

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA ANIMALE E GENETICA

PROGETTO

Feromoni, peptidi e proteine nella comunicazione chimica degli insetti.

RESPONSABILE SCIENTIFICO: Prof. **Stefano Turillazzi**

COLLABORATORI: F.R. Dani, L. Dapporto, M. Sledge, R. Cervo, C. Bruschini, P. Pelosi, A. Della Torre, D. Lambardi, B. Caputo, M. Calvello, L. Beani, M. Coluzzi, G. Moneti, G. Pieraccini, G. Mastrobuoni, S. Francese.

La collaborazione fra il gruppo di studio che si occupa della Biologia degli Insetti Sociali presso il Dipartimento di Biologia Animale e Genetica ed il CISM va avanti ormai da più di 10 anni. In questo periodo sono state affrontate diverse problematiche inerenti alla comunicazione chimica in vari gruppi di insetti sociali e non (Fig.1).

Riconoscimento chimico e lipidi epicuticolari

Nelle colonie degli insetti sociali il riconoscimento dei membri della colonia e la discriminazione di conspecifici estranei e di parassiti sociali si basa sulla percezione della particolare miscela di lipidi che ricopre il corpo degli insetti. Gli individui della stessa colonia hanno infatti un profilo chimico dello strato che ricopre la cuticola più simile fra loro di quello di individui di colonie diverse. Il nostro gruppo studia i meccanismi alla base di questa forma di riconoscimento ed i meccanismi che permettono l'integrazione dei parassiti sociali nelle colonie ospiti. La possibilità di analizzare i lipidi epicuticolari tramite GC-MS è fondamentale per il successo di queste ricerche ed un intenso lavoro è stato compiuto, in collaborazione con il CISM, per mettere a punto metodi di campionamento di queste sostanze (Fig. 2 e 3). L'acquisizione da parte del CISM di gas cromatografi accoppiati a spettrometri a trappola ionica ha inoltre consentito di sviluppare metodiche per la caratterizzazione di alcuni degli analiti più comuni (alcheni mono e poliinsaturi) tramite MS in modalità di ionizzazione chimica. Il grande vantaggio di questa metodica, che la contraddistingue dalle tecniche tradizionali, consiste nella possibilità di effettuare la determinazione su piccole quantità di analiti, che possono essere raccolte a partire da un singolo esemplare (Fig. 4). Queste ricerche sono state compiute su specie di vespe sociali e formiche e su *Apis mellifera*.

Recentemente, in collaborazione con il CISM e col gruppo del prof. M. Coluzzi dell'Università La Sapienza, che da molti anni si occupa della Biologia e dei processi di speciazione delle zanzare del genere *Anopheles*, abbiamo analizzato femmine di *An. gambiae* raccolte in Burkina Faso appartenenti a due forme diverse dal punto di vista molecolare ma non riconoscibili dal punto di vista morfologico, per valutare eventuali differenze nei lipidi epicuticolari. In questa ricerca siamo giunti inoltre, per la prima volta, ad un'identificazione completa dei componenti della miscela di *Anopheles gambiae* (Fig. 5). Attualmente, grazie ad un finanziamento del MIUR, lo studio dei lipidi epicuticolari delle due forme molecolari

di *An. gambiae* sta proseguendo allo scopo di valutare se questi composti siano importanti nel riconoscimento, al momento dell'accoppiamento, fra partner appartenenti alla stessa forma.

Feromoni di allarme

Altri studi svolti in collaborazione con il CISM riguardano l'analisi di feromoni volatili, quali ad esempio i feromoni di allarme prodotti dalle vespe sociali (Fig. 6).

Sostanze di difesa

Da qualche tempo, il nostro gruppo in collaborazione con il CISM, ha rivolto la sua attenzione anche allo studio di sostanze di natura peptidica prodotte da insetti sociali. Recentemente abbiamo scoperto infatti che la superficie della cuticola delle vespe sociali del genere *Polistes* è coperta non solo da lipidi epicuticulari, ma anche da alcuni peptidi, presenti anche nel veleno di queste vespe, che hanno azione antimicrobica nei confronti di batteri Gram negativi e Gram positivi (Fig. 7).

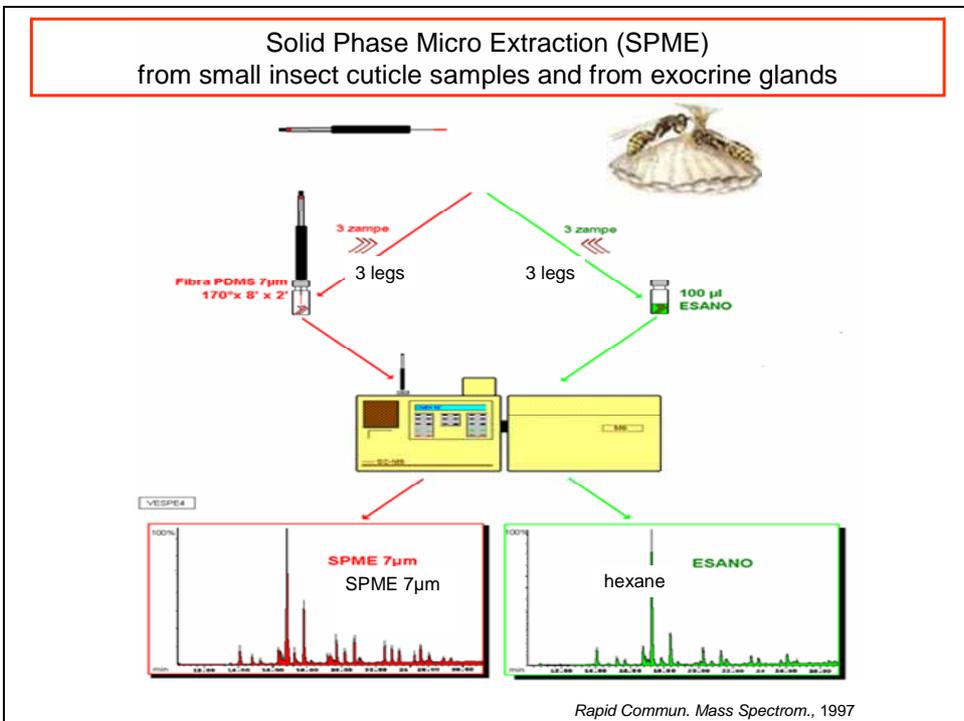
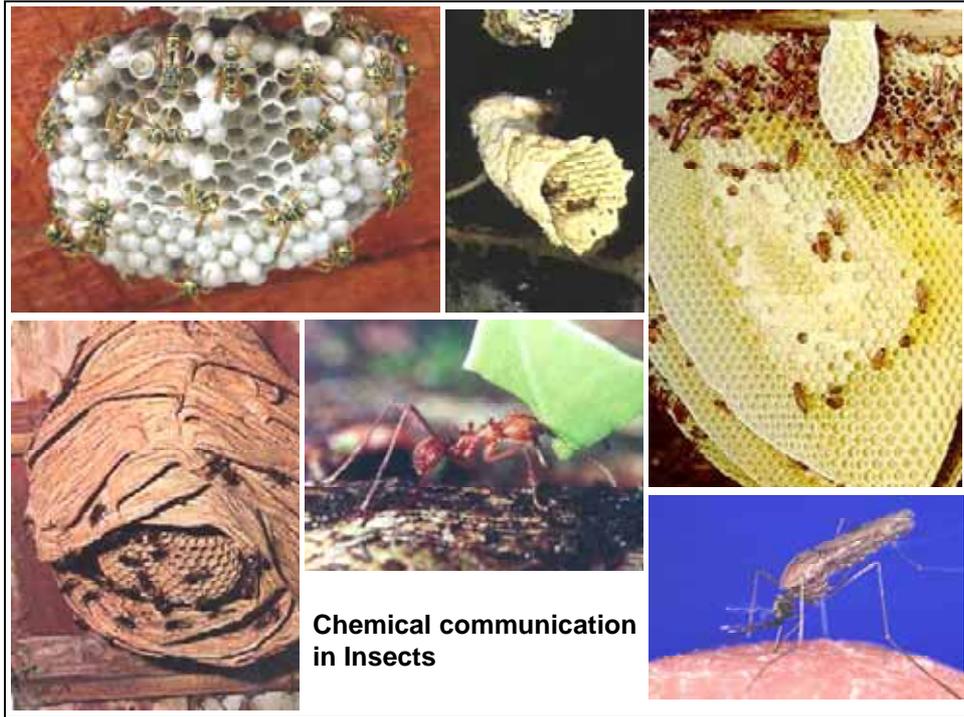
Trasduzione del segnale chimico

In collaborazione con il gruppo del Prof. P. Pelosi dell'Università di Pisa e con il CISM, abbiamo iniziato da qualche anno ad occuparci di proteine coinvolte nella percezione dei feromoni. I feromoni sono, nella maggioranza dei casi, sostanze di natura lipidica, che una volta raggiunto il sensillo devono essere veicolate da proteine carrier attraverso la linfa sensillare fino ai recettori di membrana situati nel sensillo stesso. Due principali classi di proteine svolgono questa funzione, le Odorant Binding Proteins (OBP) e le Chemo Sensory Proteins (CSP), entrambe presenti in elevate concentrazioni nella linfa sensillare. Attualmente stiamo mettendo a punto tecniche di MALDI MS Imaging, finora utilizzate generalmente per lo studio di tessuti di mammifero, per valutare la distribuzione di queste proteine nelle diverse parti del corpo degli insetti e nelle diverse sezioni delle antenne, organi dove si trovano la maggior parte dei chemorecettori (Fig. 8). Questo studio pilota utilizza modelli biologici diversi e assume una rilevante importanza per l'elaborazione di nuove metodologie, basate su questa tecnica innovativa, da applicare a vari campi della proteomica.

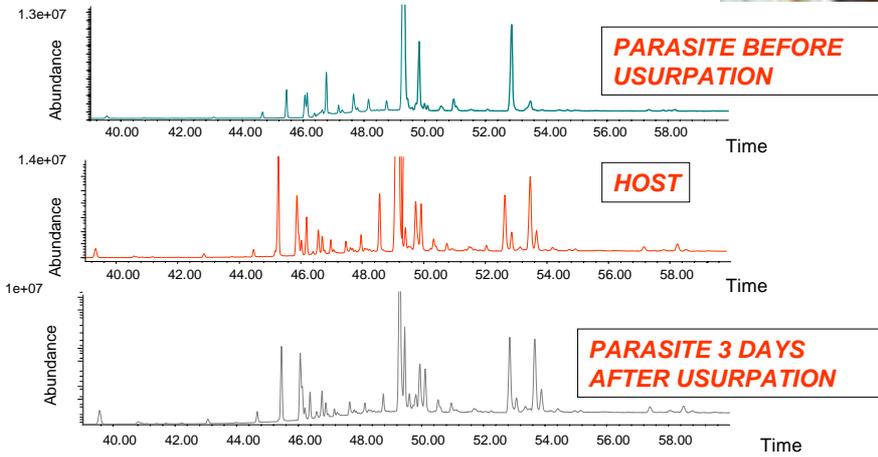
LAVORI SCIENTIFICI SVOLTI I COLLABORAZIONE CON IL CISM

- Moneti G., Dani F.R., Pieraccini G., Turillazzi S. 1997. Solid-phase microextraction of Insect epicuticular hydrocarbons for Gas Chromatographic/Mass Spectrometric analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 11: 857-862.
- Turillazzi S., Sledge M.F. and Moneti G. 1998. Use of a simple method for sampling cuticular hydrocarbons from live social wasps. *Ethology Ecology & Evolution* 10: 293-297.
- Sledge M.F., Fortunato A., Turillazzi S., Francescato E. Hashim R., Moneti G., Jones G.R. (2000) Use of Dufour's gland secretion in nest defence and brood nutrition by hover wasps (Hymenoptera, Stenogastinae). *Journal of Insect Physiology* 46 :753-761.
- Sledge M.F., Moneti G., Pieraccini G.e Turillazzi S.(2000) Use of solid-phase microextraction in the investigation of chemical communication in social wasps. *Journal of Chromatography A*, 873: 73-77.
- Turillazzi S., Sledge M.F., Dani F.R., Cervo R., Massolo A. Fondelli L. (2000) – Social Hackers: Integration in the host chemical recognition system by a paper wasp social parasite. *Naturwissenschaften* 87:172-176.

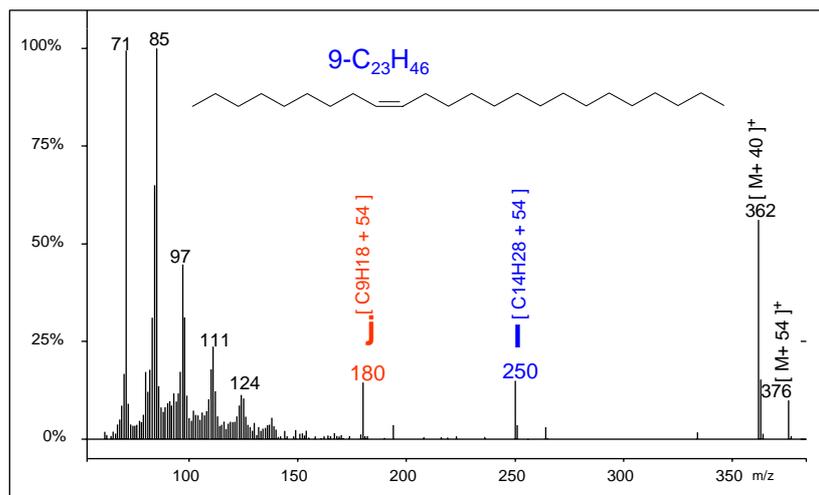
- Dani, F. R., G. R. Jones, S. Destri, S. H. Spencer, and S. Turillazzi. 2001. Deciphering the recognition signature within the cuticular chemical profile of paper wasps. *Animal Behaviour* 62:165-171.
- Zanetti, P., F. R. Dani, S. Destri, D. Fanelli, A. Massolo, G. Moneti, G. Pieraccini, and S. Turillazzi. 2001. Nestmate recognition in *Parischnogaster striatula* (Hymenoptera Stenogastrinae), visual and olfactory recognition cues. *Journal of Insect Physiology* 47:1013-1020.
- Beani, L., M. F. Sledge, S. Maiani, F. Boscaro, M. Landi, A. Fortunato, and S. Turillazzi. 2002. Behavioral and chemical analyses of scent-marking in the lek system of a hover-wasp (Vespidae, Stenogastrinae). *Insectes Sociaux* 49:275-281.
- Cervo, R., F. R. Dani, P. Zanetti, A. Massolo, and S. Turillazzi. 2002. Chemical nestmate recognition in a stenogastrine wasp, *Liostenogaster flavolineata* (Hymenoptera Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution* 14:351-363.
- Dani, F. R., G. R. Jones, E. D. Morgan, and S. Turillazzi. 2003. Reevaluation of the chemical secretion of the sternal glands of *Polistes* social wasps (Hymenoptera Vespidae). *Ethology Ecology & Evolution* 15:73-82.
- Dani, F. R., S. Corsi, D. Pradella, G. R. Jones, and S. Turillazzi. 2004a. GC-MS analysis of the epicuticle lipids of *Apis mellifera* reared in central Italy. *Insect Social Life* 5:103-109.
- Dani, F. R., K. R. Foster, F. Zacchi, P. Seppa, A. Massolo, A. Carelli, E. Arevalo, D. C. Queller, J. E. Strassmann, and S. Turillazzi. 2004b. Can cuticular lipids provide sufficient information for within-colony nepotism in wasps? *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271:745-753.
- Dapporto, L., E. Palagi, and S. Turillazzi. 2004a. Cuticular hydrocarbons of *Polistes dominulus* as a biogeographic tool: A study of populations from the Tuscan Archipelago and surrounding areas. *Journal of Chemical Ecology* 30:2139-2151.
- Dapporto, L., C. Pansolli, and S. Turillazzi. 2004b. Hibernation clustering and its consequences for associative nest foundation in *Polistes dominulus* (Hymenoptera Vespidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 56:315-321.
- Dapporto, L., P. Theodora, C. Spacchini, G. Pieraccini, and S. Turillazzi. 2004c. Rank and epicuticular hydrocarbons in different populations of the paper wasp *Polistes dominulus* (Christ) (Hymenoptera, Vespidae). *Insectes Sociaux* 51:279-286.
- Lorenzi, M. C., M. F. Sledge, P. Laiolo, E. Sturlini, and S. Turillazzi. 2004. Cuticular hydrocarbon dynamics in young adult *Polistes dominulus* (Hymenoptera : Vespidae) and the role of linear hydrocarbons in nestmate recognition systems. *Journal of Insect Physiology* 50:935-941.
- Sledge, M. F., F. Boscaro, and S. Turillazzi. 2001. Cuticular hydrocarbons and reproductive status in the social wasp *Polistes dominulus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 49:401-409.
- Sledge, M. F., I. Trinca, A. Massolo, F. Boscaro, and S. Turillazzi. 2004. Variation in cuticular hydrocarbon signatures, hormonal correlates and establishment of reproductive dominance in a polistine wasp. *Journal of Insect Physiology* 50:73-83.
- Turillazzi, S., M. F. Sledge, L. Dapporto, M. Landi, D. Fanelli, L. Fondelli, P. Zanetti, and F. R. Dani. 2004. Epicuticular lipids and fertility in primitively social wasps (Hymenoptera Stenogastrinae). *Physiological Entomology* 29:464-471.
- Calvello, M., A. Brandazza, A. Navarrini, F. R. Dani, S. Turillazzi, A. Felicioli, and P. Pelosi. 2005. Expression of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in some Hymenoptera. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35:297-307.
- Dani, F. R., G. R. Jones, S. Corsi, R. Beard, D. Pradella, and S. Turillazzi. 2005. Nestmate recognition cues in the honey bee: differential importance of cuticular alkanes and alkenes. *Chemical Senses* 30:477-489.
- Caputo, B., F. R. Dani, G. L. Horne, V. Petrarca, S. Turillazzi, M. Coluzzi, A. Priestman, and A. della Torre. 2005. Identification and composition of cuticular hydrocarbons of the major Afrotropical malaria vector *Anopheles gambiae* s.s. (Diptera: Culicidae): analysis of sexual dimorphism and age related changes. *Journal of Mass Spectrometry* 40: 1595-1604.



Role of cuticular lipids in the integration of social parasites in the host colonies



Acetonitrile as an effective reactant species for positive chemical ionization of hydrocarbons by ion-trap mass spectrometry



Rapid Commun. Mass Spectrom., 1996

Sympatric speciation in two *Anopheles gambiae* molecular forms.
Are cuticular hydrocarbons involved in the speciation process?

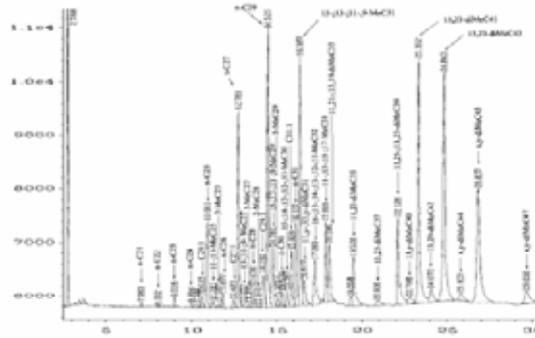
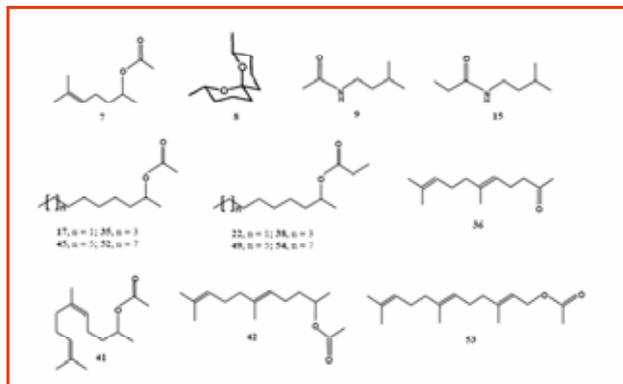
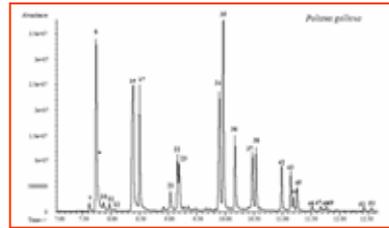


Figure 1. Cuticular hydrocarbon profile obtained by gas chromatography (GC) of the extract of three pooled females of *Anopheles gambiae* molecular form M.

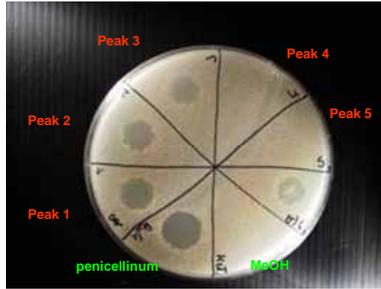
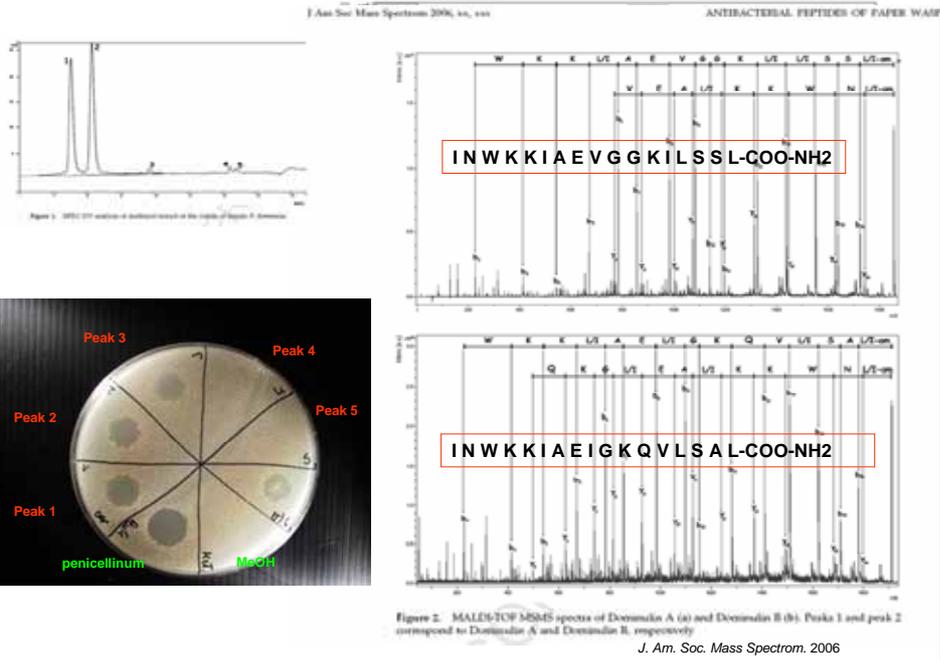
Journal of Mass Spectrometry, 2005

Identification of *Polistes* alarm pheromones through SPME and GC/MS (EI and CI)

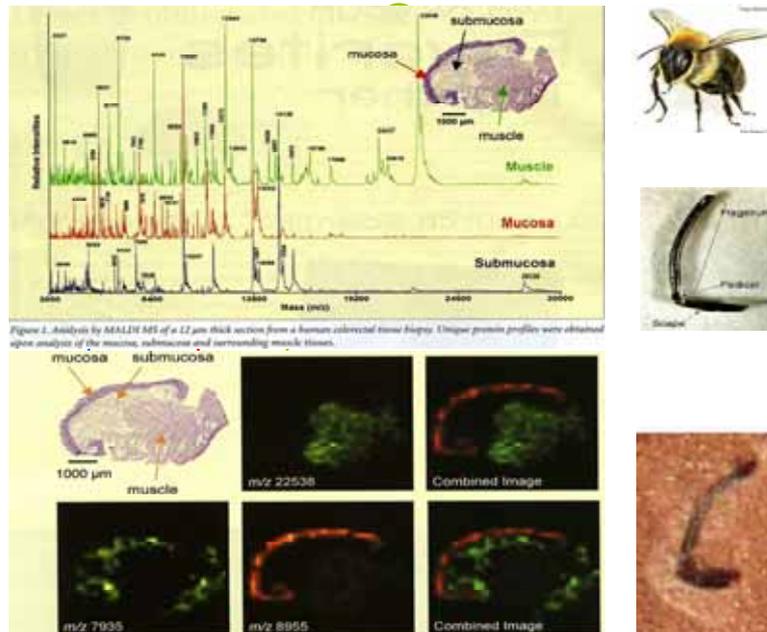


Toxicon, in press

Antimicrobial Peptides of *Polistes* wasps



MALDI-TOF Imaging and Profiling of Proteins applied to Insects



R. Caprioli
Lab Plus International
19, 10-14, 2005