAI R., 1975 - *Fine structure of the spermatheca of Apis mellifera*. - J. Insect Physiol., 21: 89-109.
WALLWORK J.A., 1967 - *Acari*. In: Soil Biology, Burgers A. & Raw F. Ed., Academic Press, London, New York, pp. 365-395.
HILL D.S., 1987 - *Agricultural insect pests of the tropics and their control*. Cambridge University Press, XII+746 pp.
NORDLUND D.A., JONES R.L., LEWIS W.J. (Eds.), 1981 - *Semiochemical: their role in Pest control*. Wiley, N.Y., 850 pp.

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

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

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

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

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