

G. BOLCHI SERINI

Commento alla letteratura dell'ultimo decennio sugli ormoni giovanili degli insetti e sui loro analoghi(*)

Riassunto - È stata considerata la letteratura dell'ultimo decennio (1980-1990) relativa agli ormoni giovanili e ai loro analoghi attraverso l'esame delle principali riviste entomologiche di recensioni (Review of applied Entomology, Ser. A e B, Entomology Abstracts, Apicultural Abstracts) e delle più importanti rassegne (tra cui quelle apparse su Annual Review of Entomology), fornendone un compendio critico.

Viene tracciato un profilo storico dell'identificazione delle ghiandole e degli ormoni dello sviluppo postembrionale, quindi si esaminano gli argomenti affrontati dalla ricerca e si segnalano i vari problemi che legano gli studi biochimici e fisiologici di base all'applicazione pratica degli analoghi degli ormoni per la difesa contro insetti dannosi. Cenni particolari sono riferiti alle specie *Manduca sexta*, *Bombyx mori*, *Apis mellifera*.

Abstract - *Comment on the last ten years publications on juvenile hormones of insects and their analogues.*

The literature of the past ten years (1980-1990) relative to juvenile hormones and their analogues has been considered by means of an examination of the principal entomological review publications (Review of applied Entomology, Ser. A e B, Entomology Abstracts, Apicultural Abstracts) as well as certain surveys (as issued in particular in Annual Review of Entomology), which provides a critical compendium.

A historic outline of the identification of the glands and hormones of postembryonic development is traced, then the arguments into which research was carried out are examined, and particular mention is made of the various problems linking biochemical and physiological studies based on the practical application of hormone analogues for defence against harmful insects. Particular reference is made to *Manduca sexta*, *Bombyx mori*, *Apis mellifera*.

Key words: juvenile hormones literature, critical survey.

(*) Lavoro eseguito con il contributo MURST 60%.

PREMESSA

Accingersi ad una rassegna degli studi svolti nell'ultimo decennio sugli ormoni giovanili degli insetti e sui composti analoghi o mimetici sia degli ormoni stessi che dei loro enzimi e metaboliti significa affrontare una massa bibliografica imponente, costituita di numerosi lavori originali e di parecchie particolareggiate revisioni riassuntive. Sembra comunque giunto il momento opportuno per una tale operazione, in quanto che il 'corpus' degli studi di base è ormai aperto a un ampio ventaglio di temi mentre le indagini sulle possibilità applicative degli analoghi naturali e sintetici degli ormoni degli insetti nella difesa contro specie dannose sono uscite dai laboratori per riversarsi nella pratica. Siamo di fronte a un solido edificio di conoscenze entro cui hanno trovato posto diversi quesiti risolti, ma dove rimangono molti problemi insoluti.

Per affrontare l'interpretazione dello stato attuale della materia, nel presente compendio si sono prese in esame le ultime dieci annate (1980-1990) delle riviste sintetiche 'Review of applied Entomology', Ser. A e B, 'Entomology Abstracts', 'Apicultural Abstracts' e alcune rassegne critiche, tra cui quelle apparse su 'Annual Review of Entomology'.

I lavori considerati non comprendono sicuramente l'intero repertorio bibliografico: sono tuttavia serviti a comporre un mosaico di riferimento a tutto campo che, se non esaurisce ogni dettaglio, può dirsi ottenuto attraverso una griglia informativa a maglie abbastanza ridotte. Né, peraltro, risulta possibile citare tutti i lavori consultati anche perché era nei propositi non di relazionare sui risultati delle singole osservazioni, bensì di raggrupparle per definire gli argomenti principali. È stata così operata la scelta di menzionare soltanto quelli che illuminano punti nodali della ricerca e che, a loro volta, consentono di schiudere ulteriori ingressi alla letteratura, nell'intento di fermare l'attenzione sulle dimensioni delle conoscenze attuali e sulle tendenze di studio.

La storia degli ormoni degli insetti può dirsi iniziata nel 1762 quando Lyonet, descrivendo le formazioni del sistema nervoso, rintraccia nella larva di *Cossus cossus* L. (sub *ligniperda*) certi organi, dei quali assai più tardi si riconoscerà la funzione endocrina, chiamandoli 'piccoli gangli del capo'; seguono vari altri apporti sull'anatomia e sull'origine di queste strutture, come gli approfonditi studi su *Melolontha* e *Periplaneta* dei primi decenni del 1800. È Brandt che nel 1831 dà inizio alla descrizione analitica del 'sistema simpatico impari', o stomatogastrico e del 'sistema simpatico pari', del quale, nella seconda metà del secolo, viene ravvisata la natura non nervosa. Quindi, nel 1913, Nabert per primo definisce ghiandole endocrine i 'corpora allata' descrivendoli in numerosi insetti. Da quel momento prende avvio l'identificazione della fisiologia e dell'attività ormonale di questi corpi e via via, in parallelo, delle altre strutture producenti

ormoni legati allo sviluppo postembrionale, in particolare dei corpi cardiaci, per i quali è De Lerma (1933) ad abbandonare la denominazione di gangli faringei a favore di quella di ‘corpi faringei’, endocrini. Un primo culmine di conoscenze si concreta negli anni Trenta con le magistrali interpretazioni di Wiggleworth, Bounhiol, Pflugfelder, attraverso i primi interventi di ablazione e di trapianto dei corpi allati rispettivamente in *Rhodnius prolixus* Stål., *Bombyx mori* L. e in Fasmidi e la scoperta della loro azione inibente sulla metamorfosi. Intanto proseguono gli studi morfologici – in prevalenza di scuola francese – sul complesso delle ghiandole endocrine retrocerebrali (Cazal, 1948). Fra il 1950 e il 1960 le ricerche e i risultati proseguono a rapidi passi, infittendosi e portando a notevoli approfondimenti sui meccanismi ormonali e al riconoscimento della formula chimica degli ormoni stessi. Nei riguardi dell’ormone giovanile o neotenina, se ne specifica la funzione morfogenetica nelle larve e gonadotropica negli adulti. Quindi, a metà degli anni Sessanta si isolano e identificano, dapprima in *Hyalophora cecropia* (L.) e *Manduca sexta* (L.), le tre forme dell’ormone stesso (si tratta di acidi nonadienoici con gruppi metilici ed etilici in posizioni diverse), distinte semplicemente con gli appellativi di I, II e III, spesso coesistenti nelle stesse specie e nelle stesse forme, ma in momenti o concentrazioni diversi. Poco dopo appaiono i primi ‘antiormoni’, i cui antesignani sono stati dei cromeni (i precoceni I e II) estratti da un vegetale, la composita *Ageratum houstonianum*. Sono della stessa epoca le prime idee sulle possibili applicazioni di sostanze naturali o sintetiche simili agli ormoni come mezzi alternativi da impiegarsi nella difesa contro insetti dannosi. Appare evidente dunque che l’aspetto applicativo, oggi ampiamente sviluppato e pervenuto a un punto nodale, è l’ultimo anello di una lunga – in senso storico e sperimentale – catena di studi.

Certamente i composti analoghi all’ormone giovanile, o juvenoidi, destarono un grande interesse negli anni Sessanta, in seguito alla diffusa opinione che essi rappresentassero la prima schiera di quegli ‘insetticidi di terza generazione’ che avrebbero dovuto rivoluzionare i comportamenti dell’entomologia applicata. Tale interesse è ben documentato dal numero di lavori apparsi sulle maggiori riviste della nostra disciplina, numero che ha subito una brusca impennata verso il terminare di quel periodo, culminando intorno al 1975: da quel momento, e per alcuni anni, vi fu una graduale diminuzione delle note relative alle possibili utilizzazioni pratiche dei prodotti in questione, a testimonianza di un calo di interesse per loro carenze intrinseche e per difficoltà di impiego. A fronte di ciò riprese invece quota lo studio di base della fisiologia e della biochimica degli ormoni naturali dello sviluppo, sia per interesse speculativo, sia quale corretta premessa di possibili utilizzazioni pratiche. Infatti, a partire dal 1975 il numero di recensioni sull’argomento apparse nelle riviste citate all’inizio è oscillato da 110 a 150 all’anno sino sul finire degli anni Ottanta, quando si sono toccate

punte di 180-200, mentre il discorso applicativo, a sua volta, sta conoscendo un rinnovato interesse.

Nel decennio che ci precede l'estensione e la ramificazione delle direttive di ricerca ha riguardato sia la natura dei problemi posti in discussione sia il numero delle specie indagate.

Iniziando da queste ultime si riscontra che nel periodo e nelle pubblicazioni considerati sono circa 300 le specie che risultano nominate in lavori concernenti ormoni e analoghi. Esse trascorrono dai Tisanuri agli Apoidei sociali. Alcune si trovano citate una sola volta in ricerche spesso occasionali, altre invece sono esaminate a fondo sotto diversi punti di vista, in numerose analisi e per motivi ben differenziati e approfonditi.

Tra le entità più studiate e divenute ormai termini di riferimento per la fisiologia dell'intera classe degli Insetti, da citare particolarmente: i Blattoidei *Leucophaea maderae* (F.) e *Nauphoeta cinerea* (Ol.), fra gli Ortotteri alcuni *Gryllus* e le cavallette *Locusta migratoria* L. e *Schistocerca gregaria* Forsk.; i Rincoti *Dysdercus cingulatus* Fabr., *Oncopeltus fasciatus* (Dallas) e il famoso *Rhodnius prolixus*, oggetto dei classici esperimenti di Wigglesworth; parecchie e assai investigative le specie di Lepidotteri: il baco da seta (*Bombyx mori*), un altro noto produttore di seta (*Philosamia ricini* (Boisd.)), la tarma della cera (*Galleria mellonella* L.), tutti usuali insetti da laboratorio, oltre a *Chilo suppressalis* Walker, *Diatraea grandiosella* Dyar, le *Heliothis*, *Hyalophora cecropia*, *Spodoptera littoralis* (Boisd.), *Trichoplusia ni* (Hübner); da segnalare le ricerche sul lepidottero sfingide neotropicale *Manduca sexta* che superano per completezza quelle sulle altre specie. Fra i Ditteri forniscono materiale alcune fra le entità tipiche della sperimentazione fisiologica: le *Calliphora*, *Drosophila melanogaster* Meig, *Musca domestica* L., le *Sarcophaga*. Da nominare ancora i Coleotteri *Dermestes vulpinus* F. e *Tenebrio molitor* L. e, infine, per ragioni particolarmente connesse allo stile di vita, gli insetti sociali e soprattutto la comune ape, *Apis mellifera* L..

ARGOMENTI DELLE RICERCHE

L'analisi, nei dettagli, della morfologia del complesso endocrino retrocerebrale, delle cellule neurosecretrici del cervello e di vari tessuti dalla riconosciuta funzione ormonale è un ambito di studi tuttora attivo, specialmente facendo riferimento ai livelli ultrastrutturali. Si tratta di apporti su singole specie e di revisioni che affrontano l'aggiornamento e la comparazione, anche dal punto di vista evolutivo, dell'anatomia e dell'istologia degli organi endocrini (De Lerma, 1987).

Il campo anatomo-istologico rappresenta il supporto indispensabile per affrontare i problemi fisiologici – *in vivo* e *in vitro* – e le tecniche di microchirurgia e di legature che spesso forniscono risposte chiarificatrici. Infatti, ne deriva una delle vicende centrali dello studio dell'endocrinologia degli insetti e cioè la quantificazione delle due famiglie di ormoni, quelli giovanili e quelli della muta. Si tratta del capitolo più ampio e più ricco di apporti sia sul versante metodologico che su quello speculativo. Infatti le alternanze e le fluttuazioni degli ormoni sono equilibrate dall'interazione dinamica dei due sistemi endocrini, secondo un complesso schema che vede coinvolti vari processi fisiologici il cui coordinamento può variare fra specie o fra gruppi. Tramite la titolazione separata delle sostanze in questione si costruiscono precise curve del bilancio ormonale e, conseguentemente, diversi modelli di regolazione interendocrina dei passaggi postembrionali (Bollenbacher, 1988; Share & Roe, 1988).

Peraltro si sono affinati i metodi per rilevare le concentrazioni ormonali nei diversi e successivi momenti dei cicli biologici a partire dall'embriogenesi, attraverso la vita giovanile e sino allo stadio adulto, compresi gli eventuali periodi di diapausa, le differenze fra sessi e fra caste negli insetti sociali, con possibilità di identificare la natura chimica degli ormoni e dei loro metaboliti. Appunto questo evento – il flusso ormonale nel corso della vita – è ripetuto in ogni insetto, ma risulta diverso da specie a specie nei diversi momenti e quindi richiede di essere registrato in quante più forme possibili per costituire una sorta di inventario, tramite il quale trasformare casi particolari in una teoria generale. Esiste ormai una schiera di informazioni sul ruolo dell'ormone giovanile in svariate situazioni, così pure si sono moltiplicate le valutazioni particolareggiate delle sue tre varianti, presenti di norma in quantità differenti e con significati ancora non del tutto intelligibili. Parte delle ricerche in questo settore sono dedicate, da tempo più recente, alle sollecitazioni espresse dagli ormoni cerebrali e dai neuromoroni sugli organi produttori di neotenia (Girardie, 1988).

I problemi della sintesi dei tre ormoni giovanili, dei loro precursori, dei legami che si intrecciano con le proteine emolinfatiche hanno avuto come materiale di studio, fra altri, principalmente *Locusta migratoria*, che si presta alla micromanipolazione chirurgica per l'espianto e il reimpianto di organi. Con queste tecniche e con le colture *in vitro* è possibile comprendere i cicli produttivi degli ormoni giovanili in soggetti privati di determinati organi, l'accumulo degli stessi ormoni in tessuti o gruppi di cellule.

La più approfondita conoscenza dei componenti dell'emolina ha aperto la questione relativa ai livelli di ormoni giovanili, di proteine e di polipeptidi nei liquidi circolanti e nel corpo grasso (Kort et al., 1983). Tali sostanze si influenzano reciprocamente, come può essere documentato anche tramite la sommini-

strazione esogena di ormoni o trattando dei soggetti con decapitazioni o legamenti per modificarne ad arte la produzione naturale.

Lo stato metabolico del corpo grasso è stato oggetto di indagine in più specie con relazione al ciclo ormonale, da un lato, e alla sintesi della vitellogenina dall'altro. Un altro aspetto che si collega all'equilibrio fra ormoni giovanili e proteine riguarda le 'proteine leganti' che presentano appositi 'siti' di aggancio per i singoli ormoni e ne costituiscono quindi una sorta di veicolo nell'emolinfa e nei tessuti. Tali 'proteine leganti' variano in qualità e quantità nei diversi insetti. Si vedano gli esempi di un gruppo di Lepidotteri Piralidi (Lenz et al., 1986), di *Leptinotarsa decemlineata* Say in cui è presente una specifica lipoforina, dell'ape, dove l'ormone giovanile III ha maggiore affinità del I con certe proteine ad alto peso molecolare.

I legami proteici suggeriscono anche nuove tecniche biochimiche per la caratterizzazione degli ormoni in gruppi di cellule allevate in vitro o entro tessuti.

Un settore di ricerca è rivolto agli equilibri tra gli ormoni giovanili e le rispettive esterasi che ne operano l'idrolisi: l'andamento delle curve di concentrazione durante la vita larvale, l'azione di inibitori, l'estrazione e la purificazione di esterasi sono stati particolarmente approfonditi in vari Lepidotteri (Hammock et al., 1987). Fra questi, la specie base della sperimentazione è stata *Trichoplusia ni* (Sparks et al., 1979; Abdel-Aal & Hammock, 1988), in stadio larvale e immaginale. Si innesta in questo tema uno studio che apre un'avveniristica prospettiva: stante il fatto che la cessazione di alimentarsi in larve di Lepidotteri dipende dall'aumento dell'esterasi e dal conseguente calo di ormone giovanile, è stata saggia la possibilità di introdurre in un baculovirus – quello della poliedrosi nucleare di *Autographa californica* (Speyer) – un gene che induce la produzione di esterasi. Infezioni ottenute con il virus trattato hanno testimoniato positivamente l'effetto enzimatico, aprendo la via all'allestimento di preparati virali, manipolati mediante l'ingegneria genetica, atti a ridurre l'attività alimentare di certe specie (Hammock et al., 1990).

La sperimentazione espressamente riferita all'accertamento chimico e al dosaggio è da tempo realizzata mediante l'applicazione della gascromatografia e della spettrometria di massa ma in anni più recenti la tecnica dei radioimmunosaggi ha prevalso (Granger & Goodman, 1988), assumendo le connotazioni di un comparto fisiologico a sé stante con applicazioni in campi diversi. Ciò ha portato alla revisione dei problemi che si incontrano nello sviluppo e nell'uso degli antisieri: speciale considerazione va ai momenti della preparazione del campione biologico per il radioimmunosaggio, nella manipolazione e nell'impiego per realizzare risultati accurati e precisi (Granger & Goodman, 1983).

I metodi di rilevamento consentono di operare su insetti interi o su singoli

organi e di caratterizzare i recettori macromolecolari degli ormoni (Prestwich et al., 1987); diviene possibile anche valutare in modo sicuro le conseguenze della somministrazione sperimentale di ormoni naturali, composti analoghi, antiormoni ed il loro preciso destino nell'organismo dell'insetto.

Accanto alla rigorosa titolazione realizzata mediante le più recenti tecniche permangono alcuni biosaggi. A quelli tradizionali ma sempre in uso (test su pupe di *Tenebrio*, crisalidi di *Galleria*, neanidi di *Phyrrochoris*) si sono affiancate altre prove come la valutazione della somministrazione topica di ormone giovanile I su ninfe di 6^a età di *Blattella germanica* L. (Wheeler & Gupta, 1986), la presenza di mute soprannumerarie in *Spodoptera litura* (F.) come test per juvenoidi. *Nauphoeta cinerea* è stata impiegata in saggi morfogenetici sistematici per porre in relazione la configurazione dell'ormone giovanile III naturale e di enantiomeri con la rispettiva attività.

V'è poi il paragrafo dell'azione morfogenetica degli ormoni e dell'influenza su altri processi fisiologici (pressione emolinfatica, pulsazioni cardiache, secrezioni ghiandolari) e sul metabolismo in generale. Numerosi gli insetti utilizzati. Da ricordare perché ricorrenti: *Blattella germanica*, *Nauphoeta cinerea*, *Diploptera punctata* (Eschscholtz), *Schistocerca gregaria*, *Aedes aegypti* L., *Drosophila melanogaster*, *Musca domestica*.

Nell'ambito della morfogenesi, alcune linee di ricerca indicano che l'ormone giovanile è coinvolto nell'induzione delle varie forme polimorfiche di afidi che sono associate alle differenti stagioni dell'anno. Nelle specie studiate (principalmente *Acyrtosiphon pisum* (Harris), *Aphis fabae* Scop., *Megoura viciae* Bckt.) si è constatato che la somministrazione topica di ormone giovanile o di juvenoidi sortisce effetti di fotoperiodo lungo in condizioni brevidiurne. Inoltre, in *Myzus persicae* (Sulz.) la produzione di maschi sembra controllata dall'ormone giovanile (Hardie, 1984; Corbitt & Hardie, 1985).

È stato osservato mediante la titolazione nel periodo critico in cui si determina la lunghezza delle ali, che la neotenia interviene nell'induzione del dimorfismo alare anche in grilli (*Gryllus rubens* Scudder) e in un rincote (*Nilaparvata lugens* Stål). In diversi Lepidotteri con manifestazioni di dimorfismo sessuale si sono riconosciute notevoli differenze fra i sessi nella produzione di ormone giovanile e della sua metiltransferasi a livello dei corpi allati e delle gondi (Bhaskaran et al., 1988).

Alle variazioni morfologiche è legata la questione delle diverse colorazioni in popolazioni di *Locusta* e *Schistocerca*, affrontata in numerosi lavori.

Peraltro, vi sono implicazioni dell'ormone giovanile sul comportamento, ad esempio di larve migranti, sulla risposta fonotattica ai richiami sessuali in grilli, sulla capacità di ricercare e pungere l'ospite in *Aedes*.

Un capitolo a sé è rappresentato dai rapporti tra livelli ormonali, raggiungimento della maturità sessuale, gametogenesi.

Per quanto concerne il sesso femminile, è stato individuato e caratterizzato il ruolo, abbastanza simile in insetti diversi, di entrambe le famiglie di ormoni nella maturazione degli ovari in special modo comparando gli effetti di interventi chirurgici (allatectomia, ovariectomia, decapitazione, legamenti) e di somministrazioni esogene di ormoni o analoghi: in particolare, la neotenina provocherebbe la sintesi di ecdisteroidi ovarici (Kelly et al., 1987). Del resto, anche la produzione di uova e il livello di ciascuno dei 3 ormoni sono strettamente correlati. Un altro aspetto dell'intero processo è rappresentato dalla sintesi della vitellogenina: il ciclo di tale specifica proteina, presente nell'emolinfa nel corso dell'oogenesi, dipende direttamente dalla concentrazione dell'ormone giovanile III. Ciò è stato visto anche in femmine in quiescenza: ad esempio, in *Coccinella septempunctata* L. la sintesi di vitellogenina diminuisce fino a scomparire durante l'instaurazione e il mantenimento della diapausa per riprendere al termine di questa oppure a seguito della somministrazione di ormone giovanile. Lo stesso andamento si realizza in Ditteri (*Aedes*, *Musca domestica*, *Drosophila melanogaster*), in Imenotteri sociali (*Bombus*, Meliponidi), in diversi Eterometaboli (fra gli altri: *Nauphoeta cinerea*, *Dysdercus koenigi* Fabr., *Periplaneta americana* L.); una serie di studi ha correlato l'azione dell'ormone giovanile allo stato delle cellule follicolari e all'oogenesi in *Rhodnius prolixus*.

La formazione del complesso endocitico e delle proteine afferenti agli oociti è stato approfondito in *Aedes* e quindi attribuito alla mediazione dell'ormone giovanile III.

Anche la spermatogenesi dipende dal livello degli ormoni giovanili: in Lepidotteri il cui ciclo comporta periodi di diapausa, il processo di maturazione degli spermatozoi si arresta in tale fase e riprende al suo termine in accordo con le fluttuazioni ormonali che incidono sul fenomeno in modo diretto e reversibile (Friedlander, 1982), governando anche la sintesi delle proteine testicolari.

Alcuni temi collegano fatti fisiologici indotti dagli ormoni giovanili alla trasmissione genetica. Ad esempio, si è realizzato l'isolamento per clonazione dei geni che in locusta esprimono la sintesi della vitellogenesi, sotto stimolo ormonale, e quindi il loro trasferimento in embrioni di *Drosophila* per identificare la sequenza.

Anche in *Trichoplusia ni* e *Galleria mellonella* sono stati individuati i geni che, unitamente all'interferenza ormonale, controllano le proteine emolinfatichiche. Vi sono juvenoidi che inducono fenomeni di resistenza: ciò è stato dimostrato per via genetica sperimentando con methoprene su ceppi larvali di drosofila (Wilson & Thurston, 1988). In *Melipona* spp. sono stati caratterizzati i geni che determinano il sesso e che influiscono sulla produzione di ormone giovanile.

le. Complessivamente, l'espressione dei geni che determinano le proteine emolinfatiche larvale è legata alle concentrazioni ormonali oltre che allo stato nutrizionale (Memmel & Kumaran, 1988).

La determinazione del sesso e la regolazione del polimorfismo di casta in insetti sociali sono, fra l'altro, sostenute dal tasso di ormone giovanile che incide anche sulla dimensione delle gonadi negli individui fecondi e sul comportamento di copula. Ciò è stato illustrato in Termiti, Formicidi, Apoidei. In diversi Meliponidi è stato dimostrato che esiste un momento sensibile definito durante lo sviluppo postembrionario in cui l'espressione degli specifici caratteri di casta è governata dall'ormone giovanile (Bonetti & Kerr, 1985). La conferma è venuta dal controllo radiochimico dell'attività dei corpi allati in vitro del Meliponide eusociale *Scaptotrigona postica* Latr., in cui appare che il sistema endocrino reagisce agli stimoli trofici sintetizzando quantità di ormone giovanile notevolmente superiori nelle larve di regine di penultima e ultima età, rispetto a quelle di operaie (Hartfelder, 1987).

In Apoidei Bombidi e in Vespidi (particolarmente *Polistes gallicus*) l'andamento della curva dell'ormone giovanile nell'emolinfa è essenziale per promuovere la manifestazione del comportamento dominante delle femmine fondatrici della colonia annuale. Studi eto-fisiologici al proposito hanno mostrato appunto la relazione tra questo ormone e stato gerarchico delle femmine nel senso che di norma a più elevati livelli ormonali corrisponde un comportamento dominante e quindi il monopolio dell'attività riproduttiva (Roseler et al., 1984; Strambi et al., 1984; Roseler & Roseler, 1988).

L'instaurarsi, il mantenimento e il termine della diapausa in adulti e forme giovanili sono fenomeni in cui, fra l'altro, è coinvolto il livello degli ormoni giovanili. A questo riguardo, si sono potute associare le circostanze ambientali, neuroendocrine e metaboliche che legano la diapausa alla produzione degli stessi ormoni, alla relativa idrolisi e alla sintesi di proteine del corpo grasso: il titolo ormonale è un fattore chiave dell'evento, come è stato visto in insetti diversi. Aspetti fisiologici della diapausa larvale sono stati studiati in Lepidotteri (*Chilo suppressalis*, *Diatraea grandiosella*, *Heliothis armigera* (Hübner), *Ostrinia nubilalis* Hübner, *Cydia pomonella* L.) sotto varie condizioni di temperatura e di fotoperiodo. Da tempo è sotto osservazione il comportamento degli adulti di *Lepitinotarsa decemlineata* (Kort et al., 1987) con approfondimenti sul funzionamento dei corpi allati e delle proteine specifiche che sostengono il trasporto dell'ormone giovanile (in particolare il III) nell'emolinfa. Le variazioni cicliche di ormoni in pupe diapausanti si riflettono anche sul consumo di ossigeno (ad es. in *Sarcophaga crassipalpis* Macq., Denlinger et al., 1984).

La produzione dei corpi allati, la loro ultrastruttura e la dipendenza dall'at-

tività delle cellule laterali del protocerebro sono stati rapportati allo svolgimento della diapausa in femmine adulte di *Locusta migratoria* (Poras et al., 1983). In Coccinellidi (*Henosepilachna vigintioctopunctata* Fabr.) la condizione di dia- pausa, la maturazione delle uova e l'ovideposizione sono state valutate mediante la somministrazione esogena di ormoni (Kono & Ozeki, 1987).

Durante il decennio ricorrono diverse ricerche sul problema dell'equilibrio endocrino di parassitoidi e di eventuali passaggi di ormoni dalle vittime agli entomofagi.

Casi studiati, ad esempio, sono stati quelli di *Nasonia vitripennis* (Walker) in comparazione con alcuni Lepidotteri sue vittime, di *Apanteles congregatus* (Say) su *Manduca sexta*, di *A. glomeratus* Reinh. su *Pieris brassicae* L..

Si è visto che, se esiste un influsso del ciclo ormonale dell'ospite sul parassitoidi, è anche possibile che quest'ultimo si ripercuota sulla vittima interferendo nei rapporti ormoni-esterasi (ancora la coppia *Apanteles-Manduca*, il braconide *Chelonus* sp. su *Trichoplusia ni*). Da citare lo studio dell'effetto mediato di ormoni dell'ospite su parassitoidi utilizzando *Galleria mellonella* come ospite sostitutivo per Ditteri Tachinidi (Mellini et al., 1985; Plantevin et al., 1986). Su tali premesse, si basano le valutazioni degli effetti di juvenoidi di sintesi su vari entomofagi sia parassitoidi che predatori.

Relativamente pochi dati si riscontrano in letteratura a proposito degli eventuali rapporti tra ormoni giovanili e feromoni. Alcuni reperti sono riferiti all'intervento del feromone reale in insetti sociali (ad es. *Solenopsis invicta* Buren, *Bombus terrestris* L.) sull'attività dei corpi allati, in operaie o in regine vergini. Altri casi trattano della mediazione dell'ormone giovanile nella sintesi di feromoni sessuali, in rapporto all'età e al sesso, ad es. in *Dendroctonus frontalis* Zimmermann, *Anthonomus grandis* Boh., *Platynota stultana* Wlsm, *Mythimna unipuncta* (Haworth).

Alcune riflessioni, infine, sullo stato attuale della ricerca relativa all'elaborazione e alla produzione di sostanze ad azione giovanilizzante, a cui hanno fatto da preludio l'analisi della struttura, della biogenesi e della chimica degli ormoni naturali.

La costituzione degli ormoni giovanili può ricondursi a quella dell'alcol sesquiterpenico farnesolo: le differenze tra questo alcol e la neotenina si identificano nell'ossidazione del doppio legame terminale del farnesolo a gruppo eposidico e nella introduzione di due gruppi metilici nella sua molecola. Peraltro, trasformazioni del genere si realizzano nel corso di numerose biosintesi, fra cui vari esempi sono noti in organismi vegetali. Appunto per questo, sin dagli inizi, da una parte si è cercato di estrarre analoghi degli ormoni da piante, dall'altra è

risultato compito non particolarmente difficile per il chimico derivare molecole più o meno simili ai principi naturali in questione partendo dal farnesolo o da composti correlati e ottenendo talvolta prodotti con attività addirittura superiore.

La strada dell'estrazione è tuttora perseguita nel modo tradizionale attraverso il vaglio continuativo di gruppi di piante, mentre quella della sintesi ha subito un'evoluzione parallela all'indagine fisiologica. Infatti, da una prima serie di composti afferenti ai terpenoidi (il cui capostipite è il ben noto methoprene), si è passati ad altri gruppi – fra i quali imidazoli, benzimidazoli, derivati dell'alcol allilico, benzoiluree, tiolcarbammati, tiosemicarbazoni – tutte sostanze il cui tipo di azione è andato via via modificandosi, in quanto che, se all'inizio era ricercata un'attività di sovrapposizione a quella dell'ormone naturale attraverso vie analoghe, in seguito si sono tentate strade diverse. Ciò è avvenuto e avviene con la sintesi di composti che ottengono effetti giovanilizzanti mediante l'interferenza con qualcuno dei processi che conducono dai composti precursori sino ai prodotti di demolizione dell'ormone giovanile (ad esempio, i mimetici, i blocanti enzimatici). Tali ricerche procedono senza arresti, saggiando – per via chimica e per via biologica – sempre nuove classi di sostanze (Rodriguez et al., 1989). Peraltro, alcuni di questi principi, se pur interferiscono con lo sviluppo postembrionale, possono tuttavia consentire il raggiungimento della maturità e la sopravvivenza di individui che li hanno assunti durante la vita giovanile e che riescono a generare una discendenza ancora influenzata dalla somministrazione iniziale. Diventa in tal modo estremamente difficile seguire e valutare il percorso fisiologico dei diversi regolatori di crescita non tanto nelle specie bersaglio, quanto in soggetti o popolazioni che ne vengono in rapporto casualmente.

LA SPERIMENTAZIONE SU *MANDUCA SEXTA*

Merita un'analisi particolare l'insieme delle ricerche compiute su *Manduca sexta*, il lepidottero sfingide che fa testo nei riguardi delle questioni endocrinologiche degli insetti, dagli studi di base della fine degli anni Settanta sino alle più recenti e raffinate indagini di fisiologia: seguendo la relativa bibliografia si assiste allo scorrere di una sorta di indice di temi.

Ciò è dipeso da alcuni favorevoli fattori: la facilità di allevamento dell'insetto, la struttura anatomica del complesso endocrino che rende abbastanza agevole gli interventi di microchirurgia, il particolare intrinseco ciclo ormonale che implica, in via spontanea, la possibilità di diapausa e il comportamento migrante delle larve.

In riassunto, si sono realizzati i profili relativi alla produzione degli ormoni giovanili, degli acidi ad essi correlati, degli enzimi (esterasi, metiltrasferasi, ri-

duttasi ecc.), dell'ecdisterone, specialmente nel corso dell'ultima età larvale, quindi del passaggio al periodo prepupale e all'ecdisi pupale (Venkatesh & Roe, 1988). Così il metabolismo dell'ormone giovanile è stato seguito anche nel corso dell'embriogenesi (Share et al., 1988). La 'cascata' endocrina è stata illustrata a partire dal rilascio dell'ormone cerebrale, seguendo la successiva attivazione delle ghiandole coinvolte (Bollenbacher et al., 1987): del resto, i fenomeni di correlazione, per cui ogni ormone o suo precursore o metabolita è sottoposto ad un controllo interendocrino vengono particolarmente alla luce nelle prove in vitro. Nella specie in questione, fra numerosi altri rilievi, si è evidenziato che l'ampiezza e la tempestività del picco pupale di ecdisterone dipendono, oltre che dallo stimolo dell'ormone protoracotropico e dalla competenza biosintetica delle ghiandole protoraciche, anche dal coordinamento dell'ormone giovanile. Infatti la biosintesi degli ormoni giovanili da parte dei corpi allati, a seconda del momento della vita larvale, è stimolata o bloccata da fattori neuromorali (al-lotropina, estratta dal capo di adulti farati, e allotoxinibina), mentre l'interazione dell'ormone giovanile I determina la capacità steroidogenica delle ghiandole protoraciche (Watson et al., 1988).

Nei riguardi della diapausa, sembra che vi siano solo lievi differenze nell'attività endocrina di larve destinate e no ad entrare in tale condizione che sarebbe dunque indotta dal fotoperiodo attraverso un fenomeno centrato nel cerebro senza coinvolgere effettori endocrini.

Un ulteriore ruolo dell'ormone giovanile si manifesta sia nei confronti dell'indurimento e della pigmentazione della cuticola, sia nell'espressione dei geni dai quali dipende la sintesi sequenziale delle proteine endocuticolari durante le mute.

M. sexta costituisce tuttora materiale di base per la radioimmunologia, per raffinare metodi analitici, per l'estrazione dell'ormone giovanile e di precursori e derivati, oltre che per la valutazione biologica di juvenidi vecchi e nuovi.

GLI STUDI SU *BOMBYX MORI* E *APIS MELLIFERA*

Considerazione a parte va riservata agli studi sugli ormoni giovanili in relazione a due insetti di norma trattati in ambiti specialistici, per le loro attitudini e prestazioni: il baco da seta, *Bombyx mori* e l'ape da miele, *Apis mellifera*.

Sin dagli inizi, le ricerche sull'endocrinologia degli insetti hanno visto *B. mori* fra i protagonisti. Così fu per le indagini di Wigglesworth sui corpi allati e di Fukuda sulle ghiandole protoraciche, mentre è da ricordare che proprio da crisalidi di baco da seta fornite dall'Istituto di Entomologia agraria di Milano gli studiosi Butenand e Karlson nel 1954 isolarono e identificarono l'ecdisone.

In seguito l'insetto, anche in vista della relativa facilità con cui può essere

allevato per lo meno in certe stagioni, ha rappresentato la base sperimentale in ordine a tutti i problemi che riguardano da un lato la presenza e l'azione dell'ormone giovanile, dall'altro i saggi di juvenoidi e antiormoni. A questo va aggiunto l'aspetto applicativo della relazione tra ormoni e produzione di seta, con i conseguenti riflessi merceologici.

Negli ultimi anni sono stati completati i chiarimenti su ogni fase della muta e della metamorfosi, come l'organizzazione temporale degli eventi endocrini e la valutazione dei livelli ormonali giorno dopo giorno (Plantevin et al., 1987), considerando anche – nei riguardi degli ormoni giovanili – la ripartizione fra I, II e III, dei quali durante la penultima età larvale soltanto i primi due sono presenti mentre manca il terzo, che invece compare nell'ultima e permane durante la filatura del bozzolo. Importante il ruolo dell'ormone giovanile nel guidare le ghiandole protoraciche, inibendole o liberandone l'attività (Sakurai et al., 1989). Peraltro, l'intero ciclo dipende dal rilascio dell'ormone cerebrale a propria volta condizionato dall'orologio circadiano. Come visto in altre specie, anche in *B. mori* l'ormone giovanile controlla le proteine emolinfatiche regolando l'accumulo. Interferenze tra somministrazioni esogene di ecdisone e di ornone giovanile, nel provocare una spinta o una prevenzione nell'espressione dei caratteri pupali sono note da tempo (Calvez, 1981). L'ormone giovanile I fornito all'inizio dello stadio di crinalide, ne diminuisce la durata, risultando inferiore il peso degli adulti, la dimensione degli ovari e il numero di uova.

Esistono relazioni tra ciclo ormonale e stato delle ghiandole della seta. In particolare, l'ultrastruttura delle cellule della parte posteriore di queste ghiandole non viene influenzata dal trattamento con analoghi degli ormoni giovanili, ma nel complesso questi ritardano i processi citolitici provocando un aumento nella produzione di fibroina, del contenuto in DNA, RNA e proteine.

Assai numerosi i lavori sugli effetti di juvenoidi, a partire dai capostipiti (methoprene, idroprene) sino ai più recenti. Il baco da seta viene utilizzato come test di valutazione biologica dell'efficacia dei composti sintetizzati, ma, principalmente, l'applicazione di juvenoidi ha avuto lo scopo di influenzare positivamente la produzione di seta sia in termini di maggior peso e spessore del bozzolo che di maggior lunghezza del filo. Composti con atomi marcati sono serviti anche per seguirne il destino nel corso del metabolismo, quanto ad assorbimento, distribuzione, escrezione. Del resto, l'influenza dei regolatori di crescita si estende sulle varie fasi dello sviluppo, sull'induzione di muta soprannumerarie, quindi sul coefficiente di utilizzazione del cibo, sulla fecondità (Sakurai & Imokawa, 1988).

Infine, altrettanto ricca è stata la sperimentazione mediante composti antagonisti dell'ormone giovanile (ad es. terpenoidi, derivati di imidazoli e altri), che possono indurre metamorfosi precoce e adulti nani o effetti similari ma differenziati a seconda delle dosi e del tipo di somministrazione, fino alla tossicità.

Campo sperimentale di grande interesse è quello in cui vengono esaminate le attinenze fra ormoni giovanili e fisioetologia di *Apis mellifera*. Ad una ricerca di base volta a precisare la morfologia del sistema endocrino (Dogra et al., 1977) e a valutare la concentrazione di ormone giovanile negli individui in toto o in singoli organi si affiancano studi sulla correlazione fra condizioni ambientali (temperatura, fotoperiodo, concentrazione di anidride carbonica) e attività dei corpi allati. Soprattutto, però, hanno suscitato interesse le interferenze tra il ciclo ormonale e il tipo di vita societaria dell'ape. Si è visto, ad esempio, che il livello di ormone giovanile è costantemente elevato nelle api operaie estive mentre è più basso in quelle che si predispongono all'invernamento, con tendenza ad aumentare nel corso della stagione, mentre il titolo dell'ormone è correlato positivamente con l'età delle operaie. Altri confronti paragonano queste ultime alle regine in fase di ovideposizione o di riposo.

Le femmine fertili deponenti hanno nell'emolinfa un più elevato contenuto di neotenina ma, sembra, non più alti valori di proteine e di vitellogenina (Fluri et al., 1982): l'ormone giovanile III è stato valutato nei vari momenti degli stadi di larva e di pupa nel quale ultimo è completamente assente per la casta sterile, mentre riprende a comparire sul finire dello stadio per le future regine (Rembold, 1987).

In ogni modo, il processo di differenziazione di casta è sotto il controllo dell'ormone giovanile (Goewie, 1978) così come l'attività delle ghiandole retrocerebrali nelle operaie nutrici, tanto che è possibile influenzare tali fenomeni con somministrazione dell'ormone stesso o di analoghi: il livello dei tre ormoni giovanili risulta elevato non solo nelle ghiandole produttrici di gelatina reale ma anche in questa stessa secrezione (Fournier et al., 1984).

L'analisi delle modifiche che si manifestano nei corpi allati durante la vita giovanile e immaginale di un individuo risulta necessaria per capirne l'attività: ciò nell'ape è stato fatto applicando diversi tipi di approccio, dalla misurazione del volume delle ghiandole all'analisi ultrastrutturale delle cellule, a esami autoradiografici mediante incorporazione di nucleotidi marcati. Anche l'investigazione citomorfometrica del contenuto in DNA ha fornito informazioni approfondite sullo stato dei corpi allati e quindi sull'entità della relativa produzione nelle differenti età e caste (Yaginuma et al., 1990).

Il perno della vita sociale dell'ape è la fertilità della regina, attitudine indubbiamente legata alla presenza di ormone giovanile che è influente anche, come in altri insetti, sul metabolismo della vitellogenina e sul titolo delle proteine emolinfatiche: ciò è stato verificato mettendo a confronto regine in fase di ovideposizione e di riposo tramite allatectomia e somministrazione di ormoni e an-tiormoni marcati e no (Engels, 1980; Regel, 1978; Ramamurty, 1983).

La dimensione e la produttività dei corpi allati è un fattore chiave anche nella regolazione fisiologica dello stato e del conseguente comportamento delle api

operaie nel corso della loro vita (Sasagawa et al., 1986). In pratica, l'ormone giovanile indirizzerebbe le risposte delle api agli stimoli associati con i processi esocrini (produzione di gelatina reale, di cera, di feromone di allarme) e comportamentali dipendenti dall'età del soggetto, stimolandone la graduale progressione da un compito al successivo. La somministrazione di neotenina o di un analogo (in particolare di methoprene) abbrevia i tempi di permanenza di un'ape operaia entro una certa fase vitale. Ad esempio, api trattate al momento dello sfarfallamento diventano precocemente 'guardiane' e 'bottinatrici': addirittura, a dosi sufficientemente alte una fase di lavoro può essere saltata. In nessun caso, invece, si sono notate influenze sui comportamenti non legati all'età (Robinson, 1987; Sasagawa, 1989).

Ancora nell'ambito comportamentale rientra l'azione dell'ormone giovanile sulla tassia delle larve entro gli alveoli dei favi. Infatti le larve di regine mostrano una geotassia positiva dopo il periodo di filatura del bozzolo, ciò che non accade per le larve di operaie: queste, però, trattate con gli ormoni (I e III) in opportuni momenti, hanno mostrato di orientarsi in modo equivalente alle larve di regine. (Ebert, 1980).

Prendendo in considerazione il contenuto di ormone giovanile nell'emolinfa di api operaie di razze europee e africanizzate non è stato possibile evidenziare differenze tra i due gruppi: il livello ormonale aumenta, allo stesso modo, con l'età e con l'aumentare delle disponibilità alimentari suggerendo così, fra l'altro, che anche le condizioni ambientali lo influenzano.

Un'importante questione concernente l'ape si rapporta con il problema patologico esploso in Europa da poco più di 10 anni, e cioè con la diffusione dell'acaro epiparassita *Varroa jacobsoni*. Attraverso una serie di prove è stata stabilita una netta sincronizzazione fra il ciclo dell'acaro e il profilo ormonale dell'ospite (Hänel, 1986). Inoltre la quantità di ormone assorbita dall'acaro è diversa se il soggetto succhia emolinfa di api adulte o di forme giovanili e ciò è stato messo in relazione con la maturazione dei suoi oociti, l'inizio dell'ovideposizione e la determinazione del sesso del parassita stesso (Ramirez, 1986).

Tutto ciò ha portato a ricercare una relazione tra specie e razze di api da una parte e capacità riproduttiva dell'acaro dall'altro, confrontando, ad esempio, popolazioni del parassita sviluppate su *Apis mellifera* e *A. cerana* L., e su gruppi di operaie di *A.m. carnica* Poll., *A.m. lamarkii* Cockerell e di ibridi africanizzati. Si è potuto concludere sia che gli acari sviluppati su api con più alto contenuto di ormone giovanile sono più fecondi, sia che esistono differenze tra le due specie di *Apis*, ma non tra le razze (Hänel & Koeniger, 1986).

CONCLUSIONI

Al termine del prospetto sintetico sin qui tracciato, sembrano delinearsi alcune conclusioni che consentono di trovare il filo conduttore della materia. Le iniziali vicende formative hanno generato estese e ramificate aree di ricerca: vari temi sono cresciuti insieme sviluppando nei dettagli gli elementi costitutivi di una realtà complessa. Si conosce, ora, il quadro generale dei rapporti fra gli ormoni degli insetti nei diversi momenti del ciclo biologico e in un buon numero di specie. Sono noti i passaggi relativi alla sintesi di questi regolatori e al loro metabolismo, così come l'influenza su varie funzioni vitali, sulla diapausa, sulla gametogenesi, su alcuni comportamenti.

Certamente, a questo punto, si rendono necessari altri approfondimenti e, soprattutto, un ampliamento dei rilievi sperimentali utilizzando una più vasta schiera di specie. Per quanto riguarda, in particolare, l'ormone giovanile restano da chiarire molti punti relativi agli equilibri fra le sue tre varianti e i rispettivi campi di dominio.

Sul versante delle sostanze ad azione giovanilizzante va segnalato all'attenzione il fatto che a fronte di una certa facilità nell'ottenerne sempre di nuove, si oppone un'insufficiente, o almeno scarsa, conoscenza dell'esatto meccanismo con cui tali principi attivi esplicano la propria potenzialità. Essi, infatti, possono portare a manifestazioni terminali equivalenti (mute soprannumerate, prolungamento della vita giovanile, incapacità a metamorfosare) seguendo percorsi fisiologici diversi e sollecitando risposte differenziate in specie diverse. Lo stesso termine di 'juvenoide' dovrebbe essere limitato a designare soltanto i composti di sintesi analoghi nella struttura chimica all'ormone giovanile e non estendersi alle altre numerose classi di sostanze che esprimono attività giovanilizzante pur avendo composizione e bersagli differenti.

La materia, dunque, offre facce e profili diversi e rende difficile e intricato il problema dell'applicazione pratica di questi nuovi 'insetticidi', i quali, se pure presentano dei vantaggi rispetto a quelli tradizionali – essendo maggiormente mirati al mondo degli Insetti o almeno degli Artropodi e a fasi circoscritte dei cicli biologici – possono però dar luogo ad effetti inattesi su specie non previste.

Le indagini sulle leggi della fisiologia hanno aperto nuovi orizzonti e tracciato nuovi limiti entro i quali agire, onde evitare danni e alterazioni all'intera comunità entomofaunistica e ai suoi equilibri.

BIBLIOGRAFIA

- ABDEL-AAL Y.A.I., HAMMOCK B.D., 1988 - Kinetics of binding and hydrolysis of juvenile hormone II in the hemolymph of *Trichoplusia ni* (Hubner). - Insect Biochem. 18: 743-750.
- BHASKARAN G., SPARAGANA S.P., DAHM K.H., BARRERA P., PECK K., 1988 - Sexual dimorphism in juvenile hormone synthesis by corpora allata and in juvenile hormone acid methyltransferase activity in corpora allata and accessory sex glands of some Lepidoptera. - Int. J. Inv. Rep. Devel. 13 (1): 87-99.
- BOLLENBACHER W.E., 1988 - The interendocrine regulation of larval-pupal development in the tobacco hornworm *Manduca sexta*: a model. - J. Insect Physiol. 34: 941-947.
- BOLLENBACHER W.E., GRANGER N.A., KATAHIRA E.J., O'BRIEN M.A., 1987 - Developmental endocrinology of larval moulting in the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. - J. exp. Biol. 128: 175-192.
- BONETTI A.M., KERR W.E., 1985 - Genética da determinação do sexo em abelhas. XX. Estudo da ação genética em *Melipona marginata* e *Melipona compressipes* a partir de análise morfométrica. - Revta bras. Genét. 8: 629-638.
- CALVEZ B., 1981 - Progress of developmental programme during the last larval instar of *Bombyx mori*: relationships with food intake, ecdysteroids and juvenile hormone. - J. Insect Physiol. 27: 233-239.
- CAZAL P., 1948 - Les glandes endocrines rétro-cérébrales des insectes. - Bull. biol. Fr. Belg., suppl. XXXII: 1-227.
- CORBITT T.S., HARDIE J., 1985 - Juvenile hormone effects on polymorphism in the pea aphid *Acyrthosiphon pisum*. - Entomologia exp. appl. 38: 131-135.
- DE LERMA B., 1933 - I corpi faringei degli Ortotteri. Prova sicura dell'esistenza di gian-dole endocrine negli Artropodi. - Rend. Accad. naz. Linc., XVII, ser. 6: 1105-1108.
- DE LERMA B., 1987 - Un'analisi comparativa della morfologia, anche a livello ultrastrutturale, dei corpi cardiaci (*Corpora cardiaca*) degli Insetti. - Boll. Ist. Ent. Guido Grandi, Univ. Bologna XLI: 285-314.
- DENLINGER D.L., SHUKLA M., FAUSTINI D.L., 1984 - Juvenile hormone involvement in pupal diapause of the flesh fly *Sarcophaga crassipalpis*: regulation of infradian cycles of O₂ consumption. - J. exp. Biol. 109: 191-199.
- DOGRA G.S., ULRICH G.M., REMBOLD H., 1977 - A comparative study of the endocrine system of the honey bee larvae under normal and experimental conditions. - Z. Naturfors., C 32: 637-642.
- EBERT R., 1980 - Influence of juvenile hormone on gravity orientation in the female honeybee (*Apis mellifera* L.). - J. comp. Physiol., A 137: 7-16.
- ENGELS W., 1980 - Initiation and control of vitellogenin synthesis and yolk incorporation in social bees (in: CLARK W.H., ADAMS T.S. (Eds) Advances in invertebrate reproduction. Proc. 2nd Int. Symp. Int. Soc. Invertebrate Reproduction) Davis, California, Aug. 27-31, 1979: 345.
- FLURI P., LUSCHER M., WILLE H., GERIG L., 1982 - Changes in weight of pharyngeal gland and haemolymph titres of juvenile hormone, protein and vitellogenin in worker honey bees. - J. Insect Physiol. 28: 61-68.
- FOURNIER B., DELAGE-DARCHEN B., DARCHEN R., 1984 - Hormone juvénile et déterminisme des castes chez les abeilles. - Act. Colloques Ins. Soc., I, c.r. Colloque ann. Les Eyzies, 22-24 sept. 1983: 205-209.

- FRIEDLANDER M., 1982 - Juvenile hormone and regulation of dichotomous spermatogenesis during the larval diapause of the codling moth. - *J. Insect Physiol.* 28: 1009-1012.
- GIRARDIE J., 1988 - Isolement des neurohormones d'insectes: techniques, résultats et perspectives. - *Annls Soc. ent. Fr.* 24: 383-389.
- GOEWIE E.A., 1978 - Regulation of caste differentiation in the honey bee (*Apis mellifera* L.). - *Meded. Landbouw. Wageningen* 78: 1-75.
- GRANGER N.A., GOODMAN W.G., 1983 - Juvenile hormone radioimmunoassay-theory and practice. - *Insect Biochem.* 13: 333-340.
- GRANGER N.A., GOODMAN W.G., 1988 - Radioimmunoassay: juvenile hormones. - In *Immunological techniques in insect biology*. Springer-Verlag New York: 215-251.
- HAMMOCK B.D., ABDEL-AAL Y.A.I., HANZLIK T.N., CROSTON G.E., ROE R.M., 1987 - Affinity purification and characteristics of juvenile hormone esterase from Lepidoptera (in: LAW J.M. (Ed.), *Molecular entomology*. Proc. Monsanto Symp., 6-13 Apr. 1986, Steamboat Spring, Colorado) LISS, New York: 315-328.
- HAMMOCK B.D., BONNING B.C., POSSEE R.D., HANZLIK T.N., MAEDA S., 1990 - Expression and effects of the juvenile hormone esterase in a baculovirus vector. - *Nature, Lond.* 344: 458-461.
- HÄNEL H., 1986 - Effect of juvenile hormone (III) from the host *Apis mellifera* (Insecta: Hymenoptera) on the neurosecretion of the parasitic mite *Varroa jacobsoni* (Acari: Mesostigmata). - *Exp. appl. Acarol.* 2: 257-271.
- HÄNEL H., KOENIGER N., 1986 - Possible regulation of the reproduction of the honey bee mite *Varroa jacobsoni* (Mesostigmata: Acari) by a host's hormone: juvenile hormone III. - *J. Insect Physiol.* 32: 791-798.
- HARDIE J., 1984 - A hormonal basis for the photoperiodic control of polymorphism in aphids (in: PORTER R., COLLINS G.M. (Eds), *Photoperiodic regulation of insect and molluscan hormones*) Pitman, London: 240-253.
- HARTFELDER K.H., 1987 - Rates of juvenile hormone synthesis control caste differentiation in the stingless bee *Scaptotrigona postica*. - *Rou'x Archs develop. Biol.* 196: 522-526.
- KELLY T.J., ADAMS T.S., SCHWARTZ M.B., BIRNBAUM M.J., RUBENSTEIN E.C., IMBERSKI R.B., 1987 - Juvenile hormone and ovarian maturation in the Diptera: a review of recent results. - *Insect Biochem.* 17: 1089-1093.
- KONO Y., OZEKI N., 1987 - Induction of ovarian development by juvenile hormone and pyrethroids in *Henosepilachna vigintioctopunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). - *Appl. Entom. Zool.* 22: 68-76.
- KORT C.A.D. DE, KHAN M.A., KOOPMANSCHAP A.B., 1987 - Juvenile hormone and the control of adult diapause in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. - *Insect Biochem.* 17: 985-988.
- KORT C.A.D. DE, PETER M.G., KOOPMANSCHAP A.B., 1983 - Binding and degradation of juvenile hormone III by haemolymph proteins of the Colorado potato beetle: a re-examination. - *Insect Biochem.* 13 (5): 481-487.
- LENZ C.J., DILLWITH J.W., CHIPPENDALE G.M., 1986 - Comparison of some properties of the high affinity juvenile hormone binding protein from the larval hemolymph of pyralid moths. - *Archs Ins. Biochem. Physiol.* 3: 61-73.
- MELLINI E., BORGATTI M., BRATTI A., 1985 - Sulla idoneità di *Galleria mellonella* L. nei confronti del parassitoide *Pseudogonia rufifrons* Wied., penetrato durante le ultime

- fasi della vita larvale dell'ospite. - Boll. Ist. Ent. « Guido Grandi » Univ. Bologna XXXIX: 161-186.
- MEMMEL N.A., KUMARAN A.K., 1988 - Role of ecdysteroids and juvenile hormone in regulation of larval haemolymph protein gene expression in *Galleria mellonella*. - J. Insect Physiol. 34: 585-591.
- PLANTEVIN G., BOSQUET G., CALVEZ B., NARDON C., 1987 - Relationships between juvenile hormone levels and synthesis of major haemolymph proteins in *Bombyx mori* larvae. - Comp. Biochem. Physiol., B 86: 501-507.
- PLANTEVIN G., GRENIER S., RICHARD G., NARDON C., 1986 - Larval development, developmental arrest, and hormone levels in the couple *Galleria mellonella* (Lepidoptera Pyralidae) - *Pseudoperichaeta nigrolineata* (Diptera Tachinidae). - Archs Ins. Biochem. Physiol. 3: 457-469.
- PORAS M., BAEHR J.C., CASSIER P., 1983 - Control of corpus allatum activity during the imaginal diapause in females of *Locusta migratoria* L. - Int. J. Invertebrate Reproduction 6: 111-122.
- PRESTWICH G.D., ENG W.S., BOEHM M.F., 1987 - Radioligands for identification of receptors for juvenile hormones and JH analogues (in: O'CONNOR J.D., Molecular biology of invertebrate development) State Univ. New York: 279-288.
- RAMAMURTY P.S., 1983 - Effect of juvenile hormone on vitellogenin metabolism and vitellogenesis in adult queens of *Apis mellifera*. - Proc. Second Int. Conf. Apic. Tropical Climates, New Delhi: 385-390.
- RAMIREZ B.W., 1986 - A hypothesis on the functions of juvenile hormone of host in sexual maturation and oviposition of *Varroa jacobsoni*. - Revta Biol. tropic. 34: 157-160.
- REGEL R., 1978 - Auswirkungen einer Langzeitbehandlung mit unterschiedlichen Dosen von Juvenilhormon III auf Verhalten und Fertilität von Jungköniginnen (*Apis mellifera*). - Mitt. Deut. Gesell. Allgem. Angew. Ent. 1: 313-316.
- REMBOLD H., 1987 - Caste specific modulation of juvenile hormone titers in *Apis mellifera*. - Ins. Biochem. 17: 1003-1006.
- ROBINSON G.E., 1987 - Hormonal regulation of age polyethism in the honeybee, *Apis mellifera* (in: MENZEL R., MERCER A. (Eds), Neurobiology and behavior of honeybees) Springer, Berlin: 266-279.
- RODRIGUEZ J.B., GROS E.G., STOKA A.M., 1989 - Synthesis and activity of juvenile hormone analogues. - Z. Naturfor. B 44: 983-987.
- ROSELER P.F., ROSELER I., 1988 - Influence of juvenile hormone on fat body metabolism in ovariolectomized queens of the bumblebee, *Bombus terrestris*. - Insect Biochem. 18: 557-563.
- ROSELER P.F., ROSELER I., STRAMBI A., AUGIER R., 1984 - Influence of insect hormones on the establishment of dominance hierarchies among foundresses of the paper wasp *Polistes gallicus*. Behav. - Ecol. Sociobiol. 15: 133-142.
- SAKURAI S., IMOKAWA H., 1988 - Development arrest induced by juvenile hormone in larvae of *Bombyx mori*. - Archs Ins. Biochem. Physiol. 8: 219-228.
- SAKURAI S., OKUDA M., OHTAKI T., 1989 - Juvenile hormone inhibits ecdysone secretion and responsiveness to prothoracotrophic hormone in prothoracic glands of *Bombyx mori*. - Gen. comp. Endocrinol. 75: 222-230.
- SASAGAWA H., 1989 - Age polyethism of worker honeybees (*Apis mellifera*) and its regulation by juvenile hormone (JH), and JH determination by high performance liquid chromatography. - Honeybee Science 10: 65-72.

- SASAGAWA H., SASAKI M., OKADA I., 1986 - Experimental induction of the division of labour in worker *Apis mellifera* L. by juvenile hormone (JH) and its analog. - Proc. XXXth Int. Congr. Apiculture, Nagoya, 1985: 140-143.
- SHARE M.R., ROE R.M., 1988 - A partition assay for the simultaneous determination of insect juvenile hormone esterase and epoxide hydrolase activity. - *Analyt. Biochem.* 169: 81-88.
- SHARE M.R., VENKATESH K., JESUDASON P., ROE R.M., 1988 - Juvenile hormone metabolism during embryogenesis in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* (L.). - *Archs Ins. Biochem. Physiol.* 8: 173-186.
- SHEMSHEDINI L., WILSON T.G., 1988 - A high affinity, high molecular weight juvenile hormone binding protein in the hemolymph of *Drosophila melanogaster*. - *Insect Biochem.*, 18: 681-689.
- SPARKS T.C., WILLIS W.S., SHOREY H.H., HAMMOCK B.D., 1979 - Haemolymph juvenile hormone esterase activity in synchronous last instar larvae of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. - *J. Insect Physiol.* 25: 125-132.
- STRAMBI A., STRAMBI C., ROSELER P.F., ROSELER I., 1984 - Evolution comparée des taux de l'hormone juvénile et des ecdystéroides circulants chez les prénymphe reines et ouvrières de deux espèces de bourdons (*Bombus hypnorum*, *Bombus terrestris*). - *Act. Colloques Ins. Sociaux. I. C. r. Colloque ann. Les Eyzies*, 22-24 sept. 1983: 239-247.
- YAGINUMA E.N., SILVA DE MORAES R.L.M., CRUZ-LANDIM C., 1990 - Cytophotometric evaluation of corpora allata DNA during the development of larvae of workers and queens (*Apis mellifera* L.; Hymenoptera, Apidae). - *J. apic. Res.*, 29.
- VENKATESH K., ROE R.M., 1988 - The role of juvenile hormone and brain factors in the regulation of plasma juvenile hormone esterase activity during the last larval stadium of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*. - *J. Insect Physiol.* 34: 415-425.
- WATSON R.D., HAIRE M.E., BOLLENBACHER W.E., 1988 - Juvenile hormone regulates the titer of a hemolymph factor that enhances ecdysone synthesis by insect (*Manduca sexta*) prothoracic glands in vitro. - *Archs Ins. Biochem. Physiol.* 9 (2): 157-165.
- WHEELER C.M., GUPTA A.P., 1986 - Effects of exogenous juvenile hormone I on the numbers and distribution of antennal and maxillary and labial palp sensilla of male *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). - *Experientia* 42: 57-58.
- WILSON T.G., THURSTON J., 1988 - Genetic variation for methoprene resistance in *Drosophila melanogaster*. - *J. Insect Physiol.* 34: 305-308.

PROF. GRAZIELLA BOLCHI SERINI - Istituto di Entomologia agraria, Università degli Studi, Via Celoria 2, I-20133 Milano

Ricevuto il 18 dicembre 1991; pubblicato il 31 dicembre 1991.