

# Metodi per la ricerca e identificazione di nematodi in acque destinate al consumo umano

Laura Volterra<sup>1</sup>, Paolo Formichetti<sup>1</sup> & Laura Mancini<sup>1</sup>

## INTRODUZIONE

La presenza di metazoi nelle acque destinate al consumo umano (W.H.O., 1993) è stata accertata occasionalmente in molte realtà italiane (DOMENICHINI & MOLINARI, 1984) in special modo nelle prime fasi di applicazione del DPR 236/88 –che nella lista C4 inserisce la ricerca di protozoi ed elminti (VOLTERRA *et al.*, 1990)– nonché in successive e più mirate analisi (VOLTERRA, 1992; GALLO *et al.*, 1993; VOLTERRA, 1993; LUPI *et al.*, 1994; VOLTERRA *et al.*, 1994; DI GIROLAMO *et al.*, 1995; LUPI *et al.*, 1995). Questi studi hanno mostrato la diffusione dei nematodi tra gli “elementi figurati” (VOLTERRA & SANTAMARIA, 1993; W.H.O., 1993) evidenziabili in acque di rete in accordo con i reperti della letteratura internazionale (COBB, 1918; CHANG *et al.*, 1959; CHANG *et al.*, 1960; MACKENTHUN & KEUP, 1970; THOMBES *et al.*, 1979; GERARDI & GRIMM, 1982; MOTT *et al.*, 1983; LEVY *et al.*, 1984; LEVY *et al.*, 1986; GRAY, 1994). Il rilievo dei nematodi sugli altri invertebrati che possono essere presenti in rete è sottolineato anche negli Standard Methods, nei quali è stata predisposta una chiave tassonomica per

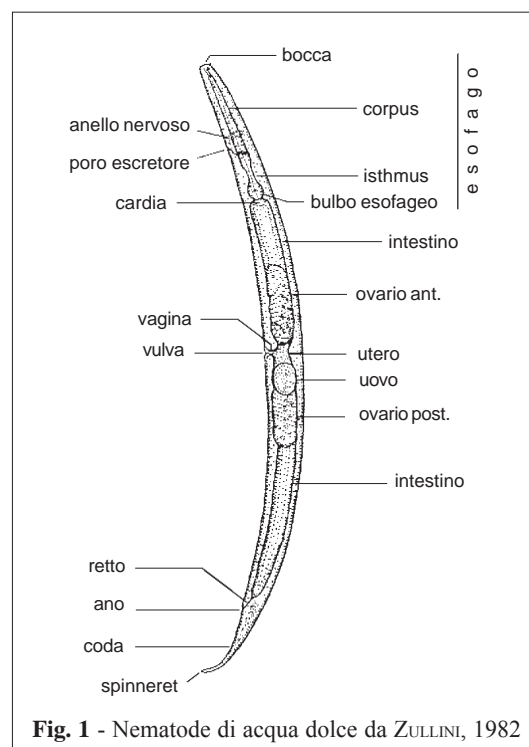


Fig. 1 - Nematode di acqua dolce da ZULLINI, 1982

la determinazione di questo taxon (APHA, 1995).

Il rinvenimento di “elementi figurati” in acque potabili pone interrogativi sul loro ruolo sanitario e sul giudizio di qualità che si può formulare per un’acqua che, pur essendo priva di germi indicatori e patogeni, contenga protozoi e metazoi a vita libera. Il rischio sanitario legato a queste presenze nelle regioni temperate è indiretto e dipende dalla loro capacità di trasportare attivamente o passivamente microrganismi patogeni od occasionalmente tali proteggendoli così da condizioni di stress ambientale, come ad esempio trattamenti disinfettivi (CHANG *et al.*, 1960; SMERDA *et al.* 1971; CURDS, 1977; NELSSON, 1987; LEVY *et al.*, 1984; LEVY *et al.*, 1986; KING *et al.*, 1988).

Su questo punto non esiste alcuna prova epidemiologica che gli elementi figurati rinvenuti in reti acquedottistiche abbiano mai causato epidemie idrotrasmesse imputabili agli agenti eziologici batterici, virali, fungini da essi potenzialmente trasportati (HANEY, 1978; GERARDI & GRIMM, 1982; GRAY, 1994). Non si può escludere però che vi possa essere un rischio sanitario per la frazione di popolazione meno immunocompetente. Il fatto che i nematodi siano organismi con stadi larvali separati da cambi di cuticola

<sup>1</sup> Laboratorio di Igiene Ambientale, Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma

potrebbe determinare in fase di “infestazione” delle tubazioni acquedottistiche anche allergie. Tale evenienza, che occorrerebbe verificare in laboratorio, potrebbe verificarsi anche in considerazione del ciclo generazionale dei nematodi (i Rhabditida completano un ciclo vitale da uovo a uovo in 3 giorni). Pertanto indagini sulla presenza e diffusione del fenomeno della colonizzazione di tubazioni acquedottistiche ad opera di nematodi sono auspicabili non solo per l’ indesiderabilità del problema, ma anche per il potenziale rischio igienico-sanitario.

Dagli studi effettuati su vari campioni di acqua potabile provenienti da numerosi acquedotti di regioni italiane sono emerse però molte difficoltà correlate alla mancanza di una standardizzazione dei metodi di rilevamento e alle difficoltà di utilizzo delle chiavi tassonomiche disponibili, soprattutto tenendo conto degli operatori che dovrebbero farne uso, che non sono certo esperti zoologi. Si è così pensato di proporre una metodologia di analisi dei nematodi di rete completa di una chiave tassonomica che, pur rifacendosi alla bibliografia esistente sull’argomento e al patrimonio conoscitivo di specialisti (APHA, 1995), fosse di facile impiego per gli addetti al settore acquedottistico, del Servizio Sanitario o delle ARPA.

#### METODOLOGIE DI RINVENIMENTO

Si deve sempre fare riferimento a grandi volumi di acqua (dai 2 ai 10 litri) che debbono essere concentrati. Tale passaggio si può eseguire per sedimentazione, centrifugazione, filtrazione ortogonale eseguita in fase statica o aspirata e filtrazione tangenziale. Animali fragili come i nematodi vengono però facilmente alterati da processi meccanici che comportano fasi di sfregamento (come nel caso della filtrazione ortog-

#### GLOSSARIO (da LANZA, 1982)

**Anfidio:** Organo di senso pari, laterale, dell’estremità cefalica dei nematodi, a funzione chemiorecettore; può avere l’aspetto di spirale, di bastone pastorale, di fessura, di poro ecc. Particolarmente ben sviluppato nelle specie a vita libera, soprattutto marine, è più o meno ridotto, sino ad assumere ad esempio la forma di papilla, in numerose specie terrestri e in quasi tutte quelle parassite.

**Apparato riproduttore prodelfo:** utero anteriore

**Apparato riproduttore opistodelfo:** utero posteriore

**Apparato riproduttore anfidelfo:** utero anteriore e posteriore

**Mucronato:** che ha la forma di un mucrone o che termina con un mucrone

**Mucrone:** la punta aguzza successiva ad un restringimento, per lo più brusco di un organo o di una struttura.

nale su filtri serici di varia porosità) al momento del recupero o da aspirazione e schiacciamento o intrappolamento su membrane porose.

Per queste ragioni i sistemi che assicurano il massimo rendimento, con volumi contenuti da trattare, sono la sedimentazione in coni, la centrifugazione a bassi regimi di giri e la filtrazione ortogonale su membrane usando basse depressioni o pressione positiva. Per grandi volumi si deve ricorrere alla filtrazione tangenziale (Tab. I).

Il materiale, in ogni modo concentrato, può essere esaminato a fresco o, meglio, fissato in pochi mL di una soluzione di 10-15% di acido peracetico (o propionico) e formalina al 4-5%. In tal caso per l’osservazione microscopica il materiale deve essere filtrato

**Tab. I.** Vantaggi e svantaggi connessi con l’impiego di varie metodiche di concentrazione.

	volumi		tempo		perdite		alterazione del materiale	costi	
	grandi	piccoli	lungo	breve	grandi	piccole		alti	bassi
Sedimentazione semplice		+	+			+		-	+
centrifugazione		+		+		+		-	+
filtrazione ortogonale su setacci sericei	+			+	+		+		+
filtrazione ortogonale su membrane filtranti		+		+	+		+		+
filtrazione tangenziale	+			+		+		-	+

su membrana a pori cilindrici (0,45 µm) e raccolto in pochi mL di acqua distillata. L'osservazione va eseguita al microscopio stereoscopico o al microscopio rovesciato.

Per l'accertamento tassonomico i nematodi, raccolti con un capillare di vetro, devono essere posti in un vetrino da orologio contenente una soluzione di glicerina al 5% e quindi sistemati in una stufa a 40° C per 2 giorni per consentire una lenta evaporazione dell'acqua e una perfetta inclusione degli organismi nella glicerina (ZULLINI, 1982). I singoli individui, raccolti successivamente mediante una setola immanicata, sono collocati su un vetrino portaoggetti in una goccia di glicerina pura. Il materiale va coperto con un vetrino coprioggetto e sigillato con smalto da unghie. L'osservazione al microscopio per la determinazione viene eseguita a 1000 ingrandimenti.

#### CHIAVI TASSONOMICHE

Le chiavi tassonomiche proposte per la determinazione dei nematodi (APHA, 1995, allegato 1; ZULLINI, 1982) fanno riferimento a caratteristiche morfologiche esterne (setole, anelli, spine, etc.) e ad organi funzionali (apparato boccale, riproduttivo, etc.) non facilmente evidenziabili nonostante un corretto trattamento di fissazione e diafanizzazione del campione, condizione essenziale per dar corso all'osservazione microscopica. In figura 1 è riportato lo schema di un nematode di acqua dolce.

Tali chiavi di riferimento permettono l'identificazione dei nematodi a livello di genere; tale livello, indispensabile per studi accurati, risulta spesso non necessario e di eccessiva indagine per il tipo di utente analizzatore interessato a cogliere solo variazioni quali-quantitative della popolazione di nematodi diffusa in rete.

Si è pertanto formulata una chiave tassonomica semplificata che, partendo da quella di ZULLINI (1982), consentisse di determinare i nematodi solamente a livello di ordine e di sottordine (allegato 2). L'applicazione di una chiave così semplificata risulta senz'altro più agevole, anche se persistono sempre difficoltà nel caso di stadi giovanili di piccole dimensioni nei quali sono difficilmente osservabili alcuni caratteri. Gli stadi giovanili sono molto abbondanti nelle acque raccolte da sistemi acquedottistici, probabilmente perché rappresentano le forme meno robustamente adese

nel biofilm di rivestimento delle tubazioni e quindi quelle più facilmente asportabili con l'attrito esercitato dal flusso di acqua. Le sezioni di rete che si suppone siano afflitte dal fenomeno della colonizzazione biologica debbono essere sottoposte a campionamenti delle pellicole biologiche di rivestimento.

È comunque necessario che gli individui non vengano danneggiati dai trattamenti di concentrazione; un esame eseguito su campioni concentrati e rieluiti con vari metodi ha mostrato che i trattamenti meccanici di sedimentazione e centrifugazione sono meno lesivi della integrità somatica rispetto ai trattamenti di filtrazione. Tra questi la filtrazione tangenziale (LUPI *et al.*, 1994) è meno aggressiva di quella ortogonale (VOLTERRA *et al.*, 1994), nonostante questa tecnica sia stata usata e, in passato, si trovi riportata in lavori bibliografici (CHANG *et al.*, 1960; THOMBES *et al.* 1979K; MOTT *et al.*, 1983) (Tab. I).

Nella tabella 2 è riportato l'elenco delle specie di nematodi tipici dell'idrobios italiano (ZULLINI, 1982), raggruppate in ordini e sottordini. Nelle acque dolci europee sono state segnalate circa 500 specie di nematodi, ognuna con un proprio ventaglio di esigenze ambientali ed alimentari (ZULLINI, 1982). Pertanto l'elenco delle specie presenti in un dato sito può essere considerato un vettore indicativo dello stato dell'ambiente. Questi organismi possono quindi essere adoperati come bioindicatori.

In base alle attuali conoscenze, la presenza di elementi figurati appare un fenomeno esteso anche alle reti acquedottistiche alimentate da pozzi o sorgenti. L'esame dei fanghi delle vasche di calma presenti all'opera di presa o del periphyton di rivestimento che si forma sui materiali a contatto con l'acqua alla captazione può fornire indicazioni delle potenzialità di insediamento e ipersviluppo in rete. In ogni caso il controllo periodico delle acque e delle pellicole biologiche sviluppate sulle pareti dei serbatoi è una procedura da seguire per prevenire cospicue installazioni in condotta.

#### SIGNIFICATO E SUGGERIMENTI

La presenza di nematodi, almeno nelle acque superficiali, viene riferita come indizio di inquinamento da effluenti di impianti di depurazione (APHA, 1975). In presenza di effluenti di entità rilevante, il riscontro di nematodi anche in assenza di indicatori

**Tab. 2** - Specie di nematodi riferiti come tipici dell'idrobios italiano.

Con l'asterisco sono indicati i taxa rinvenuti nelle acque potabili presenti in ZULLINI, 1982, e che sono stati segnalati anche in DI GIROLAMO *et al.*, 1995; LUPI *et al.*, 1994; QUADRI, 1985; DOMENICHINI & MOLINARI, 1984. I seguenti taxa invece non sono segnalati da ZULLINI, 1982 ma, secondo la letteratura, sono stati rinvenuti nelle acque potabili: RHABDITIDA: *Rhabditis rhabditis*, *Epidorylaimus consobrinus*, *Tylenchina* sp., *Aphelenchina* sp.

TAXA	SPECIE
ARAEOLAIMIDA	<i>Anaplectus granulatus</i> , <i>Anonchus mirabilis</i> , <i>Aphanolaimus aquaticus</i> , <i>Aphanolaimus solitudinis</i> , <i>Chronogaster typica</i> , <i>Paraphanolaimus behningi</i> , <i>Paraplectonema pedunculatum</i> , <i>Plectus acuminatus</i> , <i>Plectus andrassyi</i> , <i>Plectus armatus</i> , <i>Plectus cirratus</i> , <i>Plectus elongatus</i> , <i>Plectus geophilus</i> , <i>Plectus palustris</i> , <i>Plectus parietinus</i> , <i>Plectus parvus</i> , <i>Plectus rhizophilus</i> , * <i>Plectus</i> sp., <i>Plectus tenuis</i> , <i>Rhabdolaimus terrestris</i>
CHROMADORIDA	<i>Achromadora ruricola</i> , <i>Achromadora terricola</i> , <i>Chromadorita leuckartii</i> , <i>Ethmolaimus pratensis</i> , <i>Odontolaimus aquaticus</i> , <i>Odontolaimus chlorosus</i>
DORYLAIMIDA sottordine MONONCHINA	<i>Anatonchus tridentatus</i> , * <i>Mononchus aquaticus</i> , <i>Mononchus truncatus</i> , <i>Mylonchulus cavensis</i> , <i>Mylonchulus sigmaturus</i>
DORYLAIMIDA sottordine DORYLAIMINA	<i>Aporcellaimellus obtusicaudatus</i> , <i>Dorylaimus asymphydorus</i> , <i>Dorylaimus stagnalis</i> , * <i>Eudorylaimus carteri</i> , <i>Eudorylaimus rhopalocercus</i> , <i>Laimydorus centrocercus</i> , <i>Laimydorus pseudostagnalis</i> , <i>Mesodorylaimus aberrans</i> , <i>Oxydirus oxycephaloides</i> , * <i>Paractinolaimus macrolaimus</i> , <i>Thornia steatopyga</i>
ENOPLIDA	<i>Ironus tenuicaudatus</i> , <i>Prismatolaimus intermedius</i> , <i>Stenonchulus troglodytes</i> , <i>Tobrilus allophysis</i> , <i>Tobrilus diversipapillatus</i> , <i>Tobrilus gracilis</i> , <i>Tobrilus grandipapillatus</i> , <i>Tobrilus helveticus</i> , <i>Tobrilus longicauda</i> , <i>Tobrilus pellucidus</i> , <i>Tobrilus stefanski</i> , <i>Tripyla filicaudata</i> , <i>Tripyla glomerans</i> , <i>Trischistoma monohystera</i>
MONYSTERIDA	<i>Monhystera andrassyi</i> , <i>Monhystera dispar</i> , <i>Monhystera filiformis</i> , <i>Monhystera paludicola</i> , <i>Monhystera similis</i> , <i>Monhystera stagnalis</i> , <i>Monhystera villosa</i> , <i>Monhystera vulgaris</i> , <i>Theristus flevensis</i> , <i>Theristus setosus</i>
RHABDITIDA sottordine CEPHALOBINA	<i>Acrobeles ciliatus</i> , <i>Acrobeloides nanus</i> , <i>Cephalobus persegnis</i> , <i>Eucephalobus striatus</i> , <i>Heterocephalobus elongatus</i> , <i>Panagrellus redivivus</i> , <i>Panagrolaimus rigidus</i>
RHABDITIDA sottordine DIPLOGASTRINA	<i>Acrostichus nudicapitatus</i> , <i>Butlerius micans</i> , <i>Diplogaster rivalis</i> , <i>Fictor fictor</i> , <i>Goffartia heteroceri</i> , <i>Goffartia variabilis</i> , <i>Mononchoides pulcher</i> , <i>Mononchoides ruffoi</i> , <i>Oigolaimella agilis</i> , <i>Oligolaimella carinata</i> , <i>Paraigolaimella bernensis</i> , <i>Rhabdontolaimus stigmatus</i>
RHABDITIDA sottordine RHABDITINA	<i>Caenorhabditis elegans</i> , <i>Cephaloboides curvicaudata</i> , <i>Cephaloboides oxycerca</i> , <i>Cruzema tripartita</i> , <i>Diploscapter coronata</i> , <i>Pellioditis dolichura</i> , <i>Pelodera punctata</i> , <i>Protorhabditis filiformis</i> , <i>Rhabditella axei</i> , <i>Rhabditoides inermiformis</i>
RHABDITIDA sottordine TERATOCEPHALINA	<i>Euteratocephalus palustris</i> , <i>Teratocephalus terrestris</i>
TYLENCHIDA	Questo ordine comprende specie terricole o legate all'apparato radicale di piante terrestri. Anche se in molti corpi d'acqua possono rappresentare anche un terzo e più dei nematodi campionabili, la loro presenza va considerata accidentale, dovuta al trascinarsi della pioggia, e comunque estranea alla biocenosi propriamente acquatica (Zullini, 1982)

batterici segnala la presenza dello scarico e quindi della fecalizzazione del sito (APHA, 1975).

Nelle acque condottate la presenza di nematodi può svolgere il ruolo di indicatore di una colonizzazione biologica della rete legata a contaminazioni primarie (immissioni dagli ecotoni sorgivi o dalle biocenosi di acquifero) o secondarie (penetrazioni nelle tubazioni).

In passato l'interesse sui nematodi era scattato

limitatamente all'uso potabile di acque superficiali, per verificare l'efficienza dei sistemi di trattamento (THOMBES *et al.*, 1979; MOTT *et al.*, 1983). Per tutte le acque che attraversano filiere di potabilizzazione l'indagine sistematica dei letti di filtrazione e del contenuto in nematodi delle acque di lavaggio è un mezzo preventivo per fare entrare in funzione sistemi integrativi di bonifica, qualora vengano superate certe soglie di attenzione.

### Bibliografia

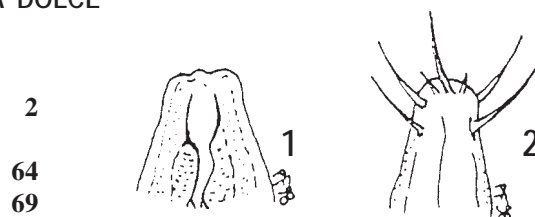
- APHA, AWWA, WPCF, 1975. Standard methods for the examination of water and waste water, Washington D. C. *American Public Health Association*, 1975.
- APHA, AWWA, WPCF, 1995. Standard methods for the examination of water and waste water, Washington D. C. *American Public Health Association*, 1995.
- COBB N. A. 1918. Filter-bed nemas: nematodes of the low filter-beds of American cities. *Contr. Sci. Nematol.* **7**: 189-212.
- CHANG S. L., AUSTIN J. H., POSTON H. W., WOODWART R. L. 1959. Occurrence of a nematode worm in a city water supply. *J. A. W. W. A.* **51**: 671-676.
- CHANG. S. L., BERG G., CLARK N. A., KABER P. W. 1960. Survival and protection against chlorination of human enteric pathogens in free-living nematodes isolated from water supplies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* **9**: 136-142.
- CURDS C. R. 1977. Microbial interactions involving protozoa. *Soc. Appl. Bacteriol.* **6**: 69-105.
- DI GIROLAMO I., BEZZICCHERI G., BONADONNA L., ERCOLESSI M., TROTTA I., OTTAVIANI M. 1995. Nematodi in acque potabili: analisi di un caso italiano. *Ann. Ig.* **7**: 291-299.
- DOMINICHINI G. & MOLINARI F. 1984. Artropodi delle acque potabili. Atti 1° Convegno Accademia Italiana di Entomologia, 1984: 165-185.
- D. P. R. 236/88. Attuazione della direttiva CEE n. 80/778 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano, ai sensi dell'art. 15 della Legge 16 aprile 1987 n. 183. *G. U. Repubblica Ital.*, serie gen., n. **152**, 30/6/1988.
- GALLO L., POLLI P., SARTORI R. 1993. Rapporto sulla presenza di elminti in acque potabilizzate. *Ambiente risorse e salute* **18**: 38-40.
- GERARDI M. H. & GRIMM K. J. 1982. Aquatic invaders. *Water/Engineering & Managment*. Oct. 1982: pag. 22-23.
- GRAY N. F. 1994. Drinking water quality. Problems and solutions. J. Wiley and Son. New York, 315 pp.
- HANEY P. D. 1978. Evaluation microbiological standards for drinking water. *Water Sewage works* **125**: 126-134.
- KING C. H., HOTE E. B. JR., WOOLEY R. E., PORTER K. G., 1988. Survival of coliforms and bacteriological pathogens within protozoa during chlorination. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 3023-3033.
- LANZA B., 1982. Dizionario del Regno Animale. A. Mondadori Eds. pp. 705.
- LEVY R. V., CHEETAM R. D., DAVIS J., WINER D., HART F. L. 1984. Novel method for studying the public health significance of macroinvertebrates occurring in potable water. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 889-894.
- LEVY R. V., HART F. L., CHEETAM R. D. 1986. Occurrence and public health significance of invertebrates in drinking water systems. *J. A. W. W. A.* **78**: 105-110.
- LUPI E., RICCI V., BURRINI D. 1994. Occurrence of Nematodes in surface water used in a drinking water plant. *J. Water STR. - Aqua* **43**: 107-112.
- LUPI E., RICCI V., BURRINI D. 1995. Recovery of bacteria in nematodes isolated from a drinking water supply. *J. Water STR. - Aqua* **44**: 212-218.
- MACKENTHUN K. M. & KEUP L. E. 1970. Biological problems encountered in in water supplies. *J. A. W. W. A.* **62**: 520-526.
- MOTT J. B., MULAMOOTTIL G., HARRISON A. D. 1983. A 13-month survey of nematodes at three water treatment plants in Southern Ontario, Canada. *Wat. Res.* **15**: 729-738.
- NELSSON J. R. 1987. Structural aspects of digestion of *Escherichia coli* in *Tetrahymena*. *J. Protozool.* **34**: 1-6.
- SMERDA S. M., JENSEN H. J., ANDERSON A. W. 1971. Escape of *Salmonellae* from chlorination during ingestion by *Pristionchulus lheritieri* (Nematoda Diplogasterinae). *J. Nematol.* **3**: 201-204.
- TOMBES A. S., ABERNATHY A. R., WELCH D. M., LEWIS S. A. 1979. The relationship between rainfall and nematode density in drinking water. *Wat. Res.* **13**: 619-622.
- VOLTERRA L. 1992. Acque potabili: aspetti gestionali e controllo di qualità. Fossombrone, giugno 1992.
- VOLTERRA L. 1993. Presenza e sopravvivenza di varie forme biologiche in acqua di rete. Convegno Acoser. Bologna, 5 novembre 1993.
- VOLTERRA L., DE MATTIA M., MARINI R., MANCINI L., FAMIGLIETTI T., MIGLIOLA M., FOCCHI RICCI N., TROTTA I., ERCOLESSI M., RICCI-M., ALIQUÒ M. R., BOTTINELLI G., VIGLIONE D., MOLINA M., SPADAFINO L., LOLINI A., SANSONI G. 1990. Microbiologia dell'acqua potabile. I parametri C4 - D.P.R. 25/5/88. *Biol. It.* **20** (7/8): 42-47.
- VOLTERRA L. & SANTAMARIA F. 1993. Nematodi delle acque con particolare riguardo a quelle potabili. *Ing. Amb.* **22**: 200-202.
- VOLTERRA L., BERLOTTI A., GALLO L. 1994. Ecosistema rete. *Ing. Sanit.* 1994 (in stampa).
- W.H.O. 1993. Guidelines of drinking water quality. 2nd ed. Geneve: WHO, 1993
- ZULLINI A. 1982. Nematodi. Guida per il riconoscimento delle specie animali delle acque interne italiane. *CNR AQ/1/190*.



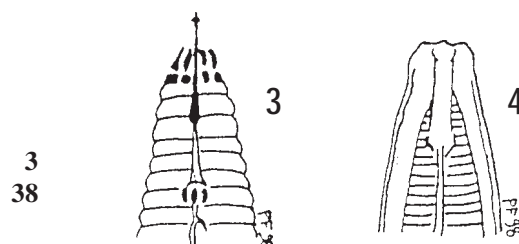
**ALLEGATO 1**

**CHIAVE DI RICONOSCIMENTO DEI NEMATODI DI ACQUA DOLCE**

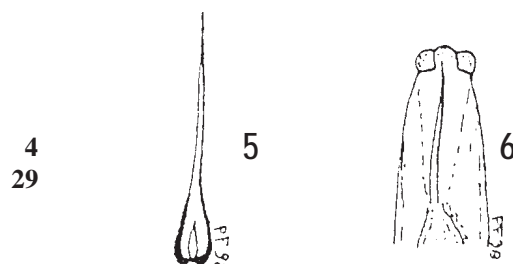
1  
 Setole cefaliche indistinte o assenti (fig. 1)  
 Setole cefaliche assenti, ma presenza di appendici  
 cefaliche simili a setole  
 Setole cefaliche presenti (fig. 2)



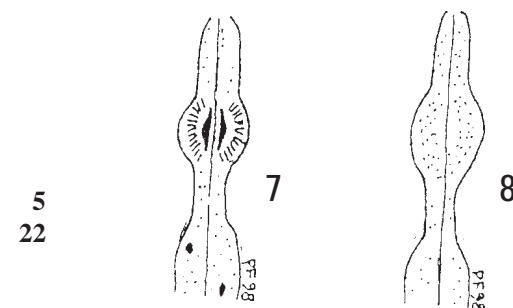
2  
 Stiletto presente (fig. 3)  
 Stiletto assente (fig. 4)



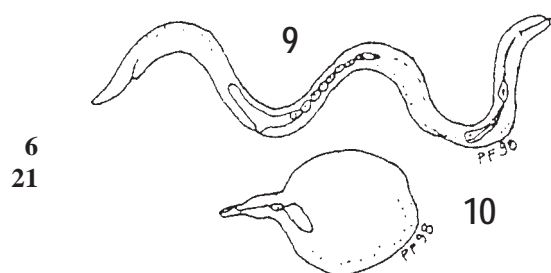
3  
 Base dello stiletto bordata o con protuberanze (fig. 5)  
 Bordo dello stiletto con protuberanze assenti (fig. 6)



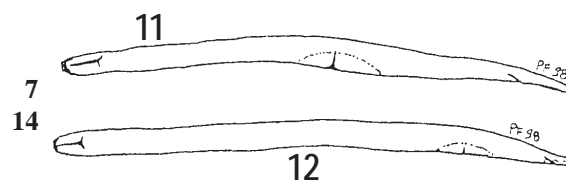
4  
 Bulbo della faringe con valvole (fig. 7)  
 Bulbo della faringe senza valvole (fig. 8)

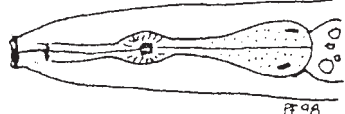
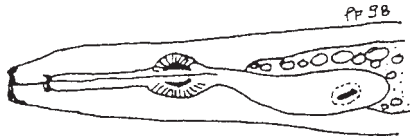


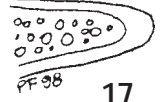

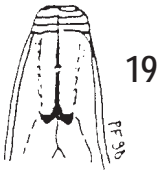



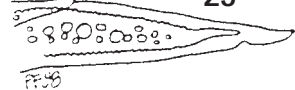

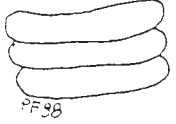


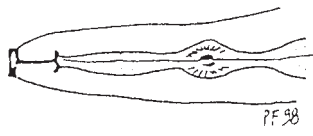
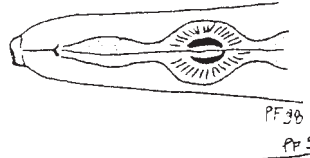

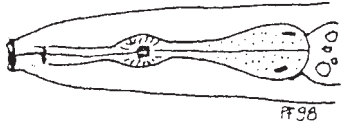
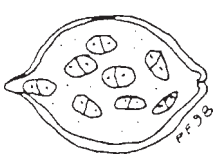



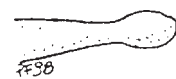
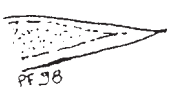
5  
 Femmine anguilliformi (fig. 9)  
 Femmine rigonfie (fig. 10)



6  
 Vagina a metà del corpo (fig. 11)  
 Vagina nell'ultimo terzo del corpo (fig. 12)



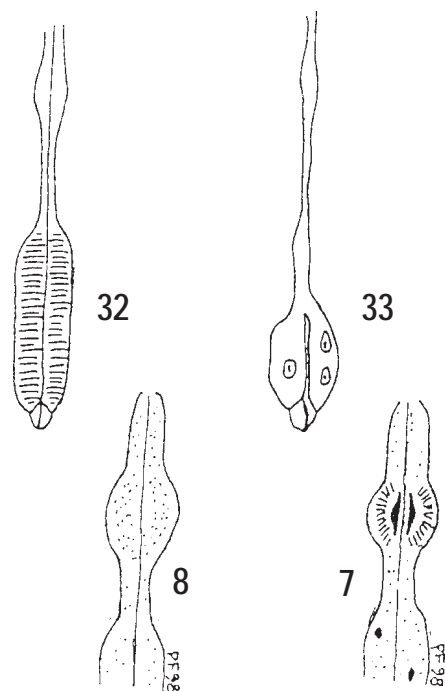
7				13
Esofago non sovrapposto all'intestino (fig. 13)	8			
Esofago sovrapposto all'intestino (fig. 14)	11			14
8				
Stiletto lungo meno di 50 µm	9	<i>Dolichodorus</i>		
Stiletto più lungo di 80 µm				
9				
Parte terminale del corpo appuntita (fig. 15)	10	<i>Tetylenchus</i>		15
Parte terminale del corpo non appuntita				
10				
Parte terminale del corpo globosa (fig. 16)		<i>Psilenchus</i>		16
Parte terminale del corpo mai globosa né appuntita (fig. 17)		<i>Tylenchorhynchus</i>		17
11				
Labbro sporgente (fig. 18)	12			18
Labbro appiattito (fig. 19)	13			19
12				
Stiletto massiccio, lungo 40-50 µm (fig. 20)		<i>Hoploaimus</i>		20
Stiletto sottile, lungo più di 90 µm (fig. 21)		<i>Belonolaimus</i>		21
13				
Corpo lungo 0,5-1 mm; punta del corpo non mucronata		<i>Radopholus</i>		
Corpo lungo 2-3 mm; punta del corpo di solito mucronata		<i>Hirschmanniella</i>		
14				
Cuticola fortemente anulata, stiletto allungato	15			
Cuticola non fortemente anulata, stiletto corto	17			
15				
Rivestimento cuticolare assente (fig. 22)	16	<i>Hemicycliophora</i>		22
Rivestimento cuticolare presente (fig. 23)				23
16				
Anelli con spine cuticolari presenti (fig. 24)		<i>Criconema</i>		24
Anelli lisci, senza spine cuticolari (fig. 25)		<i>Criconemoides</i>		25

17	Posizione a corpo morto allungata Posizione a corpo morto a spirale	<b>18</b> <i>Helicotylenchus</i>		<b>26</b>
18	Bulbo della faringe distinto ma non pronunciato (fig. 26) Bulbo della faringe ben sviluppato (fig. 27)	<b>19</b> <i>Aphelenchoides</i>		<b>27</b>
19	Esofago sovrapposto all'intestino (fig. 14) Esofago non sovrapposto all'intestino (fig. 13)	<b>20</b> <i>Titylenchus</i>		<b>14</b>
20	Bulbo e valvole piccoli; stiletto di solito gracile Bulbo, valvole e stiletto ben sviluppati; labbro appiattito	<i>Ditylenchus</i> <i>Pratylenchus</i>		<b>13</b>
21	Femmine con corpo soffice, bianco, con uova interne scarse o assenti Femmina con corpo in una cisti rigida di color marrone, di solito con molte uova interne (fig. 28)	<i>Meloidogyne</i> <i>Heterodera</i>		<b>28</b>
22	Stiletto corto (meno di 100 µm) Stiletto lungo (più di 100 µm)	<b>23</b> <i>Xiphinema</i>		
23	Stiletto complesso Stiletto semplice	<b>24</b> <b>25</b>		
24	Stiletto con parte anteriore ad arco Stiletto con parte dorsale ispessita	<i>Diphtherophora</i> <i>Tylencholaimellus</i>		<b>29</b>
25	Protuberanze dello stiletto allungate (fig. 29) Protuberanze dello stiletto arrotondate (fig. 30)	<b>26</b> <b>27</b>		<b>30</b>
26	Parte finale del corpo filiforme (fig. 31) Parte finale del corpo arrotondata (fig. 16)	<i>Autolaimoides</i> <i>Enchodelus</i>		<b>31</b>
27	Parte finale del corpo arrotondata (fig. 16) Parte finale del corpo appuntita (fig. 15)	<b>28</b> <i>Nothotylenchus</i>		<b>16</b>
				<b>15</b>



28  
Base dell'esofago allungata (fig. 32)  
Base dell'esofago ovale (fig. 33)

*Tylencholoaimus*  
*Doryllium*

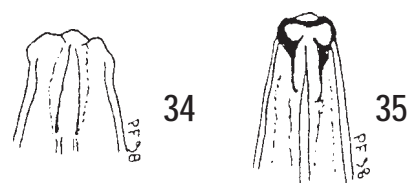


29  
Valvole del bulbo faringeo assenti (fig. 8)  
Valvole del bulbo faringeo presenti (fig. 7)

30  
37

30  
Pareti della cavità boccale non ricoperte di cuticola (fig. 34)  
Pareti della cavità boccale ricoperte di cuticola (fig. 35)

*Actinolaiminae*



31  
Esofago con parte basale ingrossata  
Esofago uniforme

32  
*Oionchus*

32  
Quarto o quinto posteriore dell'esofago ingrossato  
e a forma di bulbo ovale  
Terzo posteriore dell'esofago ingrossato

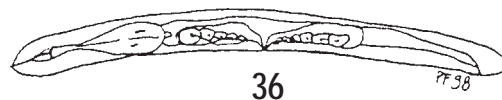
33  
36

33  
Stiletto in asse e posizionato al centro  
Stiletto non in asse, originantesi da un dente della cavità boccale

34  
*Campydora*

34  
Gonadi appaiate; vagina di solito vicina  
al centro del corpo (fig. 36)  
Gonade singola posteriore alla vagina;  
vagina anteriore al centro del corpo


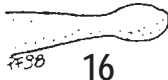
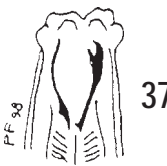
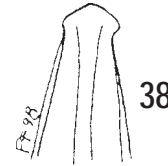
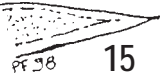


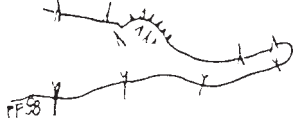


35  
*Tyleptus*



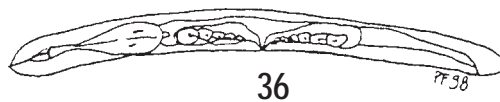
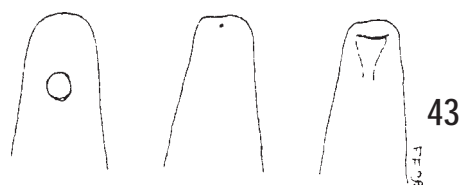
35  
Stiletto sottile (fig. 21)  
Stiletto non sottile (fig. 20)

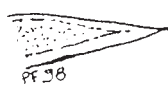
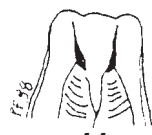
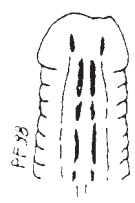
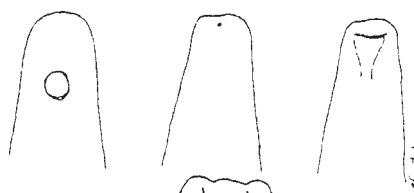


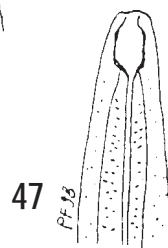


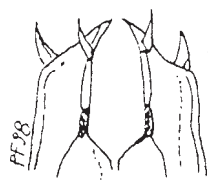

*Leptonchus*  
*Dorylaimoides*



36	Stiletto in asse ed in posizione centrale	<b>Dorylaiminae</b>	
	Stiletto non in asse, originantesi da un dente della cavità boccale	<i>Nygolaimus</i>	
37	Parte terminale del corpo appuntita (fig. 15)	<i>Seinura</i>	
	Parte terminale del corpo arrotondata (fig. 16)	<i>Aphelenchus</i>	
38	Denti presenti e prominenti (fig. 37)	<b>39</b>	
	Denti assenti, piccoli e indistinti (fig. 38)	<b>50</b>	
39	Esofago senza espansione nella regione media	<b>40</b>	
	Esofago espanso nella regione media	<b>49</b>	
40	Parte terminale del corpo appuntita o affusolata (fig. 15)	<b>41</b>	
	Parte terminale del corpo arrotondata (fig. 16)	<b>47</b>	
41	Parte terminale del corpo del maschio senza setole (fig. 39)	<b>42</b>	
	Parte terminale del corpo del maschio con setole (fig. 40)	<i>Oncholaimus</i>	
42	Cavità boccale provvista di dentelli (fig. 41)	<b>43</b>	
	Cavità boccale sprovvista di dentelli (fig. 42)	<b>45</b>	
43	Dentelli sparsi o posti in file longitudinali	<b>44</b>	
	Dentelli posti in file trasversali	<i>Mylonchulus</i>	
44	Dentelli posti su una nervatura longitudinale nella cavità boccale	<i>Prionchulus</i>	
	Dentelli sparsi nella cavità boccale	<i>Sporonchulus</i>	
45	Dente rivolto anteriormente	<b>46</b>	
	Dente rivolto posteriormente	<i>Anatonchus</i>	
46	Dente nella parte basale della cavità orale	<i>Iotonchus</i>	
	Dente nella parte anteriore della cavità orale	<i>Mononchus</i>	

47		
Cavità orale con un dente apicale o mediale prominente	<b>48</b>	
Cavità orale con piccoli denti basali		<b><i>Bathyodontus</i></b>
48		
Cavità orale con 3 denti, senza piccoli denti basali; ghiandole caudali che si aprono terminalmente		<b><i>Enoplocheilus</i></b>
Cavità orale con dente anteriore largo e con piccoli denti basali; ghiandole caudali che si aprono ventralmente		<b><i>Mononchulus</i></b>
49		
Regione labiale con un'armatura a forma di "nervatura"		<b><i>Mononchoides</i></b>
Regione labiale senza un'armatura a forma di "nervatura"		<b><i>Diplogaster</i></b>
50		
Esofago con espansione basale	<b>51</b>	
Esofago cilindrico	<b>60</b>	
51		
Esofago senza l'espansione nella regione mediana	<b>52</b>	
Esofago con espansione mediana	<b>55</b>	
52		
Anfidi distinti (fig. 43)	<b>53</b>	
Anfidi indistinti	<b>54</b>	
53		
Pareti della cavità orale anteriormente rigonfie e con denti minuti		<b><i>Microlaimus</i></b>
Pareti della cavità orale senza denti e con lati dritti e appuntiti		<b><i>Leptolaimus</i></b>
54		
Cavità orale con 3 ispessimenti bastoncelliformi		<b><i>Rhabdolaimus</i></b>
Cavità orale senza ispessimenti bastoncelliformi		<b><i>Monochromadora</i></b>
55		
Gonadi appaiate (fig. 36)	<b>56</b>	
Gonade singola	<b>58</b>	
56		
Pareti della cavità orale diritte, "amalgamate"	<b>57</b>	
Pareti della cavità orale separate, non diritte		<b><i>Alloionema</i></b>
57		
Metacorpo moderatamente dilatato; cavità orale non troppo allungata		<b><i>Rhabditis</i></b>
Metacorpo cilindrico e allungato; cavità orale allungata		<b><i>Cylindrocorpus</i></b>



58	Parte terminale del corpo appuntita (fig. 15)				
	Parte terminale del corpo bruscamente conica	<b>59</b>	<i>Cephalobus</i>		
59	Parte anteriore della cavità orale allargata (fig. 44)		<i>Panagrolaimus</i>		
	Cavità orale stretta (fig. 45)		<i>Eucephalobus</i>		
60	Cavità orale assente o indistinta	<b>61</b>			
	Cavità orale distinta	<b>63</b>			
61	Regione labiale stretta, dente assente	<b>62</b>			
	Regione labiale allargata, denticoli piccoli nella cavità orale		<i>Trypila</i>		
62	Apertura degli anfidri a forma di larga fessura (fig. 43)		<i>Amphidelus</i>		
	Apertura degli anfidri a forma di piccolo poro (fig. 44)		<i>Alaimus</i>		
63	Cavità orale lunga e stretta (fig. 46)		<i>Cryptonchus</i>		
	Cavità orale ampia e poco profonda (fig. 47)		<i>Bathyonchus</i>		
64	Corpo simmetrico	<b>65</b>			
	Corpo asimmetrico portante una serie di protuberanze su un lato		<i>Bunonema</i>		
65	Appendici labiali non complesse (fig. 48)	<b>66</b>			
	Appendici labiali complesse (fig. 49)	<b>68</b>			
66	Appendici laterali delle labbra a forma di spina e dirette lateralmente		<i>Diploscapter</i>		
	Appendici laterali delle labbra non a forma di spina e dirette lateralmente	<b>67</b>			
67	Papille o setole a forma di spina (fig. 50)		<i>Macrolaimus</i>		
	Appendici delle labbra "pendenti" e appuntite anteriormente		<i>Teratocephalus</i>		
68	Appendici delle labbra biforcute e frangiate complessivamente (fig. 49)		<i>Acrobeles</i>		
	Appendici delle labbra membranose e a forma di ali		<i>Wilsonema</i>		

69  
 Setole post-cefaliche assenti **70**  
 Setole post-cefaliche presenti **92**

70  
 Stiletto assente **71**  
 Stiletto presente **91**

71  
 Denti assenti, piccoli o indistinti **72**  
 Denti di solito presenti, prominenti **85**

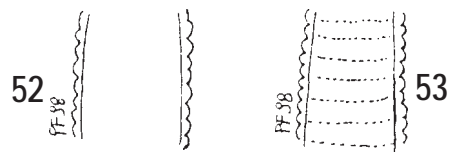
72  
 Esofago con espansioni basali **73**  
 Esofago cilindrico **82**

73  
 Anfidi ovali, a spirale o a forma di staffa (fig. 51) **74**  
 Anfidi circolari **80**



74  
 Anfidi a spirale **75**  
 Anfidi non a spirale **79**

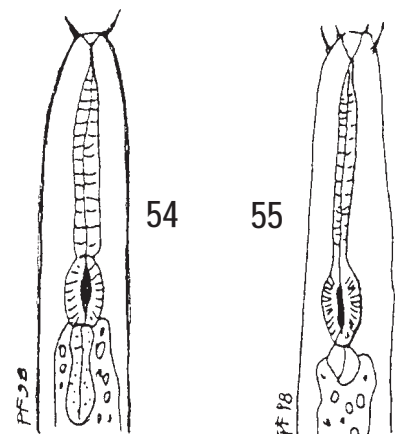
75  
 Punteggiatura cuticolare assente (fig. 52) **76**  
 Punteggiatura cuticolare presente (fig. 53) **78**



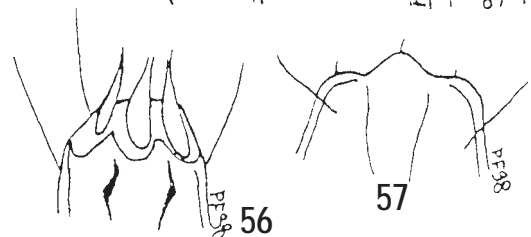
76  
 Bulbo esofageo senza valvole **77**  
 Bulbo esofageo con valvole **77**

*Plectus & Anaplectus*

77  
 Valvola esofago-intestinale allungata (fig. 54) *Paraplectonema*  
 Valvola esofago-intestinale raccorciata (fig. 55) *Paraphanolaimus*



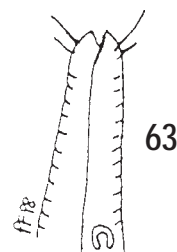
78  
 Regione labiale espanse (fig. 56) *Euteratocephalus*  
 Regione labiale non espanse (fig. 57) *Ethmolaimus*



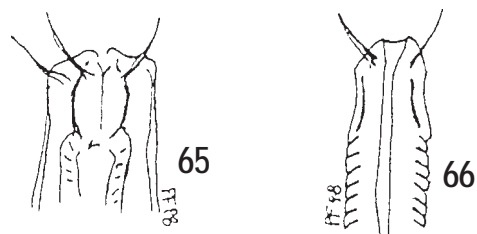
79  
Anfidi ovali *Greenenema*  
Anfidi a forma di staffa *Chronogaster*

80  
Valvola esofago-intestinale raccorciata **81**  
Valvola esofago-intestinale allungata *Desmolaimus*

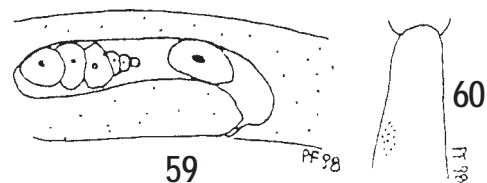
81  
Poro escretore e grande ghiandola  
escretrice presenti (fig. 63) *Domorganus*  
Poro escretore e grande ghiandola  
escretrice assenti *Monhystera*



82  
Cavità orale ampia e poco profonda, cospicua; (fig. 65)  
parte finale del corpo filiforme *Prismatolaimus*  
Cavità orale stretta, allungata, incospicua (fig. 66) **83**



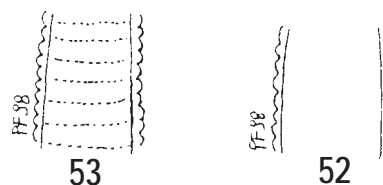
83  
Gonade singola (fig. 59) *Cylindrolaimus*  
Gonadi appaiate (fig. 60) **84**



84  
Anfidi incospicui *Tripyla*  
Anfidi cospicui *Aphanolaimus*

85  
Quinto o sesto terminale dell'esofago a forma di bulbo ovale **86**  
Esofago cilindrico; cavità orale con grossi denti *Ironus*

86  
Punteggiatura cuticolare presente (fig. 53) **87**  
Punteggiatura cuticolare assente (fig. 52) **89**

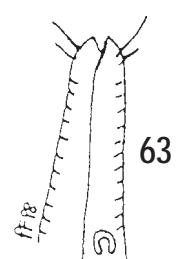
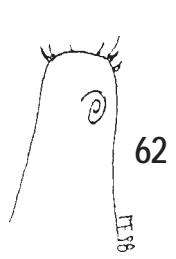
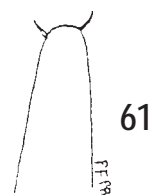
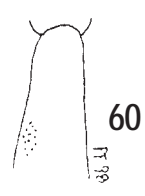
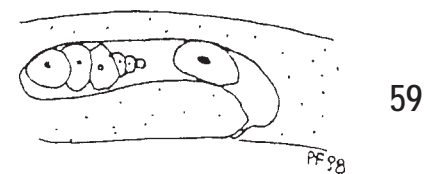
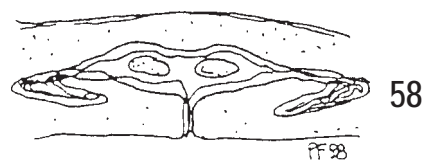


87  
Anfidi non a spirale **88**  
Anfidi a spirale *Achromadora*

88  
Presenza di 4 file longitudinali di ispessimenti cuticolari *Chromadora*  
Assenza di file longitudinali di ispessimenti cuticolari *Prochromadorella*



89		
Anfidi distinti	<b>90</b>	
Anfidi indistinti	<i>Butleirus</i>	
90		
Gonade femminile doppia; anfidi ad uncino (fig. 58)	<i>Anonchus</i>	
Gonade femminile singola; anfidi circolari (fig. 59)	<i>Monhystrella</i>	
91		
Regione labiale anulata, non "in rilievo"	<i>Atylenchus</i>	
Regione labiale liscia, "in rilievo"	<i>Eutylenchus</i>	
92		
Esofago con espansione basale	<b>93</b>	
Esofago cilindrico	<b>98</b>	
93		
Punteggiatura cuticolare presente; anfidi non circolari	<b>94</b>	
Punteggiatura cuticolare potrebbe essere presente; anfidi circolari	<b>97</b>	
94		
Ocelli presenti (fig. 60)	<b>95</b>	
Ocelli assenti (fig. 61)	<b>96</b>	
95		
Cavità orale con 3 denti di uguali dimensioni	<i>Chromadorina</i>	
Cavità orale con almeno un grosso dente	<i>Punctodora</i>	
96		
Cuticola con file laterali longitudinali di punteggiature	<i>Hypodontolaimus</i>	
Cuticola senza differenziazioni laterali	<i>Chromadorita</i>	
97		
Bulbo esofageo con valvole	<i>Prodesmodora</i>	
Bulbo esofageo senza valvole	<i>Odontolaimus</i>	
98		
Anfidio posto anteriormente nel corpo (fig. 62)	<b>99</b>	
Anfidio posto posteriormente nel corpo (fig. 63)	<i>Bastiania</i>	
99		
Anfidio a spirale	<i>Paracyatholaimus</i>	
Anfidio a coppa o poco evidente ("scuro")	<b>100</b>	
100		
Denti della cavità stomale grossi	<i>Oncholaimus</i>	
Denti della cavità stomale piccoli	<i>Tobrilus</i>	



## ALLEGATO 2

CHIAVE ANALITICA PER IL RICONOSCIMENTO  
DEGLI ORDINI E SOTTORDINI DEI NEMATODI ITALIANI

1	Stiletto boccale a lume sottilissimo e con 3 nocche emisferiche basali più o meno evidenti	<b>TYLENCHIDA</b>	
	Apparato boccale di altro tipo		<b>2</b>
2	Cavità boccale priva di stiletto		<b>3</b>
	Cavità boccale con stiletto a lume più o meno ampio e privo di nocche basali	<b>DORYLAIMIDA</b> sottordine <b>DORYLAIMINA</b>	
3	Anfidio solitamente ben visibile, a forma circolare, ellittica o a spirale		<b>4</b>
	Anfidio solitamente poco visibile, a forma di tasca o di poro, o non visibile		<b>7</b>
4	Ovario prodelfo; distanza della vulva dall'estremità anteriore del corpo (espressa in percentuale della lunghezza corporea) quasi sempre maggiore a 60%; esofago cilindrico e muscoloso	<b>MONYSTERIDA</b>	
	Ovari di regola anfidelfi; distanza della vulva dall'estremità anteriore del corpo (espressa in percentuale della lunghezza corporea) inferiore a 60%; esofago non cilindrico (talora cilindroide, ma esile e difficilmente distinguibile dall'intestino)		<b>5</b>
5	Bocca priva di dentelli	<b>ARAEOLAIMIDA</b> (tranne il genere <i>Rhabdolaimus</i> )	
	Bocca con uno o più dentelli		<b>6</b>
6	Sete cefaliche assenti; lunghezza totale del corpo inferiore a 0,5 mm; tubo boccale lungo e sottile con tre dentelli anteriori; anfidio difficilmente visibile	<b>ARAEOLAIMIDA</b> (solo il genere <i>Rhabdolaimus</i> )	
	Sete cefaliche presenti; cavità boccale di altro tipo	<b>CHROMADORIDA</b>	
7	Esofago allargato posteriormente in un bulbo		<b>8</b>
	Esofago cilindrico		<b>1</b>
8	Tubo boccale composto da più pezzi cilindrici sovrapposti; esofago privo o quasi di rigonfiamento mediano; maschi senza borsa copulatrice		<b>9</b>
	Cavità boccale fatta di un unico tubo oppure ampia e munita di dentelli; esofago con rigonfiamento mediano o con bulbo mediano		<b>10</b>
9	Capo fortemente marcato da 6 incisure; ovario prodelfo o anfidelfo	<b>RHABDITIDA</b> sottordine <b>TERATOCEPHALINA</b>	
	Capo non inciso, o recante tre appendici più o meno sviluppate; ovario prodelfo	<b>RHABDITIDA</b> sottordine <b>CEPHALOBINA</b>	
10	Cavità boccale tubolare; a metà esofago vi è un rigonfiamento ma non un vero bulbo; maschi con borsa copulatrice	<b>RHABDITIDA</b> sottordine <b>RHABDITINA</b>	
	Cavità boccale tubolare o ampia e munita di denti; esofago con due bulbi: uno mediano muscolare e con apparato valvolare, ed uno terminale ghiandolare; borsa copulatrice assai ridotta o assente	<b>RHABDITIDA</b> sottordine <b>DIPLOGASTRINA</b>	
11	Setole cefaliche presenti	<b>ENOPLIDA</b>	
	Setole cefaliche assenti	<b>DORYLAIMIDA</b> sottordine <b>MONONCHINA</b>	