

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA CALABRIA

Dottorato di Ricerca in Biologia Animale

XVII Ciclo

BIO/05

I SIAGONINI DEL MEDITERRANEO:

INDAGINI ECO- E MORFO-FISIOLOGICHE

Dottoranda

Mariastella Romeo

Coordinatore

Ch.mo Prof. Bruno Tota

Docente Tutor

Ch.ma Prof.ssa Tullia Zetto

Anno Accademico 2005/2006

INDICE

INTRODUZIONE	1
CAPITOLO 1 Il genere <i>Siagona</i> Latreille 1806	4
1.1 – Caratteristiche del genere	4
1.2 – Biologia di <i>Siagona dejeani</i> Rambur 1837	7
1.3 – Biologia di <i>Siagona jenissoni</i> Dejean 1826	8
1.4 – Biologia di <i>Siagona europaea</i> Dejean 1826	8
CAPITOLO 2 La morfometria	10
2.1 – L'uso dello spazio nei Coleotteri Carabidi	10
2.2 – Morfometria degli occhi nei Coleotteri Carabidi	11
2.3 – Relazioni tra forma del corpo e habitat nei Coleotteri Carabidi	13
CAPITOLO 3 Gli organi di senso negli insetti	14
3.1 – Il sistema sensoriale degli Insetti	14
3.1.1 La meccanorecezione	15
3.1.2 La chemorecezione	18
3.1.3 I sensilli sulle antenne	19
3.1.4 I sensilli sulle parti boccali	20
3.2 – Gli organi visivi negli Insetti	20
3.2.1 Gli occhi semplici	21
3.2.2 Gli occhi composti	21
3.2.3 Gli ommatidi	22
CAPITOLO 4 Il comportamento gregario nei Coleotteri Carabidi	25
4.1 – Il comportamento sociale	25
4.2 – Le aggregazioni nei Coleotteri Carabidi	28
CAPITOLO 5 Materiali e metodi	31
5.1 – Luoghi di campionamento	31
5.2 – Condizioni di allevamento	35
5.3 – Analisi morfometriche	35
5.3.1 Analisi statistiche	36

5.4 – Indagini ultrastrutturali	37
5.5 – Osservazioni comportamentali	37
5.6 – Indagini elettrofisiologiche	38
5.6.1 Apparato e procedure di stimolazione	39
5.6.2 Stimoli chimici impiegati	40
5.7 – Indagini gascromatografiche	41
5.7.1 Microestrazione in Fase Solida (SPME)	41
5.7.2 Metodo di campionamento e di acquisizione	43
CAPITOLO 6 Risultati	44
6.1 – Risultati indagini morfometriche	44
6.2 – Risultati indagini ultrastrutturali	51
6.3 – Risultati indagini elettrofisiologiche	59
6.4 – Risultati osservazioni comportamentali	61
6.5 – Risultati indagini gascromatografiche	64
6.6 – Fenologia di <i>Siagona europaea</i>	66
CONCLUSIONI	70
BIBLIOGRAFIA	

ABSTRACT

MEDITERRANEAN SIAGONINI: ECO- AND MORPHO-PHYSIOLOGICAL ANALYSIS.

Carabidae (Coleoptera) are popular objects for ecological study, owing to the abundance of species, about 40000 have been described so far in the group (Brandmayr et al., 2005), and to the fact that the species vary in body size, annual rhythmicity, and habitat choice, and differ with respect to many physiological and behavioural properties that reflect the special demands of their habitats (den Boer, 1986).

Superficially, most ground beetles of varying sizes seem to have a similar body shape, but there are, of course, species-specific differences, and morphological peculiarities of each species reflect the special demands of its niche (Bauer and Kredler, 1993).

Habitat distribution can be influenced by several factors: 1) temperature or humidity extremes, 2) food conditions, 3) presence and distribution of competitors, 4) life history and season (Lövei & Sunderland, 1996).

Carabid beetles are generalists but in literature cases of myrmecophily are known for the tribe of Paussinae (Nagel, 1979), while myrmecophagy is reported for the tribe of Siagonini, in particular for *Siagona europaea* (Zetto Brandmayr et al., 1994b).

The biology of genus *Siagona*, belonging to the Siagonini, a tribe of the Scaritinae, is poorly known. There is some information in Andrewes (1929) who hypothesized possible relationships between the Siagonini tribe and termites. The same author collected adult beetles of four Indian *Siagona* species during the rain season in vegetable refuse surrounding the rice fields.

To date, almost nothing is known about the ecological demands and life style of the species of this genus, which has a wide geographic distribution including India (Andrewes, 1929), Arabia, Africa and the Mediterranean region (Bauer et al., 2005).

Recently, among species belonging genus *Siagona*, has been investigated *S. europaea* in relation to its predatory behaviour and the possibility of an “odorous camouflage” with the ants (Zetto Brandmayr et al., 2000), its cuticular profile that have an important role in the survival of the species (Zetto Brandmayr et al., 2000; 2002), its temperature and humidity demands and the gregarious behaviour (Bauer et al., 2005), and the larva is described (Zetto Brandmayr et al., 2006a).

Three species are present in southern Europe, *S. jenissoni* Dejean 1826, *S. dejeani* Rambur 1837 and *S. europea* Dejean 1826.

The aim of this work is investigate three species belonging genus *Siagona* considering:

- 1) Morphometrical analysis, because morphometrical parameters are related to habitat;
- 2) Corneas, because compound eyes as an indicator of life-style;
- 3) Sensorial pattern of antennae;
- 4) Electrophysiology of labial palps, to study the presence of olfactive chemoreceptors by EAG;
- 5) Gregarious behaviour.

Obtained data are interpreted in relation to habitat, geographical distribution and life habits and especially predatory behaviour of these three species.

By morphometrical analysis we demonstrate that flat body reflects their adaptation to live in crevices of clay soil, a low number of ommatidia and long antennae show that are nocturnal hunters.

Their sensorial pattern is similar in three species. This is probably due to the fact that they live in similar habitat and have same diet. The palps are specialized to identify formic acid and then they have a main role to detect prey. *Siagona dejeani* is the only species that shows gregarious behaviour, that occurs probably during the breeding period to reduce the dehydration.

INTRODUZIONE

I Coleotteri Carabidi rappresentano un vasto gruppo comprendente oltre 40000 specie descritte, classificate in 86 tribù e sono spesso utilizzati per studi ecologici. Le specie appartenenti a questa famiglia variano nella taglia del corpo, nella ritmicità annuale, nella scelta dell'habitat e nelle principali proprietà fisiologiche e comportamentali che riflettono le caratteristiche dell'habitat (den Boer, 1986).

Molti Autori considerano i Coleotteri Carabidi un tipico esempio di gruppo animale in cui la diversificazione a livello fisiologico e comportamentale supera di gran lunga la variazione morfologica effettivamente osservabile. Studi recenti hanno permesso di constatare che esiste un discreto grado di variazione morfologica che quasi sempre si accompagna a risposte eco-comportamentali ben precise, a loro volta discretamente correlate a determinate tipologie di habitat o di risorsa trofica (Brandmayr et al., 2005).

La scelta dell'habitat può essere influenzata da diversi fattori: 1) temperatura e umidità; 2) risorse trofiche; 3) presenza e distribuzione dei predatori; 4) ciclo vitale e stagionalità (Lövei & Sunderland, 1996).

La maggior parte delle specie conosciute ha costumi predatori a spese di altri artropodi, ma anche di molluschi gasteropodi e di oligocheti, soprattutto lombrichi. Secondariamente sembra poi essersi diffusa, specialmente in alcune sottofamiglie e tribù (Harpalinae, Zabryni, Amarini), una dieta almeno parzialmente fitofaga a spese di semi e piante erbacee (Brandmayr et al., 2005).

In diverse tribù (Paussini, Pseudomorfini, Ortogonini) sono note relazioni simbiotiche con formiche o termiti (Erwin, 1979).

Si osserva la predazione di formiche nelle specie *Graphipterus serrator* Forskål e nel genere *Thermophilum*; si rileva questo fenomeno di predazione delle formiche e delle nidiate soltanto allo stadio larvale come adattamento agli ambienti aridi. Le colonie di formiche sono abili a concentrare un'elevata quantità di cibo; ciò fornisce una grande biomassa per le larve dei carabidi oltre a condizioni di umidità adatte al

completamento dello sviluppo (Paarmann et al., 1986; Zetto Brandmayr et al., 1994a).

Le larve di *Sphallomorpha colymbetoides* Westwood predano formiche camminando intorno alle aperture delle tane verticali (Moore, 1974). Nella tribù dei Paussini, oltre alle larve, anche gli adulti sono mirmecofili (Nagel, 1979).

Tra i Siagonini adulti la mirmecofagia è stata osservata nel genere *Siagona* (Zetto Brandmayr & Pizzolotto, 1994b).

Il genere *Siagona*, oggetto del presente studio, è attualmente poco conosciuto. Le notizie presenti in bibliografia sono relative alla distribuzione (Antoine, 1955; Andrewes, 1929; De Chaudoir, 1876), alla morfologia e preferenza dell'habitat (Antoine, 1955) e alle preferenze alimentari (Zetto Brandmayr et al., 1994b). Emerge quindi che il genere *Siagona* è indoeuropeo ed ha nel Mediterraneo il suo limite di estensione a nord; le specie che vi appartengono sono caratterizzate da un corpo fortemente appiattito, da una dieta specializzata verso la mirmecofagia e dalla preferenza verso la vita nelle fessure dei suoli argillosi.

Recentemente, tra le specie appartenenti al genere *Siagona*, sono stati approfonditi gli studi riguardo *S. europaea* indagandone il comportamento di predazione, manifestato con l'inarcamento del protorace e lo scuotimento della preda che potrebbe fornire al predatore un "camuffamento odoroso" (Zetto Brandmayr et al., 2000), il profilo cuticolare, che riveste un ruolo fondamentale nella sopravvivenza della specie (Zetto Brandmayr et al., 2000; 2002), le preferenze di temperatura, umidità e l'assenza di comportamento gregario (Bauer et al., 2005) e ne è stata descritta la larva (Zetto Brandmayr et al., 2006a).

Nel sud Europa sono presenti tre specie appartenenti al genere *Siagona*: *S. dejeani* Rambur, *S. jenissoni* Dejean e *S. europaea* Dejean.

Al fine di approfondire le scarse notizie presenti in bibliografia sulle tre specie, relativamente alla biologia e all'ecologia, sono state svolte le seguenti indagini:

- 1) analisi morfometriche, essendo i parametri morfometrici strettamente correlati con l'habitat colonizzato;
- 2) analisi dei parametri visivi, dal momento che le caratteristiche morfologiche degli occhi composti riflettono lo stile di vita dell'animale;

- 3) indagini ultrastrutturali, allo scopo di descrivere il pattern sensoriale delle antenne attraverso la microscopia elettronica a scansione;
- 4) indagini elettrofisiologiche, per verificare la chemiorecettività dei palpi labiali con la tecnica EAG;
- 5) analisi comportamentali, per stabilire l'eventuale presenza di gregarismo.

I dati ottenuti sono stati quindi interpretati e relazionati allo stile di vita e alla scelta dell'habitat delle tre specie.

L'attenzione è stata quindi focalizzata sull'esistenza di eventuali relazioni tra la distribuzione delle specie e i caratteri morfometrici; sulla probabile omogeneità del corredo sensoriale visto che le tre specie colonizzano ambienti simili; sulla funzione che svolgono i palpi nella ricerca della preda e sull'influenza che il corredo sensoriale può avere sul comportamento gregario, laddove questo è presente.

CAPITOLO 1

IL GENERE *SIAGONA* LATREILLE 1806

1.1 Caratteristiche del genere

All'interno dell'ordine dei Coleotteri, di cui fanno parte circa 370000 specie (dato relativo al 1990), quasi 40000 appartengono alla famiglia Carabidae (Brandmayr et al., 2005). Il genere *Siagona*, oggetto di studio, rientra nella sottofamiglia Siagoninae appartenente ai Coleotteri Carabidi.

Lecordier (1977) suddivide la sottofamiglia Siagoninae in tre tribù:

- ✓ Tribù Enceladini, di cui fa parte un solo genere ed una sola specie di taglia molto grande: *Enceladus gigas* Bonelli localizzato nella parte settentrionale dell'America del Sud: Brasile, Colombia, Venezuela e Guyana;
- ✓ Tribù Lupercini, di cui fa parte il solo genere *Luperca* Castelnau con due specie, *L. goryi* Castelnau che vive in Africa tropicale e *L. laevigata* Fabricius che si rinviene in India;
- ✓ Tribù Siagonini di cui fanno parte due generi: *Siagonella* Lecordier e *Siagona* Latreille. Quest'ultimo comprende insetti di taglia media, mai molto piccola e con il corpo sempre molto appiattito. Essi sono caratterizzati da antenne interamente pubescenti, con lo scapo molto lungo e claviforme; l'ultimo articolo dei palpi labiali è fortemente allargato.

Per Antoine (1955) al genere *Siagona* appartengono insetti dall'aspetto molto particolare per la forma del corpo fortemente appiattita. Sono caratterizzati da: antenne cilindriche, pubescenti dai primi articoli; occhi piccoli; mesotorace fortemente pedunculato; elitre lunghe, senza bordo basale, coperte da punti, mai da strie; mesotibie che presentano all'estremità della loro faccia esterna una spazzola formata da setole lunghe e mobili. Non presentano caratteri sessuali secondari; l'organo copulatore è grande, appiattito da destra a sinistra all'apice (è un'evidente correlazione con l'appiattimento generale del corpo); l'orifizio più o meno rivolto verso destra con stilette lunghi, stretti e setosi; il sacco interno è munito di una grande

placca chitinoso. Alcune specie presentano un apparato di stridulazione. Il corpo presenta colorazione rossa, bruna o nera. Gli individui appartenenti a questo genere sono abitanti subipogei di fessure di terreni argillosi che risalgono in superficie durante i periodi umidi.

Siagona è un genere indo-europeo che ha nella regione mediterranea il suo limite di estensione a Nord.

Andrewes (1929) afferma che gli insetti appartenenti a questo genere vivono sotto i sassi, nella sabbia, in spazi aperti, etc. La forma del corpo molto piatta suggerisce però uno spazio confinato, come ad esempio tra il tronco e la corteccia di un albero. Lo stesso autore ha raccolto coleotteri adulti di quattro specie indiane di *Siagona* durante la stagione piovosa in residui vegetali intorno a campi di riso. Nel genere alcune specie volano mentre altre sono attere; è questo il primo carattere che ha utilizzato De Chaudoir (1876) in “Monographie des Siagonides” per suddividere le specie. Egli afferma che gli insetti appartenenti a questo genere possiedono delle mandibole molto robuste con grossi denti alla base. Vivendo in regioni dove abbondano scorpioni, scolopendre ed altri animali simili, è probabile che *Siagona* debba lottare con essi. I tegumenti, infatti, sono molto duri probabilmente per avere delle difese proporzionali al danno. Sono degli animali prevalentemente continentali, fatta eccezione per le isole del Mediterraneo.

Tutt'oggi si hanno poche notizie circa l'ecologia e lo stile di vita delle specie appartenenti a questo genere, che ha un'ampia distribuzione geografica comprendente India (Andrewes, 1929), Arabia, Africa e regione Mediterranea (Bauer et al., 2005).

Nel sud Europa sono presenti tre specie appartenenti al genere *Siagona*: *S. dejeani* Rambur 1837, *S. jennissoni* Dejean 1826 e *S. europaea* Dejean 1826 (Fig. 1.1; Fig. 1.2).

Le tre specie sono state indagate da Galian et al. (1992) per quel che riguarda il cariotipo: *Siagona europaea* Dejean ha $2n=46$ cromosomi, *S. jennissoni* Dejean e *S. dejeani* Rambur hanno $2n=45$. Esse hanno cariogrammi in cui predominano i cromosomi submetacentrici. *S. jennissoni* e *S. dejeani* differiscono da *S. europaea* per la taglia e la forma del cromosoma X oltre che per la mancanza del cromosoma Y; le prime due specie mostrano, inoltre, lievi differenze riguardo agli autosomi pari. I

risultati delle tre specie di *Siagona* della penisola iberica confermano la loro affinità morfologica ed ecologica. L'euritopica *Siagona europaea* ha $2n=46$ (XY) mentre le specie localizzate, *S. jenissoni* e *S. dejeani*, hanno $2n=45$ (XO). Strutturalmente la prima specie mostra un cromosoma X molto grande, chiaramente differenziato dai più grandi autosomi pari mentre il singolo cromosoma X delle altre due specie è grande circa quanto i più grandi autosomi pari.

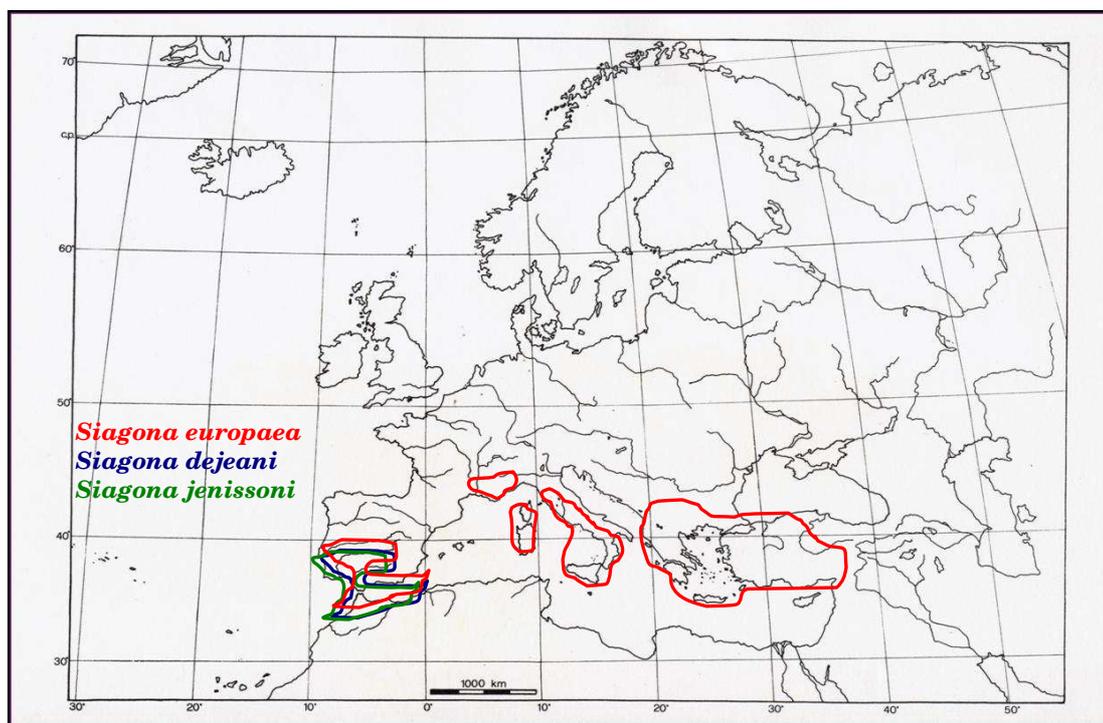


Figura 1.1: Distribuzione di *S. dejeani*, *S. jenissoni* e *S. europaea* nel bacino del Mediterraneo.

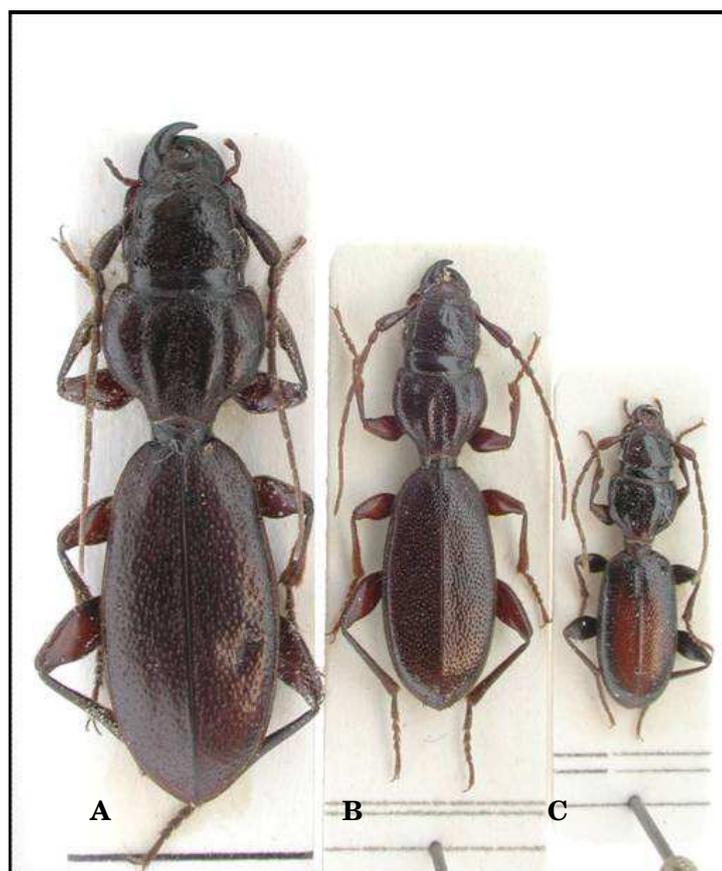


Figura 1.2: A, *Siagona dejeani*; B, *Siagona jenissoni*; C, *Siagona europaea*

1.2 Biologia di *Siagona dejeani* Rambur 1837

Le notizie bibliografiche relative a *Siagona dejeani* sono scarse e rinvenibili in Antoine (1955) e De Chaudoir (1876). Quest'ultimo afferma che la specie è caratterizzata dall'assenza totale dell'angolo omerale; la base delle elitre si fonde a partire dal peduncolo conferendogli una forma ovalare, leggermente rivolta in avanti. È una specie attera. In De Chaudoir (1876) è riportato che prima del dr. Rambur, Bedeau l'aveva già catturata presso Cadix; essa è molto comune e si rinviene in gruppi numerosi sotto le pietre, in inverno, sulle colline, vicino S. Roque e Algesiras. Secondo Rambur non si trova mai insieme a *S. jenissoni* mentre Rosenhauer afferma di averla incontrata sotto le stesse pietre. Si trova anche a Tangeri, ma non sembra estendere il suo habitat verso oriente al di là dell'Oran.

Il suo areale di distribuzione è localizzato al nord del Marocco e al sud della Spagna.

1.3 Biologia di *Siagona jenissoni* Dejean 1826

Come per *S. dejeani*, anche per *S. jenissoni*, le poche notizie presenti in letteratura sono riportate da Antoine (1955) e De Chaudoir (1876). Come riportato da quest'ultimo Rosenhauer ha affermato che le zampe anteriori, sfregando contro le epipleure dell'addome producono un suono stridente. Salzmann afferma di averla rinvenuta con *S. rufipes* scambiandole per i due sessi di una stessa specie.

S. jenissoni vive nelle stesse zone di *S. dejeani*, vale a dire Sud della Spagna e del Portogallo e sulla costa opposta del Marocco.

1.4 Biologia di *Siagona europaea* Dejean 1826

In Brandmayr & Pizzolotto (1990) *S. europaea* è considerata una specie che predilige gli spazi aperti del bioma mediterraneo (sclerofille). Riguardo alla scelta dell'habitat, mostra una chiara preferenza per i suoli sabbioso-argillosi che divengono profondamente fessurati nella tarda primavera, quando l'argilla si asciuga (Zetto Brandmayr & Pizzolotto, 1994b).

Recenti studi (Zetto Brandmayr et al., 1998a) hanno provato che la dieta di *S. europaea* è esclusivamente mirmecofaga ma non specializzata verso un taxon preferito.

Zetto Brandmayr et al. (2000b) hanno descritto il comportamento di predazione delle formiche. I dati ottenuti indicano che, oltre gli aspetti morfologici, anche il comportamento gioca un importante ruolo adattativo. L'inarcamento del protorace e lo scuotimento della preda possono, infatti, fornire al predatore un "camuffamento odoroso".

Da osservazioni condotte da Zetto Brandmayr et al. (2000a, 2000b, 2002) è emerso che anche il profilo cuticolare di *S. europaea* gioca un ruolo essenziale nella sua strategia di sopravvivenza. Grazie alla somiglianza di base con gli idrocarburi cuticolari delle formiche, il coleottero probabilmente non è riconosciuto immediatamente come nemico dai membri della colonia. Le sequenze del comportamento di cattura della preda, di inarcamento del protorace e di scuotimento della preda permettono il passaggio di differenti composti chimici, di solito non presenti nel profilo cuticolare del carabide. In particolare si può ipotizzare un doppio

meccanismo di camuffamento cuticolare (Talarico et al., 2002b): il primo, ad azione più rapida, si manifesta in particolari condizioni di pericolo, in presenza di una moltitudine di formiche e si attua mediante un comportamento di cattura e consumazione della preda; il secondo, più lento, si manifesta nel tempo con una sorta di biosintesi delle sostanze assunte attraverso la dieta.

Un notevole contributo alla conoscenza della specie è stato dato da Bauer et al. (2005). Dallo studio è emerso che *S. europaea* è una specie notturna che evita la luce. Ciò è confermato dalla struttura degli occhi composti: *S. europaea* ha, infatti, piccoli occhi con circa 530 ommatidi per occhio, cioè 43 ommatidi/lunghezza del corpo che è un valore che caratterizza le specie notturne. Nonostante ciò preferisce temperature elevate (circa 30°C) anche se il suo habitat tipico comprende un'ampia varietà di temperature (superficie del suolo, sotto le pietre e all'interno delle fratture) nella stessa ora del giorno.

S. europaea viene considerato un riproduttore primaverile con una stagione di attività che va da marzo a maggio quando appaiono gli adulti sessualmente maturi; la larva è stata solo recentemente descritta in Zetto Brandmayr et al. (2006a).

Andrewes (1929) ha trovato la specie *Siagona europaea* Dejean in Asia e precisamente in Baluchistan, Iraq, Arabia, Syria, Transcaspia e nel bacino del Mediterraneo.

Jeannel (1941) la segnala in Spagna (precisamente in Andalusia), nell'Italia meridionale, nella Grecia, nelle Isole Ionie, nella Corsica orientale, nel Nord Africa fino al Senegal, nelle Canarie e nelle Indie.

Antoine (1955) indica la seguente distribuzione: Africa (Senegal), Asia (Indie) e raramente Africa settentrionale (Marocco).

Magistretti (1965) la considera una specie a vastissima diffusione: bacino del Mediterraneo, Canarie, Asia minore, Asia sud occidentale (Persia), Transcaspia, Turkestan, Africa occidentale (Senegal), Nubia, India settentrionale.

Nella penisola italiana è segnalata in Toscana, Lazio, Campania, Puglia, Basilicata, Calabria, Sardegna e Sicilia.

Machado (1992) ne segnala la presenza in Africa ed Europa.

L'areale è pertanto quello mediterraneo-afro-indiano.

CAPITOLO 2

LA MORFOMETRIA

2.1 L'uso dello spazio nei Coleotteri Carabidi

I Coleotteri Carabidi, nella condizione più generica, sono abitatori del suolo considerato relativamente allo strato superficiale, da cui la diffusa definizione di "epigei". Qui si ritrovano in abbondanza a percorrere la superficie, cercare riparo sotto pietre, muschi, strati di lettiera; similmente sono ben adattati a sfruttare gli interstizi e le porosità naturali del terreno (Evans, 1990).

La principale differenza con altri coleotteri è rappresentata da un'architettura particolarmente efficiente del corpo, che può essere adattata a diversi stili di vita senza richiedere profonde modificazioni (Evans, 1994). Solo in evidenti casi di specializzazione estrema sia la forma che la struttura del corpo vengono visibilmente influenzate da particolari habitat o stili di vita (Forsythe, 1987), come appare evidente per gli abitatori di fessure e cavità sotterranee o per quelli che vivono in associazione con le formiche. Esistono linee evolutive differenti a seconda dell'habitat occupato dall'animale; nell'ambiente cavernicolo si assiste alla specializzazione degli organi sensoriali, che riguarda soprattutto le appendici tattili o meccaniche, come per esempio l'aumento dei peli sensoriali oppure l'allungamento delle antenne. Si manifesta inoltre, depigmentazione, riduzione nella sclerificazione, adattamenti fisiologici nella riproduzione, anoftalmia (assenza di occhi, o cecità). Le specie che conducono vita arboricola, soprattutto nella fauna dei tropici dove raggiungono 1/3 di quelle presenti, acquisiscono estremità tozze con unguicoli tarsali fortemente sviluppati, da arrampicatori (generi tropicali *Tricondyla* ed *Agra*). Un sensibile appiattimento del corpo è condiviso sia nei generi che eleggono come habitat preferenziale di caccia lo spazio sotto le cortecce (*Mormolyce*), sia in quelli che vivono tra le guaine foliari delle Bromeliacee (*Colpodes*). Forma del corpo particolarmente piatta è evidente anche nel genere *Siagona*, rinvenibile sotto cortecce o nelle fessure di vertisuoli argillosi. In *Siagona europaea*, specie largamente diffusa

nel bacino del Mediterraneo, una nuova strategia di sfruttamento di spazi particolari, quali i reticoli di fessure in prossimità dei formicai, è stata descritta (Zetto Brandmayr & Pizzolotto, 1994b; Zetto Brandmayr et al., 1996).

Oltre alle modificazioni morfologiche, anche diversi moduli comportamentali possono evolversi e svilupparsi. Questo comporta dei vantaggi nei confronti della predazione, nella ricerca del cibo e nel successo riproduttivo, il che rende nel complesso l'organismo particolarmente adatto al nuovo ambiente.

I carabidi presentano tre principali strategie di ricerca e cattura della preda (o del cibo più genericamente) (Brandmayr & Zetto Brandmayr, 1980) e precisamente i più primitivi predatori "olfattivi-tattili", dai quali derivano tanto i predatori "ottici" quanto gli "spermofagi", divoratori di semi.

I predatori olfattivi-tattili sono considerati i più frequenti nella famiglia dei Carabidi, con un numero di ommatidi relativamente basso e attività prevalentemente notturna. Essi possono avere prede molto generalizzate, ma possono evolvere strategie alimentari diverse, con comportamenti di predazione molto specializzati.

I predatori ottici sono rappresentati da quei carabidi caratterizzati da un incremento tanto nel numero che nelle dimensioni degli ommatidi (Bauer, 1981, 1985; Bauer & Kredler, 1993); essi presentano un'aumentata acuità visiva ed una visione almeno parzialmente binoculare in grado di fornire una più esatta stima delle distanze, visibile esternamente dagli occhi composti particolarmente voluminosi.

I predatori olfattivi-tattili sono altamente euritopi, hanno picchi di attività in ambienti forestali o ipogei; i predatori ottici probabilmente si diffondono in un'ampia varietà di ambienti più luminosi o negli strati di superficie (Zetto Brandmayr & Brandmayr, 1998).

2.2 Morfometria degli occhi nei Coleotteri Carabidi

Le caratteristiche morfologiche dell'occhio composto riflettono gli aspetti dello stile di vita di diverse specie di insetti (Wehener, 1981). I predatori visivi diurni hanno grandi occhi sporgenti lateralmente con un'ampia visione binoculare del campo visivo. Gli insetti notturni che percepiscono la preda chimicamente e attraverso tracce meccaniche, hanno gli occhi più piccoli con pochi ommatidi (Bauer et al.,

1998). Tra le specie strettamente correlate, per esempio dello stesso genere, le differenze nella morfologia dell'occhio possono essere piccole, tuttavia, sussistono differenze nella scelta dell'habitat (Bauer, 1985; Morwinsky & Bauer, 1997).

Per gli abitanti degli strati profondi della lettiera o delle grotte, gli occhi possono essere superflui, o possono essere abbastanza semplici, tali da percepire soltanto la direzione della sorgente luminosa. Le specie di superficie, invece, sono abili a spostarsi tra la vegetazione o negli spazi aperti. Quelle attive durante la notte o al tramonto sono in grado di percepire variazioni dell'intensità luminosa e grandi oggetti nell'ambiente circostante; quelle attive di giorno devono poter percepire piccoli oggetti in movimento, essendo prede di uccelli o di altri insetti (Pearson, 1985). I carabidi predatori visivi, che cacciano regolarmente di giorno, non solo sono abili a percepire i predatori (per esempio oggetti più grandi di loro), ma anche le prede, che solitamente sono più piccole. Inoltre devono saper valutare la distanza e le dimensioni di questi oggetti prima dell'attacco (Bauer, 1981, 1985). Questi aspetti differenti sono spesso chiaramente riflessi dalla morfologia degli occhi. I Carabidi che vivono nelle cavità del suolo hanno pochi o nessun ommatidio (Bauer & Kredler, 1993). I predatori visivi, d'altra parte, hanno larghi occhi sferici (Kuster & Evans, 1980), che di solito si trovano in insetti che individuano la preda attraverso tracce visive.

Le differenze tra predatori visivi e non, può essere molto rilevante a causa della taglia relativa degli occhi (Bauer, 1985).

Occhi composti sporgenti lateralmente favoriscono la visione periferica e possono essere associati con un insieme di ommatidi che migliora la risoluzione nel campo visivo frontale, anche se possono impedire i movimenti di un coleottero tra le piante e le strutture del suolo.

Generalmente i predatori visivi hanno circa il 50% in più di ommatidi (media >200 ommatidi/lunghezza corporea in mm) rispetto ai predatori tattili (media <100/lunghezza corporea in mm), anche se all'interno della stessa specie possono esserci ampie differenze. Per esempio, nel genere *Carabus* esistono chiare ed evidenti differenze nel numero di ommatidi che è maggiore in *C. coriaceus* rispetto a *C. lefebvrei* e *C. preslii* (Talarico et al., 2006).

2.3 Relazioni tra forma del corpo e habitat nei Coleotteri Carabidi

Esiste una diretta correlazione tra la forma del corpo e l'habitat della specie, infatti i carabidi che vivono in habitat ristretti, come le fessure dei suoli, hanno la tendenza ad essere piatti e stretti (Forsythe, 1987). Le specie che scavano nella lettiera per cercare la preda, generalmente hanno i trocanteri più grandi (lunghezza relativa $> 0,11$) e sono detti "wedge pushers" dei corridori di superficie, dotati di zampe lunghe e sottili con corti trocanteri (lunghezza relativa $< 0,09$) e sono detti "surface runners" (Forsythe, 1981). Le antenne sono generalmente più corte nei predatori visivi piuttosto che in quelli tattili (Bauer & Kredler, 1993), probabilmente perché il contatto diretto con la preda risulta meno importante per loro (Bauer et al., 1998). Un'altra caratteristica dei predatori visivi è il capo più grande rispetto ai predatori tattili (Bauer & Kredler, 1993).

CAPITOLO 3

GLI ORGANI DI SENSO NEGLI INSETTI

3.1 Il sistema sensoriale degli Insetti

Gli insetti possiedono una ricca e precisa informazione sul mondo esterno grazie ad un equipaggiamento sensoriale molto complesso. Per la loro struttura gli organi recettori degli insetti differiscono molto da quelli dei vertebrati. La presenza di un tegumento cuticolare resistente che forma lo scheletro dell'animale impone delle strutture sensoriali quali il pelo o la setola. Nella sua forma più semplice, un organo di senso comprende una cellula sensoriale relegata all'estremità distale di un nervo sensoriale e adibita a ricevere lo stimolo. Le strutture sensoriali degli insetti prendono il nome di sensilli (Grassé, 1975).

Un sensillo è definito come un'area specializzata del tegumento, consistente in cellule formative (termogene e tricogene), cellule sensoriali e, in alcuni casi, cellule ausiliarie (Schneider, 1964).

Schneider (1964) riconosce le seguenti tipologie sensoriali:

- ✓ sensilli tricoidei, senza alcun anello cuticolare specializzato alla base per articolare la membrana;
- ✓ sensilli chetici, distinguibili per la presenza di una membrana circolare specializzata e flessibile alla base;
- ✓ sensilli basiconici, senza alcuna membrana basale specializzata. Se associati a sensilli tricoidei sono relativamente più corti ed hanno una parete più sottile;
- ✓ sensilli campaniformi, con una parete sottile;
- ✓ sensilli placoidei piatti, ellittici e allungati con una cuticola sottile.

Zacharuk (1985) distingue:

- ✓ sensilli tricoidei a forma di setola, con lunghezza variabile e diametro in genere proporzionato alla lunghezza;
- ✓ sensilli chetici più grossi e con una parete più spessa rispetto ai precedenti;
- ✓ sensilli basiconici simili ai tricoidei ma più corti e con la punta ricurva;

- ✓ sensilli placoidei con cuticola sensoriale piatta quasi sempre a livello della superficie e attaccata da un anello di cuticola membranosa;
- ✓ sensilli campaniformi con la parte cuticolare innervata come un “domo” o una cupola posizionata a varie profondità sulla superficie della cuticola ed in genere associata a strati cuticolari o lamelle.

Altner (1983) in relazione alle specializzazioni strutturali e alle modalità sensoriali, distingue:

- 1) recettori gustativi localizzati su setole, peli o elevazioni della cuticola, oppure sotto aree cuticolari piatte aventi un singolo poro terminale. Questo poro o sistema di pori è ricoperto da materiale viscoso. Nella maggior parte dei casi è presente un meccanorecettore che controlla il contatto con il substrato (“chemorecettori di contatto”). Questi recettori si rinvengono sulle antenne, sulle parti boccali, sulle zampe e sull’ovopositore;
- 2) recettori olfattivi localizzati sulle setole, pegs o al di sotto di aree irregolarmente ondulate o piatte con la superficie perforata da numerosi pori. Sensilli di questo tipo si possono osservare sulle antenne o sui pezzi boccali (palpi mascellari);
- 3) sensilli termorecettori combinati con igrorecettori o con cellule sensoriali olfattive;
- 4) igrorecettori e termorecettori che non mostrano sistemi di pori. Questa tipologia si trova soltanto sulle antenne.

3.1.1 La meccanorecezione

Con il termine meccanorecezione si intende la percezione di ogni distorsione meccanica del corpo. Questa potrebbe derivare dal tocco di un oggetto o dall’impatto di vibrazioni di aria, acqua o substrato e quindi la essa comprende il senso dell’udito. Sono incluse anche le distorsioni del corpo che derivano dalla posizione dell’insetto e dalla forza esercitata dalla gravità, così alcuni meccanorecettori sono propriocettori. Negli insetti sono presenti tre tipi di meccanocettori:

- strutture cuticolari con neuroni bipolari;

- strutture sottocuticolari con neuroni bipolari, conosciuti come organi cordotonali;
- neuroni multipolari interni agenti come recettori “stirati”.

I meccanorecettori cuticolari sono suddivisi in due classi: setole, che si proiettano dalla cuticola con un’articolazione basale, e sensilli campaniformi simili a domi. Entrambi i tipi hanno lo stesso corredo di neuroni e cellule accessorie.

- Strutture a forma di setole (sensilli tricoidei). La maggior parte delle setole più lunghe sul corpo di un insetto è un meccanorecettore. Non hanno pori sulla cuticola e pertanto sono conosciuti come sensilli aporosi. La parete della setola è formata da esocuticola con uno strato più esterno di epicuticola. Più comunemente le setole assottigliate dalla base alla punta sono conosciute come sensilli tricoidei. Questi sensilli alloggiati in una cavità che permette il movimento della setola dalla cui posizione dipende la stimolazione neurale. Per dare flessibilità e sostenere la setola nella sua normale posizione, la cavità ha di solito tre componenti: una esterna, rappresentata da una sottile membrana di giunzione tra la cuticola del corpo e la setola; una sottostante, rappresentata dalle fibre di sospensione ed il setto della cavità, anch’esso fibroso, che ha la funzione di riportare la setola alla sua posizione originale dopo il movimento.
- Sensilli campaniformi. Essi sono rappresentati da aree di sottile cuticola, a forma di domo ovale e con diametro di circa 5 – 30 μm . Il domo consiste in uno strato omogeneo esterno con l’apparenza di esocuticola e di uno strato interno fibroso o lamellare. Alcune volte questi due strati sono separati da uno di cuticola trasparente spugnosa. I sensilli campaniformi sono collocati in aree della cuticola soggette a stress, ad esempio sulle zampe, sulle parti boccali, sui segmenti basali delle antenne, alla base delle ali e sull’ovopositore.

In tutti i meccanorecettori cuticolari la parte distale del dendrite è racchiusa da una guaina, la guaina cuticolare o dendritica, che si inserisce alla base della setola o al centro del sensillo campaniforme (Fig. 3.1). Nella maggior parte dei meccanosensilli cuticolari c’è soltanto un neurone, diviso in tre sezioni: il dendrite prossimale che contiene mitocondri e altri organuli; al di sotto vi è una regione ciliata che contiene

un anello con nove coppie di microtubuli e una regione distale in cui sono presenti soltanto neurotubuli. Il neurone è circondato da tre cellule accessorie: la più interna è la cellula tecogena che produce la guaina dendritica durante lo sviluppo del sensillo; centralmente vi è la cellula tricogena che secerne la cuticola di rivestimento della setola; la più esterna è la cellula tormogena che secerne la cuticola della cavità e il solco in cui passa il dendrite (Chapman, 1998).

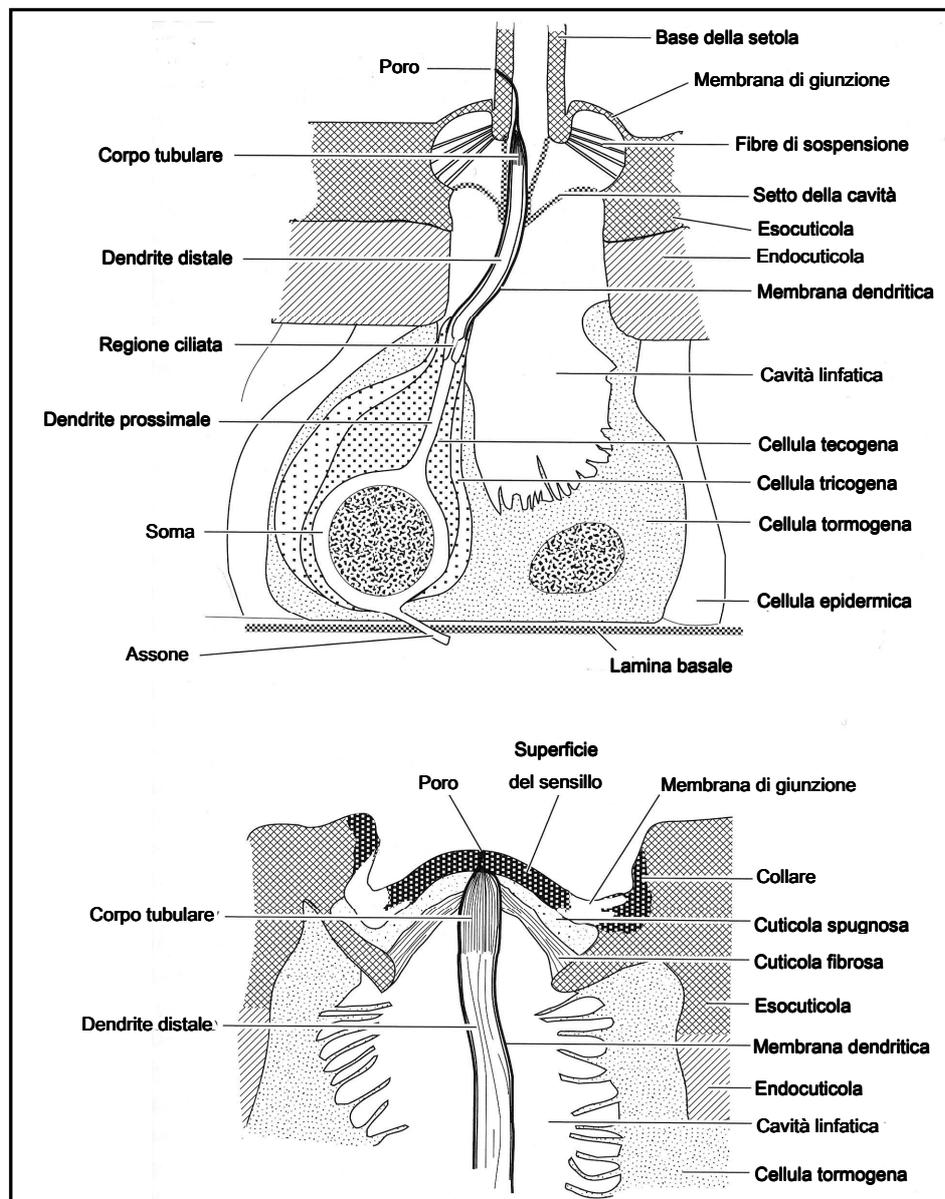


Figura 3.1: Schema dei meccanorecettori. In alto, struttura di un sensillo tricoideo; in basso, struttura di un sensillo campaniforme.

3.1.2 La chemorecezione

La stimolazione da sostanze chimiche coinvolge i sensi dell'olfatto e del gusto. L'olfatto implica l'abilità a percepire i composti in fase gassosa. Il gusto si riferisce alla percezione di alcuni composti per la ricerca di cibo e per rilevare sostanze chimiche in soluzione o su superfici asciutte. La cuticola dei recettori olfattivi è caratterizzata dalla presenza di numerosi piccoli pori che permettono l'entrata di sostanze chimiche. Questi sensilli sono detti multiporosi. La loro forma esterna è molto variabile. Possono essere: setole relativamente lunghe con la parete sottile (sensilli tricoidei); corte proiezioni digitiformi (sensilli basiconici); piastre allo stesso livello della cuticola (sensilli placoidei); corti pegs collocati in depressione della cuticola (sensilli celoconici).

Le cellule dei sensilli olfattivi derivano dalle cellule epidermiche come quelle degli altri sensilli cuticolari. Il numero dei neuroni sensoriali nei sensilli olfattivi varia nei diversi insetti. Le cellule accessorie dei sensilli olfattivi sono simili a quelle dei meccanorecettori, esse variano in numero da due a quattro, ma in genere sono tre: tecogena, tricogena e termogena (Fig. 3.2). I sensilli olfattivi multiporosi sono probabilmente presenti sulle antenne di tutti gli insetti adulti e nella maggior parte della forme larvali. Alcuni insetti possono avere, inoltre, sensilli multiporosi sui palpi labiali e mascellari. Questi possono essere relativamente pochi, come nei grilli, o molti come sui palpi labiali dei lepidotteri. Sensilli multiporosi sono anche presenti sui genitali del tafano *Lucilia* (Chapman, 1998).

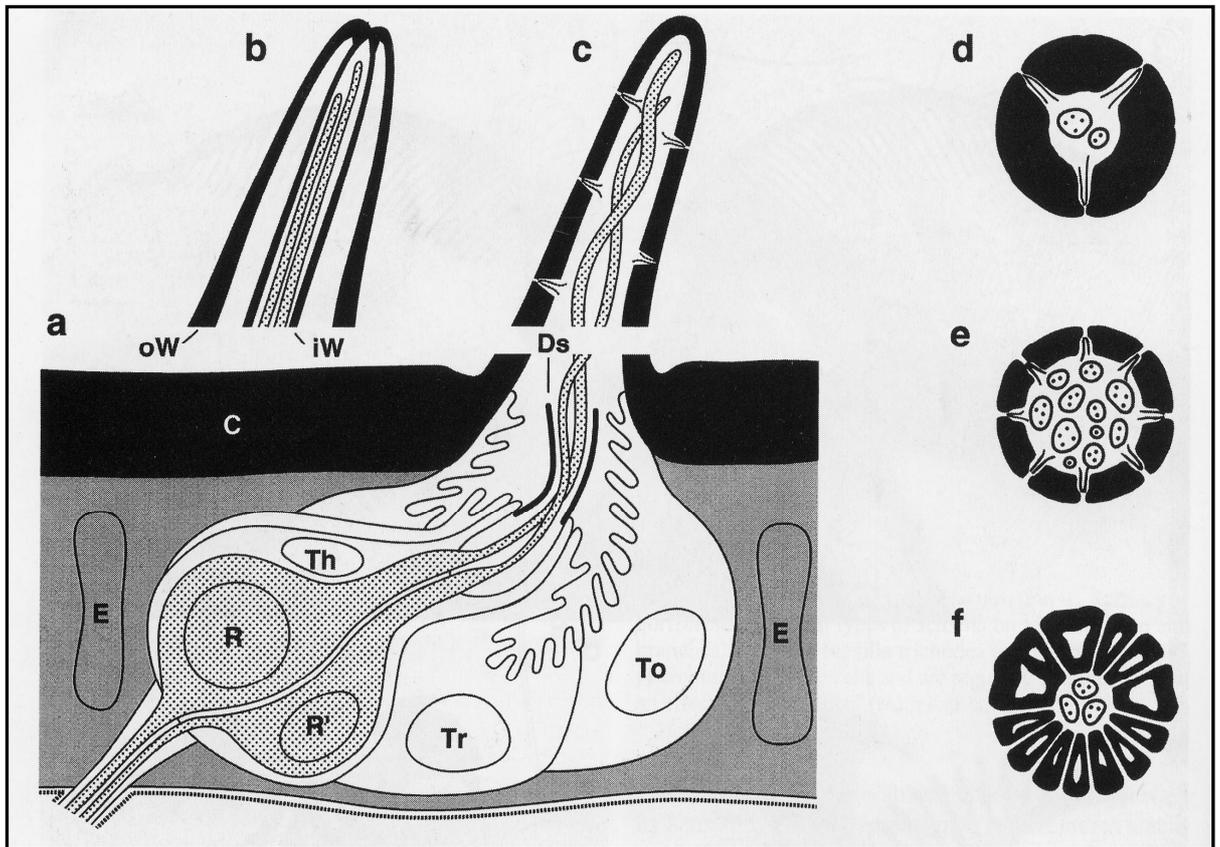


Figura 3.2: Schema dei chemiorecettori. R, R': cellule sensoriali; To: cellula tormogena; Tr: cellula tricogena; Th: cellula tecogena; C: cuticola; E: cellule epidermiche; **b. c:** sezioni longitudinali; **d - f:** sezioni trasversali.

3.1.3 I sensilli sulle antenne

Nei Coleotteri adulti il numero primitivo di antennomeri è 11, nelle larve 3 oppure 4. Schematicamente, l'antenna comprende lo scapo, il pedicello, una regione intermedia di 8 flagellomeri e un segmento apicale. Probabilmente i segmenti intermedi del flagello derivano dalla suddivisione di due segmenti di primo ordine, ciascuno dei quali si suddividerebbe in quattro unità di secondo ordine (Minelli, 2004).

Nella maggior parte degli insetti le antenne sono principalmente strutture sensoriali e sono abbondantemente rivestite da sensilli. Una caratteristica delle antenne degli insetti è che il pedicello contiene un organo cordotonale, l'organo di Johnston, che risponde ai movimenti del flagello rispetto al pedicello. I principali sensilli del flagello sono di tipo olfattivo e di diversa forma.

Sono anche presenti chemorecettori di contatto, meccanorecettori e termoigrorecettori. Nel caso in cui il flagello è composto da una serie di segmenti simili, i segmenti successivi hanno spesso un corredo sensoriale simile, ma i sensilli sono spesso concentrati in particolari regioni. In *Melanoplus* (Orthoptera), per esempio, non vi sono sensilli basiconici o celoconici nei segmenti prossimali; la maggior parte dei sensilli si trova sui segmenti centrali del flagello. Nei lepidotteri Pieridi la maggior parte dei sensilli antennali è concentrata nella parte terminale. Il numero totale dei sensilli sulle antenne è spesso molto grande. Il maschio adulto di *Periplaneta*, per esempio, ha circa 250000 sensilli su ogni antenna e il maschio della piralide del mais, *Ostrinia*, circa 8000. Quando le antenne presentano dimorfismo sessuale, come nella maggior parte dei Lepidotteri, quelle più complesse portano anche un maggior numero di sensilli. Per esempio, il maschio di *Telea* ha oltre 65000 sensilli su un'antenna, mentre la femmina ne ha soltanto 13000 (Chapman, 1998).

3.1.4 I sensilli sulle parti boccali

I sensilli sulle parti boccali sono generalmente chemorecettori di contatto, anche i meccanorecettori sono comuni e sensilli olfattivi sono spesso presenti sui palpi. Organi cordotonali, che probabilmente funzionano come recettori di pressione, sono presenti all'apice dei pezzi mandibolari, sulla lacinia e nelle parti sclerotizzate. Gli insetti che tagliano e masticano hanno chemorecettori di contatto su tutte le parti boccali tranne che sulle mandibole (Chapman, 1998).

3.2 Gli organi visivi negli Insetti

La luce è percepita dagli insetti attraverso un numero di differenti recettori (Chapman, 1998).

Gli occhi degli insetti possono essere *semplici*, con un apparato diottrico comune (lente corneale prolungata o non da un cono cristallino prossimale), o *composti*, costituiti da un numero più o meno grande di occhi semplici (*ommatidi*) (Grassé, 1975).

3.2.1 Gli occhi semplici

Gli occhi semplici appaiono sotto diverse forme mentre gli occhi composti hanno una struttura sempre piuttosto simile. Gli occhi senza faccette delle immagini sono chiamati *ocelli*, quelli delle larve *stemmata*.

Gli *ocelli* sono degli occhi semplici che si trovano nelle immagini a fianco agli occhi composti, possono essere presenti nelle larve di insetti eterometaboli (Ephemera, Odonata, Perlaria) ma sono assenti nella maggior parte delle immagini.

Le *stemmata* sono occhi semplici senza faccette situate lateralmente al capo. Sono presenti nelle larve di insetti ometaboli e negli Aphidina eterometaboli. Spesso spariscono nella metamorfosi che dà origine all'immagine. In alcuni casi le *stemmata* possono persistere nell'immagine in uno stato rudimentale (*Dytiscus*) o senza cambiare struttura; in molti nematoceri e afidi si trovano sul bordo posteriore dell'occhio composto (Grassé, 1975).

3.2.2 Gli occhi composti

Gli occhi composti sono strutture pari, irregolarmente emisferiche, collocate ai lati della testa e in genere separate dalla fronte. Nelle libellule (es. *Sympetrum*), in molte mosche (Bibionidae, Pipunculidae, Tabanidae) e coleotteri (Lymexylidae, Pyrochroidae), i margini degli occhi composti possono incontrarsi ("fondersi") dorsalmente sulla testa; in alcune mosche (Platystomatidae, Diopsidae) possono avere lunghi peduncoli. Gli occhi fusi e pedunculati sono spesso specifici dei maschi e intervengono nella selezione sessuale. I coleotteri attivi nelle ore di luce intensa possono avere occhi meno sporgenti ovali o reniformi.

La superficie dell'occhio composto è un apparato omogeneo di faccette regolari esagonali, il cui numero varia da 20.000 (*Aeshna*), a 5.500 (*Apis*), a 750 (*Drosophila*), a soltanto 20 (*Peplomicrus*, un piccolo coleottero), a meno di 10 (nella casta delle operaie della formica *Solenopsis*) a 1 nelle operaie di *Ponera punctatissima*. Gli insetti che vivono nelle grotte buie o nella lettiera della foresta possono essere privi di occhi.

Un vantaggio di possedere un occhio con molteplici unità è che può essere suddiviso in zone di ommatidi con ruoli differenti (Marshall et al., 1994). Gli insetti volatori

che ricercano il partner o la preda in volo spesso hanno una regione dorsale dell'occhio composta più chiara della regione ventrale e con larghe faccette, più sensibile alle lunghezze d'onda più corte (effimere maschi, Horridge, 1976; ditteri maschi, Zeil, 1983; libellule, Labhart and Nilsson, 1995). In alcuni coleotteri acquatici (Gyrinidae) l'occhio è diviso in una zona dorsale "aerea" ed in una ventrale "acquatica". Gli occhi della maggior parte degli insetti predatori (mantidi) hanno un ampio campo di overlap binoculare usato nella percezione profonda (Caveney, 1998).

Gli occhi composti degli Insetti sono coinvolti nella percezione del colore, nella percezione della distanza, nella rilevazione della luce polarizzata e nella percezione della forma. Ziemba e Rutowski (2000) hanno dimostrato che esiste dimorfismo sessuale negli occhi composti di *Asterocampa leila* (Lepidoptera: Nymphalidae) con l'occhio del maschio che possiede faccette più grandi della femmina. Dimorfismo sessuale e differenze specifiche nelle caste sono noti per gli occhi composti delle api (Baker & Ma 2006).

3.2.3 Gli ommatidi

Ogni faccetta esterna o lente corneale indica la posizione di un ommatidio (diminutivo di *omma* = "piccolo occhio"). Un ommatidio (Fig. 3.3) è una vera e propria unità visiva e contiene un sistema di lenti separato dalla sottostante regione fotorecettiva, o rhabdoma, da una zona trasparente che varia in larghezza nelle diverse specie. Negli insetti esopterigoti ogni ommatidio è otticamente isolato dagli altri ommatidi da un pigmento mobile. Ogni ommatidio forma un'immagine invertita a bassa risoluzione di una differente piccola porzione del campo visivo. Negli endopterigoti, come le falene, quest'isolamento ottico è reversibile e dipende dal livello di illuminazione oppure assente. In quest'ultimo caso, la luce che passa attraverso il sistema di lenti di un ommatidio può mettere a fuoco sulle cellule recettrici di molti ommatidi (e viceversa) per formare una singola immagine dritta sulla retina. Di conseguenza, sulla retina, può essere prodotta un'immagine a mosaico (visione per apposizione) o una singola immagine (visione per superposizione) (Caveney, 1998).

L'esame di un ommatidio dall'esterno rivela, nell'ordine, la presenza di:

- 1) una *corneola* di notevole spessore ed a forma di lente biconvessa, secreta da due cellule epidermiche dette "corneogene" e sostituita, ad ogni muta, con il resto dell'esoscheletro;
- 2) un *cristallino* solido o liquido (la "lente addizionale"), secreto da quattro cellule trasparenti epidermiche "cristallogene" (o "cellule di Semper") o sostituito da queste;
- 3) otto neuroni appressati a formare un cilindro, la "retinula", e, per giustapposizione degli otto "rabdomeri", il "rabdoma";
- 4) una membrana basale attraversata dai neuriti e perciò definita "fenestrata". A schermatura di contorno per la parte diottrica vi sono le "cellule pigmentarie dell'iride" e, per la parte fotosensibile, le "cellule pigmentarie della retinula" (Masutti e Zangheri, 2001). Le prime giacciono attorno alla porzione più esterna dell'ommatidio, contengono pigmento nero che assorbe la luce, un pigmento chiaro o colorato che la riflette e sono distinte in due strati: uno interno (cellule primarie) ed uno esterno (cellule secondarie o accessorie); le altre avvolgono la retinula (Grandi, 1984).

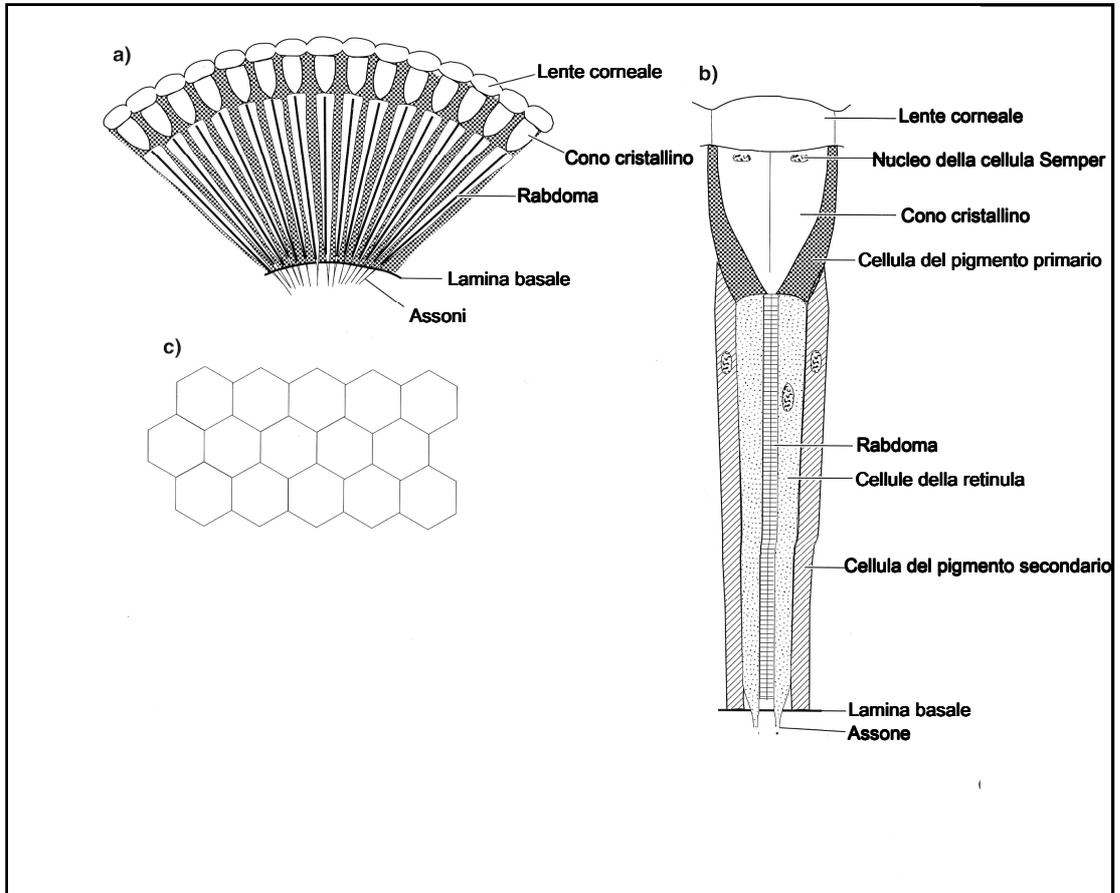


Figura 3.3: a) sezione schematica mostrante i rabdomi che si estendono nei coni cristallini; b) ommatidio c) visione superficiale di un occhio mostrante le superfici di ogni lente corneale.

CAPITOLO 4

IL COMPORTAMENTO GREGARIO NEI COLEOTTERI CARABIDI

4.1 Il comportamento sociale

Wilson, nella sua opera *Sociobiology* (1975), definisce una società come un gruppo di individui che appartengono alla stessa specie e sono organizzati in maniera cooperativa. Non possono essere considerate tali le aggregazioni legate alla riproduzione, come la vicinanza dei partner sessuali o gli assembramenti dei maschi in competizione.

Vivere e cooperare con gli altri comporta una grande quantità di potenziali benefici:

- migliora l'efficienza nel procacciare prede di grandi dimensioni o difficili da catturare;
- migliora la difesa di luoghi strategici o di risorse alimentari nei confronti di altri gruppi di intrusi della stessa specie;
- migliora la cura dei piccoli grazie all'allevamento e alla protezione in comune;
- riduce la pressione esercitata dai predatori mediante il miglioramento della vigilanza e dell'efficienza nel respingere i nemici.

La vita sociale comporta, però, anche dei costi. I più rilevanti sono:

- aumento della competizione all'interno del gruppo per il cibo, per il compagno (o la compagna) o per altre risorse limitate;
- aumento del rischio di contrarre malattie contagiose o parassiti;
- aumento del rischio di sfruttamento e interferenze nelle cure parentali da parte di conspecifici (Alcock, 2001).

Molti animali vivono in gruppo ed il gregarismo può evolvere come mezzo di difesa dai predatori. Sebbene il gruppo potrebbe essere facilmente scoperto, i suoi membri non sono facilmente attaccabili perché aumenta la vigilanza e la difesa. Un altro beneficio che può derivare dal gregarismo è quello della diminuzione del rischio per

una singola preda di essere attaccata quando è circondata da altri individui. Questo effetto, detto “diluizione”, è puramente statistico e non richiede alcun comportamento complesso o di cooperazione. Il valore della diluizione dipende dalle proprietà di vita del “gruppo preda” che sono altamente variabili. Nei pesci e nei mammiferi, ad esempio, la vita di una preda dipende dalla capacità di fuga o dall'appagamento del predatore. In questi casi, l'agilità o la grandezza della preda comporta un minore rischio di predazione per i compagni di gruppo di un individuo attaccato (Sillen-Tullberg & Leimar, 1988).

Tipi di prede che vivono in gruppi esposti, come molti insetti, sono piccoli e lenti rispetto ai potenziali predatori e, pertanto, il predatore potrebbe consumare un intero gruppo. Per questo motivo tra gli insetti sono comuni l'inappetibilità e la colorazione aposematica come strategia di difesa.

Animali disgustosi, nocivi o comunque dannosi, di solito possiedono colori intensi (rosso, giallo o bianco in combinazione col nero) e pattern semplici o complessi, presumibilmente per segnalare la loro poco vantaggiosa natura ai potenziali predatori. Le colorazioni di avvertimento si sono evolute perché sono semplici per i predatori per scoprire, imparare, richiamare e associare con la difesa. Pattern di colori vistosi possono fornire protezione dai predatori anche se alla preda mancano meccanismi di difesa chimici o strutturali. Questo è possibile perché i predatori possono mostrare avversione innata verso le prede con colorazioni di avvertimento, poiché essi possono indirizzare male gli attacchi verso elementi di pattern complessi piuttosto che verso parti del corpo vitali (Nilsson & Forsman, 2003).

L'efficacia di tali difese dipende dalla distribuzione spaziale delle prede e quindi è vantaggioso per esse occupare meno siti di alimentazione dei predatori, se possibile. Le prede appetibili hanno bisogno di vivere in gruppi numerosissimi, o piuttosto, le aggregazioni devono essere così grandi che la sazietà del predatore è indipendente dalla disgustosità. Nel caso di prede non esposte, vivere in gruppo non rappresenta un costo. Dallo studio effettuato da Sillen-Tullberg & Leimar nel 1988 è emerso quanto segue:

1. le specie gregarie che vivono esposte in gruppi moderatamente grandi e sono relativamente piccole e lente dovrebbero essere disgustose per un potenziale

predatore o potrebbero essere state disgustose al tempo in cui hanno evoluto il gregarismo;

2. a causa della selezione disruptiva sulla dimensione del gruppo, ci si aspetterebbe la distribuzione delle dimensioni del gruppo secondo un pattern bimodale, uno per gli individui solitari ed uno per i gruppi abbastanza grandi;
3. a causa della selezione per l'aumento della taglia del gruppo negli organismi gregari, gli organismi che hanno minori vincoli (non legati alla predazione) nell'aumento della dimensione del gruppo dovrebbero mostrare maggiori aggregazioni.

Molte larve di falene e farfalle sono gregarie nei primi stadi di sviluppo, ma divengono solitarie negli stadi successivi. Questa variazione ontogenetica nel comportamento è probabilmente il risultato di cambi temporali nei costi e benefici associati al gregarismo. E' evidente che i bruchi che vivono in gruppi possono sopravvivere e da adulti produrre prole più facilmente che se fossero soli. Ci sono molte ragioni del perché il gregarismo aumenta la fitness e la sopravvivenza dei bruchi. Per esempio, gruppi di larve possono mangiare di più rispetto alle larve solitarie, si possono difendere meglio dai predatori e dal parassitismo oppure possono beneficiare di cambiamenti del microclima locale (Reader & Hochuli, 2003).

L'aggregazione spaziale del coleottero *Altica tombacina* risulta in parte dovuta al fatto che le uova sono deposte in gruppo, in parte alla tendenza dei coleotteri adulti a permanere sugli steli occupati da altri coleotteri. Questo suggerisce che l'aggregazione degli adulti è una conseguenza del comportamento di ricerca del partner in *A. tombacina*. Come gli adulti sono fortemente aggregati durante il periodo di ovoposizione, così sarà favorita l'aggregazione di uova e larve (Morris et al., 1992).

La coesistenza interspecifica è difficile quando le specie si nutrono della stessa risorsa e non sono in grado di differenziare sufficientemente le loro nicchie nello spazio e nel tempo. Molti studi hanno dimostrato che diverse specie di *Aphodius*, uno scarabeo stercorario, occupano diverse aree dell'escremento e lo colonizzano in differenti periodi (Hutton & Giller, 2004). Tra *Phaenicia coeruleiviridis* (Calliphoridae) e *Sarcophaga bullata* (Sarcophagidae) se l'aggregazione

intraspecifica è maggiore di quella interspecifica sulle carogne, gli individui competono più spesso con i conspecifici che con gli eterospecifici (Ives, 1991). Anche tra le ninfe di *Schistocerca gregaria* e *Locusta migratoria migratorioides* si assiste a fenomeni di gregarismo; le due specie, infatti, sono state osservate insieme nei campi (Niassy et al., 1998).

Molti insetti e altri consumatori occasionali sfruttano le risorse che si presentano come ambienti piccoli, distinti e più o meno temporanei come funghi, frutta, sterco, carogne o piante ospiti. Sebbene qualche ambiente supporti di solito soltanto una generazione di consumatori e la competizione possa essere intensa, sistemi di ambienti contengono spesso aggregati di specie sorprendentemente diversi e apparentemente stabili (Heard & Remer, 1997).

Gli insetti “veramente” sociali, o insetti eusociali, come vengono spesso definiti più tecnicamente, comprendono tutte le formiche, tutte le termiti e le api e le vespe più altamente organizzate. Questi insetti possono essere definiti come gruppo avendo in comune tre caratteri: 1) gli individui della stessa specie cooperano nell'accudire la prole; 2) esiste una divisione riproduttiva del lavoro, con individui più o meno sterili che agiscono a vantaggio dei compagni di nido fecondi; 3) negli stadi del ciclo biologico esiste una sovrapposizione di almeno due generazioni capaci di contribuire al lavoro della colonia, in modo che la prole aiuti i genitori durante un certo periodo della sua vita (Wilson, 1975).

4.2 Le aggregazioni nei Coleotteri Carabidi

Nei Coleotteri Carabidi, fenomeni di socialità primitiva o subsocialità, quali la costruzione di nidi pedotrofici all'interno dei quali si ha un prolungato contatto tra madre e prole e la formazione di aggregazioni mediate da feromoni, sono stati descritti da ormai molti anni (Brandmayr & Zetto Brandmayr, 1974; 1979; 1987).

Forme di aggregazione nei carabidi sono conosciute per *Anchomenus dorsalis* e per alcune specie appartenenti al genere *Brachinus*. Bedel (1895-1914 in Zaballo 1985) descrive aggregazioni interspecifiche tra *Chlaenius* spp., *Agonum* spp., *Poecilus* spp. e alcune specie di *Brachinus*. Thiele (1977) descrive aggregazioni tra *Nebria*

brevicollis e *Agonum dorsale*, *Nebria brevicollis* e *Brachinus crepitans*, e tra *Dromius* spp. e *Brachinus* spp.

Wautier (1971) ha rilevato che il ritmo di aggregazione annuale e diurno in due specie di *Brachinus* è indotto dalla produzione di un feromone che viene rilasciato nei siti di aggregazione.

Il significato biologico delle aggregazioni può essere soltanto ipotizzato; le aggregazioni potrebbero essere la conseguenza di prolungate cure parentali oppure il risultato di una mutua attrazione olfattiva tra conspecifici per garantire una maggiore sopravvivenza. Quest'ultima tecnica è utilizzata da *Brachinus* spp. che possiede, infatti, ghiandole di difesa.

Tra i Carabidi le aggregazioni sinora descritte sono costituite per lo più da rappresentanti dei generi *Chlaenius*, *Anchomenus* e *Brachinus* (Fig. 4.1), caratterizzati da difese chimiche (ghiandole repugnatorie) molto efficaci e colorazioni di indubbio significato aposematico. Il comportamento gregario di questi gruppi "aposematici" fornisce probabilmente agli aggregati un ulteriore vantaggio derivante dall'aumento dei segnali di avvertimento nei confronti dei predatori naturali (Bonacci et al., 2004; Zetto Brandmayr et al., 2006b).

La scelta attiva dei siti, da parte dei Carabidi, è influenzata dalla ricerca di particolari fattori microclimatici e caratteristiche pedologiche che ne determinano lo spettro di dominanza al disotto delle pietre.

I Carabidi, particolarmente sensibili ad eventuali perturbazioni dell'ambiente in cui vivono (Brandmayr et al., 2002), nei mesi invernali rafforzano le proprie difese antipredatorie mediante "svernamenti collettivi multispecifici" che avvengono però in spazi microclimaticamente ottimali (Mazzei et al., 2005).



Figura 4.1: Aggregazione interspecifica tra i generi *Chlaenius*, *Anchomenus* e *Brachinus*.

CAPITOLO 5

MATERIALI E METODI

5.1 Luoghi di campionamento

Gli esemplari di *S. europaea* utilizzati per il presente lavoro sono stati raccolti durante la primavera del 2004 attraverso “bait-traps”, trappole attrattive a caduta con funzione e struttura di base uguale a quella delle “pit-fall traps” (Greensdale, 1964 in Talarico et al., 2004), con la differenza fondamentale che nelle “bait traps” la soluzione attrattiva è separata dal contenitore in cui saranno raccolti gli animali, che rimangono pertanto vivi.

Gli esemplari di *S. dejeani* e *S. jenissoni* sono stati reperiti per cattura diretta nella primavera del 2005.

Siagona dejeani in natura si rinviene fortemente aggregata e abbondante nei pascoli dei primi 100 m di altitudine, *S. jenissoni* è altrettanto abbondante ma si spinge più in alto; sono stati rinvenuti singoli esemplari fino a 400 m di altitudine. Le specie sono presenti solo sotto sassi privi di formiche (Fig. 5.3). Sono sempre assenti nella parte bassa dei pendii, dove le argille sono compattate dall’apporto delle acque; ricercano invece le parti alte dei pendii, sotto le creste, dove il sistema di fessure è più profondo e libero dall’acqua.

Siagona europaea:

tutti gli esemplari utilizzati provengono da un pascolo in località Conidi situato nel comune di Squillace (CZ) (Fig. 5.1).



Figura 5.1: Pascolo di Squillace (CZ) dove sono stati catturati gli esemplari di *S. europaea*.

***Siagona dejeani*:**

tutti gli esemplari utilizzati provengono dal sud della Spagna, reperiti nelle seguenti stazioni:

- ✓ Bolonia (Tarifa)
 - 43 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso intercalato a resti di gariga e macchia bassa a palma nana, a 60 – 90 m sul livello del mare;
 - 10 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso con resti di palma nana a 120 – 150 m sul livello del mare;
 - 3 esemplari raccolti in un pascolo su suolo variabile, in parte ricco di humus a 160 – 180 m sul livello del mare. Gli esemplari non erano aggregati.
- ✓ Marismas di Barbate (Manzanete)
 - 22 esemplari raccolti in pascoli argillosi ai bordi della *marisma*, intercalati a resti di *dehesa* a lecci e sughera e singoli cespi di palma nana.
- ✓ Parque Natural de l'Estrecho (Los Zorrillos)

- 5 esemplari raccolti su suolo argilloso compatto molto calpestato a 60 m sul livello del mare con presenza di *Nerium oleander* e *Tamarix*;
- 26 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso a 90 – 100 m di altitudine con copertura erbacea.

***Siagona jenissoni*:**

tutti gli esemplari utilizzati provengono dal sud della Spagna, reperiti nelle seguenti stazioni:

- ✓ Bolonia (Tarifa)
 - 17 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso intercalato a resti di gariga e macchia bassa a palma nana, a 60 – 90 m sul livello del mare;
 - 5 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso con resti di palma nana a 120 – 150 m sul livello del mare;
 - 1 esemplare raccolto in un pascolo su suolo variabile, in parte ricco di humus a 160 – 180 m sul livello del mare.
- ✓ Marismas di Barbate (Manzanete)
 - 66 esemplari raccolti in pascoli argillosi ai bordi della *marisma*, intercalati a resti di *dehesa* a lecci e sughera e singoli cespi di palma nana.
- ✓ Parque Natural de l'Estrecho (Los Zorrillos)
 - 8 esemplari raccolti su suolo argilloso compatto molto calpestato a 60 m sul livello del mare con presenza di *Nerium oleander* e *Tamarix*;
 - 6 esemplari raccolti in un pascolo su suolo argilloso a 90 – 100 m di altitudine con copertura erbacea.



Figura 5.2: Pascolo in cui sono state ritrovate *S. dejeani* e *S. jenissoni*



Figura 5.3: *S. dejeani* e *S. jenissoni* presenti sotto lo stesso sasso.

5.2 Condizioni di allevamento

Gli esemplari, una volta raccolti, sono stati sistemati in laboratorio in contenitori di plastica con il fondo di gesso. Le dimensioni dei terrari sono state scelte in funzione del numero di esemplari introdotti.

Gli esemplari di *S. europaea* sono stati allevati in laboratorio da aprile a luglio 2004; gli esemplari di *S. dejeani* e *S. jenissoni* da marzo e settembre 2005.

Tutti gli esemplari sono stati tenuti in condizioni di fotoperiodo L/D: 16/8 attraverso lampade collegate ad un timer.

Giornalmente sono state rilevate temperatura ed umidità relativa attraverso un termoigrometro (Thermo – Hygro Konus).

La temperatura media è risultata di 23,65°C, mentre l'umidità media 46,48%.

Tutte le specie sono state nutrite con formiche appartenenti a generi diversi (*Tapinoma*, *Aphaenogaster*, *Messor*) risultate tutte ugualmente appetibili.

5.3 Analisi morfometriche

Per le analisi morfometriche sono stati utilizzati 20 esemplari (10 ♂♂ e 10 ♀♀) per ognuna delle tre specie di *Siagona* prese in esame: *S. europaea*, *S. dejeani* e *S. jenissoni*.

Una volta morti, gli esemplari sono stati conservati in alcool al 70%, fotografati con l'ausilio di uno stereoscopio Zeiss Stemi SV 11Apo e le immagini acquisite attraverso il software Matrox PC – VCR (Windows 2000).

Per ogni individuo sono stati misurati l'altezza e la larghezza del capo, la lunghezza delle antenne, del corpo e del trocantere, l'altezza di torace e addome, il numero di ommatidi e l'area delle cornee.

Per determinare il numero di ommatidi, gli esemplari sono stati bolliti per qualche minuto in una soluzione di KOH al 40%.

Una volta estratte, le cornee, sono state trattate secondo il seguente protocollo sperimentale:

- ✓ acqua distillata (30 sec)
- ✓ acetone 50% (30 sec)
- ✓ acqua distillata (60 sec)

- ✓ etanolo 70% (60 sec)
- ✓ etanolo assoluto (120 sec)
- ✓ xilolo (60 sec)

In seguito ogni cornea è stata montata su vetrino (Fig. 5.4), contrassegnata con una sigla e fotografata con un microscopio Axioscop Zeiss.

Tutte le misure morfometriche, compresi il numero di ommatidi e l'area delle cornee, sono state effettuate con il Software Sigma Scan Pro5.

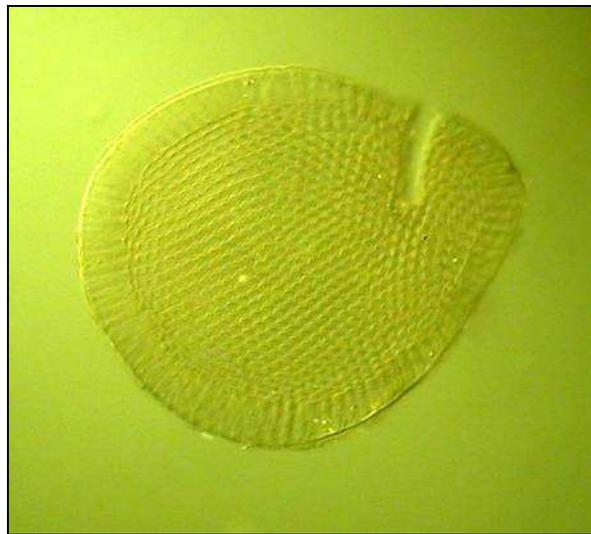


Figura 5.4: Cornea di *S. europaea*

5.3.1 Analisi statistiche

L'esistenza di differenze morfologiche tra i sessi in ogni specie è stata testata utilizzando il Mann-Whitney test (Siegel & Castellan, 1988) mentre il Kruskal-Wallis test è stato usato per testare differenze morfologiche tra le specie. Allo stesso modo il confronto tra specie è stato condotto utilizzando il Mann-Whitney test e il livello di significatività è stato corretto con Dunn-Šidák utilizzando il metodo $\alpha' = 1 - (1 - \alpha)^{1/k}$, dove k è il numero di comparazioni (Sokal & Rohlf, 1995).

5.4 Indagini ultrastrutturali

Al fine di indagare le strutture sensoriali presenti sulle antenne di *S. dejeani*, *S. europaea* e *S. jenissoni* sono stati utilizzati 3 maschi e 3 femmine di ciascuna specie. Una volta tagliate, le antenne sono state trattate seguendo il protocollo standard per l'osservazione al SEM:

- ✓ Fissazione (glutaraldeide al 3% in tampone cacodilato 0,1 M con aggiunta del 5% di saccarosio)
- ✓ Postfissazione (OsO₄ all'1% in tampone cacodilato 0,1 M)
- ✓ Disidratazione (etanolo)
- ✓ Essiccazione mediante punto critico
- ✓ Metallizzazione

I campioni sono stati quindi fotografati, le immagini acquisite al computer e i sensilli contati con l'ausilio del programma Image-Pro Plus.

Per ogni antennumero sono state individuate tre aree differenti: apicale, centrale e basale in ognuna delle quali è stata circoscritta un'area di 5000 μm^2 . All'interno di ogni area sono stati contati i sensilli presenti per ogni diversa tipologia. Le conte sono state effettuate sia sulla parte ventrale che dorsale dell'antenna. Infine, per ogni segmento antennale è stata fatta la media dei sensilli presenti sulle tre aree e calcolata la deviazione standard.

5.5 Osservazioni comportamentali

Le osservazioni comportamentali sono state condotte in laboratorio su 10 coppie di *Siagona dejeani* e 10 coppie di *Siagona jenissoni*. Per questo aspetto non è stata considerata *S. europaea* dal momento che in letteratura sono presenti notizie a riguardo in Bauer et al. (2005) in cui è riportato che la specie non presenta fenomeni di aggregazione.

Sulle due specie sono state effettuate osservazioni nel periodo compreso tra marzo e giugno del 2005.

Gli esemplari sono stati sistemati in terrari rettangolari di plastica trasparente con il fondo di gesso. All'interno di essi sono state introdotte due capsule Petri contrassegnate dalle sigle A e B, utili come aree di stazionamento. Alla base di ogni

capsula Petri è stato introdotto un disco di carta assorbente di diametro uguale a quello della capsula stessa. Ogni osservazione effettuata ha avuto la durata di un'ora. L'analisi del comportamento gregario è stata condotta attraverso il conteggio degli individui che stazionavano all'interno delle Petri (A e B) e quelli che sostavano all'esterno.

Il comportamento è stato videoregistrato utilizzando una videocamera Sony Handycam DCR-PC330E.

5.6 Indagini elettrofisiologiche

Lo studio dell'attività chemorecettiva dei palpi labiali di *S. europaea* e *S. dejeani* è stato effettuato presso il Laboratorio di Fisiologia dell'Università di Cagliari.

Le indagini elettrofisiologiche sono state eseguite soltanto su *S. europaea* e *S. dejeani*; non è stato possibile testare anche *S. jenissoni* per mancanza di esemplari vivi al momento della disponibilità per lo svolgimento delle analisi.

La sensibilità del palpo labiale è stata valutata attraverso la tecnica di derivazione ad elettropalpogrammi (EPG). Le derivazioni sono state effettuate su singoli palpi, ad una temperatura di $25 \pm 1^\circ\text{C}$ ed umidità relativa del 60-70%.

L'elettrodo di riferimento consiste in una micropipetta di vetro di 20 μm di diametro in punta; le micropipette con queste caratteristiche costanti vengono ottenute tramite un tiraelettrodi (Kopf mod. 720). L'elettrodo viene riempito di soluzione fisiologica per assicurare la continuità elettrica del circuito e su di esso viene impalata la parte basale del palpo; il preparato viene poi posizionato nel campo visivo di uno stereomicroscopio (Wild M5; 200x). L'elettrodo di derivazione consiste ugualmente in una micropipetta di vetro preparata allo stesso modo della precedente e contenente un filo conduttore di Ag/AgCl. L'elettrodo di derivazione viene appoggiato delicatamente sull'estremità apicale del palpo per mezzo di un micromanipolatore: il circuito risulta così chiuso ed è possibile registrare i segnali bioelettrici (EPG) evocati dai diversi stimoli, che rappresentano la

sommatoria dell'attività contemporanea di un grande numero di recettori presenti nel palpo. I segnali vengono stabilizzati tramite un elettrometro ad elevata impedenza di ingresso (WPI Duo 773), opportunamente amplificati ed osservati sullo schermo di un oscilloscopio (Tektronix 5111). Gli stessi segnali vengono inoltre digitalizzati attraverso un sistema di acquisizione A/D (Axon, Digitata 1200B) ed immagazzinati su computer per le successive analisi, eseguite tramite il software Axoscope 8.1.

Le differenze statisticamente significative tra i valori EPG ottenuti vengono calcolate tramite il test "t" di Student, con una soglia di significatività del 5% ($p \leq 0,05$).

5.6.1 Apparato e procedure di stimolazione

Al fine di studiare la componente chemocettiva del palpo labiale, sono stati eseguiti diversi gruppi di esperimenti utilizzando procedure differenti di stimolazione.

La somministrazione degli stimoli, in fase gassosa, è stata effettuata tramite il sistema olfattometrico illustrato in Fig. 5.5. Un flusso di aria costante (1,0 l/min), generato da una pompa elettrica a membrana (P_1), è convogliato mediante tubatura di plastica ad un ugello di vetro (V) posizionato a circa 1 cm dal preparato (P_r) e diretto in modo che il flusso investa il palpo dell'insetto. Tale aria viene preventivamente depurata mediante un filtro di carbone attivo granulare (F_1).

Un secondo flusso d'aria (0,2 l/min), generato da una pompa uguale (P_2), viene filtrato (F_2) e inviato ad una elettrovalvola a solenoide (E) a tre vie (LEE mod. LFAA 1200113H). Quando la valvola viene azionata dall'operatore tramite un interruttore a tempo programmabile (T), l'aria, invece di ritornare all'ambiente (W), viene fatta passare attraverso una cartuccia intercambiabile (O_d) contenente una striscia di carta da filtro impregnata della sostanza stimolante in esame.

L'aria, saturata dallo stimolo, prosegue lungo un tubo capillare e viene aggiunta al primo flusso d'aria (mantenuto costante), secondo proporzioni variabili a piacere dell'operatore, e va quindi ad investire il preparato. Entrambi i flussi d'aria vengono regolati e misurati mediante flussimetri a portata variabile (F_x) (Cole-Parmer) in modo da ottenere una diluizione finale dello stimolo pari a 1:5.

Dopo la stimolazione, l'aria contenente lo stimolo viene rimossa dal preparato

mediante una pompa aspirante (P_3) ad una velocità di flusso leggermente superiore rispetto a quella di stimolazione. Questa tecnica olfattometrica, che prevede l'aggiunta dell'odore-stimolo ad un flusso d'aria costante che investe continuamente il preparato, permette di minimizzare l'artefatto di stimolazione dovuto al flusso d'aria stesso (Rotundo, 1994).

5.6.2 Stimoli chimici impiegati

Gli stimoli chimici impiegati per testare la risposta dei palpi labiali sono:

- citrale, limonene e geraniolo (componenti secondari delle formiche);
- acido acetico (sostanza utilizzata come attrattivo per le catture dei Coleotteri Carabidi) ed acido formico (principale sostanza secreta dalle formiche);
- esanale (stimolo classico usato per testare la chemorecettività olfattiva degli insetti).

Ciascun composto è stato utilizzato in un range di diluizione 1:10 – 1:1000 in CH_2Cl_2 (diclorometano) e somministrato secondo una sequenza a concentrazioni crescenti; all'inizio ed alla fine di ogni esperimento una stimolazione con aria veniva utilizzata come controllo per misurare la presenza di una possibile componente di risposta dei meccanocettori.

Quando inutilizzate, le cartucce contenenti gli odori venivano conservate alla temperatura di -20°C .

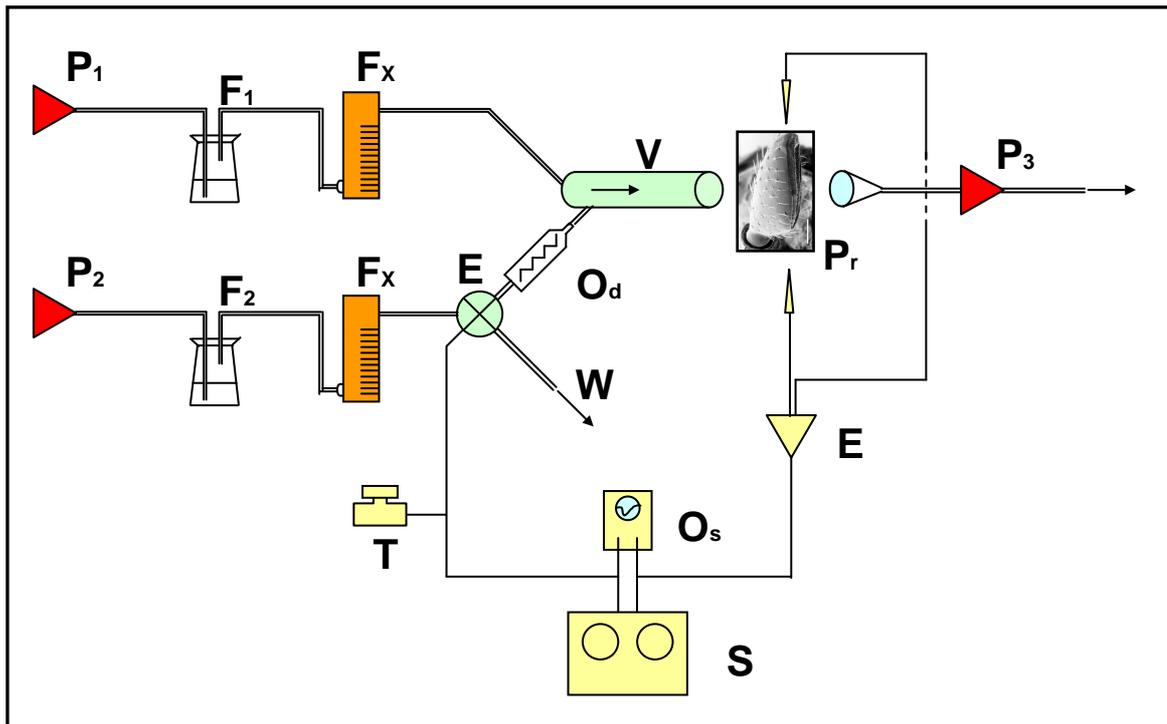


Figura 5.5: Schema del sistema olfattometrico utilizzato per la somministrazione degli stimoli: P₁, P₂, pompe elettriche a membrana; F₁, F₂, filtri; F_x, flussometro; (E), elettrometro; O_d, cartuccia contenente lo stimolo; V, ugello di vetro; P_r, preparato; P₃, pompa aspirante; T, interruttore; O_s, oscilloscopio; S, sistema di registrazione o di digitalizzazione del segnale.

5.7 Indagini gascromatografiche

Le indagini gascromatografiche sono state condotte utilizzando le tecniche della Microestrazione in Fase Solida (SPME) e della Gascromatografia associata alla Spettrometria di Massa (GC/MS) presso il Dipartimento di Chimica dell'Università della Calabria. I test sono stati condotti, dopo aver verificato la presenza di comportamento gregario, su 5 esemplari di *S. dejeani* e sulla carta assorbente posta alla base delle capsule Petri nei terrari di osservazione.

5.7.1 Microestrazione in Fase Solida (SPME)

La microestrazione in fase solida consiste di due processi: estrazione di sostanze e desorbimento di esse all'interno di uno strumento analitico. Nel primo processo la fibra rivestita è posta in prossimità del campione da analizzare e le "sostanze bersaglio" vengono estratte dalla matrice del campione stesso; la fibra con le

sostanze concentrate è quindi trasferita allo strumento per il desorbimento, con conseguente separazione e quantificazione. Il sistema di SPME viene utilizzato per estrazione di composti organici da matrici varie, come aria, acqua e solidi; a ciò segue il diretto trasferimento all'interno di un iniettore gascromatografico, dove i composti stessi sono termicamente desorbiti, separati sulla colonna e quantificati dal detector. La fibra utilizzata per queste applicazioni è di piccola taglia e di forma cilindrica; queste caratteristiche le permettono di essere incorporata in un dispositivo simile ad una siringa che può essere facilmente inserito in un setto in gomma di un iniettore gascromatografico. La SPME conserva tutti i vantaggi della SPE (Estrazione in Fase Solida), come la semplicità, basso costo, facile automazione e campionamento in-situ e allo stesso tempo elimina gli svantaggi della SPE, come il tamponamento e l'uso di solventi organici, sia durante il processo di estrazione che durante quello di iniezione. La fibra utilizzata è di silice fusa, su cui è depositato uno strato della fase adsorbente di adatta composizione chimica, ed è connessa ad una tubatura di acciaio inossidabile, che aumenta la potenza meccanica della fibra stessa. La tubatura in acciaio è contenuta in una speciale siringa; durante la microestrazione, la fibra è prima tirata all'interno dell'ago della siringa, dopo esposta al contatto del campione da analizzare, per un tempo predeterminato, e una volta che il campionamento è completato, la fibra è trasferita direttamente in un iniettore gascromatografico; le sostanze sono termicamente desorbite dal rivestimento della fibra e quantitativamente analizzate dal gascromatografo. La SPME può essere eseguita manualmente o da un autocampionatore.

Il metodo di SPME è usato in studi sulle condizioni ambientali, sul cibo e sui farmaci. Può inoltre essere usato per estrarre composti organici da acque di scarico, terreno, fango e altre matrici complesse; usando rivestimenti sottili può essere utilizzato per l'estrazione di composti semivolatili da campioni acquosi. Il principale vantaggio della SPME è l'eliminazione dell'uso di solventi, durante l'estrazione e l'iniezione; ciò ha migliorato l'efficienza della separazione gascromatografica (Zhang et al., 1994). Essendo la SPME una tecnica analitica non invasiva, per il tipo di indagine condotta, è risultata molto vantaggiosa perchè applicabile su animali vivi.

5.7.2 Metodo di campionamento e di acquisizione

Il campionamento è stato fatto ponendo i campioni da analizzare in fiale di vetro trasparente da 25 cc, dotate di setto in gomma a tenuta di gas, perforabile, a temperatura ambiente. Per la microestrazione in fase solida, tramite una siringa, è stata introdotta la fibra di polivinildimetilsilossano e divinilbenzene 1:1 (Supelco Inc.), adatta all'adsorbimento di sostanze non polari. La fibra è stata mantenuta per circa 20 min nella fiala adsorbendo così le sostanze con la tecnica dello "spazio di testa". Finito l'adsorbimento, i campioni in vivo sono stati riposti nei terrari di provenienza in buone condizioni, e la fibra è stata inserita nell'iniettore del gascromatografo (Varian CP-3800, equipaggiato con una colonna capillare di 30 m CP-SIL8), dove la miscela è stata separata e quantificata. Per l'identificazione delle sostanze è stata utilizzata la tecnica dell'Impatto elettronico (EI), basata sulla scomposizione della molecola per bombardamento elettronico (Moneti et al., 1997).

CAPITOLO 6

RISULTATI

6.1 Risultati indagini morfometriche

Per le analisi morfometriche di ogni individuo preso in esame sono stati misurati l'altezza e la larghezza del capo, la lunghezza delle antenne, del corpo e del trocantere, l'altezza di torace e addome, il numero di ommatidi e l'area delle cornee. Nelle tabelle 6.1, 6.2 e 6.3 sono riportati i valori ottenuti rispettivamente per *S. europaea*, *S. dejeani* e *S. jenissoni*.

Prima di effettuare le analisi tutti i parametri considerati sono stati relazionati alla lunghezza del corpo tranne i parametri visivi che sono stati rapportati alla larghezza della testa (Tab. 6.4).

La prima analisi eseguita, relativa al dimorfismo sessuale, mostra che le tre specie presentano differenze significative nelle dimensioni: i maschi di *S. dejeani* e *S. jenissoni* hanno il trocantere (relativamente alla lunghezza del corpo) significativamente più lungo delle femmine (rispettivamente $U = 21.5$, $W = 76.5$, $P_{Exact} = 0.029$ and $U = 1.0$, $W = 56.0$, $P_{Exact} < 0.001$) (Fig. 6.1, 6.3), mentre in *S. europaea* le femmine hanno la testa più larga dei maschi ($U = 23.0$, $W = 78.0$, $P_{Exact} = 0.043$) (Fig. 6.2). In particolare, è da rilevare che, all'interno della stessa specie non sono presenti differenze riguardanti i parametri visivi ($P_{Exact} > 0.05$).

Successivamente sono state comparate le differenze interspecifiche senza relazionarle al sesso.

La densità degli ommatidi differisce significativamente tra le specie ($X^2 = 30.951$, d.f. = 2, $P_{Exact} < 0.001$), essendo significativamente maggiore in *S. europaea* ($P_{Exact} < 0.05$) e minore in *S. dejeani* (Fig. 6.4). Il numero assoluto di ommatidi in *S. europaea* è, infatti, più alto ($X^2 = 45.057$, d.f. = 2, $P_{Exact} < 0.001$) ma non ci sono differenze significative tra *S. dejeani* e *S. jenissoni* (Fig. 6.5).

Riguardo alla lunghezza relativa delle antenne *S. dejeani* mostra le antenne significativamente più corte delle altre due specie ($X^2 = 24.521$, d.f. = 2, $P_{Exact} < 0.001$) (Fig. 6.6).

L'analisi GLM ha confermato questi risultati, essendo il pattern morfologico globale differente tra le specie (*Pillai's Trace* = 1.609, $F = 16.822$, d.f. = 22, $P < 0.001$), ma non tra i sessi (*Pillai's Trace* = 0.321, $F = 1.894$, d.f. = 22, $P = 0.067$).

Un ulteriore parametro morfometrico considerato è quello relativo al corredo alare delle tre specie. È emerso che *S. dejeani* e *S. jenissoni* hanno le ali semplicemente abbozzate, lunghe rispettivamente 1,93 mm e 0,94 mm, mentre *S. europaea* ha ali lunghe 8,01 mm (Fig. 6.1) che tiene ripiegate al disotto delle elitre, risulta infatti essere macroterita (De Chaudoir, 1876).



Figura 6.1: Ali di: A, *Siagona europaea*; B, *Siagona dejeani*; C, *Siagona jenissoni*.

Parametri morfometrici	♂♂	♀♀
Altezza capo (mm)	1,25 ± 0,11	1,36 ± 0,16
Larghezza capo (mm)	2,52 ± 0,09	2,63 ± 0,13
Lunghezza antenne (mm)	7,03 ± 0,34	6,96 ± 0,48
Altezza torace (mm)	1,71 ± 0,09	1,71 ± 0,16
Altezza addome (mm)	1,76 ± 0,20	1,84 ± 0,14
Lunghezza corpo (mm)	11,16 ± 0,55	11,73 ± 0,67
Lunghezza trocantere (mm)	0,84 ± 0,06	0,85 ± 0,05
Numero ommatidi	550,5 ± 66,64	511,35 ± 92,91
Area cornea (mm ²)	0,12 ± 0,03	0,08 ± 0,002

Tabella 6.1: Valori dei parametri morfometrici di *Siagona europaea*.

Parametri morfometrici	♂♂	♀♀
Altezza capo (mm)	2,76 ± 0,23	2,80 ± 0,24
Larghezza capo (mm)	5,09 ± 0,26	5,06 ± 0,19
Lunghezza antenne (mm)	12,82 ± 0,74	12,58 ± 0,44
Altezza torace (mm)	3,33 ± 0,18	3,37 ± 0,18
Altezza addome (mm)	3,17 ± 0,34	3,22 ± 0,40
Lunghezza corpo (mm)	22,83 ± 0,87	23,33 ± 0,47
Lunghezza trocantere (mm)	1,71 ± 0,13	1,65 ± 0,74
Numero ommatidi	380,25 ± 51,81	406,05 ± 59,70
Area cornea (mm ²)	0,005 ± 0,001	0,005 ± 0,001

Tabella 6.2: Valori dei parametri morfometrici di *Siagona dejeani*.

Parametri morfometrici	♂♂	♀♀
Altezza capo (mm)	1,74 ± 0,19	1,81 ± 0,18
Larghezza capo (mm)	3,31 ± 0,01	3,19 ± 0,13
Lunghezza antenne (mm)	8,97 ± 0,28	8,89 ± 0,28
Altezza torace (mm)	2,19 ± 0,20	2,09 ± 0,19
Altezza addome (mm)	2,28 ± 0,19	2,24 ± 0,19
Lunghezza corpo (mm)	14,11 ± 0,28	14,38 ± 0,43
Lunghezza trocantere (mm)	1,03 ± 0,03	0,99 ± 0,04
Numero ommatidi	339,65 ± 41,93	330,7 ± 35,61
Area cornea (mm ²)	0,04 ± 0,001	0,04 ± 0,001

Tabella 6.3: Valori dei parametri morfometrici di *Siagona jenissoni*.

Parametri morfometrici	<i>S. dejeani</i>	<i>S. jenissoni</i>	<i>S. europaea</i>
Altezza capo (mm)	0,12 ± 0,01	0,12 ± 0,01	0,11 ± 0,01
Larghezza capo (mm)	0,22 ± 0,01	0,23 ± 0,08	0,22 ± 0,08
Lunghezza antenne (mm)	2,5 ± 0,14	2,75 ± 0,17	2,6 ± 0,09
Altezza torace (mm)	0,14 ± 0,008	0,15 ± 0,01	0,15 ± 0,01
Altezza addome (mm)	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,16 ± 0,02
Lunghezza corpo (mm)	23,08 ± 0,67	14,24 ± 0,31	11,44 ± 0,51
Lunghezza trocantere (mm)	0,07 ± 0,004	0,07 ± 0,005	0,07 ± 0,02
Numero ommatidi	393,15 ± 57,36	335,18 ± 39,16	530,92 ± 81,65
Area cornea (mm ²)	0,05 ± 0,001	0,04 ± 0,001	0,12 ± 0,001

Tabella 6.4: Valori relativi dei parametri morfometrici di *S. dejeani*, *S. jenissoni* e *S. europaea*.

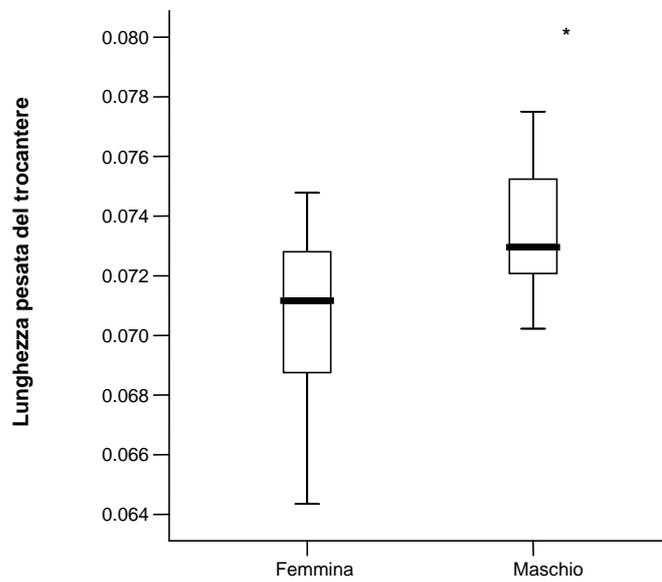


Grafico 6.1: *Siagona dejeani*, differenze significative tra maschi e femmine nella lunghezza del trocantere. La lunghezza del trocantere è relazionata alla lunghezza del corpo. Il maschio presenta il trocantere più lungo della femmina.

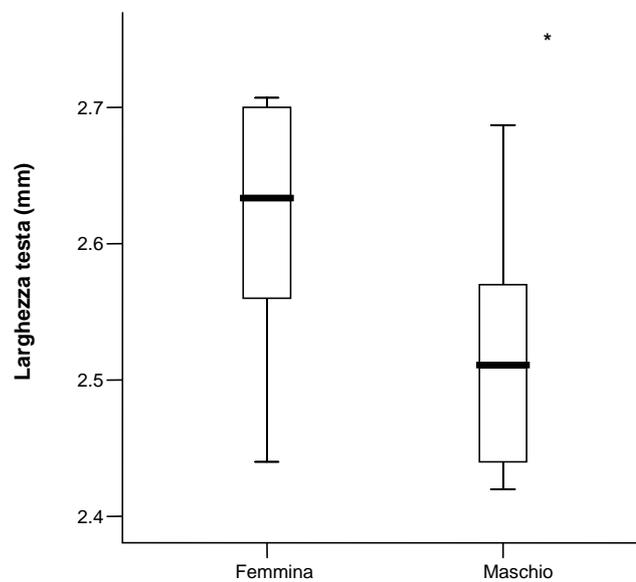


Grafico 6.2: *Siagona europaea*, differenze significative tra maschi e femmine nella larghezza del capo. La larghezza del capo è relazionata alla lunghezza del corpo. Le femmine presentano il capo più largo dei maschi.

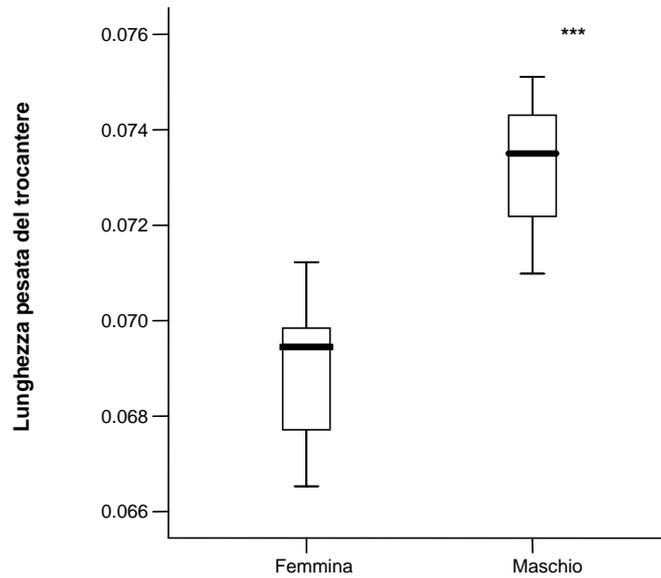


Grafico 6.3: *Siagona jenissoni*, differenze significative tra maschi e femmine nella lunghezza del trocantere. La lunghezza del trocantere è relazionata alla lunghezza del corpo. Il maschio presenta il trocantere più lungo della femmina.

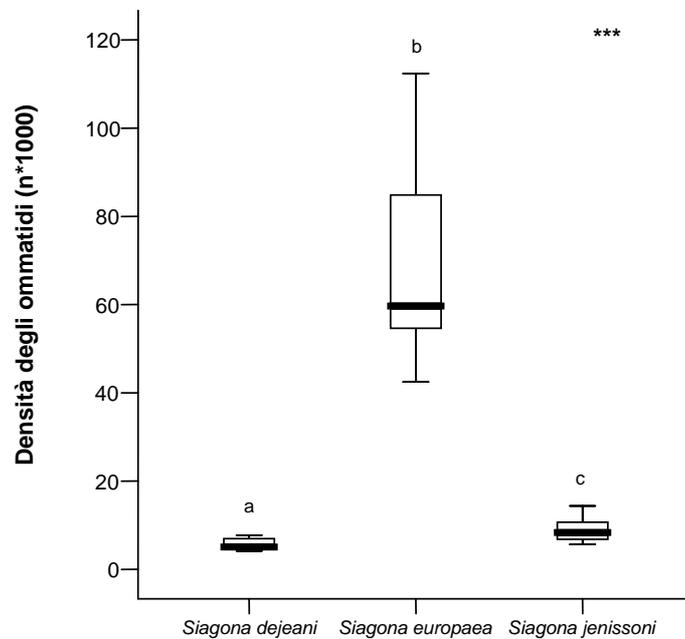


Grafico 6.4: Differenze significative tra *S. dejeani*, *S. europaea* e *S. jenissoni* riguardo la densità degli ommatidi. *S. europaea* presenta i valori maggiori per il parametro considerato.

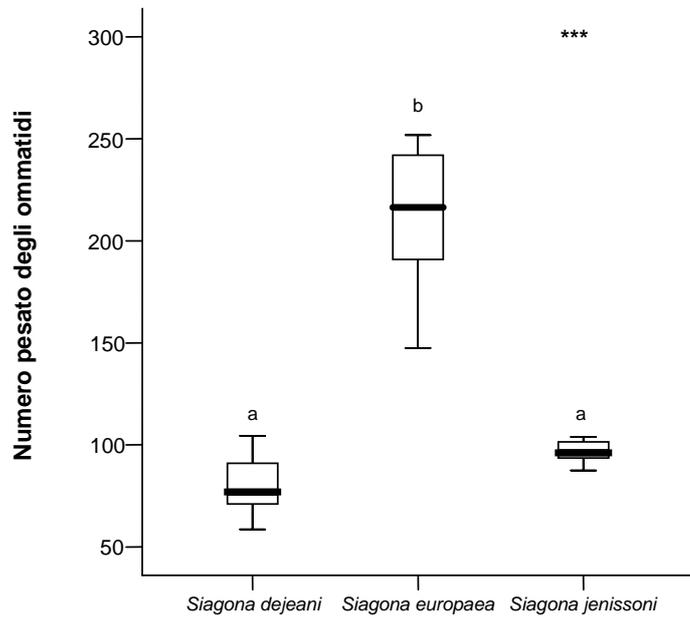


Grafico 6.5: Differenze tra *S. dejeani*, *S. europaea* e *S. jenissoni* riguardo il numero di ommatidi. *S. europaea* presenta i valori maggiori per il parametro considerato.

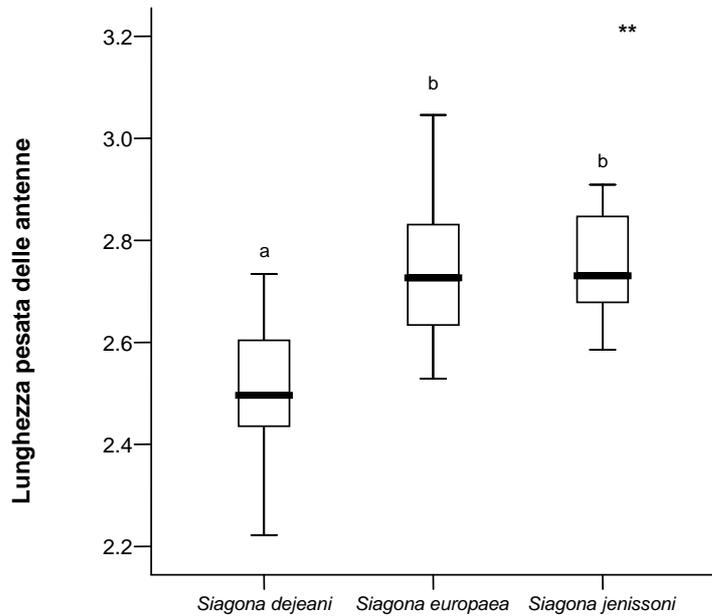


Grafico 6.6: Differenze tra *S. dejeani*, *S. europaea* e *S. jenissoni* riguardo la lunghezza delle antenne. *S. europaea* presenta i valori maggiori per il parametro considerato.

6.2 Risultati indagini ultrastrutturali

I tipi sensoriali individuati sulle antenne delle tre specie considerate, sono stati descritti e classificati riferendosi a Zacharuk (1985) e Altner et al. (1983). In particolare sono state individuate quattro tipologie sensoriali principali: sensilli chetici di tipo 1 (Ch1) (Fig. 6.2, 6.3, 6.4), sensilli chetici di tipo 2 (Ch2) (Fig. 6.2, 6.3, 6.4), sensilli placoidei (Pl) (Fig. 6.2, 6.3, 6.4) e sensilli tricoidei (Tr) (Fig. 6.2, 6.3, 6.4). Nelle tabelle 6.5 – 6.10 è riportata la distribuzione delle quattro tipologie sensoriali sulle antenne, sia per i maschi che per le femmine. È da tenere in considerazione che nelle tre specie esaminate sono stati comunque individuati, sporadicamente, sensilli di tipo campaniforme e basicnico, ma in numero non sufficiente per poterne delineare la distribuzione.

I sensilli di *tipo chetico 1* sono lunghe setole dritte, con l'apice smussato e scanalature longitudinali perpendicolari alla superficie dell'antenna. Le stole si collocano in una cavità spaziosa. Nei maschi di *S. europaea* (Tab. 6.5) questa tipologia sensoriale si ritrova dal III articolo in poi, in numero crescente. Nelle femmine della stessa specie (Tab. 6.6) si presenta dal VI articolo fino all'ultimo segmento. Nei maschi di *S. dejeani* (Tab. 6.7) i sensilli di tipo chetico 1 sono sporadici e presenti soltanto sul pedicello e sui primi due flagellomeri. Le antenne delle femmine di *S. dejeani* (Tab. 6.8), al contrario, presentano una maggior quantità di sensilli di tipo chetico 1 distribuiti dallo scapo fino al V articolo. Infine, in *S. jenissoni*, sia i maschi (Tab. 6.9) che le femmine (Tab. 6.10), presentano questa tipologia soltanto sul pedicello e sul III articolo (Graf. 6.7).

I sensilli di *tipo chetico 2* sono piccole strutture con le pareti lisce, l'apice smussato, dolcemente curvato verso l'antenna, e la base collocata in una cavità. Questo tipo di sensillo si distribuisce ugualmente nelle tre specie, dallo scapo fino all'ultimo articolo antennale in numero crescente (Tab. 6.4 – 6.9; Graf. 6.8).

I sensilli *placoidei* presentano una cuticola sensoriale piatta, quasi sempre a livello della superficie, e attaccata ad un anello di cuticola membranoso. Come i precedenti, si rinvencono allo stesso modo nelle tre specie, dal V articolo fino all'apice dell'antenna in numero crescente (Graf. 6.9). Rispetto alle altre due specie, *S. jenissoni* è quella che mostra il maggior numero di sensilli presenti.

I sensilli *tricoidei* ricordano quelli di tipo chetico 1, per la loro forma e per le microsculture sulla parete (scanalature longitudinali), ma non hanno un'ampia cavità alla base. È proprio per questo motivo che sono liberi di muoversi. In *S. europaea* i sensilli tricoidei si distribuiscono lungo tutta l'antenna, dallo scapo fino all'ultimo antennumero; in *S. dejeani* dal III articolo in poi; in *S. jenissoni* dal IV articolo fino all'ultimo. Anche nel caso dei sensilli tricoidei è *S. jenissoni* a presentarne la maggiore quantità (Graf. 6.10).

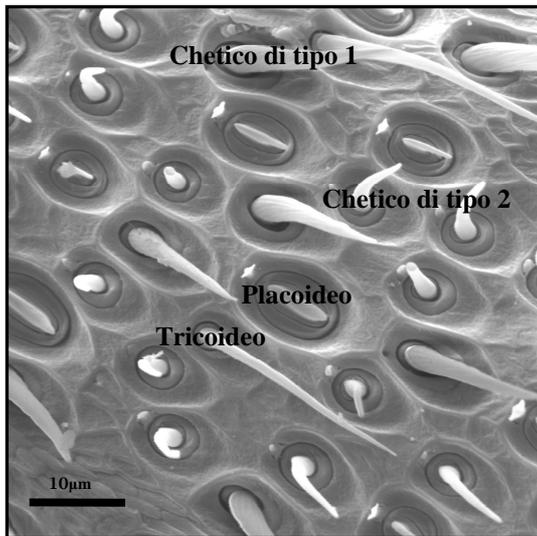


Figura 6.2: Particolare dell'antenna di *S. jenissoni* in cui sono evidenti le tipologie sensoriali individuate.

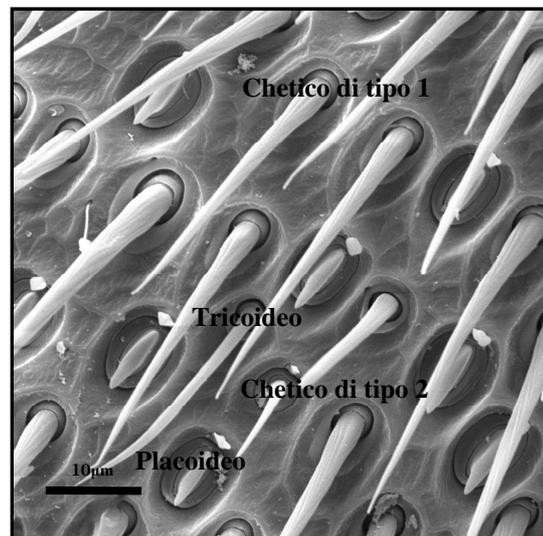


Figura 6.3: Particolare dell'antenna di *S. dejeani* in cui sono evidenti le tipologie sensoriali individuate.

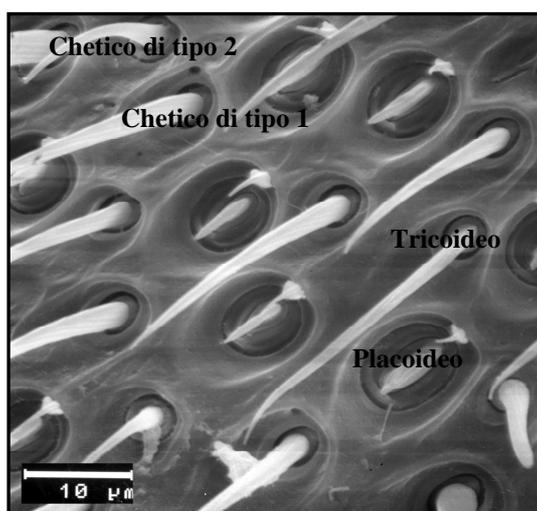


Figura 6.4: Particolare dell'antenna di *S. europaea* in cui sono evidenti le tipologie sensoriali individuate.

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo		1,35 ± 1,45		0,41 ± 0,29
Pedicello		2,53 ± 1,97		
III articolo	0,5 ± 0,71	4,06 ± 1,68		0,9 ± 1
IV articolo	0,8	7,36 ± 2,56		1,62 ± 1,43
V articolo		20,82 ± 5,37	4,31 ± 2,06	2,55 ± 1,6
VI articolo	1	19,06 ± 6,09	6,92 ± 4,83	3,22 ± 1,71
VII articolo	0,6 ± 1,34	21,11 ± 5,18	8,52 ± 4,33	3,03 ± 1,62
VIII articolo	0,8	23,53 ± 4,89	8,1 ± 4,4	2,91 ± 1,42
IX articolo	0,8	23,8 ± 5,52	9,8 ± 5,06	3,17 ± 1,67
X articolo	0,25 ± 0,46	25,2 ± 5,91	7,56 ± 5,16	3,65 ± 1,74
XI articolo	0,92 ± 1,73	28,8 ± 4,24	6,83 ± 5,04	3,47 ± 2,34

Tabella 6.5: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne dei maschi di *S. europaea*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo		0,42 ± 0,69		0,6 ± 0,17
Pedicello		2,14 ± 1,27		0,8
III articolo		2,90 ± 1,50		1 ± 0,77
IV articolo		6,38 ± 2,94		1,11 ± 1,08
V articolo		15,19 ± 6,4	1,88 ± 1,65	1,84 ± 1,27
VI articolo	1,08 ± 0,5	18,87 ± 4,47	6,16 ± 3,17	1,8 ± 1,18
VII articolo	0,8	19,87 ± 4,3	8,71 ± 3,84	2,1 ± 1,47
VIII articolo	0,8	21,68 ± 4,1	9,7 ± 4,34	2,6 ± 1,3
IX articolo	0,8	23,07 ± 4,96	11,9 ± 5,2	2,63 ± 1,21
X articolo	1,1 ± 0,7	26,31 ± 4,9	6,97 ± 3,63	2,77 ± 1,73
XI articolo	0,8	25,92 ± 3,37	7,9 ± 4,4	2,97 ± 1,63

Tabella 6.6: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne delle femmine di *S. europaea*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo		2,25 ± 0,64		
Pedicello	1	1,58 ± 0,43		
III articolo	1,67 ± 0,33	3,00 ± 0,53		
IV articolo	1,34 ± 0,33	7,17 ± 1,21		2,11 ± 0,69
V articolo		18,58 ± 3,82	4,17 ± 2,41	2,42 ± 0,43
VI articolo		17,17 ± 3,29	9,83 ± 2,85	2,58 ± 1,44
VII articolo		22,44 ± 2,31	16,78 ± 3,50	
VIII articolo		25,22 ± 2,58	16,56 ± 3,50	
IX articolo		27,11 ± 4,18	20,56 ± 5,87	5,84 ± 3,16
X articolo		29,22 ± 5,50	24,67 ± 3,66	4,44 ± 3,22
XI articolo		27,5 ± 3,83	21,67 ± 4,00	2,50 ± 1,50

Tabella 6.7: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne dei maschi di *S. dejeani*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo	0,83 ± 0,16	2,25 ± 0,59		
Pedicello	1,34 ± 0,78	1,75 ± 0,36		
III articolo	2,92 ± 1,09	4,75 ± 3,03		1,67 ± 0,82
IV articolo	4 ± 2,32	7,17 ± 2,52		1,92 ± 0,83
V articolo	4,84 ± 0,83	19,42 ± 3,45	5,89 ± 2,28	1,92 ± 0,76
VI articolo		20,42 ± 0,89	18,08 ± 3,93	3,56 ± 1,23
VII articolo		21 ± 5,23	22,84 ± 6,73	3,45 ± 1,73
VIII articolo		24,25 ± 4,93	27,67 ± 6,36	3 ± 1,58
IX articolo		28,67 ± 8,79	32,50 ± 6,66	4,44 ± 1,23
X articolo		30,75 ± 6,20	33,67 ± 8,55	4,22 ± 2,26
XI articolo		39,56 ± 3,50	35,78 ± 2,51	2,33

Tabella 6.8: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne delle femmine di *S. dejeani*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo		2,44 ± 0,16		
Pedicello	2,56 ± 1,03	2,78 ± 1,10		
III articolo	2,22 ± 1,75	2,67 ± 0,82		
IV articolo		9,78 ± 5,02		3,78 ± 1,54
V articolo		23,33 ± 7,59	7,78 ± 3,98	5,22 ± 2,22
VI articolo		31,44 ± 1,23	23,57 ± 3,56	5,33 ± 1,70
VII articolo		30,33 ± 0,98	29,22 ± 5,21	5,89 ± 1,29
VIII articolo		31,10 ± 3,27	37,67 ± 3,54	8 ± 1,65
IX articolo		39,99 ± 0,72	45,78 ± 6,12	5,44 ± 0,42
X articolo		36,22 ± 1,50	48,21 ± 9,84	5,78 ± 0,56
XI articolo		37 ± 2,16	46,67 ± 10,86	12,11 ± 3,62

Tabella 6.9: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne dei maschi di *S. jenissoni*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

Segmenti antennali/ Tipi di sensilli	Ch1	Ch2	Pl	Tr
Scapo		2,83 ± 0,86		1
Pedicello	1	2,08 ± 0,86		
III articolo	1	3,92 ± 1,88		
IV articolo		8,83 ± 2,54		1,92 ± 0,54
V articolo		31,74 ± 5,64	5,75 ± 0,5	4,17 ± 1,21
VI articolo		34,75 ± 5,11	14,92 ± 4,41	5,75 ± 1,48
VII articolo		35,92 ± 3,08	22,83 ± 4,6	5,92 ± 1,9
VIII articolo		38 ± 3,06	28,92 ± 8,69	4,92 ± 1,7
IX articolo		38,33 ± 4,03	32,08 ± 6,33	5,08 ± 1,04
X articolo		38 ± 1,58	35,92 ± 8,93	5,92 ± 1,19
XI articolo		46,92 ± 5	36,17 ± 9,19	6 ± 0,7

Tabella 6.10: Media e deviazione standard del numero di sensilli presenti sulle antenne delle femmine di *S. jenissoni*. È riportata la distribuzione delle tipologie sensoriali per ogni antennumero. Ch1 (sensillo di tipo chetico 1), Ch2 (sensillo di tipo chetico 2), Pl (sensillo placoideo), Tr (sensillo tricoideo).

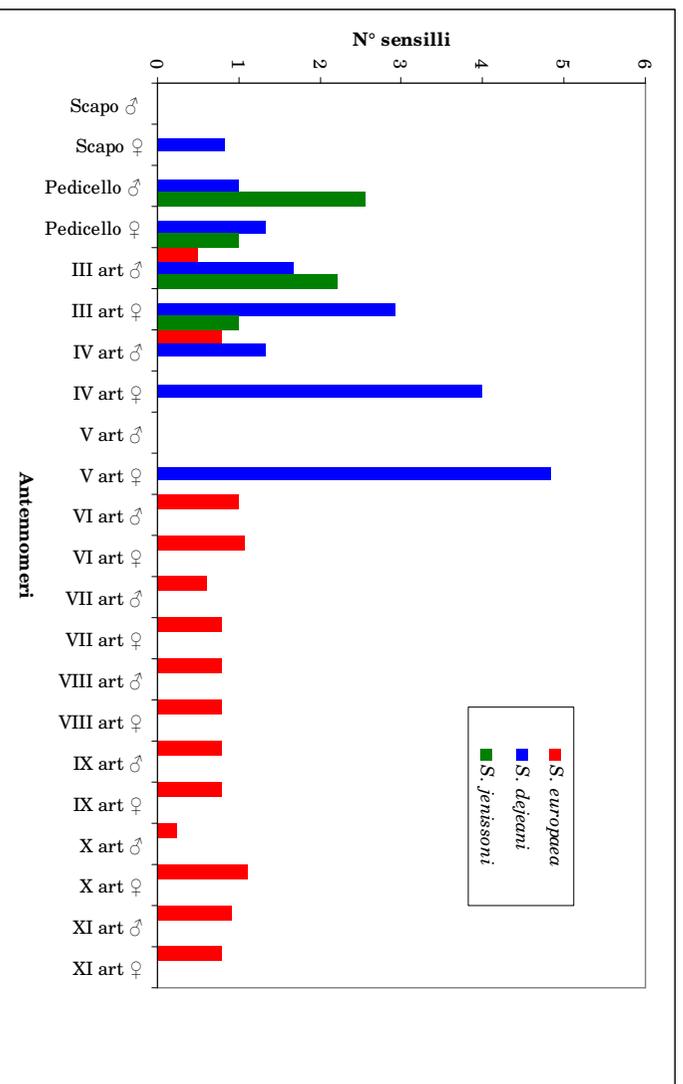


Grafico 6.7: Distribuzione dei sensilli di tipo chetico 1 sulle antenne sia dei maschi che delle femmine delle tre specie.

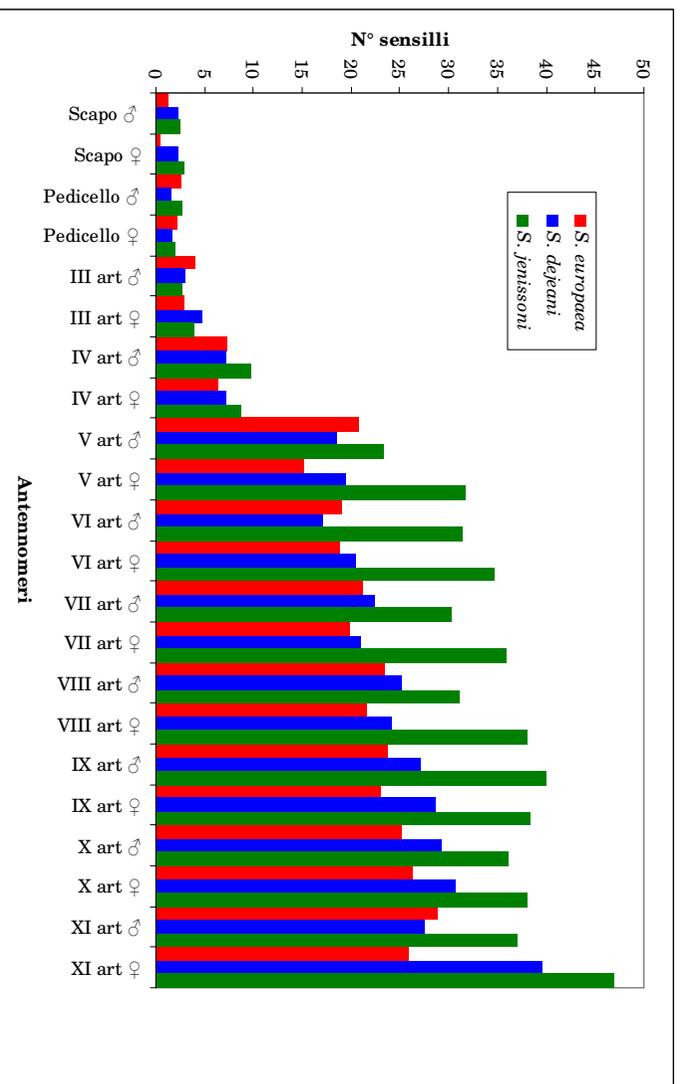


Grafico 6.8: Distribuzione dei sensilli di tipo chetico 2 sulle antenne sia dei maschi che delle femmine delle tre specie.

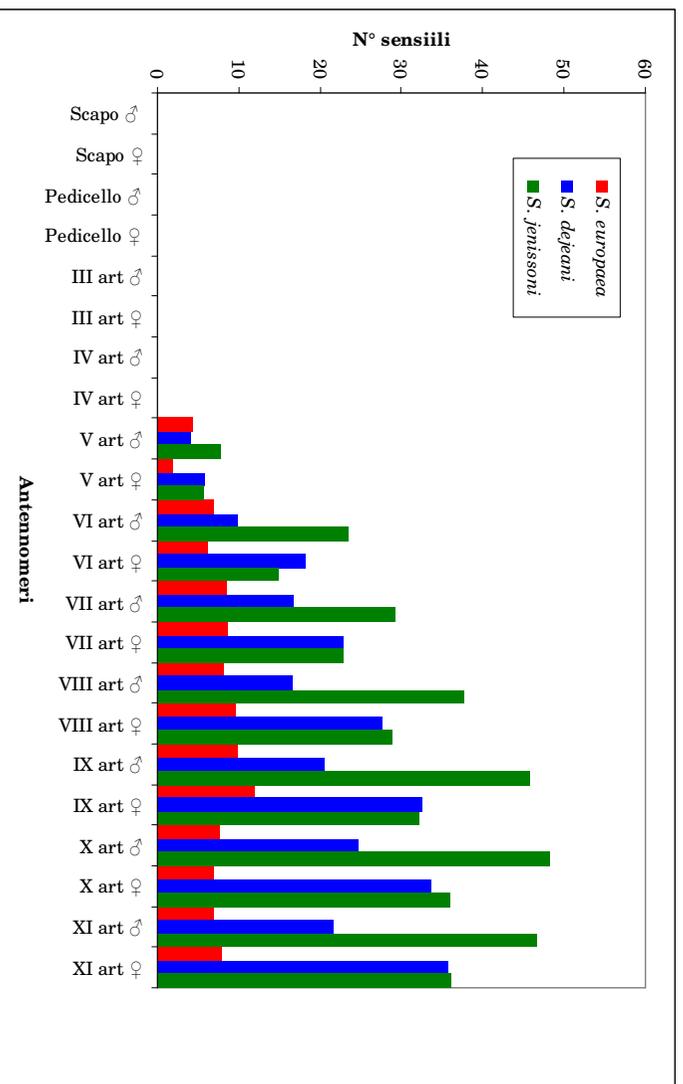


Grafico 6.9: Distribuzione dei sensilli di tipo placoido sulle antenne sia dei maschi che delle femmine delle tre specie.

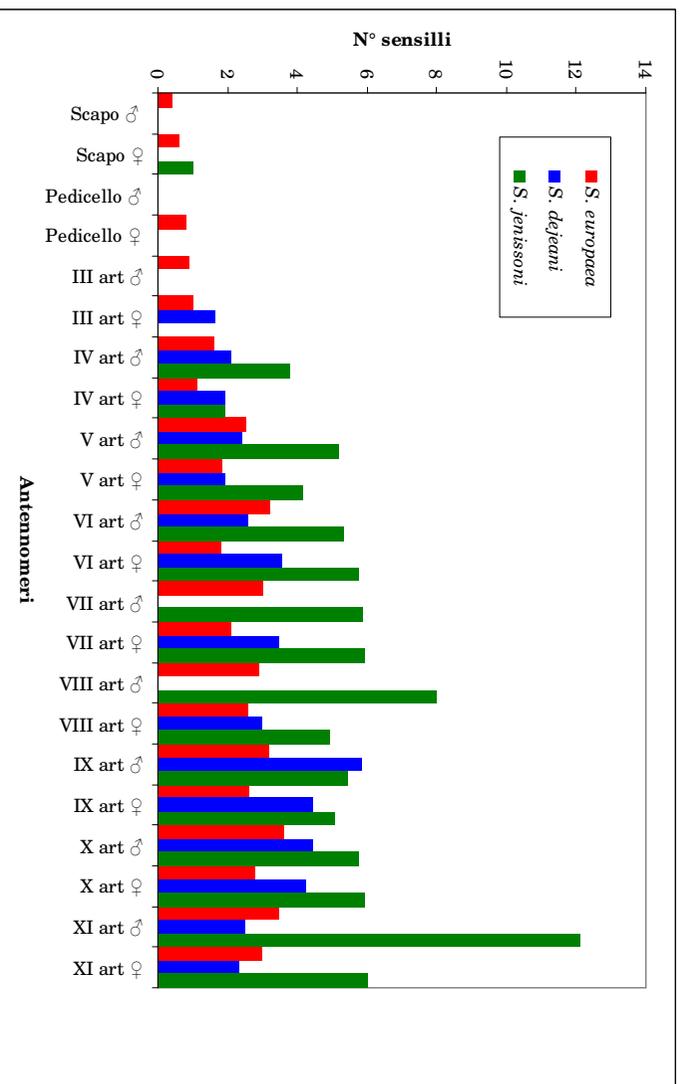


Grafico 6.10: Distribuzione dei sensilli di tipo tricoido sulle antenne sia dei maschi che delle femmine delle tre specie.

6.3 Risultati indagini elettrofisiologiche

Le indagini elettrofisiologiche sono state condotte sui palpi labiali di *S. europaea* e *S. dejeani*.

Da analisi effettuate recentemente (Giglio et al., 2006) è emerso che sui palpi labiali (Fig. 6.5) di *S. europaea* è presente un'estesa area sensoriale apicale in cui sono state individuate tre tipologie di sensilli basiconici morfologicamente distinguibili. Sulla parte esterna, invece, sono presenti sensilli tricoidei e celoconici. Probabilmente i sensilli basiconici intervengono nella ricerca e individuazione della preda essendo chemiorecettori, i sensilli tricoidei danno informazioni sulla posizione del palpo rispetto alla testa, mentre i sensilli celoconici sono ritenuti igro- e termorecettori in molte specie di insetti (Zacharuk, 1985).

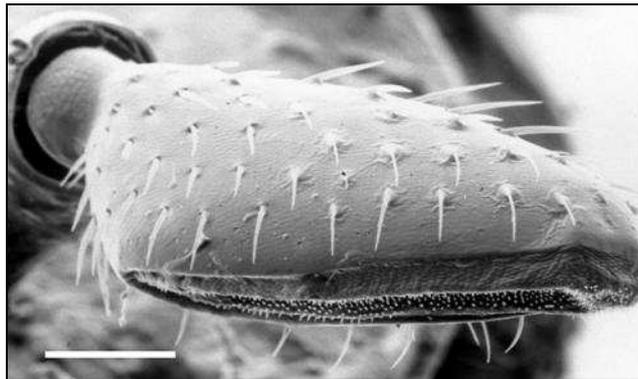


Figura 6.5: Foto al SEM del palpo labiale di *Siagona europaea*.

Nei grafici 6.7 e 6.8 sono rappresentate le risposte dei chemiorecettori presenti sui palpi delle due specie agli stimoli chimici somministrati. In entrambi i casi, gli acidi carbossilici (acido formico e acido acetico) costituiscono degli stimoli chimici molto forti per i palpi, mentre le altre sostanze non producono risultati apprezzabili. Esiste, infatti, una chiara curva dose-risposta per le due sostanze, in entrambe le specie, anche se alla stessa concentrazione la curva di risposta risulta meno ampia in *S. dejeani* rispetto a *S. europaea*.

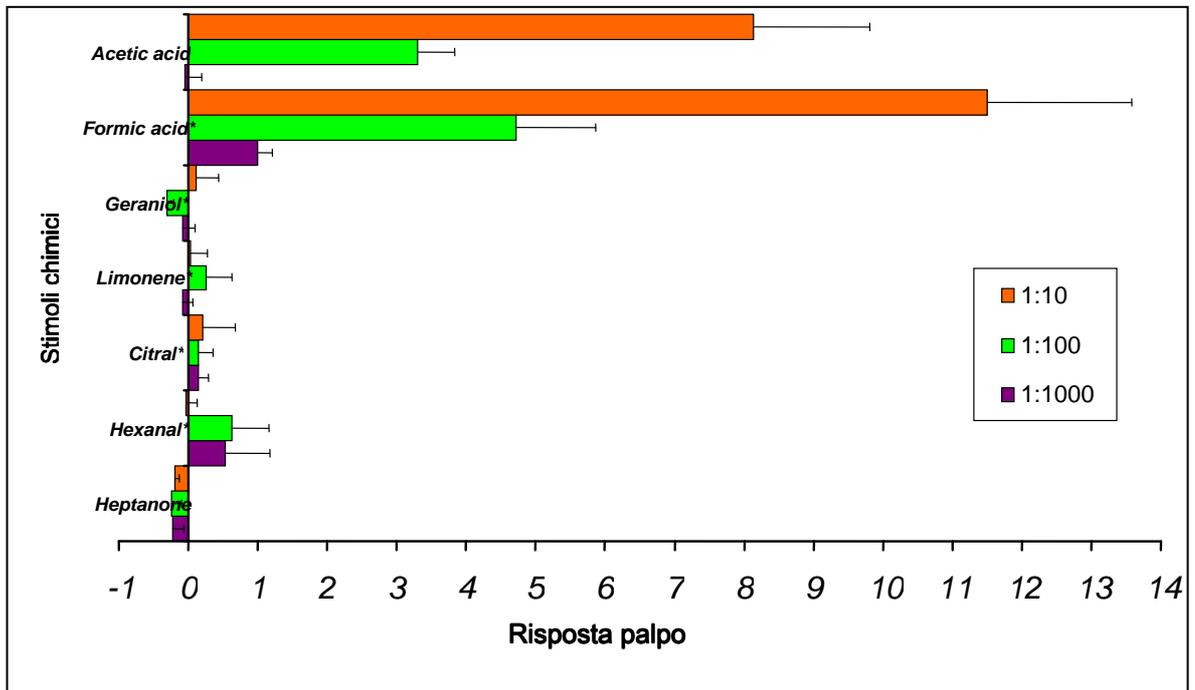


Grafico 6.7: Risultati EAG dei chemorecettori presenti sui palpi labiali di *S. europaea*. Sono messe a confronto le risposte delle sostanze somministrate a tre diverse concentrazioni.

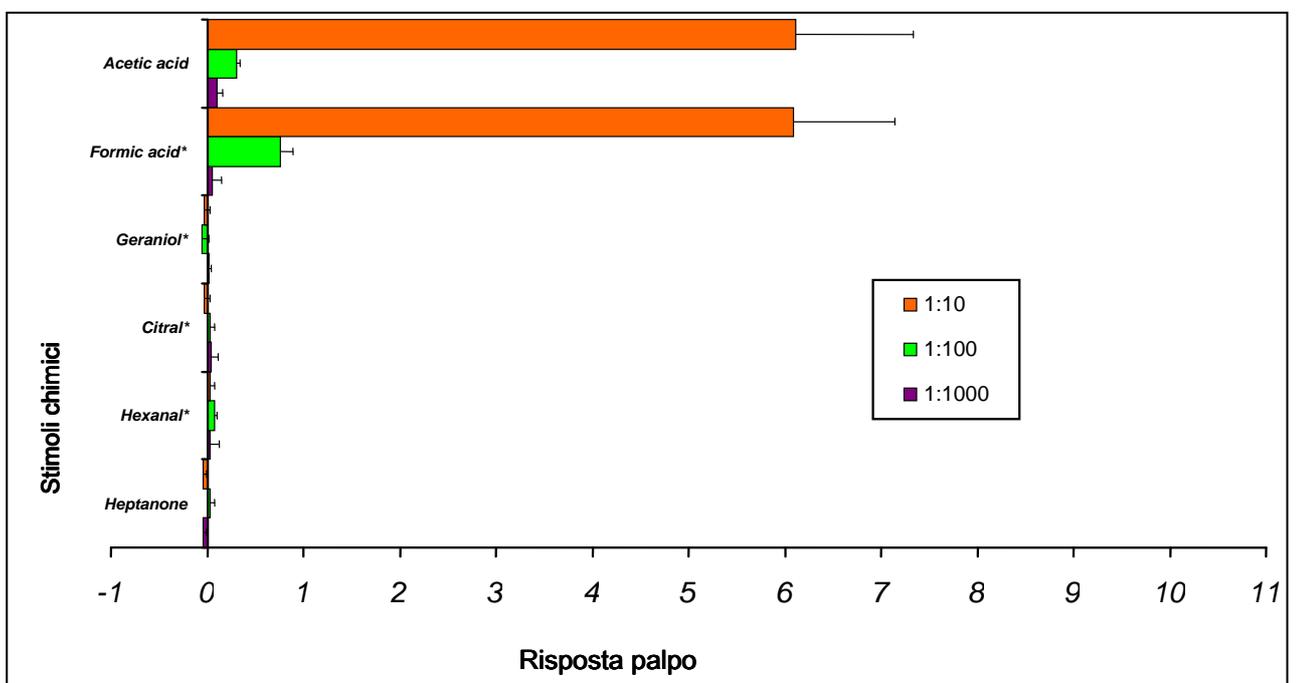


Grafico 6.8: Risultati EAG dei chemorecettori presenti sui palpi labiali di *S. dejeani*. Sono messe a confronto le risposte delle sostanze somministrate a tre diverse concentrazioni.

6.4 Risultati indagini comportamentali

Le osservazioni comportamentali sono state condotte in laboratorio, allo scopo di rilevare la presenza di un eventuale comportamento gregario. Le indagini si sono svolte nel periodo compreso tra marzo e giugno del 2005 su 10 coppie di *S. dejeani* e 10 di *S. jenissoni*. È emersa l'esistenza di aggregazione soltanto in *S. dejeani* mentre *S. jenissoni* presenta una spiccata attività esploratrice; ciò è confermato dalle osservazioni in natura come evidente nel grafico 6.9. Si può notare come in *S. jenissoni* la classe di abbondanza 1 è la più ricca, al contrario di *S. dejeani* in cui domina la classe 2-3 ma è rilevante anche la classe 8-15.

Nel grafico 6.10 sono riportati i risultati relativi al comportamento mostrato da *S. dejeani* in laboratorio. Gli individui preferiscono rimanere aggregati sotto le capsule Petri (70-85% degli individui nelle arene) tra aprile e maggio mentre con il passare del tempo aumenta lo stazionamento all'esterno (Fig 6.6).

La comunicazione tra gli individui si manifesta tramite segnali tattili con l'ausilio delle antenne e delle parti boccali. Occasionalmente alcuni individui effettuano dei giri su se stessi, toccando gli altri con le antenne, probabilmente al fine di recepire segnali chimici dall'ambiente circostante. I palpi, invece, vengono utilizzati soprattutto per tastare il substrato alla ricerca della preda.

È stato osservato, inoltre, un comportamento paragonabile al "grooming", in cui alcuni individui puliscono le mandibole di altri dai resti di cuticola delle formiche senza essere attaccati, dopodiché consumano a loro volta questi frammenti.

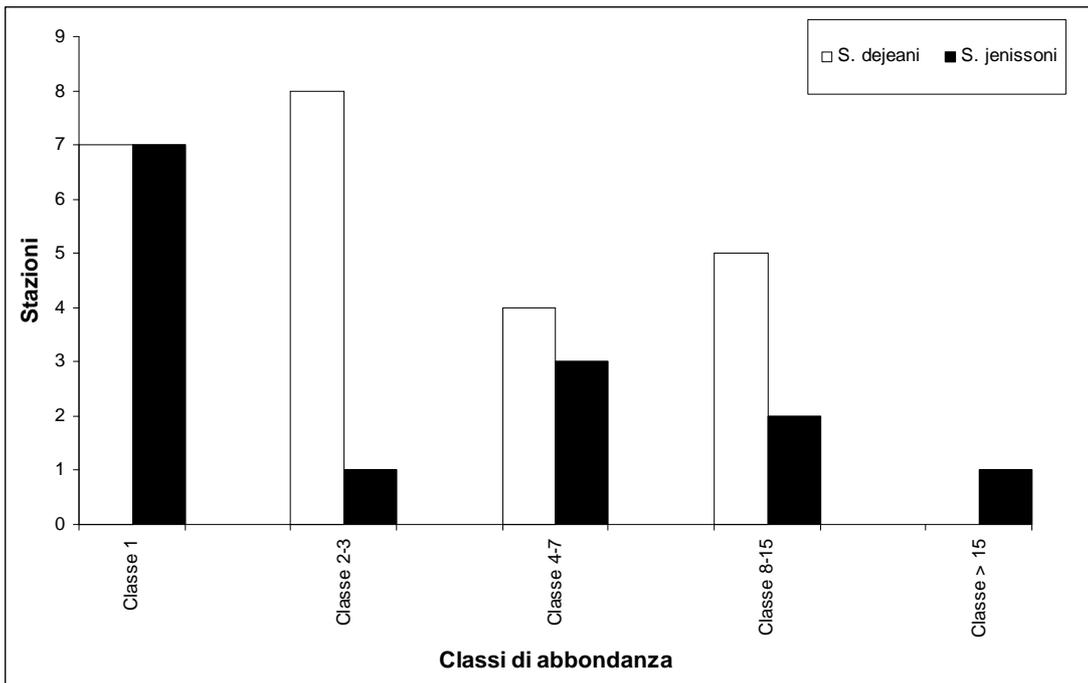


Grafico 6.9: Numero di stazioni per classi di abbondanza per le specie *S. dejeani* e *S. jennisoni*.

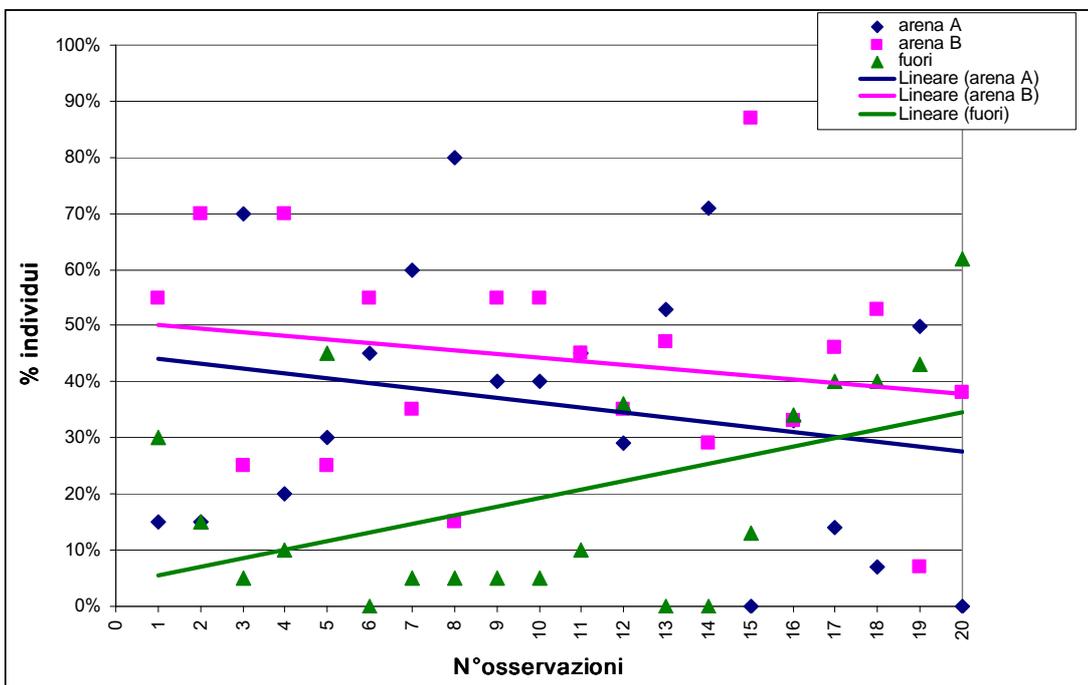


Grafico 6.10: Risultati derivanti dalle osservazioni comportamentali. Sono messe a confronto le percentuali degli individui rinvenuti nelle arene e quelle degli individui presenti all'esterno in rapporto al numero di osservazioni effettuate.

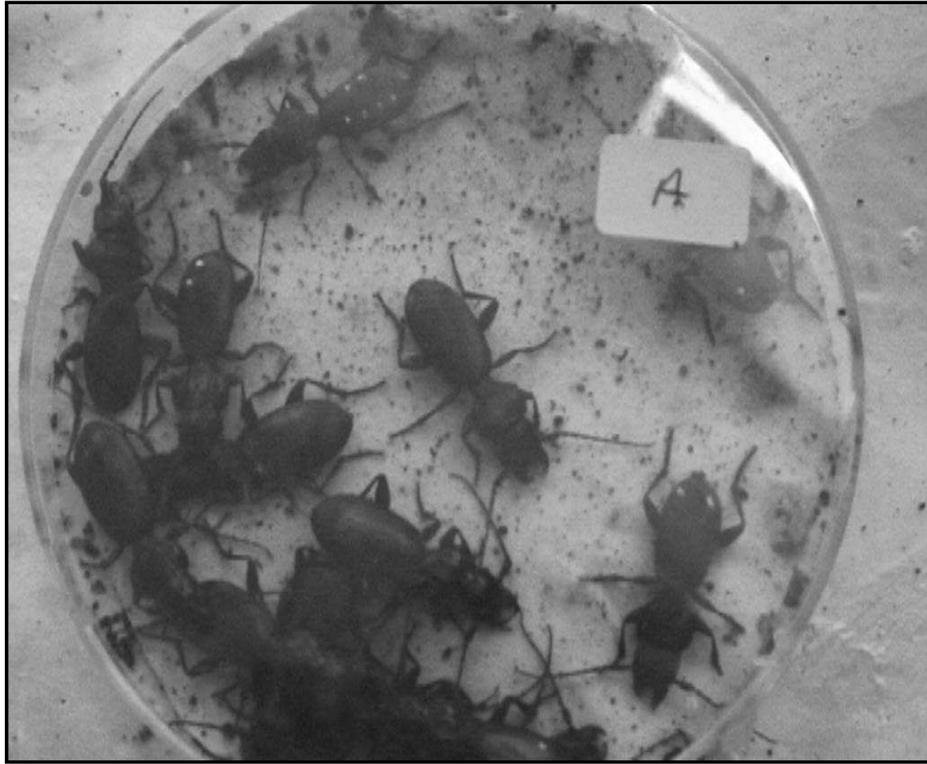


Figura 6.6: Esempjari di *S. dejeani* aggregati nell'arena A.

6.5 Risultati indagini gascromatografiche

A supporto delle osservazioni comportamentali sono state condotte indagini gascromatografiche sugli esemplari di *S. dejeani* e sulla carta assorbente posta all'interno delle capsule Petri presenti nei terrari.

Dai cromatogrammi ottenuti (Fig. 6.8) è evidente che le principali sostanze chimiche identificate sulla carta assorbente sono uguali a quelle ritrovate sulla cuticola degli esemplari testati singolarmente.

I picchi più alti sono stati identificati come composti ciclici: ciclotetra- (Fig. 6.7), ciclopenta- e cicloesasiloxano.

I siloxani sono composti in cui gli atomi di silicio (Si) sono legati attraverso gli atomi di ossigeno (O); ogni atomo di silicio porta, inoltre, uno o più gruppi organici. I siloxani sono conosciuti anche come siliconi. Essi possono avere struttura lineare o ciclica. Nel nostro caso i composti ottenuti hanno struttura ciclica. I ciclosiloxani sono particolarmente usati come intermedi per la produzione di siloxani lineari ad elevato peso molecolare, usati direttamente come fluidi.

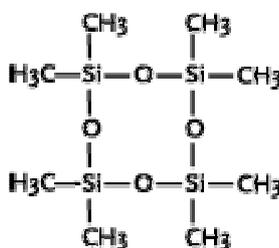


Figura 6.7: Ciclotetrasiloxano

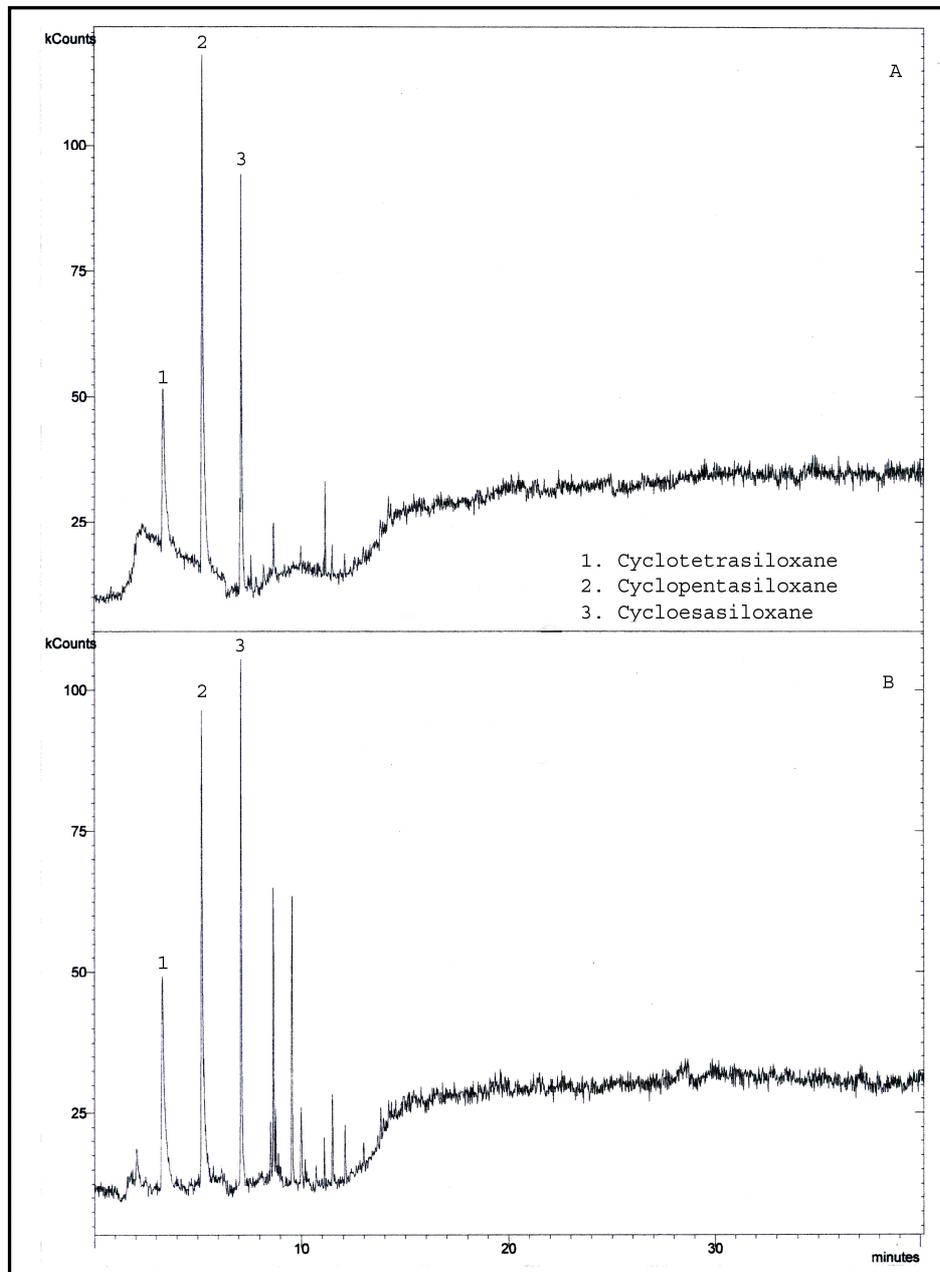


Figura 6.8: Cromatogrammi: A, relativo alla carta assorbente presente nell'arena di aggregazione di *S. dejeani*; B, relativo alla cuticola degli esemplari di *S. dejeani*.

6.6 Fenologia di *Siagona europaea*

L'utilizzo di "bait traps" per la cattura della fauna ipogea è iniziato nella primavera del 2003. Nel caso di *Siagona europaea*, l'unica delle tre specie considerate reperibile sul territorio italiano, le raccolte sono state effettuate ogni settimana nel periodo primaverile e più raramente nel resto dell'anno. Nei grafici 6.11, 6.12 e 6.13 sono rappresentati i dati relativi alle raccolte dal 2004 al 2006 confrontando i dati ottenuti con le catture dirette e con l'uso delle "bait traps". Nel grafico 6.14 è descritto l'andamento della distribuzione di *Siagona europaea* durante l'anno tenendo conto delle raccolte effettuate. Emerge che tra febbraio e marzo gli individui compaiono in superficie; l'attività aumenta rapidamente raggiungendo l'apice tra aprile e maggio per poi andare scemando da luglio a novembre.

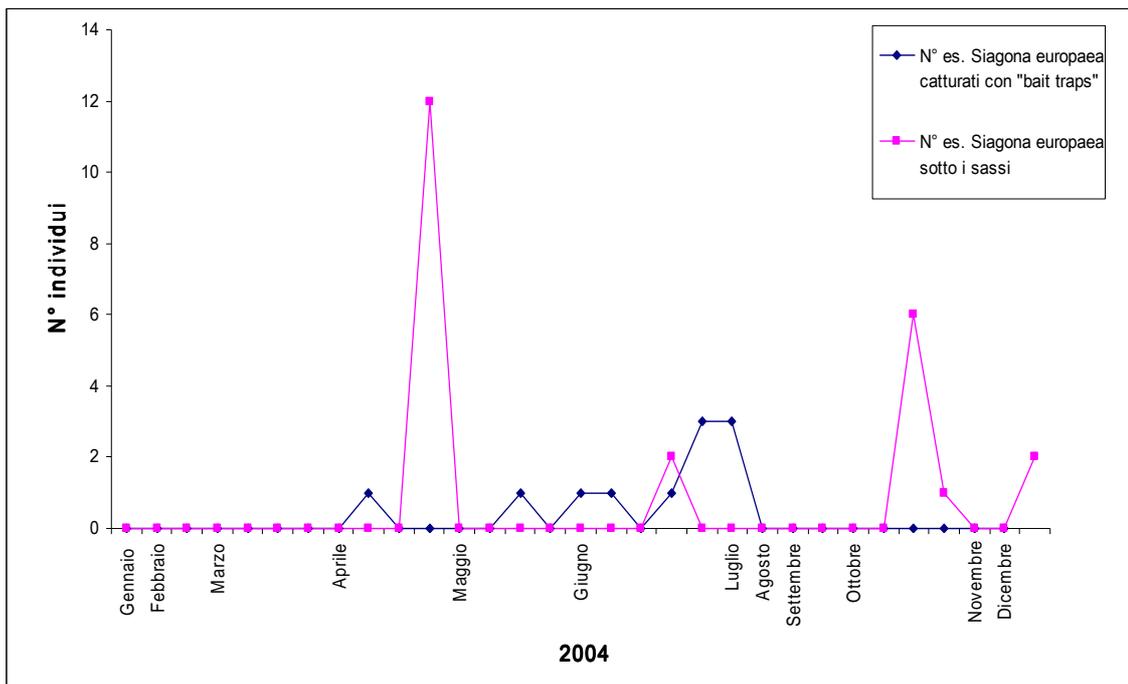


Grafico 6.11: Numero individui di *Siagona europaea* raccolti durante l'anno 2004.

Durante l'anno 2004 sono stati raccolti un totale di 34 individui di cui 11 attraverso l'uso di "bait traps" e 23 con cattura diretta.

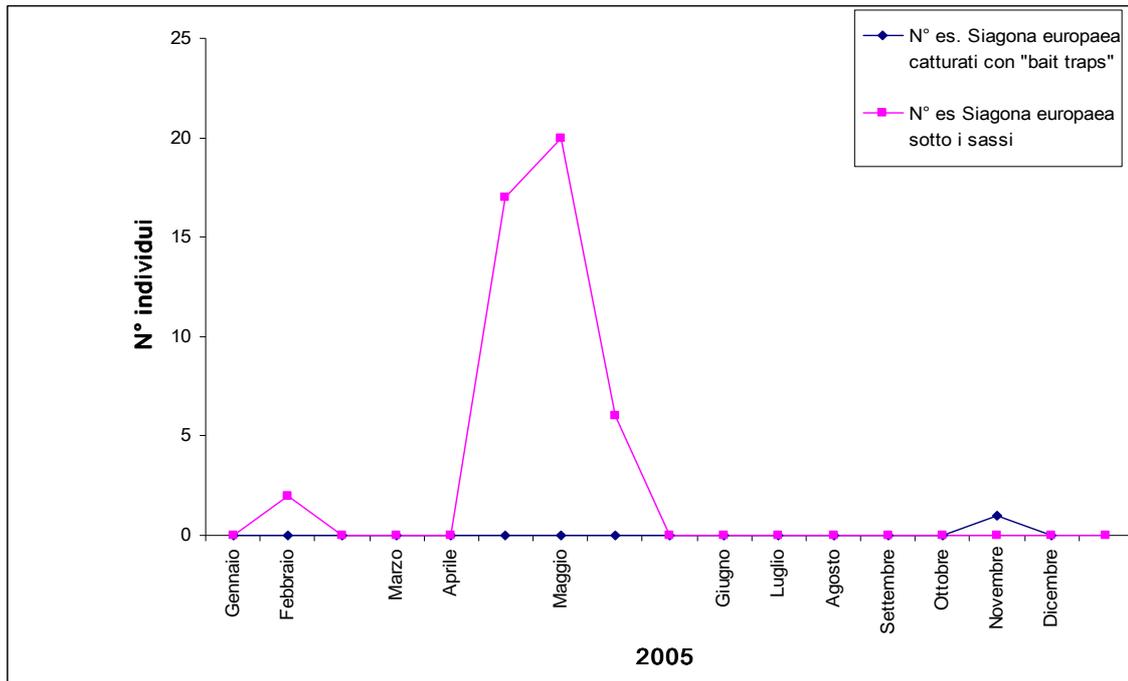


Grafico 6.12: Numero individui di *Siagona europaea* raccolti durante l'anno 2005.

Durante l'anno 2005 sono stati raccolti un totale di 46 individui di cui soltanto 1 utilizzando le "bait traps" ed il resto con cattura diretta.

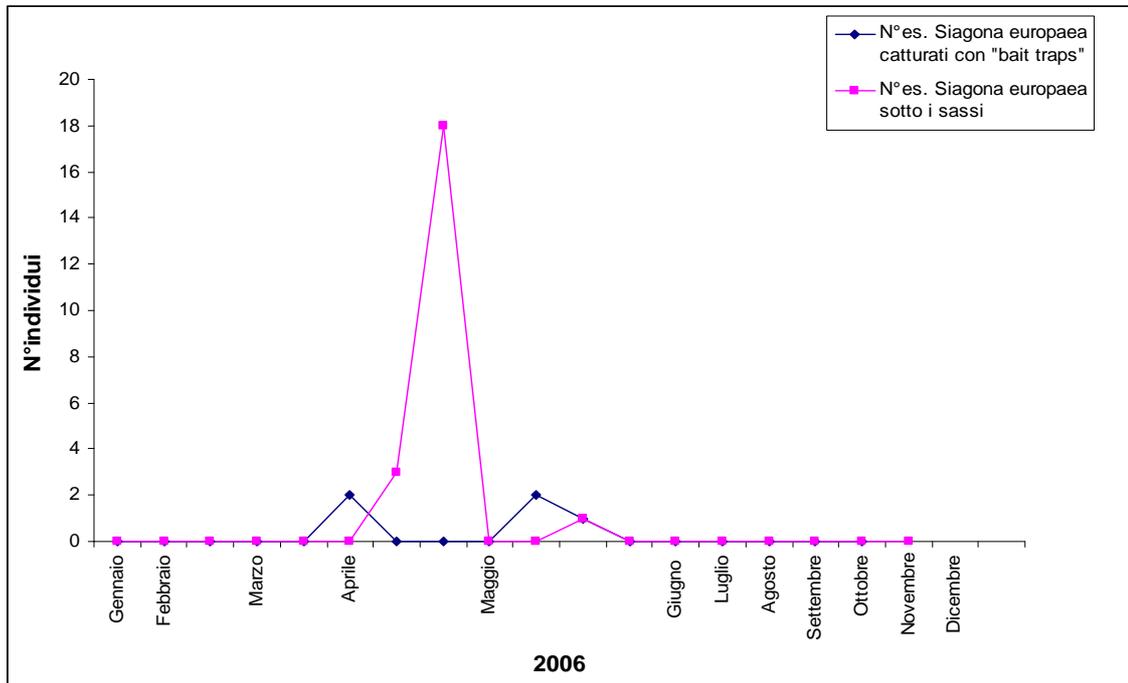


Grafico 6.13: Numero individui di *Siagona europaea* raccolti durante l'anno 2006.

Nell'anno 2006 sono stati raccolti soltanto 27 individui di *Siagona europaea* di cui 5 con le "bait traps" e 22 sotto i sassi.

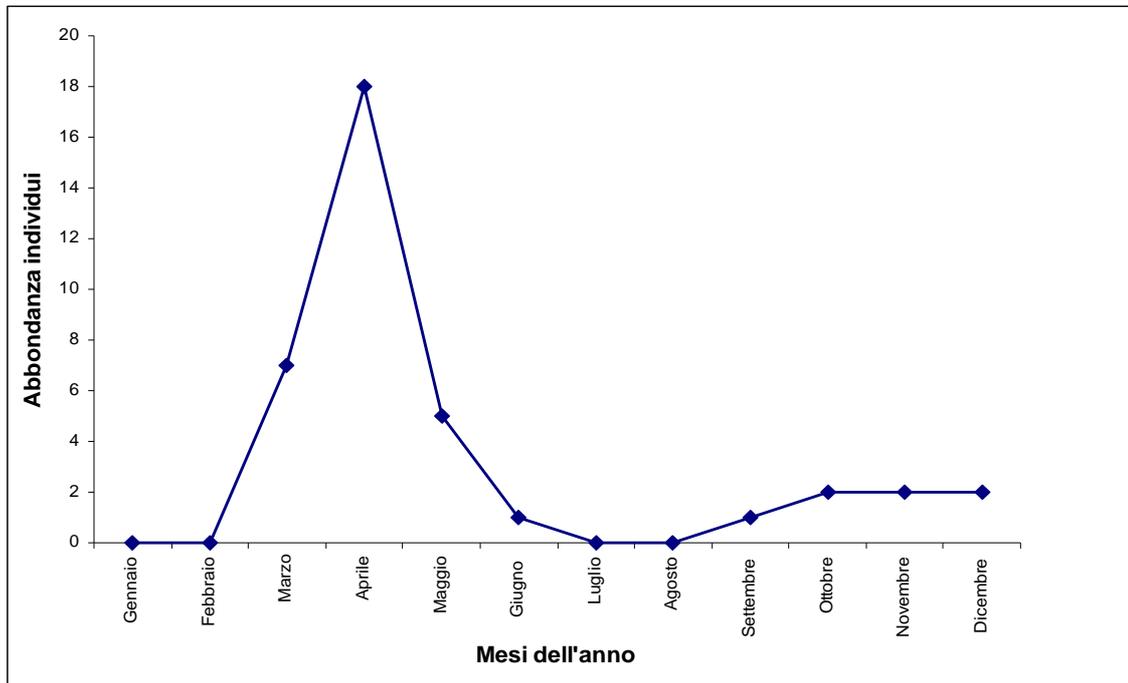


Grafico 6.14: Distribuzione dell'attività di *Siagona europaea* durante l'anno. Tra febbraio e marzo iniziano a comparire gli esemplari in superficie; da marzo fino ad ottobre probabilmente si effettua la caccia alle formiche; da settembre in poi compaiono gli individui neosfarfallati.

CONCLUSIONI

Il presente studio è stato condotto su specie appartenenti alla tribù dei Siagonini facente parte dei Coleotteri Carabidi. Le specie prese in esame sono: *S. europaea*, con areale mediterraneo-afro-indiano molto vasto, *S. dejeani* e *S. jenissoni*, entrambe con areale molto ridotto e localizzato al sud della penisola iberica e nord del Marocco.

Al fine di incrementare le scarse conoscenze circa la biologia delle specie, sono stati condotti studi relativi alla morfometria, al pattern sensoriale delle antenne, indagini elettrofisiologiche e comportamentali.

Per quel che riguarda le analisi morfometriche le tre specie di *Siagona* considerate, in relazione ai parametri presi in esame, presentano differenze intra- ed interspecifiche. Dall'analisi tra i sessi, eseguita su ogni specie, sono emerse differenze significative nella larghezza della testa, a favore delle femmine di *S. europaea*, nella lunghezza del trocantere nei maschi sia di *S. dejeani* che di *S. jenissoni*.

I parametri visivi sono risultati significativamente differenti tra le tre specie. Nonostante rientrino tutte nella categoria dei predatori notturni (olfattivo-tattili), secondo Bauer & Kredler (1993), *S. europaea* presenta il maggior numero di ommatidi (43/lunghezza del corpo), probabilmente perché possiede una migliore acuità visiva. *S. europaea* rispetto alle altre due specie presenta anche le antenne più lunghe. I valori dei parametri morfometrici ottenuti confermano che le specie considerate sono adattate a vivere in habitat ristretti perché hanno uno spessore relativo del corpo compreso tra 0.12 e 0.16 mm; rientrano nei categoria dei corridori secondo Forsythe (1981) avendo tutte una lunghezza relativa del trocantere (lunghezza trocantere/lunghezza corpo) pari a 0.07, ed appartengono ai predatori tattili avendo lunghe antenne.

Da tenere in considerazione è il dato relativo alle ali delle tre specie in quanto esiste una stretta correlazione con gli ommatidi. Infatti, *S. europaea*, che presenta il maggior numero di ommatidi, ha anche le ali più lunghe delle altre due specie; ciò

potrebbe essere legato ad un maggior potere di dispersione. Anche le antenne più lunghe in *S. europaea* potrebbero intervenire nella maggior mobilità che obbliga il partner, dopo aver colonizzato un nuovo habitat, ad impiegare maggiori energie per individuare l'altro sesso.

Al contrario, le antenne corte in *S. dejeani*, il basso numero di ommatidi e le ali fortemente ridotte potrebbero sottolineare l'areale ridotto e limitato oltre ad una minore necessità di individuare il partner, probabilmente perché gli individui vivono aggregati tra loro.

I sensilli ritrovati sulle antenne delle tre specie di *Siagona* indagate sono già stati descritti per altri coleotteri carabidi (Daly & Ryan, 1979; Merivee et al., 2000; 2001; 2002; 2003). Le tre specie hanno lo stesso pattern sensoriale anche se *S. dejeani* e *S. jenissoni* sono numericamente più ricche. Ciò è in accordo con l'ambiente colonizzato che è simile nelle tre specie e con la dieta che è in tutti e tre i casi limitata esclusivamente alle formiche. Da sottolineare che, al contrario delle altre specie, il maschio di *S. dejeani* presenta una minor quantità di sensilli sulle antenne rispetto alla femmina. Ciò potrebbe essere un'ulteriore conferma della minore necessità di individuazione del partner dal momento che gli individui vivono in aggregazione.

I sensilli di tipo chetico 1 sono lunghe setole dritte, con l'apice smussato e scanalature longitudinali, con un'ampia cavità articolare. Queste strutture sono tipiche dei chemiorecettori (Merivee, 2002).

I sensilli di tipo chetico 2 sono piccole strutture con le pareti lisce, l'apice smussato dolcemente curvato verso l'antenna e la base collocata in una cavità. Questa tipologia possiede recettori olfattivi in risposta ai composti legati al cibo e all'habitat (Schneider, 1964; Zacharuk, 1985).

I sensilli placoidei presentano una cuticola sensoriale piatta, quasi sempre a livello della superficie, e attaccata ad un anello di cuticola membranoso. Sono chemorecettori di contatto.

Per i sensilli tricoidei Daly and Ryan (1979) suggeriscono una probabile funzione di meccanorecettori oppure una funzione tattile (Merivee, 2003). Sono lunghe setole appuntite senza cavità articolare. Il loro pattern di distribuzione indica che essi intervengono nel comportamento dell'animale (Merivee, 2002).

Al contrario delle antenne di *S. europaea* (Talarico, 2002a), i cui chemiorecettori mostrano una scarsa risposta agli stimoli, dalle indagini elettrofisiologiche effettuate sui palpi labiali della specie, è emersa una forte risposta verso gli acidi carbossilici (acetico e formico). Anche nel caso di *S. dejeani* i chemiorecettori sui palpi hanno risposto in modo rilevante agli acidi carbossilici somministrati. Evidentemente il palpo fornisce un contributo importante nella ricerca delle formiche tramite questa specializzazione a rilevare la presenza dell'acido formico. Questo è confermato dalla notevole presenza di sensilli basiconici sulla parte apicale dei palpi.

Dai dati preliminari ottenuti dalle osservazioni comportamentali è emersa l'esistenza di aggregazione soltanto in *S. dejeani* mentre *S. jenissoni* presenta una spiccata attività esploratrice.

Nel caso di *S. europaea* sono state trovate aggregazioni di 2-7 individui nella stessa cavità sotto i sassi e questo comportamento era mantenuto anche in laboratorio durante la stagione riproduttiva (Bauer et al., 2005) mentre di *S. dejeani* sono state trovate aggregazioni in natura di 14 esemplari in cui maschi e femmine erano presenti in ugual numero (Graf. C1). Ciò è stato constatato anche in laboratorio dove si sono osservati fino a 16 individui sotto lo stesso riparo. La probabile funzione del comportamento gregario in *S. dejeani* va ricercata nella riunione dei sessi durante il periodo riproduttivo e, vista la notevole dimensione degli individui (lunghezza corpo = 23,08 mm), come strategia per ridurre la disidratazione. Ciò è in accordo con l'habitat colonizzato dalla specie, sottoposto a forti periodi di siccità.

Le sostanze rinvenute sulla cuticola della specie (ciclotetra-, penta- ed esasiloxano) non sono note sinora in nessun' altra specie di carabidi (Zetto Brandmayr et al., 2006c); potrebbero essere utili nella prevenzione dalla disidratazione e nella protezione contro gli acidi carbossilici prodotti dalle formiche. Tali sostanze non sono presenti neanche nel profilo cuticolare di *S. europaea*, caratterizzato da idrocarburi a lunga catena con un numero variabile di atomi da 21 a 29; di particolare importanza è l'1,5,7-pentacosatriene, presente in maggiore quantità relativa che può considerarsi come l'idrocarburo tipico del carabide (Talarico, 2002a).

Importanti sono state le raccolte effettuate in questi anni per reperire il materiale da utilizzare per gli esperimenti, da cui è stato possibile ricostruire la fenologia di *Siagona europaea*. Questa specie è considerata un riproduttore primaverile, con una

stagione di attività che va da marzo a giugno. Tra febbraio e marzo gli individui compaiono in superficie; l'attività aumenta rapidamente raggiungendo l'apice tra aprile e maggio per poi andare scemando da luglio a novembre. *S. europaea*, infatti, si cattura facilmente nei mesi primaverili, in prevalenza sotto i sassi, mentre diviene sporadica o del tutto assente nei periodi di siccità in cui prevale la cattura con le "bait traps", in quanto si osserva una migrazione verticale nel microhabitat edafico.

Alla conclusione di questo studio, alcuni punti riguardo la biologia e l'ecologia delle tre specie di *Siagona* presenti nel bacino del Mediterraneo appaiono più chiari; sono necessarie comunque ulteriori indagini per confermare le ipotesi ed approfondire ulteriori aspetti.

BIBLIOGRAFIA

- Alcock, J. – 2001** – Etologia. Un approccio evolutivo. Zanichelli.
- Altner, H., Schaller-Selzer L., Stetter H. and Wohlrab I. – 1983** – Poreless sensilla with inflexible sockets. A comparative study of a fundamental type of insect sensilla probably comprising thermo- and hygroreceptors. Cell and Tissue Research 234: 279-307.
- Andrewes, H.E. – 1929** – Coleoptera, Carabidae. I. Carabinae. In J. Stephenson (ed). The fauna of British India, including Burma and Ceylon. Taylor and Francis, London.
- Antoine, M. – 1955** – Coléoptères Carabiques du Maroc (première partie). La Rose. Paris.
- Baker, G.T., Ma P.W.K. – 2006** – Morphology and number of ommatidia in the compound eyes of *Solenopsis invicta*, *Solenopsis richteri*, and their hybrid (Hymenoptera: Formicidae). Zoologischer Anzeiger 245: 121-125.
- Bauer, T. – 1981** – Prey Capture and Structure of the Visual Space of an Insect that Hunts by Sight on the Litter Layer (*Notiophilus biguttatus* F., Carabidae, Coleoptera). Behav. Ecol. Sociobiol. 8: 91-97.
- Bauer, T. – 1985** – Different adaptation to visual hunting in three ground beetle species of the same genus. J. Insect Physiol. 31 (8): 593-601.
- Bauer, T. & Kredler, M. – 1993** – Morphology of the compound eyes as an indicator of life-style in carabid beetles. Can. J. Zool., 71: 799-810.
- Bauer, T., Desender, K., Morwinsky, T. and Betz, O. – 1998** – Eye morphology reflects habitat demands in three closely related ground beetle species (Coleoptera: Carabidae). J. Zool. Lond., 245: 467-472.
- Bauer, T., Talarico, F., Mazzei, A., Giglio, A., Zetto Brandmayr, T., Brandmayr, P., Betz, O. – 2005** – Hunting ants in Mediterranean clay soils: life history of *Siagona europaea* (Coleoptera, Carabidae). Ital. J. Zool., 72: 33-42.

- Bonacci, T., Mazzei, A., Zetto Brandmayr, T., Brandmayr, P. – 2004** – Aposematic aggregation of Carabid beetles (Coleoptera Carabidae): preliminary data. REDIA, LXXXVII: 243-245.
- Brandmayr, P. & Zetto Brandmayr, T. – 1974** – Sulle cure parentali e su altri aspetti della biologia di *Carterus (Sabienus) calydonius* Rossi, con alcune considerazioni sui fenomeni di cura della prole sino ad oggi riscontrati in Carabidi (Coleoptera, Carabidae). Redia, Firenze 55: 143-175.
- Brandmayr, P. & Zetto Brandmayr, T. – 1979** – The evolution of parental care phenomena in Pterostichine ground beetles, with special reference to the genera *Abax* and *Molops* (Coleoptera, Carabidae). Misc. Pap. Landbouwhoges. Wageningen 18: 35-49.
- Brandmayr, P. & Zetto Brandmayr, T. – 1987** – The problem of presocial behaviour in Ditomine ground beetles. Ethological perspectives in social and presocial arthropods 36: 15-18.
- Brandmayr, P., Pizzolotto, R. – 1990** – Ground beetle coenoses in the landscape of the Nebrodi Mountains, Sicily (Coleoptera, Carabidae). Il Naturalista Siciliano XIV (suppl.): 51-64.
- Brandmayr, P., Zetto Brandmayr, T. – 1980** – « Life forms » in imaginal Carabidae (Coleoptera): a morphofunctional and behavioural synthesis. Monitore Zool. Ital. (N.S.), 14: 97-99.
- Brandmayr, P., Zetto Brandmayr, T., Pizzolotto, R. – 2005** – I Coleotteri Carabidi per la valutazione ambientale e la conservazione della biodiversità. Manuale operativo APAT. Manuali e linee guida, 34.
- Brandmayr, P., Zetto T., Colombetta G., Mazzei A., Scalercio S., Pizzolotto R. – 2002** – I Coleotteri Carabidi come indicatori predittivi dei cambiamenti dell'ambiente: clima e disturbo antropico. Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. Catania, 10-15 giugno: 279-291.
- Caveney, S. – 1998** – Microscopic Anatomy of Invertebrates, Vol. 11B: Insecta, Chapter 18: 423-445. Wiley-Liss, Inc.
- Chapman, R.F. – 1998** – The Insect. Structure and Function. 4th edition. Cambridge University Press.

- Daly, P.J. & Ryan, M.F. – 1979** – Ultrastructure of antennal sensilla of *Nebria brevicollis* (Fab.) (Coleoptera: Carabidae). International Journal of Insect Morphology and Embryology 8: 169-181.
- De Chaudoir, M. – 1876** – Monographie des Siagonides. Bull. Ser. Imp. Na. Moscou. 50: 62-125.
- Den Boer, P. J. – 1986** – Carabids as objects of study. In: Carabid Beetles. Their Adaptations and Dynamics. Den Boer et al. (eds). Gustav Fischer Stuttgart New York.
- Erwin, T.L. – 1979** – A Review of the Natural History and Evolution of Ectoparasitoid Relationships in Carabid Beetles. In: Carabid Beetles, their evolution, natural history and classification. Erwin et al. (eds). Junk Pub. The Hague: 479-484.
- Evans, M.E.G. – 1990** – Habits and habitats: do carabid locomotor adaptations reflect habitats or life-style? In: The role of ground beetles in ecological and environmental studies. N.E. Stork (ed). Intercept, Andover: 293-303.
- Evans, M.E.G. – 1994** – The carabid body plan: a functional interpretation. In: Carabid beetles: Ecology and Evolution. Desender et al. (eds). Kluwer Academic Publishers: 25-31.
- Forsythe, T.G. – 1981** – Running and pushing in relationship to hind leg structure in some Carabidae (Coleoptera). The Coleopterist Bulletin. 35 (4).
- Forsythe, T.G. – 1987** – The relationship between body form and habit in some Carabidae (Coleoptera). J. Zool., Lond., 211: 643-666.
- Galián, J., Ortiz, A.S. and Serrano, J. – 1992** – A chromosome study of twelve species of old and middle-aged lineages of Carabidae (Coleoptera). Elytron, Vol. 6: 143-150.
- Giglio, A., Perrotta, E., Romeo, M., Talarico, F.F., Zetto, T., Ferrero, E.A. – 2006** - Sensory structure on the labial palp of the ant-hunting beetle *Siagona europaea* Dejean 1826 involved in prey detection (Coleoptera, Carabidae). Arthropod Structure and Development (in submission).
- Grandi, G. – 1984** – Introduzione allo studio della entomologia. Volume primo. Edagricole.

- Grassè, P. – 1975** – Traité de Zoologie. Anatomie, systématique, biologie. Masson e C^{ie} Editeurs. Tome VIII, fascicule III.
- Heard, S.B. & Remer, L.C. – 1997** – Clutch-Size Behavior and Coexistence in Ephemeral-Patch Competition Models. *The American Naturalist*, Vol. 150 (6): 744-770.
- Horridge, G.A. – 1976** – The ommatidium of the dorsal eye of *Cloeon* as a specialization for photoreisomerization. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* 193:17-29.
- Hutton, S.A. & Giller, P.S. – 2004** – Intra- and interspecific aggregation of north temperate dung beetles on standardised and natural dung pads: the influence of spatial scale. *Ecological Entomology* 29: 594-605.
- Ives, A.R. – 1991** – Aggregation and Coexistence in a Carrion Fly Community. *Ecological Monographs*, Vol. 61 (1): 75-94.
- Jeannel, R. – (1941-1942)** – Faune de France. Coléoptères Carabique. Vol. I-II. Le Chevalier, Paris. 39-40: 1173 pp.
- Kuster, J.E. & Evans, W.G. – 1980** – Visual fields of the compound eyes of four species of Cicindelidae (Coleoptera). *Can. J. Zool.* 58: 326-336.
- Labhart, T. and Nilsson, D.E. – 1995** – The dorsal eye of the dragonfly *Sympetrum*: specializations for prey detection against the blue sky. *J. Comp. Physiol. A* 176: 437-453.
- Lecordier, C. – 1977** – Les *Siagoninae* d’Afrique Noir (Col. Carabidae). 1^{er} partie. *Anns. Soc. Ent. Fr. (N.S.)* 13 (4): 625-638.
- Lövei, G.L. & Sunderland, K.D. – 1996** – Ecology and behavior of ground beetles (Coleoptera: Carabidae). *Annu. Rev. Entomol.* 41: 231-256.
- Machado, A. – (1992)** – Monografía de los Carabidos de las islas Canarias. Instituto de estudio Canarios. La Laguna: 109-110.
- Magistretti, M. – (1965)** – Fauna d’Italia. Coleoptera, Cicindelidae, Carabidae. Vol. VIII. Catalogo Topografico Calderoni, Bologna.
- Marshall, N.J., Land, M.F. and Cronin, T. – 1994** – The “six-eyed” stomatopod. *Endeavour (New Ser.)*18: 17-25.
- Masutti, L., Zangheri, S. – 2001** – Entomologia generale e applicata. Cedam.

- Mazzei, A., Bonacci, T., Zetto Brandmayr, T., Brandmayr, P. – 2005** – Capacità di aggregazione di Coleotteri Geoadefagi, in ambiente ipolitico di suoli argillosi del bioclina mediterraneo arido. Atti “XV Congresso della Società Italiana di Ecologia”. Torino, 12-14 settembre.
- Merivee, E., Ploomi, A., Luik A., Rahi M. and Sammelseg V. – 2001** – Antennal sensilla of the ground beetle *Platynus dorsalis* (Pontoppidan, 1763) (Coleoptera, Carabidae). Microscopy Research and Technique 55, 339-349.
- Merivee, E., Ploomi, A., Rahi M., Bresciani, J., Ravn, H.P., Luik A. and Sammelseg, V. – 2002** – Antennal sensilla of the ground beetle *Bembidion properans* Steph. (Coleoptera, Carabidae). Micron 33, 429-440.
- Merivee, E., Ploomi, A., Rahi, M., Luik, A. and Sammelseg, V. – 2000** – Antennal sensilla of the ground beetle *Bembidion lampros* Hbst (Coleoptera, Carabidae). Acta Zoologica (Stockholm) 81: 339-350.
- Merivee, E., Vanatoa, A., Luik, A., Rahi, M., Sammelseg, V., Ploomi A. – 2003** – Electrophysiological identification of cold receptors on the antennae of the round beetle *Pterostichus aethiops*. Physiological Entomology 28, 88- 96.
- Minelli, A. – 2004** - A segmental analysis of the beetle antenna. Studi Trent. Sci. Nat., Acta Biol., 81 (2004): 91-101.
- Moneti, G., Pieraccini, G., Dani, F., Turillazzi, S. – 1997** – Ion-molecule reaction of ionic species from acetonitrile with unsaturated hydrocarbons and nestmate recognition (Hymenoptera, Vespidae). Ins. Soc. 44: 1-16.
- Moore, B.P. – 1974** – The larval habits of two species of *Sphallomorpha* Westwood (Coleoptera, Carabidae). J. Austral. Entomol. Soc. 13: 179-183.
- Morris, W.F., Wiser, S.D., Klepetka, B. – 1992** – Causes and Consequences of Spatial Aggregation in the Phytophagous Beetle *Altica tombacina*. The Journal of Animal Ecology 61 (1): 49-58.
- Morwinsky, T. & Bauer, T. – 1997** – Prediction of life-style by eye morphology in *Bembidion* species (Coleoptera, Carabidae). Pedobiologia 41: 472-480.
- Nagel, P. – 1979** – Aspects of the evolution of myrmecophilous adaptation in Paussinae (Coleoptera, Carabidae). In: Carabid Beetles. Their Adaptations and Dynamics. Den Boer et al. (eds). Gustav Fischer Stuttgart New York.

- Niassy, A., Torto, B., Njagi, P.G.N., Hassanali, A., Obeng-Ofori, D. and Ayertey, J.N. – 1999** – Intra- and interspecific aggregation responses of *Locusta migratoria migratorioides* and *Schistocerca gregaria* and a comparison of their pheromone emissions. *Journal of Chemical Ecology* Vol. 25 (5): 1029-1042.
- Nilsson, M. & Forsman, A. – 2003** – Evolution of conspicuous colouration, body size and gregariousness: a comparative analysis of lepidopteran larvae. *Evolutionary Ecology* 17: 51-66.
- Paarmann, W., Erbeling, L. and Spinnler, K. – 1986** – Ant and Ant Brood Preying Larvae: an Adaptation of Carabid Beetle to Arid Environments. In: *Carabid Beetles. Their Adaptations and Dynamics*. Den Boer et al. (eds). Gustav Fischer Stuttgart New York.
- Pearson, D.L. – 1985** – The function of multiple anti-predator mechanisms in adult tiger beetle species (Cicindelidae). *Oikos*, 50: 247-255.
- Reader, T. & Hochuli, D.F. – 2003** – Understanding gregariousness in a larval Lepidopteran: the roles of host plant, predation, and microclimate. *Ecological Entomology* 28: 729-737
- Rotundo, G. – 1994** – Il contributo dell'elettroantennografia allo studio dei feromoni sessuali degli insetti. *Atti del XVII Congresso Nazionale Italiano di Entomologia*. Udine, 13-18 giugno: 385-397.
- Schneider, D. – 1964** – Insect antennae. *Annual Review of Entomology* 9: 103-122.
- Siegel S. & Castellan, N. J. J. – 1988** – *Nonparametric statistics for the behavioral sciences*. New York: McGraw-Hill.
- Sillen-Tullberg, B. & Leimar, O. – 1988** – The evolution of gregariousness in distasteful insects as a defence against predators. *The American Naturalist*, Vol. 132, No. 5: 723-734.
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. – 1995** – *Biometry. The principles and practice of statistics in biological research*, 3 ed. New York, USA: WH Freeman & C.
- Talarico F. F., Romeo M., Massolo A., Brandmayr P., Zetto T. – 2006** – Morphometry and eye morphology in three species of *Carabus* (Coleoptera: Carabidae) in relation to habitat demands. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* (IN PRESS).

- Talarico, F., Mazzei, A., Romeo, M., Giglio, A., Zetto Brandmayr, T., Brandmayr, P. & Bauer, T. – 2004** – “Bait traps” per lo studio della fauna ipogea di suoli argillosi. Atti “65° Congresso dell’Unione Zoologica Italiana”. Taormina, 21-25 settembre, pag. 81.
- Talarico, F.F. – 2002a** – Adattamenti alla mirmecofagia in un Coleottero Carabide, *Siagona europaea* Dejean 1826. PhD thesis, Università degli Studi della Calabria, Cosenza (Italy).
- Talarico, F.F., Bonacci, T., Dalpozzo, R., De Nino, A., De Rose, E., Giglio, A., Sindona, G., Tagarelli, A., Zetto Brandmayr T. – 2002b** – Ipotesi di camuffamento chimico in un Coleottero Carabide (*Siagona europaea* Dejean), predatore di Imenotteri Formicidi. Atti XIX Congresso Nazionale Italiano di Entomologia. Catania, 10-15 giugno: 397-402.
- Thiele, H.U. – 1977** – Carabid beetles in their environments. A study on habitat selection by adaptations in physiology and behaviour. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- Wautier, V. – 1971** – Un phénomène social chez Coléoptères: le gregarisme de *Brachinus* (Caraboidea, Brachinidae). Insectes Sociaux 18: 1-84.
- Wehner, R. – 1981** – Spatial vision in arthropods. In: Handbook of sensory physiology, 7 Part 6C. Comparative physiology and evolution of vision in invertebrates. Autrum, H. (ed). Berlin, Heidelberg, New York. Springer: 297-616.
- Wilson, E.O. – 1975** – Sociobiologia. La nuova sintesi. Zanichelli.
- Zaballos, P.J.M. – 1985** – Paralelismo fenológico en *Brachinus variventris* Schaufss, 1862 y *Anchomenus dorsalis* (Pontoppidan, 1763) (Coleoptera Carabidae). Boletín de la Sociedade Portuguesa de Entomologia 3 (1): 85-92.
- Zacharuk, R.Y. – 1985** – Antennae and sensilla. In: Comparative Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology, eds G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Pergamon Press, Oxford, 6: 1-69.
- Zeil, J. – 1983** – Sexual dimorphism in the visual system of flies: the compound eyes and neural superposition in Bibionidae (Diptera). J. Comp. Physiol. A 150: 379-393.

- Zetto Brandmayr T., Mazzei A., Talarico F. F., Giglio A., Bauer T. and Brandmayr P. – 2006a** – The larva of *Siagona europaea* Dejean, 1826: morphology and collecting technique for a subterranean blind “running ant killer” (Coleoptera: Carabidae). Italian Journal of Zoology (IN PRESS).
- Zetto Brandmayr, T. & Brandmayr, P. – 1998b** – L’evoluzione del comportamento nei Carabidi in relazione all’uso dello spazio. Atti dell’Accademia Nazionale Italiana di Entomologia. Rendiconti, Anno XLVI.
- Zetto Brandmayr, T. & Pizzolotto, R. – 1994b** – *Siagona europaea* Dejean: first results from field collecting, life cycle, and the evidence of a possible myrmecophagous diet (Coleoptera, Carabidae, Siagonini). The Entomologist 113 (2): 120-125
- Zetto Brandmayr, T., Bonacci, T., Dalpozzo, R., De Nino, A., Massolo, A., Tagarelli, A., Sindona, G. & Brandmayr, P. – 2006c** – Odour and colour similarity in two species of gregarious carabid beetles: one case of Müllerian mimicry? Evolutionary Ecology (in submission).
- Zetto Brandmayr, T., Bonacci, T., De Rose, E., Giglio, A. and Talarico, F.F. – 2002** – Interaction between ants and *Siagona europaea* Dejean (Coleoptera, Carabidae) inside the nest: tolerance or hostility? Ins. Soc. Life 4: 227-232.
- Zetto Brandmayr, T., Bonacci, T., Massolo, A. & Brandmayr, P. – 2006b** – What is going on between aposematic carabid beetles? The case of *Anchomenus dorsalis* (Pontoppidan, 1763) and *Brachinus sclopeta* (Fabricius, 1792) (Coleoptera, Carabidae). Ethology Ecology & Evolution (in stampa).
- Zetto Brandmayr, T., Dalpozzo, R., De Nino, A., De Rose, E., Giglio, A., Procopio, A., Sindona, G. and Talarico, F.F. – 2000b** – *Siagona europaea* Dejean (Coleoptera, Carabidae), an ant predator living with ants: hypothesis about chemical mimicry. Ins. Soc. Life 3: 201-208.
- Zetto Brandmayr, T., De Rose, E., Giglio, A. – 1996** – Strategie alimentari e riproduttive in *Siagona europaea* Dejean (Coleoptera, Carabidae). Atti “17° Convegno S.I.E.”. S. Miniato, 3-5 maggio:109.
- Zetto Brandmayr, T., De Rose, E., Giglio, A., Pizzolotto, R. – 2000a** – Morphological and behavioural aspects favouring ant predation in *Siagona*

europaea (Coleoptera, Carabidae). In: Natural History and Applied Ecology of Carabid Beetles. P. Brandmayr et al. (eds): 103-109.

Zetto Brandmayr, T., Giglio, A. and De Rose, E. – 1998a – Feeding behaviour and food preference of *Siagona europaea* Dejean, a myrmecophagous carabid beetle (Coleoptera, Carabidae). Ins. Soc. Life 2: 203-207.

Zetto Brandmayr, T., Marano, I. & Paarmann, W. – 1994a – Hypotheses concerning the preying behaviour of the larvae of *Graphipterus serrator* Forskål, a myrmecophilous carabid beetle (Coleoptera, Carabidae). Ecology, Ethology and Evolution, Special Issue 3: 119-124.

Zhang, Z., Yang, Min.J., Pawliszyn, J. – 1994 – Analytical Chemistry. Vol. 66, n°17: 844-852.

Ziemba, S.K. and Rutowski, R.L. – 2000 – Sexual dimorphism in eye morphology in a butterfly (*Asterocampa leila*; Lepidoptera, Nymphalidae). Psyche 103: 25–36.