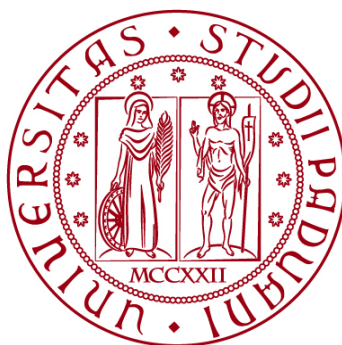


UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA

Corso di Laurea magistrale in Scienze della Natura



TESI DI LAUREA

**Possibile impiego dei coleotteri cetonini nell'ottica della
produzione di mangimi o di alimenti a partire da scarti di
origine vegetale**

Relatore: Prof. Luca Mazzon

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente

Correlatori: Prof. Andrea Squartini

Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente

Dott. Enzo Moretto

Museo Esapolis - Associazione Kheprica e Butterfly Arc Srl

Laureando: Martin Vincent Strazzacappa

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

Sommario

Introduzione.....	5
1. Evoluzione e scenario attuale dell'entomofagia nel mondo	7
1.1 La necessaria ricerca di nuove fonti di cibo.....	7
1.2 Impatto ambientale	9
1.3 Entomofagia umana.....	11
1.4 La normativa europea.....	12
1.5 Gli allevamenti in Asia.....	15
1.5.1 Grilli	15
1.5.2 Punteruolo rosso della palma	17
1.5.3 <i>Protaetia brevitarsis</i> e la situazione nella Corea del Sud....	19
1.6 I cetonini	21
1.7 Obiettivi di questo lavoro	22
2. Materiali e metodi	23
2.1 La scelta del soggetto della sperimentazione	23
2.2 Commenti sugli allevamenti	26
2.3 La scelta del substrato	33
2.3.1 Compost di origine vegetale	34
2.3.2 Substrato ottimale	35
2.3.3 Altri substrati.....	35
2.4 Schema sperimentale	36
2.4.1 Operazioni riguardanti le larve	37
2.4.2 Operazioni riguardanti il substrato	38
2.4.3 Campioni raccolti	39
3. Risultati	43
3.1 Misurazione delle larve.....	43
3.2 Analisi chimiche dei substrati di controllo.....	46
3.3 Analisi chimiche dei substrati di allevamento	47
3.3.1 <i>Protaetia speciosissima</i>	47
3.3.2 <i>Pachnoda aemula</i>	50
3.4 Composizioni nutrizionali delle larve.....	53
3.4.1 <i>Protaetia speciosissima</i>	54

3.4.2	<i>Pachnoda aemula</i>	57
3.4.3	<i>Protaetia brevitarsis</i>	59
3.5	Composizione amminoacidica	60
3.6	Profilo degli acidi grassi.....	63
4.	Conclusione	67
	Bibliografia.....	70
	Sitografia.....	77

Introduzione

Con la crisi climatica e la progressiva scomparsa di ecosistemi naturali si vede sempre più urgente la ricerca di fonti alternative di alimenti a basso impatto ambientale.

Nell'ottica di una economia circolare il nostro obiettivo è l'utilizzo di scarti vegetali che all'origine hanno elevati contenuti di emicellulose, cellulose e lignina, come resti di patate verdi, per allevare larve di cetonini come fonte di proteine e acidi grassi per la produzione di mangimi ed eventualmente per il consumo umano.

La realizzazione del progetto ha avuto sede nel museo Esapolis, il quale ha fornito tutta l'attrezzatura necessaria nonché lo spazio entro il quale è stato allestito il laboratorio.

Gli obiettivi principali di questo lavoro sono essenzialmente due:

1. Fare un confronto tra un allevamento di larve di cetonini in un substrato ottimale e uno in compost di scarti vegetali di giardinaggio. I parametri interessati saranno il tasso di sopravvivenza delle larve, le loro dimensioni, e infine l'accumulo di proteine e acidi grassi.
2. Analizzare la qualità del substrato dopo l'allevamento delle larve in termini di nutrienti utili per la concimazione di piante.

Le analisi chimiche su substrati e larve sono state condotte dal laboratorio di chimica del Dipartimento di Agronomia, Animali, Alimenti, Risorse naturali e Ambiente (DAFNAE).

Questo progetto è iniziato nella primavera del 2022 e si è protratto per tutto l'anno fino alla fine dell'estate del 2023.

Nel primo capitolo verrà fatta una panoramica sullo stato attuale dell'entomofagia nel mondo e la sua evoluzione. Verranno considerati l'impatto ambientale delle tecniche di allevamento, i loro costi e guadagni, aspetti culturali, regolamenti e normative, in Asia ed Europa.

Nel secondo capitolo sarà illustrato lo sviluppo di questo progetto, dalle difficoltà affrontate per allevare cetonini selvatici in cattività fino ai fattori che hanno portato alla scelta di allevare *Protaetia speciosissima*. La scelta e la preparazione dei substrati è stato un aspetto non meno importante dato che questi hanno dei criteri normativi da rispettare perché siano utilizzabili.

Il terzo capitolo sarà la vetrina dove i risultati delle analisi chimiche di substrati e larve saranno esposti e commentati. Si cercherà sempre di confrontare le proprietà nutrizionali delle larve allevate con altre fonti di cibo come carne da allevamenti tradizionali e insetti.

Infine, nell'ultimo capitolo verranno commentati i risultati ottenuti da questo lavoro e saranno fatte osservazioni e ipotesi che possano contestualizzarli.

1. Evoluzione e scenario attuale dell'entomofagia nel mondo

1.1 La necessaria ricerca di nuove fonti di cibo

Nell'attuale contesto di crescita demografica e di consumo di proteine animali, la pratica dell'entomofagia, ossia il consumo di insetti, emerge come un'alternativa promettente per affrontare le sfide alimentari e ambientali globali. Dall'anno 1961 al 2009, il consumo medio di carne pro capite a livello mondiale è raddoppiato, passando da 23 a 42 kg (Grafico 1). Considerando che nello stesso periodo la popolazione mondiale è passata da circa tre miliardi a sette miliardi di persone, la domanda complessiva di carne è aumentata addirittura di quattro volte in soli cinquant'anni (Weis, 2013).

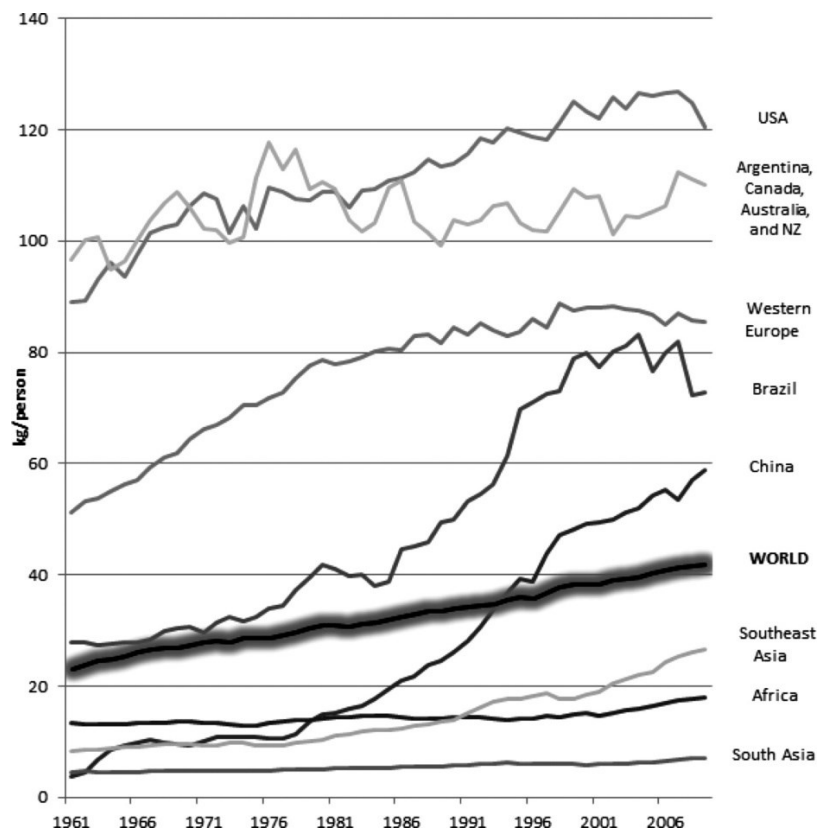


Grafico 1 - Consumo di carne per capita (Weis, 2013)

Tuttavia, questo incremento nella domanda di proteine animali è geograficamente diseguale. Nel 2009, le regioni temperate dell'Emisfero Settentrionale, che ospitano paesi industrializzati come gli Stati Uniti, l'Australia, la Nuova Zelanda, l'Argentina, il Canada e l'Est Europa, consumavano il 30% della produzione mondiale di carne, nonostante rappresentassero solo il 12% della popolazione globale. Questi paesi sviluppati, inoltre, contribuivano per il 34% alla produzione mondiale di carne e per il 68% alle esportazioni (Grafico 2). Al contrario, l'Asia (esclusa la Cina) e l'Africa, regioni che ospitano circa la metà della popolazione mondiale, avevano un consumo pro capite di soli 18 kg e 7 kg di carne rispettivamente (Weis, 2013; FAO, 2009).

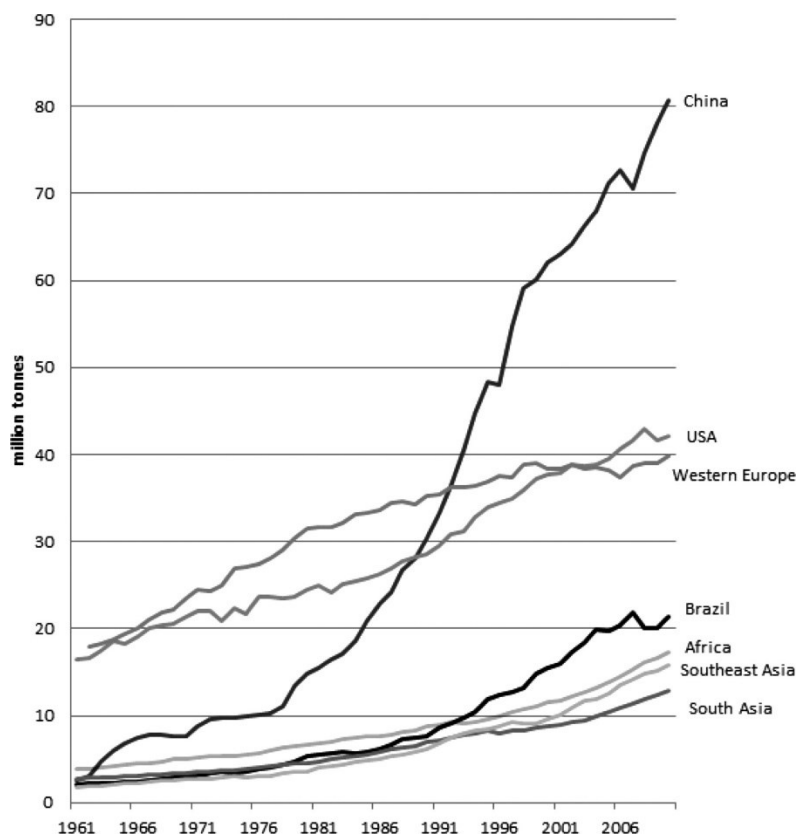


Grafico 2 - Produzione globale di carne (Weis, 2013)

L'attuale trend di consumo di carne proietta un'ulteriore crescita del 76% nella domanda mondiale di proteine animali dal 2005 al 2050 (Alexandratos *et al.*, 2012). Questa prospettiva presenta gravi implicazioni ambientali. L'allevamento di animali, specialmente di ruminanti, contribuisce per il 18% alle emissioni globali di gas serra derivanti dai principali settori di monitoraggio ambientale, ovvero energia, industria, rifiuti, utilizzo del suolo e agricoltura. L'impatto dell'allevamento di animali contribuisce addirittura quasi all'80% di tutti i gas serra emessi dal settore agricolo, a causa della coltivazione di soia e altri cereali destinati alla produzione di mangimi (Steinfeld *et al.*, 2006).

In questo contesto, si aggiunge la destinazione di una quota significativa del raccolto di cereali alla produzione di biocarburanti. Ad esempio, negli Stati Uniti, due quinti della produzione di mais vengono utilizzati per la produzione di etanolo (Weis, 2013, p. 66). Questo cambio di priorità nell'agricoltura ha portato a significative fluttuazioni nei prezzi dei prodotti alimentari nel 2008, precludendo alla "crisi alimentare globale" predetta nel 1972 nel "Rapporto sui limiti dello sviluppo" di Donella Meadows, Dennis Meadows, Jørgen Randers e William W. Behrens III.

Di fronte a questa insostenibilità degli allevamenti intensivi e delle coltivazioni a loro sostegno, è urgente trovare una fonte alternativa di proteine che sia economica e a basso impatto ambientale. Una potenziale soluzione potrebbe essere già presente da millenni nella dieta umana: gli insetti commestibili (Van Huis *et al.*, 2013).

1.2 Impatto ambientale

Per realizzare un'analisi comprensiva e obiettiva dell'impatto ambientale degli allevamenti di insetti, Halloran *et al.* (2016) hanno proposto di applicare Life Cycle Assessment (LCA) standardizzati a ogni specie di insetto allevata. Questo metodo permette di valutare l'intero processo produttivo, inglobando non solo l'allevamento in sé ma anche fattori complementari come la gestione dei rifiuti e il trasporto dei materiali. I risultati sono successivamente utilizzati per esaminare un'ampia varietà di categorie di impatto, quali cambiamento climatico, consumo di risorse, potenziale di arricchimento di nutrienti, potenziale di acidificazione, e impatti sul consumo di terra e acqua. Di conseguenza, gli allevamenti di insetti possono essere confrontati efficacemente con gli allevamenti tradizionali.

Diversi studi hanno evidenziato i vantaggi dell'allevamento di insetti rispetto alle pratiche tradizionali. Ad esempio, la produzione di *Tenebrio molitor* e *Zophobas morio* genera meno gas serra e utilizza meno suolo rispetto alle convenzionali fonti proteiche come manzo, latte, pollo e maiale, benché il consumo energetico sia comparabile. Analogamente, gli allevamenti di *Acheta domestica* in Thailandia hanno mostrato risultati simili rispetto a quelli del pollo. In termini di conversione di rifiuti biologici, l'utilizzo di insetti, in particolare *Hermetia illucens*, ha dimostrato una maggiore efficienza, producendo 47 volte meno emissioni di gas serra rispetto al compostaggio all'aperto (Nikkah *et al.*, 2021).

Impact category	Unit	Quantity		
		Per kg biomass	Per kg protein	Per kg fat
Global warming	kg CO ₂ eq	8.05	15.93	59.60
Non-renewable energy	MJ primary	32.46	64.63	241.75
Ozone layer depletion	kg CFC-11 eq	1.58×10^{-7}	3.12×10^{-7}	1.17×10^{-6}
Aquatic eutrophication	kg PO ₄ P-lim	2.76×10^{-4}	5.46×10^{-4}	2.04×10^{-3}
Ionizing radiation	Bq C-14 eq	59.74	118.29	442.49
Carcinogens	kg C ₂ H ₃ Cl eq	0.05	0.09	0.35
Aquatic acidification	kg SO ₂ eq	0.01	0.01	0.04
Respiratory organics	kg C ₂ H ₄ eq	0.001	0.002	0.007
Non-carcinogens	kg C ₂ H ₃ Cl eq	0.02	0.04	0.15
Terrestrial acid/nutri	kg SO ₂ eq	0.03	0.05	0.20
Respiratory inorganics	kg PM _{2.5} eq	1.68×10^{-3}	3.33×10^{-3}	1.25×10^{-2}
Aquatic ecotoxicity	kg TEG water	-312.47	-618.75	-2314.60
Mineral extraction	MJ surplus	-0.04	-0.07	-0.26
Terrestrial ecotoxicity	kg TEG soil	-136.46	-270.21	-1010.78
Land occupation	m ² org.arable	-0.10	-0.20	-0.75

Tabella 1 - LCU per 15 categorie di impatto ambientale da allevamento di *Protaetia brevitarsis* in Corea del Sud. I valori positivi indicano un impatto, mentre quelli negativi un risparmio (Nikkah *et al.*, 2013).

Nel caso di *Protaetia brevitarsis* Lewis, Nikkah *et al.* (2021) ha condotto un LCA sugli allevamenti di questo scarabeo come riferimento per gli allevamenti di piccola scala (risultati in Tabella 1). Dallo studio è emerso che la produzione di un chilogrammo di insetto essiccato in Repubblica di Corea è meno impattante in quattro categorie di impatto ambientale (uso del suolo, estrazione minerale, ecotossicità acquatica e terrestre) rispetto agli allevamenti convenzionali (per un confronto vedi Tabella 2). Questo vantaggio è stato attribuito anche al riutilizzo di rifiuti biologici provenienti da altri impianti agroalimentari, come scarti della produzione di funghi (Wei *et al.*, 2020) e bucce di banana che vengono impiegati per il mantenimento degli insetti, che sarebbero altrimenti smaltiti in discariche o impianti di compostaggio.

Impact	Units	Phase								Total beef value chain
		Feed	Cow-calf	Finish	Packing	Case ready	Retail	Consumer	Restaurant	
Global warming potential	kg CO ₂ eq/CB	7.42	28.51	6.39	0.55	0.27	0.46	2.01	2.83	48.4
Cumulative energy demand	MJ/CB	988.0	11.6	6.0	11.4	8.3	6.6	29.3	48.4	1110
Ozone depletion potential	µg CFC ₁₁ eq/CB	121.4	0.1	1.4	36.9	336.6	180.7	0.9	1008	1686
Acidification potential	g SO ₂ eq/CB	127.4	359.2	210.7	2.6	1.7	2.3	7.8	13.9	726
Abiotic depletion potential	mg Ag eq/CB	1.51	3.95	2.68	0.24	0.16	0.14	0.59	1.01	10.3
Consumptive water use	L eq/CB	2506	11.9	11.2	3.7	1.9	1.7	6.8	14.0	2558
Human toxicity potential	norm.tox.pts.	0.93	0.034	0.027	0.003	0.002	0.001	0.001	0.002	1.0
Absolute consumptive water use	L abs./CB	5023	23.9	22.5	7.5	3.9	3.4	13.7	28.1	5126
Photochemical ozone creation potential	g C ₂ H ₄ eq/CB	136.9	6.8	1.8	0.2	0.2	0.1	0.2	0.4	146.5
Solid wastes	g municipal waste eq/CB	91.3	101.4	21.5	45.1	7.0	10.1	25.3	67.3	369
Water emissions	L diluted water eq/CB	6127	17.9	2.4	126.1	484.9	2.2	198.8	45.9	7005
Land use	m ² a eq/CB	45.8	0.3	0.7	0.1	0.2	0.0	0.1	0.2	47.4

Tabella 2 - LCA calcolato per un Kg di carne di manzo negli USA (Asem-Hiablie *et al.*, 2018).

Ulteriore vantaggio in termini di economia circolare è che i rifiuti derivanti dagli allevamenti di insetti possono essere trasformati in concimi e ammendanti di alta qualità. Ad esempio, i pellet fecali di *Protaetia brevitarsis* hanno contribuito a una crescita migliore di piante di lattuga (Joung *et al.*, 2022a) e di peperone (Joung *et al.*, 2022b). In un confronto tra il pellet fecale prodotto da *Protaetia cuprea* e il vermicompost (prodotto di compostaggio realizzato con lombrichi), il primo ha mostrato prestazioni superiori per quanto riguarda materia organica, azoto, fosforo e potassio (Babarabie *et al.*, 2018).

Un aspetto critico da considerare è il consumo di energia elettrica necessario, tra le altre cose, per mantenere la temperatura costante a 25°C, che ha inciso su molte

categorie di impatto ambientale. Tuttavia, questo problema può essere mitigato attraverso l'uso di energia proveniente da fonti rinnovabili o cogenerazione.

1.3 Entomofagia umana

A livello globale, vengono utilizzate per l'alimentazione circa 2000 specie diverse tra insetti e aracnidi, prevalentemente nei paesi tropicali come il Messico e il sud-est asiatico (Jongema, 2014). Negli ultimi anni, l'entomofagia, o consumo di insetti, ha guadagnato interesse come potenziale soluzione alla crescente domanda mondiale di cibo. Sebbene l'uso degli insetti sia una pratica consolidata in molte culture asiatiche, in Europa rimane ancora un territorio in gran parte inesplorato (Van Huis *et al.*, 2013).

Gli insetti sono stati una parte importante della dieta umana sin dalla preistoria. Analisi archeologiche indicano che durante il Paleolitico, gli esseri umani consumavano una varietà di insetti come parte della loro dieta (Lesnik, 2018).

Sebbene i Greci e i Romani antichi considerassero alcune tipologie di insetti, specialmente cavallette e larve di scarabeo, come prelibatezze, l'entomofagia non è mai stata una pratica comune nelle società occidentali. Tuttavia, la tendenza sta lentamente cambiando. In alcuni paesi europei, nonostante la paura e il disgusto iniziale, è emersa una certa curiosità nei confronti dei prodotti alimentari a base di insetti, suggerendo la possibile nascita di un mercato di nicchia in futuro (Sogari *et al.*, 2019).

Al contrario, nell'Asia orientale, la tendenza è quella di una diminuzione del consumo di insetti, soprattutto nelle aree urbane, a causa dell'influenza della globalizzazione e della diffusione della cultura alimentare occidentale. Nonostante ciò, l'entomofagia rimane un elemento importante dell'alimentazione in molti paesi asiatici, come ad esempio la Cina, nella quale l'uso degli insetti come fonte di cibo risale a oltre 2000 anni fa (Feng *et al.*, 2017). In questo paese, famoso da sempre per la produzione di seta, la larva di *Bombyx mori* impupata diventava un sottoprodotto utile per l'alimentazione negli ambienti domestici poveri dove veniva allevata (Durst e Hanboonsong, 2015). La preparazione culinaria degli insetti prevede vari metodi, tra cui frittura, stufato e cottura al vapore; tra gli insetti più popolari ci sono cavallette, pupe e larve di baco da seta, api, vespe e i cosiddetti "insetti di bambù", ossia le larve della falena *Omphisa fuscidentalis* (Chen *et al.*, 2009).

Nell'attuale panorama scientifico, numerosi studi sono stati condotti al fine di valutare qualitativamente il valore nutrizionale degli insetti come potenziale componente della dieta umana. In una ricerca specifica, sono stati analizzati 236 insetti, consumati in diverse regioni del mondo, con l'obiettivo di determinare la loro composizione relativa in termini di proteine, grassi, fibre e carboidrati (Grafico 3). Il risultato ottenuto ha rivelato una considerevole variabilità anche all'interno degli stessi ordini tassonomici (Rumpold e Schlüter, 2013), indicando così la necessità di analisi future focalizzate su ciascuna specie, dato che le caratteristiche nutrizionali possono variare anche a seconda della fase di sviluppo dell'insetto

nonché della dieta adottata durante l'allevamento (Ham *et al.*, 2021; Durst e Hanboonsong, 2015).

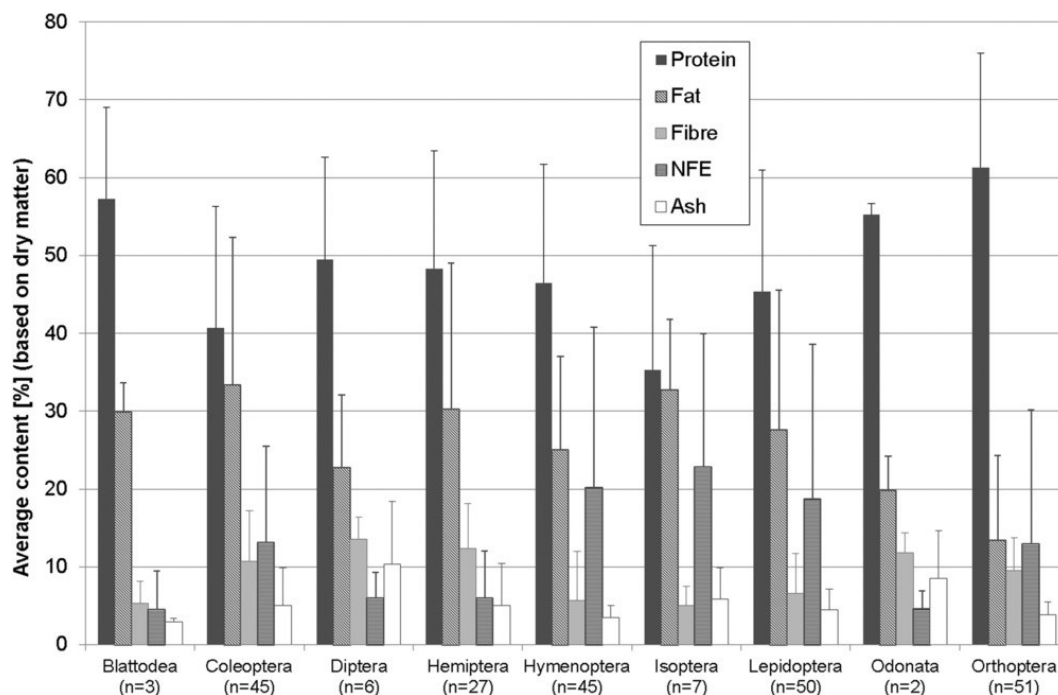


Grafico 3 - Contenuto medio di nutrienti [%] di insetti commestibili appartenenti allo stesso ordine. n: numero di campioni di insetti ottenuti dalla letteratura; NFE: carboidrati (Rumpold e Schlüter, 2013).

In confronto con gli animali tradizionalmente allevati per l'alimentazione, alcune specie di insetti commestibili presentano un valore energetico superiore, nonché una maggiore concentrazione di proteine, grassi, acidi grassi polinsaturi e colesterolo. Indipendentemente dalla specie e dalla fase di sviluppo, gli insetti sono caratterizzati da un contenuto superiore di composti nutrizionali quali tocoferolo, riboflavina, calcio, zinco, rame e manganese rispetto alla carne convenzionale. Rappresentano inoltre una fonte di vitamina C e di fibra alimentare, elementi che non si riscontrano nelle carni provenienti dagli animali da macello (Orkusz, 2021).

A seguito della recente normativa europea che riconosce gli insetti come fonte di cibo o come ingrediente per la produzione di mangimi, l'allevamento di diverse specie di insetti è ora permesso anche in Europa. Le specie riconosciute includono membri appartenenti ai gruppi dei ditteri, coleotteri e ortotteri (Regolamento (UE) 2015/2283; EFSA, 2021).

1.4 La normativa europea

Nell'Unione Europea, il quadro normativo relativo all'utilizzo di insetti come alimenti e mangimi ha subito rilevanti cambiamenti nel corso degli ultimi anni. Il Regolamento (UE) 2015/2283, attivo dal primo gennaio 2018, prevede che i prodotti alimentari non consumati in modo significativo nell'UE prima del 15 maggio 1997, vengano catalogati come "nuovi alimenti" o "novel foods". Secondo

la normativa, questi prodotti, tra cui gli insetti destinati all'alimentazione umana, devono essere sottoposti a una valutazione di sicurezza e ottenere un'autorizzazione da parte di organi di controllo prima di essere commercializzati. Inoltre, stabilisce che tali nuovi alimenti non debbano presentare rischi per i consumatori, ingannarli o avere un impatto nutrizionale dannoso nel caso in cui andassero a sostituire un ingrediente o alimento simile.

Due anni dopo, il Regolamento (UE) 2017/893 ha autorizzato l'uso di sette specie di insetti (Figura 1) per la produzione di mangimi per pesci nell'ambito dell'acquacultura. Essi sono:

1. *Hermetia illucens*,
2. *Musca domestica*,
3. *Tenebrio molitor*,
4. *Alphitobius diaperinus*,
5. *Acheta domesticus*,
6. *Gryllodes sigillatus*,
7. e *Gryllus assimilis*.

Successivamente, nel 2021, l'EFSA (Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare) ha valutato e approvato l'uso di specifici insetti per alimenti e mangimi, in linea con i criteri stabiliti dal Regolamento (UE) 2015/2283. In particolare, l'EFSA ha dichiarato sicuro per il consumo umano l'uso di tre specie di insetti: il *Tenebrio molitor*, comunemente noto come tarma della farina, l'*Acheta domesticus*, o grillo domestico e la cavalletta *Locusta migratoria* (EFSA, 2021).

Di conseguenza, con i Regolamenti di Esecuzione (UE) 2021/882, (UE) 2022/188 e (UE) 2021/1975 sono stati autorizzati la messa in commercio e il consumo umano dei tre insetti sopra citati come nuovo alimento. Più recentemente, nel 2023, anche *Alphitobius diaperinus* è stato dichiarato nuovo alimento con il Regolamento di esecuzione (UE) 2023/58.

Inoltre, con il Regolamento (UE) 2021/1372, i sette insetti già ammessi per la produzione di mangimi per pesci sono stati considerati idonei come fonte di proteine per mangimi anche di pollame e suini. Questo iter legislativo segnala un ulteriore sviluppo della normativa europea sull'uso di insetti nella catena alimentare.

Le norme specifiche per l'allevamento di insetti si concentrano sulla sicurezza alimentare e sul benessere animale. Queste norme stabiliscono misure preventive per evitare la contaminazione degli insetti, controlli sulla qualità dell'acqua e del cibo utilizzato per il loro allevamento, nonché regolamenti sulle pratiche di allevamento, raccolta, lavorazione e conservazione. L'Unione Europea pone particolare enfasi sulla prevenzione della sovrappopolazione negli allevamenti di insetti e sull'assicurare condizioni di vita adeguate per gli stessi (EFSA, 2015).

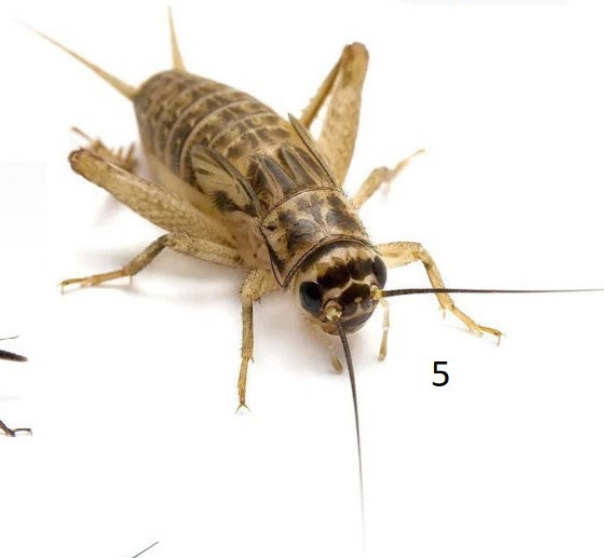
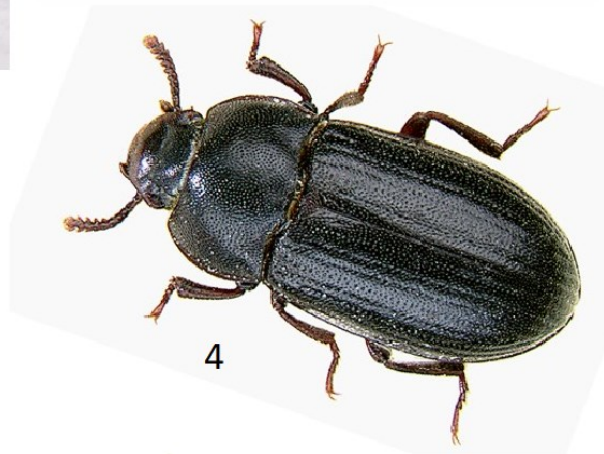


Figura 1 - Insetti approvati dall'Unione Europea per la produzione di mangimi nel 2017. Le immagini a scopo illustrativo sono state prese da Pinterest, Wikipedia e Google e appartengono ai rispettivi proprietari.

1.5 Gli allevamenti in Asia

L'Asia sudorientale rappresenta una regione geografica significativa per l'entomofagia, l'uso di insetti nell'alimentazione umana. Secondo le stime della FAO, l'80% della popolazione del Laos consuma insetti a livello domestico. Nonostante il declino nella popolarità dell'entomofagia evidenziato da Feng *et al.* (2017), in questa regione del globo la pratica persiste con vigore, in particolare nelle aree rurali. Si osserva contemporaneamente una trasformazione delle abitudini nelle aree più sviluppate ed economicamente ricche, dove gli insetti stanno assumendo la funzione di pratici snack. Nel 2015, il prezzo degli insetti nei mercati urbani asiatici era da due a quattro volte superiore rispetto a un quantitativo equivalente di pollo, pesce o maiale (Durst e Hanboonsong, 2015).

La Thailandia rappresenta uno dei pochi paesi asiatici in cui il mercato degli insetti destinati al consumo umano mostra una crescita sostenuta. Questa tendenza è stimolata dall'incremento significativo nella sicurezza alimentare, o food security, che deriva dall'allevamento di insetti. Questo accrescimento si manifesta sia direttamente, attraverso il consumo di insetti, sia indirettamente, con l'incremento del potere d'acquisto delle persone coinvolte nel settore (Durst e Hanboonsong, 2015). Si stima che esistano in Thailandia circa 20.000 allevamenti di grillo domestico, di piccola e media scala, destinati al consumo umano diretto, producendo un totale annuale di 7.500 tonnellate di insetti (Nikkah *et al.*, 2021).

1.5.1 Grilli

L'allevamento di grilli ha iniziato ad essere degno di nota alla fine degli anni '90 con le specie indigene *Gryllus bimaculatus*, *Teleogryllus testaceus* e *Teleogryllus occipitalis*. Recentemente, tuttavia, l'interesse e la produzione si sono orientati verso le specie alloctone *Gryllodes sigillatus* e *Acheta domesticus*, quest'ultima divenuta la più comune a causa del sapore migliore. Il capitale iniziale richiesto per un allevamento di piccola scala è relativamente basso e presenta pochi ostacoli all'ingresso. Il ciclo vitale del grillo, che varia a seconda della disponibilità di cibo e di fattori ambientali come temperatura e umidità, dura mediamente dai 35 ai 45 giorni, consentendo fino a sei cicli produttivi all'anno in condizioni ottimali. La spesa più consistente è rappresentata dal nutrimento degli insetti, che può costituire circa la metà del fatturato lordo. Di norma, si utilizza mangime per polli ad alto contenuto proteico, ma con la crescente domanda, alcune aziende hanno iniziato a produrre mangimi specifici per le esigenze nutrizionali dei grilli. Per ridurre i costi, molti allevatori integrano l'alimentazione degli insetti con frutta e verdura locale. È stato dimostrato che una dieta variegata durante lo sviluppo dell'insetto risulta vantaggiosa per la qualità del prodotto finale. Ad esempio, l'uso di zucche fresche durante la fase giovanile dei grilli conferisce a questi un colore dorato più attraente per il consumatore e un sapore migliore (Durst e Hanboonsong, 2015).



Figura 2 -Lavorazione dei grilli da parte di un acquirente all'ingrosso in Thailandia: (a) primo lavaggio, (b) bollitura, (c) lavaggio, (d-e) confezionamento e (f) stoccaggio a freddo e consegna al mercato (Hanboonsong et al., 2013).

Il guadagno dell'allevatore varia tipicamente tra i 3 e i 5 dollari al chilogrammo per gli insetti adulti confezionati. Esiste inoltre un mercato per le uova, che viene incoraggiato per prevenire problemi legati alla consanguineità (6,5 dollari per vaschetta di uova, con una produzione di 50-60 vaschette per ciclo), e per i rifiuti, utilizzati come biofertilizzanti. Un'azienda di medie dimensioni, in grado di produrre tra i 500 e i 750 kg di grilli adulti per ciclo produttivo e di completare sei cicli in un anno, può generare un fatturato annuale compreso tra 12.000 e 15.000 dollari USA (Hanboonsong *et al.*, 2013).

1.5.2 Punteruolo rosso della palma

Mentre nel nord della Thailandia fiorisce l'allevamento di grilli, nel più remoto sud si sviluppa invece l'allevamento del punteruolo rosso (*Rhynchophorus ferrugineus*), sebbene in misura molto minore. In questo contesto, l'interesse dei consumatori risiede nelle larve del coleottero. Questo tipo di allevamento, avviato nel 1996, era originalmente destinato al consumo domestico delle popolazioni locali. Tuttavia, dal 2005, il consumo di larve di punteruolo è diventato popolare anche nel resto del paese, trovando il favore del mercato.

Il ciclo produttivo delle larve del punteruolo, ossia dalla deposizione delle uova allo sviluppo della larva, impiega dai 35 ai 45 giorni, analogamente a quello dei grilli. Il metodo tradizionale prevede di perforare una sezione di 50 cm di lunghezza del tronco della palma di sago (*Metroxylon sagu* Rolth.) o del palmetto (*Corypha utan* Lam.), inserire dieci coppie del coleottero e idratare il tutto due volte al giorno. Al termine del ciclo produttivo, vengono estratti circa 2 kg di larve cresciute che si sono nutrite delle fibre e degli amidi della palma. Lo stesso tronco può essere utilizzato continuamente fino all'esaurimento delle sue risorse, che avviene generalmente circa 8 mesi dopo.

Un metodo più moderno implica l'allevamento in contenitori di plastica con la palma tritata (tutte le sue parti, non solo il tronco) e l'aggiunta di mangime per suini. La produzione è simile a quella del metodo tradizionale per quanto riguarda la quantità, ma è più veloce grazie all'aggiunta di nutrimento. Tuttavia, questo metodo risulta essere più costoso.

Nel 2011, 120 allevatori nel sud hanno prodotto 43 tonnellate di larve di punteruolo per un reddito lordo totale di circa 55.000 dollari USA. Questi allevatori provengono da aree in cui il reddito principale deriva da piantagioni di gomma e altre colture agricole come riso e cocco. Molti di loro hanno adottato l'allevamento del punteruolo come fonte di reddito secondaria, mentre per alcuni, coloro che hanno investito più intensamente nella produzione, è diventato il principale sostentamento.

Oltre al reddito diretto generato dalla vendita delle larve di punteruolo, i prodotti di scarto, come le feci dei punteruoli, possono essere utilizzati come fertilizzante organico. Questi vengono venduti sia come fertilizzanti liquidi che solidi, offrendo un ulteriore flusso di reddito per gli allevatori (Hanboonsong *et al.*, 2013; Durst e Hanboonsong, 2015).



Figura 3 - Allevamento di punteruolo rosso in Thailandia: (a) larve, (b) adulti, (c) contenitori di plastica per l'allevamento, (d) allevamento tradizionale nel tronco della palma e (e-f) fertilizzanti solidi e liquidi provenienti dai rifiuti delle larve (Hanboonsong et al., 2013).

1.5.3 *Protaetia brevitarsis* e la situazione nella Corea del Sud

La Repubblica di Corea presenta una consolidata tradizione nell'utilizzo di insetti sia a scopo alimentare che medicinale. Nonostante ciò, un approccio scientificamente orientato verso l'industrializzazione di questo settore ha preso avvio solo negli ultimi vent'anni. Fino al 2016, solo sette specie sono state ufficialmente regolamentate per l'utilizzo, in seguito a pressioni da parte delle comunità rurali e studi condotti dal KEIL (Korean Edible Insect Laboratory) (Cho e Cho, 2021a; Kwon, 2022).

Nel contesto sudcoreano, l'allevamento di insetti a scopi alimentari ha registrato un significativo incremento. Un'analisi del Ministero dell'Agricoltura Coreano ha rivelato un incremento del 300% tra il 2015 e il 2018 (Kwak *et al.*, 2021). Nel 2017, il mercato degli insetti commestibili era valutato 147 milioni di dollari USA, con una proiezione governativa che ne anticipava l'espansione a 457 milioni nel 2020 (Kwon, 2022). Tuttavia, una considerevole porzione della produzione di insetti è affidata ad allevamenti di piccola e media scala, risultando in una variabilità qualitativa del prodotto che risulta poco omogeneo e in costi troppo elevati per i grossisti confrontato alle tradizionali fonti proteiche (Han, 2017), come evidenziato nella Tabella 3:

Ingredients	Price (1 kg)
Mealworm (dried)	55,000–105,000 won (USD 46–88)
Beef	18,000 won (USD 15; domestic)
	7,000 won (USD 6; imported)
Pork (carcass)	4,500 won (USD 4)
Soybean (imported)	2,300 won (USD 2)

Tabella 3 - Costo al chilogrammo di alcuni prodotti proteici in Corea del Sud (Han, 2017).

Nel panorama delle specie allevate in Corea del Sud, lo scarabeo *Protaetia brevitarsis* (Figura 4) è oggetto di attenzione dal 2003 (Kwak *et al.*, 2021) e rientra tra le specie approvate per l'utilizzo umano in base alla normativa coreana del 2016 (Cho e Cho, 2021a). Secondo fonti di allevatori locali, questa specie risulta particolarmente redditizia, con un valore di 400 dollari USA per libbra di polvere essiccata di larva, corrispondente a circa 880 dollari al chilogrammo (Shapiro, 2015). Le larve non processate però, hanno un valore di commercio molto basso di circa 30-40 dollari al chilogrammo, che pur essendo un valore molto alto per alcuni potrebbe portare in futuro all'abbandono di questo tipo di allevamento (Cho e Cho, 2021b).

Riguardo all'impiego in campo medico, è possibile rintracciare le prime indicazioni del suo utilizzo per la prevenzione di malattie infiammatorie, tumori al seno e

disturbi del fegato, quali tumore, cirrosi ed epatite, in un manuale di medicina tradizionale datato 1610 (Cho e Cho, 2021b).

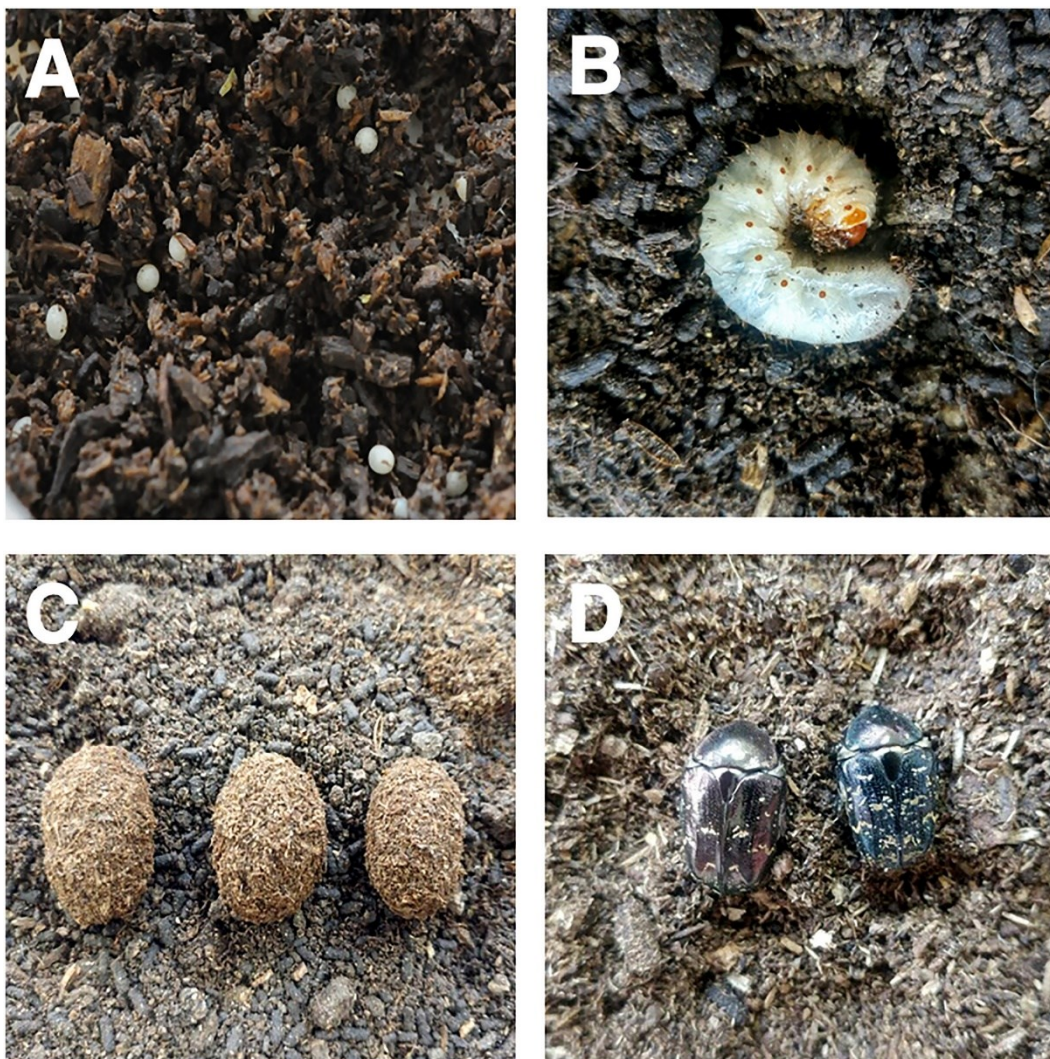


Figura 4 - Ciclo vitale di *Protactia brevitarsis*: (a) uova, (b) larva, (c) pupe, (d) adulti (Jang *et al.*, 2018).

Studi scientifici più recenti hanno confermato, almeno in parte, queste pratiche antiche. In particolare, sono state identificate proprietà anti-trombotiche (Choi *et al.*, 2019) e anti-epatotossiche (Kang *et al.*, 2012) in topi, nonché proprietà antiossidanti in vitro (Suh *et al.*, 2011). È stata inoltre rilevata la presenza di acidi grassi con proprietà antitumorali, grazie all'alta concentrazione in cui essi si trovano, i quali hanno dimostrato di indurre l'apoptosi delle cellule cancerogene, quali l'acido palmitico, l'acido cis-9-ottadecanoico (o acido oleico) e l'acido ottadecanoico, (Yoo *et al.*, 2007). Infine, sono state identificate tre proteine con attività antibiotiche (Yoon *et al.*, 2003). Ricerche successive hanno portato alla sintesi di un derivato antimicotico del peptide protaetiamicina (Lee *et al.*, 2009) e recentemente è stata indagata la possibilità di sintetizzare potenti antimicrobici, attivi sia su batteri che funghi, partendo da peptidi naturalmente presenti nelle larve (Fu *et al.*, 2023).

1.6 I cetonini

Data la potenziale rilevanza in medicina di *P. brevitarsis*, nonché i suoi benefici per l'industria alimentare, questo lavoro cercherà di allestire un allevamento sperimentale per un cetonino autoctono in modo da verificare se anche localmente sia presente una specie con le medesime qualità di interesse.

In Italia, attualmente, è possibile identificare un totale di 363 diverse specie appartenenti alla superfamiglia Scarabaeoidea, come documentato dai dati forniti dalla Società Entomologica Italiana. Tra questi, i cetonini compongono un clade particolare in cui si può osservare una grande varietà di dimensioni e colori.

Tra le caratteristiche che contraddistinguono i cetonini, spicca la loro eccezionale abilità di volo, una peculiarità che li distingue dagli altri coleotteri noti per il volo maldestro e poco preciso. Questa precisione nel volo è resa possibile dalla capacità di far sporgere le ali posteriori senza sollevare le elitre, che presentano una rientranza sufficientemente ampia da consentire l'uscita del secondo paio di ali membranose. Di conseguenza, il volo con le elitre appoggiate sul dorso conferisce all'insetto una forma più aerodinamica.

Un altro tratto distintivo dei cetonini è la frequente presenza di colorazioni vivaci e riflessi metallici, vantaggiosi per confondere i potenziali predatori; inoltre, solitamente non presentano una protuberanza sul pronoto, ma possono mostrare "corni" sulla regione cefalica. Le loro larve (Figura 5) sono detritivore e vivono nel terreno dov'è presente materiale vegetale in decomposizione.

Data la grande quantità di sottospecie all'interno di questo clade, si farà riferimento soltanto al binomio genere-specie.



Figura 5 – Larve, pupe e un adulto di diverse specie di cetonini autoctoni catturate da cumuli di compost vegetale a Barbarano Mossano (VI).

1.7 Obiettivi di questo lavoro

Alla luce delle premesse fatte finora, questo studio si concentrerà sull'allevamento di uno scarabeo cetonino autoctono e uno africano in substrati diversi, con gli obiettivi di:

1. **Investigare le modificazioni dei substrati di allevamento nel tempo:** Analizzare come cambiano i diversi tipi di substrato nel tempo se essi vengono utilizzati per allevare larve di scarabei della famiglia dei cetonini. I dati che si cercano di ottenere dai campioni riguardano principalmente l'arricchimento del substrato di sostanze utili alle piante a causa della decomposizione messa in atto dai cetonini che si nutrono del materiale vegetale fermentato, con un suo possibile utilizzo come fertilizzante.
2. **Quantificare e identificare sostanze di interesse industriale:** Verificare in che quantità, durante lo sviluppo larvale, questi insetti accumulano sostanze interessanti per l'industria alimentare come grassi e proteine e verificare la presenza di altri composti che possano diventare interessanti per altri settori come nutraceutica, farmacologia e cosmesi.
3. **Valutare lo sviluppo delle larve:** Valutare lo sviluppo delle larve nei diversi substrati al termine dei due mesi di sperimentazione. Ciò si ottiene misurando la capsula cefalica e pesandole in modo da caratterizzarne lo stadio di sviluppo. Circa il 50% delle larve sono state portate a completare lo sviluppo fino alla metamorfosi per valutare la condizione finale dell'adulto e avere una stima del tempo necessario per completare lo sviluppo nel periodo invernale, soprattutto per la specie autoctona.
4. **Confrontare le differenze tra le due specie:** Confrontare le differenze tra i dati ottenuti con il cetonino autoctono *Protaetia speciosissima*, e *Pachnoda aemula*, di origine africana.
5. **Valutare la possibilità di allevamento in cattività:** Infine, valutare la possibilità e le difficoltà di allevare tali cetonini autoctoni in cattività, come questi reagiscono ai diversi tipi di substrato e quali substrati sono considerati idonei per l'allevamento di animali a scopo alimentare secondo la normativa vigente.

2. Materiali e metodi

2.1 La scelta del soggetto della sperimentazione

Come soggetto per la sperimentazione è stata cercata una specie di cetonino che occupasse la stessa nicchia ecologica dell'asiatico *P. brevitarsis* in modo che i risultati dell'esperimento fossero più facilmente paragonabili. A tale scopo, sono stati catturati cetonini selvatici allo stadio larvale da substrati simili a quelli che sarebbero stati utilizzati successivamente, ed esemplari adulti nei dintorni dei Monti Berici a Vicenza. Sono state identificate come possibili candidate le seguenti specie:

- *Cetonia aurata* Linnaeus, 1758
- *Protaetia* (Potosia) *cuprea* Fabricius, 1775
- *Protaetia* (Cetonischema) *speciosissima* Scopoli, 1786
- *Oxythyrea funesta* Poda, 1761
- *Tropinota* (Epicometis) *hirta* Poda, 1761

T. hirta e *P. speciosissima* non sono stati catturati in quantità sufficienti per iniziare un allevamento. Le prime sono state trovate solo in modo sporadico, mentre le seconde si osservano raramente durante l'inizio dell'estate. Inoltre *P. speciosissima*, dimostra una preferenza per le cime degli alberi, rendendole irraggiungibili senza l'ausilio di un'adeguata attrezzatura.

O. funesta, dal colore scuro e di piccole dimensioni, è una specie comune che si può osservare su molti fiori dalla prima primavera fino alla tarda estate. Qualche esemplare è riuscito a riprodursi in cattività; tuttavia, essendo poco mobile e avendo un marcato comportamento di tanatosi come meccanismo di difesa, è stato difficile determinare quanto fosse possibile la sua sopravvivenza. Per un'eventuale utilizzo di questa specie in futuro, si dovrebbero quantificare dei parametri utili come tasso di sopravvivenza, fertilità e velocità di riproduzione in cattività.

P. cuprea (Figura 6) è un cetonino di piccole dimensioni dal colore verde opaco sul dorso e viola sul ventre. Tra la metà di maggio e inizio giugno sono stati catturati 11 esemplari di questa specie che frequentavano gli stessi ambienti di *C. aurata*. Nonostante siano stati mantenuti in un contenitore di piccole dimensioni sono riusciti a riprodursi in cattività con successo, e dopo circa tre mesi sono stati contati 25 nuovi adulti.



Figura 6 - Esemplici di *Protaetia (Potosia) cuprea* selvatici catturati.

Tra le specie candidate per l'allevamento sperimentale era stato scelto *Cetonia aurata* (Figura 7) come soggetto principale. Si tratta di un cetonino di piccole dimensioni, dalla colorazione verde metallica con delle moschettature bianche sulle elitre, molto comune in tutta Europa nei mesi estivi da maggio fino a settembre. L'adulto si nutre di polline e di frutti maturi, venendo spesso considerato nocivo per orti e coltivazioni. Le uova vengono deposte in terreni ricchi di materia organica, come il sottobosco con foglie e legno in decomposizione, dove le larve si nutriranno dei resti vegetali fermentati.

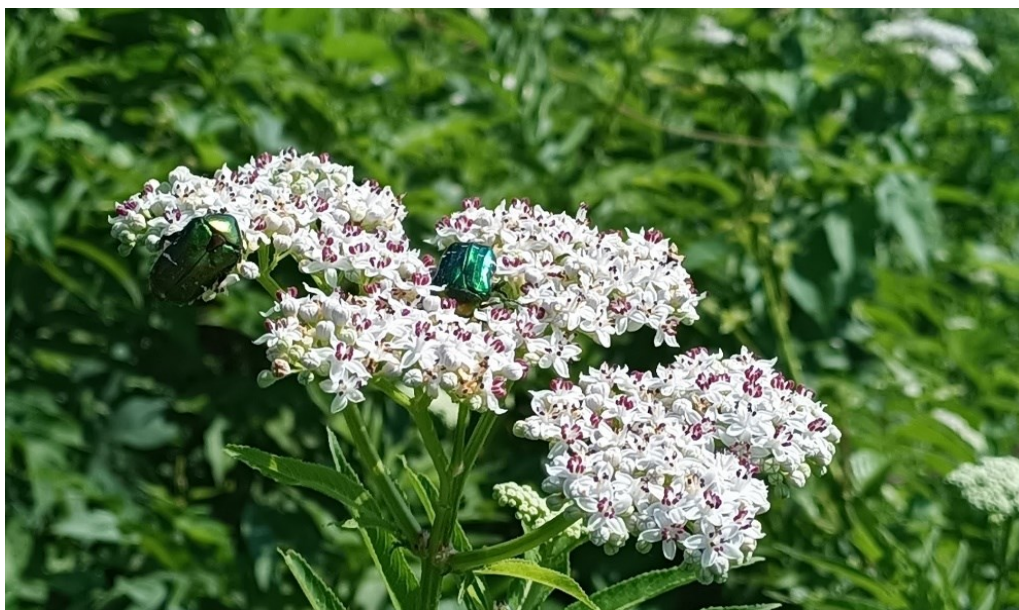


Figura 7 - *Cetonia aurata* su infiorescenze di falso sambuco.

Gli esemplari di *C. aurata* sono stati facilmente catturati in quanto gregari su fiori di biancospino (*Crataegus monogyna*) e ebbio (*Sambucus ebulus*), nonché sui frutti di gelso (*Morus nigra*) in grandi quantità.

Per la loro fase di allevamento, gli insetti sono stati collocati in gabbie dotate di una vaschetta in legno contenente terriccio per fiori (Figura 8), al fine di favorire la deposizione delle uova e la moltiplicazione della popolazione. Parallelamente, sono stati nutriti con banane, mele e pesche, queste ultime visibilmente preferite rispetto agli altri tipi di frutta, con una frequenza di due volte a settimana. È stato messo a disposizione anche del miele, molto apprezzato, che però sporcava gli insetti rendendo difficoltoso il loro movimento.



Figura 8 - Gabbia contenente gli esemplari di *Cetonia aurata* catturati.

2.2 Commenti sugli allevamenti

Sfortunatamente l'allevamento di *C. aurata* non è andato a buon fine. La popolazione ha avuto un crollo durante il mese di luglio, come si può osservare nel Grafico 4 di seguito:

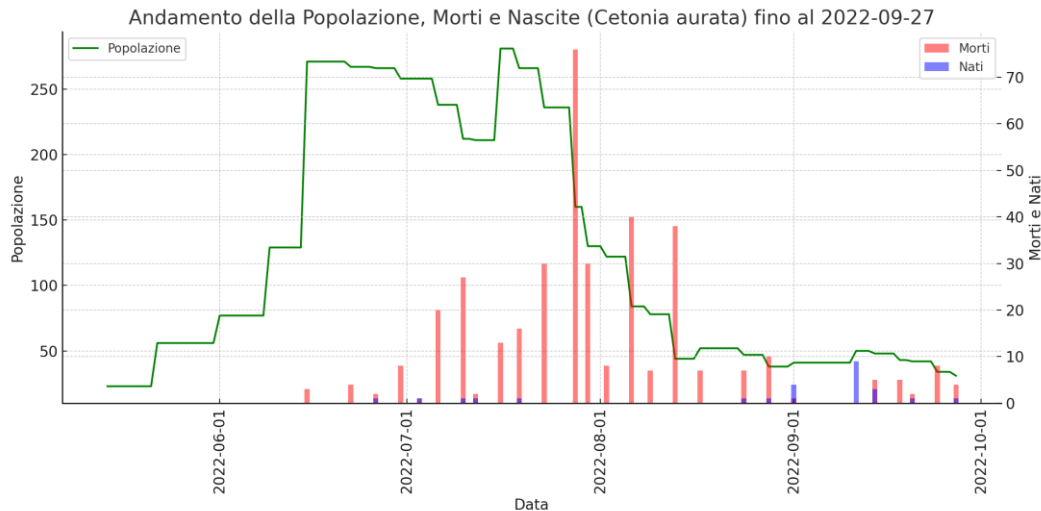


Grafico 4 - Andamento della popolazione di *C. aurata* durante il periodo di allevamento. Le catture di individui selvatici non sono raffigurate sul grafico, ma sono comprese nella conta della popolazione totale. Questa regola vale anche per i successivi grafici di popolazione.

L'aumento nel numero di morti ha coinciso con l'avviamento del condizionatore in laboratorio a fine luglio 2022. Pur non essendosi verificato un cambiamento importante della temperatura (Grafico 5), che non è mai uscita dal range di tollerabilità dell'insetto, lo sbalzo termico di 3-4 °C sembra aver rallentato gli insetti nelle loro attività e nella loro nutrizione.

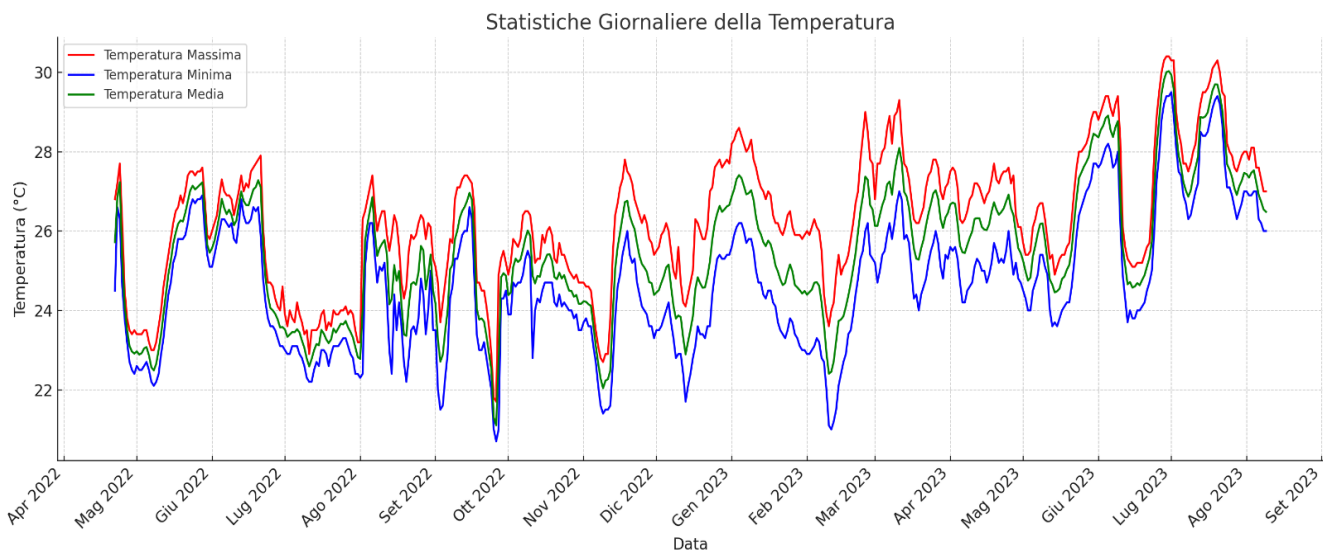


Grafico 5 - Andamento giornaliero della temperatura in laboratorio.

È probabile che il problema non sia stata la temperatura dell'ambiente, quanto piuttosto il livello di umidità dell'aria. Questo parametro però non è stato misurato e non si possono trarre conclusioni a riguardo; tuttavia si è notato che il terriccio utilizzato nella vasca di deposizione delle uova tendeva a seccarsi più rapidamente dopo l'accensione dell'impianto di condizionamento.

Nella vasca di deposizione sono state osservate uova e larve, ma nessun esemplare ha raggiunto lo stadio di pupa. Gli unici adulti sfarfallati in cattività provenivano da larve catturate in natura e tenute in contenitori separati, coperti e contenenti il terriccio originale da dove sono state prelevate.

A questo punto del progetto, non è più stato possibile iniziare un nuovo allevamento per la stessa specie, perché la popolazione naturale di *C. aurata* subisce un declino nei mesi più caldi ed è stato sempre più difficile trovare esemplari in libertà. Di conseguenza, si è dichiarata la fine dell'esperimento che coinvolgeva *C. aurata*.

Visto il successo riproduttivo di *P. cuprea*, si è deciso di iniziare un nuovo allevamento utilizzando questa specie. Essendo fine estate, anche *P. speciosissima* ha iniziato a frequentare alberi più bassi ed è stato possibile catturare, comunque mediante l'ausilio di una scala, entrambe le specie in grandi quantità negli alberi di fichi. Gli insetti (Figura 9) sono stati attratti dai frutti maturi e della linfa zuccherina che fuoriusciva da lacerazioni dei rami, da cui ne traevano nutrimento.



Figura 9 - *P. speciosissima* (esemplare maggiore) e *P. cuprea* (esemplare minore) a confronto. Nell'immagine a sinistra l'aspetto del ventre, mentre nell'immagine a destra una visione dorsale. Ogni quadretto ha 0,5 cm di lato.

Si è cercato di allevare le due specie in gabbie separate (Figura 10) al fine di valutare la loro capacità di sopravvivenza in cattività utilizzando lo stesso sistema adoperato precedentemente per *C. aurata*. Per questo allevamento è stato aggiunto al terriccio di deposizione del legno marcio macinato e foglie secche, in modo che fosse più nutritivo per le larve. Anche l'irrigazione manuale del terriccio è avvenuta più frequentemente per evitare che si seccasse completamente.



Figura 10 - Allevamento di P. speciosissima (destra) e P. cuprea (sinistra). La vasca di deposizione in legno è stata sostituita da una in plastica poiché le larve, raggiunte grandi dimensioni, iniziavano a nutrirsi anche del legno della vasca ormai degradato.

Sopra le gabbie sono stati posizionati due fari ad accensione programmata in modo da fornire 16 ore di luce e 8 di buio. Un termostato elettrico è stato posizionato vicino ad esse in modo da mantenere la temperatura il più possibile costante sia d'estate che d'inverno.

Questa volta ci sono stati dei riscontri positivi riguardo alla sopravvivenza in cattività. *P. cuprea* si è riprodotta continuamente sia nei mesi caldi che nei mesi freddi, mantenendo una popolazione pressoché costante come indicato nel Grafico 6. Le larve si sono alimentate del substrato di deposizione arricchito e alcune hanno raggiunto lo stadio adulto.

Durante la pulizia della vasca e la raccolta delle uova sono stati osservati degli episodi di cannibalismo in cui femmine adulte, avendo scavato il terreno per deporre, hanno divorato uova e larve (

Figura 11). Questo comportamento potrebbe essere stato causato da un sovraffollamento nella gabbia, da una carenza di cibo o da un'innata aggressività dell'insetto.



Figura 11 - Adulti di *P. cuprea* mentre divorano una larva.

Considerando che il cibo non è mai mancato essendo servito fresco due volte a settimana, e che nell'altro allevamento, di cui si discuterà di seguito, il numero di individui adulti era maggiore, viene da supporre che si tratti di un comportamento proprio dell'insetto volto ad avere un maggior successo riproduttivo, eliminando la concorrenza ed assumendo una maggiore quantità di sostanze nutritive.

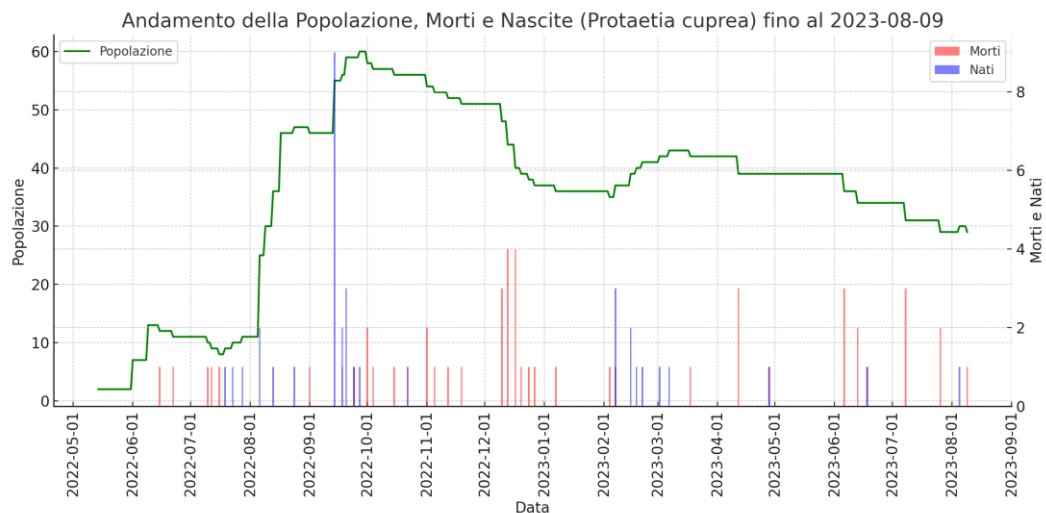


Grafico 6 - Andamento della popolazione di *P. cuprea* durante il periodo di allevamento.

Ad ogni modo, il numero di adulti raccolti fino a quel momento non era sufficiente per produrre la quantità di uova necessaria per iniziare l'esperimento principale, ossia l'allevamento di larve nel substrato vegetale.

Durante il mese di agosto, quando i fichi sono maturati, molte *P. speciosissima* hanno sciamato sugli alberi per potersi nutrire di questi frutti zuccherini. Questo fenomeno di aggregazione ha permesso di catturare un notevole numero di adulti ed avere, successivamente, una quantità di uova della stessa età sufficiente per iniziare l'esperimento principale. Nel Grafico 7 si può apprezzare l'andamento della popolazione in cattività. Si può anche notare che verso la fine dell'esperimento la popolazione aveva iniziato a crescere spontaneamente grazie allo sfarfallamento di nuovi adulti.

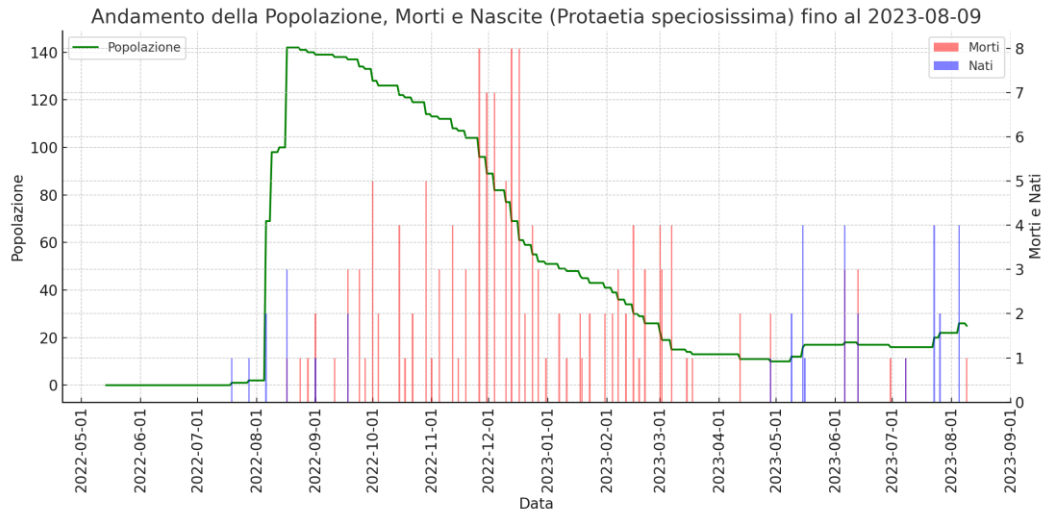


Grafico 7 - Andamento della popolazione di *P. speciosissima* durante il periodo di allevamento.

Nel caso di *P. cuprea*, i primi adulti nati in cattività sono sfarfallati nel mese di agosto dopo circa 80 giorni dalla cattura dei selvatici. Differente è stato il caso di *P. speciosissima*, il cui periodo di sviluppo è stato molto più lungo. Come si può vedere nel Grafico 7, i primi adulti sono stati catturati ad agosto, ma la loro progenie ha completato lo sviluppo solo a maggio dell'anno successivo, dopo 8 mesi.



Figura 12 - Bozzolo contenente una pupa di *P. speciosissima*.

Si presume che questi insetti abbiano un tempo di sviluppo più esteso rispetto a *P. cuprea*. Un'altra ipotesi è che gli adulti di *P. speciosissima*, essendo stati catturati a fine estate quando le giornate sono più corte, abbiano deposto delle uova che danno origine a larve con uno sviluppo più lento per evitare che sfarfallino quando la primavera non è ancora arrivata.

A supporto della seconda ipotesi, anche nel caso di *P. cuprea* le uova deposte dagli individui catturati ad agosto hanno avuto un tempo di sviluppo più lungo: i primi individui della nuova generazione sono sfarfallati a febbraio dell'anno successivo, ossia dopo 6 mesi.



Figura 13 -Gabbia di allevamento di *Pachnoda aemula*.

L'ultima specie presa in considerazione è *Pachnoda aemula* (Figura 13), un cetonino africano già presente nel museo dove si trova esposto al pubblico in un grande terrario. Questa specie è di facile allevamento, e con le giuste condizioni di temperatura, umidità e disponibilità di cibo, presenta un ciclo riproduttivo continuo durante tutto l'anno. Per raccogliere le uova di questa specie è stato adottato lo stesso sistema descritto in precedenza, utilizzando una vasca di deposizione all'interno della gabbia. Per completezza, di seguito è presente il Grafico 8 che descrive l'andamento della popolazione.

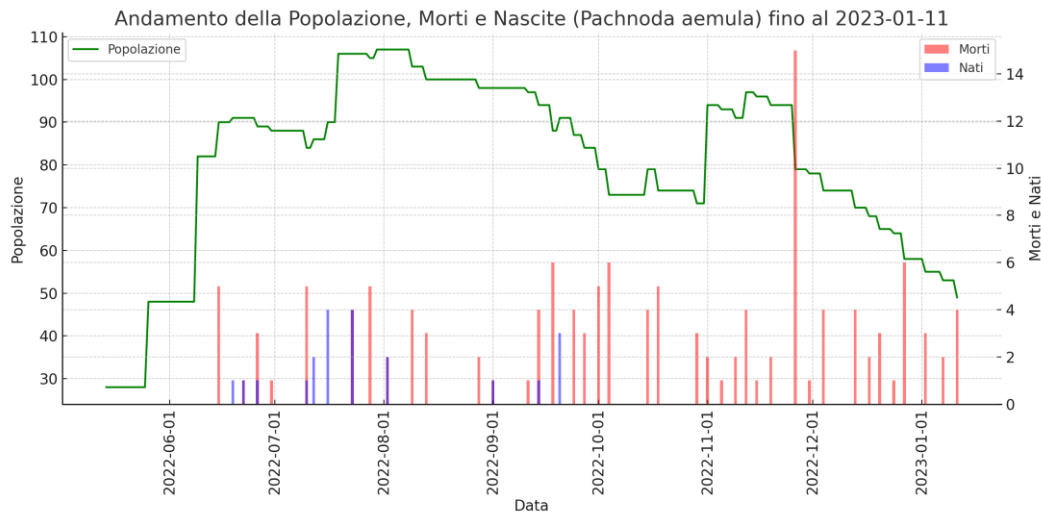


Grafico 8 - Andamento della popolazione di *P. aemula* durante il periodo di allevamento.

In questo caso la cattura degli adulti è avvenuta all'interno del museo, dove gli esemplari sono stati prelevati da altre gabbie già presenti e spostate in quelle idonee per la raccolta delle uova. La raccolta delle uova non si è rivelata abbondante come previsto, per cui l'esperimento con questa specie ha dovuto essere ridimensionato utilizzando un numero ridotto di larve.

2.3 La scelta del substrato

Dato che l'obiettivo principale di questo progetto è valutare lo sviluppo delle larve in diversi tipi di substrato, è necessario che questi rispettino i criteri stabiliti dalle normative europee.

Richiamando la legislazione europea, il Regolamento (CE) n. 1069/2009 dell'UE stabilisce le norme sanitarie per i sottoprodotti di origine animale e i prodotti derivati non destinati al consumo umano. Questo comprende le leggi che regolano il substrato su cui possono essere allevati gli insetti.

Nell'Allegato II del Regolamento (UE) 2017/893 della Commissione del 24 maggio 2017 si legge che:

“b) Il substrato per l'alimentazione degli insetti può contenere solo prodotti di origine non animale o i seguenti prodotti di origine animale ottenuti da materiali di categoria 3:

- farine di pesce,*
- prodotti sanguigni da non ruminanti,*
- fosfato dicalcico e fosfato tricalcico di origine animale,*
- proteine idrolizzate derivate da non ruminanti,*
- proteine idrolizzate derivate da pelli di ruminanti,*
- gelatina e collagene derivati da non ruminanti,*
- uova e prodotti a base di uova,*
- latte, prodotti a base di latte, prodotti derivati dal latte e colostro,*
- miele,*
- grassi fusi;*

c) il substrato per l'alimentazione degli insetti e gli insetti o le loro larve non sono stati in contatto con materiali di origine animale diversi da quelli riportati alla lettera b) e il substrato non conteneva stallatico, rifiuti di cucina e ristorazione o altri rifiuti.»

Per quanto riguarda l'uso di rifiuti verdi (ad esempio, residui vegetali, compost, ecc.) come substrato per l'allevamento di insetti destinati alla produzione di mangime o al consumo umano, ci sono alcune considerazioni chiave.

In generale, per garantire che i rifiuti verdi siano idonei all'uso come substrato per l'allevamento di insetti, devono essere privi di contaminanti nocivi, come metalli pesanti oltre la soglia consentita o residui di pesticidi. Inoltre, dovrebbero essere

composti principalmente da materiale vegetale e non contenere materiali animali o feci, che potrebbero portare a problemi di sicurezza alimentare.

Questi divieti si applicano anche ai substrati esausti utilizzati per la coltivazione di funghi, nonostante essi siano ancora ricchi di sostanza organica utilizzabile. È stato dimostrato che larve di *Protaetia brevitarsis* possono convertire scarti di funghicoltura ad alto contenuto di lignina in fertilizzante organico arricchito di nutrienti con una bassa fitotossicità e un alto contenuto di acidi umici (Wei *et al.*, 2020).

2.3.1 Compost di origine vegetale

Per ottenere un substrato idoneo all'allevamento di larve di cetonini a scopo alimentare che rispetti i suddetti parametri, è stata contattata la ditta 3D Giardini di Barbarano Mossano (VI) che si occupa di giardinaggio. La maggior parte degli scarti vegetali prodotti dalla manutenzione di giardini privati, come erba tagliata e resti di potatura, viene portata in un centro di compostaggio dove il tutto verrà fermentato, concimato e convertito in terriccio per fiori o altri ammendanti. Una piccola parte però, quando la mole di rifiuti non giustifica il viaggio, viene trinciata e lasciata a compostare all'aperto dentro la proprietà della stessa ditta.



Figura 14 - Il compost di origine vegetale. A sinistra, lo strato superficiale composto da trinciato fresco. A destra, lo strato più profondo a contatto con il terreno, dove parte della materia vegetale è già stata degradata.

Questo materiale è stato utilizzato come compost di origine vegetale per l'allevamento delle larve (Figura 14). Secondo il proprietario della ditta, che lo ha ceduto per lo studio, il compost comprende resti di potatura di Lauroceraso (*Prunus laurocerasus*), Olivo (*Olea europaea*) e Gelso (*Morus nigra*) lasciati all'aperto dai tre ai sei mesi, con presenza di Pino (*Pinus sp.*) completamente degradato negli strati più profondi.

Il compost vegetale è stato prelevato e trasportato in laboratorio in due momenti diversi:

- la prima volta il 15/10/2022, dopo un'estate particolarmente secca, infatti il materiale si presentava duro e disidratato.
- La seconda volta, il 05/11/2022, dopo alcuni giorni di pioggia che hanno idratato e ammorbidito il compost.

In origine, l'esperimento prevedeva che entrambe le specie di cetonino dovessero essere allevate in cinque ripetizioni di compost vegetale, ma a causa di questa alterazione del compost tra il primo e il secondo prelievo, si è deciso di considerare i due substrati diversi ai fini dell'esperimento:

- C1 si riferisce al compost di origine vegetale secco prelevato il 15/10.
- C2 si riferisce al compost di origine vegetale idratato prelevato il 05/11.

2.3.2 Substrato ottimale

Per avere una valutazione oggettiva su quanto il compost vegetale fosse idoneo per l'allevamento di cetonini, si è deciso di fare un confronto con un substrato ottimale, che secondo la letteratura permette un miglior sviluppo delle larve nel minor tempo. Per creare questo substrato è stato preso in considerazione quello standard utilizzato per l'allevamento di scarabeidi ornamentali, come suggerito nel sito Oryctes. Questo substrato dev'essere composto da tre parti uguali di: terriccio senza concime, foglie secche sminuzzate e legno fungato tritato.

Il terriccio utilizzato è stato un ammendante a base di torba neutra di sfagno con nome commerciale "Ahrens Erde" con i seguenti valori:

- Carbonio organico: 20%
- Azoto organico: 0,2%
- Sostanza organica: 40%
- pH: 6,1

Il legno e le foglie di quercia sono stati raccolti da una legnaia alla Butterfly Arc, dov'erano conservati in condizioni che favorissero lo sviluppo di funghi. Le foglie sono state sminuzzate con un robot a lame da cucina, mentre i tronchi e rami di legno sono stati trinciati con un biotrituratore domestico.

2.3.3 Altri substrati

Oltre ai due substrati precedentemente menzionati, sono stati preparati anche altri due tipi di substrato, nei quali sono state allevate solamente le larve di *P. speciosissima* in due ripetizioni ciascuno.

Il primo substrato è considerato ottimale in Corea per l'allevamento di larve di *P. brevitarsis*. Questo substrato è composto da 20% di segatura di quercia fermentata e 80% paglia di riso idratata (Kwon, 2009). Non è stato possibile trovare la paglia di riso, quindi è stata utilizzata la paglia d'orzo come sostituto.

Il secondo substrato è il contenuto di una compostaia situata presso la Butterfly Arc, dove vengono fatti fermentare sia i rifiuti vegetali che il letame di capra

insieme a scarti di ortaggi. Questo compost è stato utilizzato per valutare se un substrato più ricco di materia organica fosse più appetibile per le larve del cetonino. Durante il prelievo sono state trovate diverse larve di grandi dimensioni. Queste larve sono state raccolte e collocate in un contenitore con lo stesso substrato da cui sono state prelevate, al fine di identificare la loro specie una volta raggiunta la fase adulta.

2.4 Schema sperimentale

La fase iniziale di questo studio ha coinvolto l'allevamento di diverse specie di scarabei cetonini autoctoni ed una specie africana. L'obiettivo era determinare la specie più adatta per condurre l'esperimento e raccogliere un quantitativo sufficiente di uova per avviare l'allevamento delle larve, nei substrati interessati, garantendo che tutte avessero la medesima età.

Per questa fase sono state selezionate le specie *Protaetia speciosissima* e *Pachnoda aemula*. Prima dell'avvio dell'allevamento delle larve, sono state raccolte le uova dai contenitori di deposizione, aventi capacità di circa 20 litri, e il numero di larve è stato conteggiato. Le uova sono state incubate in gruppi di 12, dalle due alle tre settimane, in 20 contenitori di plastica (Figura 15), al fine di evitare un eventuale sovraffollamento.



Figura 15 - Uova di cetonini nei contenitori per l'incubazione.

La specie *P. speciosissima* ha dimostrato un notevole tasso di prolificità, con un totale di 244 uova raccolte. *Pachnoda aemula* ha prodotto meno uova del previsto, soltanto 154 uova in un periodo di due settimane, probabilmente a causa della minore quantità di adulti riproduttori.

2.4.1 Operazioni riguardanti le larve

Protaetia speciosissima

L'abbondanza di uova deposte da questa specie ha permesso di condurre l'esperimento di allevamento utilizzando anche i due substrati che includono paglia e letame (vedi Capitolo 2.3.3).

Una volta schiuse, 16 larve di età media di quattro giorni (+/- 2 giorni) (vedi Figura 16) sono state inserite in ciascuna delle vasche di allevamento, ognuna contenente 8 litri di substrato. Una volta trascorso il periodo di sperimentazione stabilito di 63 giorni, ipotizzato come tempo utile per raggiungere la quasi maturità del terzo e ultimo stadio larvale, tutte le larve sono state pesate ed è stata misurata la capsula cefalica. Dopodiché, la metà delle larve è stata rimossa e congelata per le successive analisi chimiche. L'altra metà invece è stata lasciata nelle vasche perché potessero completare il loro sviluppo fino allo stadio adulto, al fine di quantificare il tempo impiegato.



Figura 16 - Larve appena nate con una moneta da 1 euro per riferimento.

Pachnoda aemula

Siccome vi era un notevole divario di età tra le larve più giovani e quelle più anziane, e considerando che comunque il numero raccolto non sarebbe stato sufficiente per raggiungere la quantità necessaria, si è optato per l'allevamento in gruppi di 12 larve in vasche contenenti 6 litri di substrato.

Alla fine dell'allevamento, tutte le larve di *P. aemula* sono state misurate e congelate al fine di condurre analisi chimiche. Questa decisione è stata presa sia a causa del numero limitato di esemplari sia perché il ciclo vitale di queste larve è già documentato in letteratura e in allevamenti condotti presso Esapolis (Mazzonetto, 2016).



Figura 17 - Vasche di allevamento delle larve dei cetonini. I codici indicano il tipo di substrato e la specie al suo interno.

2.4.2 Operazioni riguardanti il substrato

Le vasche di allevamento inizialmente dovevano contenere 5 ripetizioni di due tipi di substrato. Siccome il compost vegetale è stato prelevato in due momenti, si è deciso di considerarlo come due substrati diversi (vedi cap. 2.3.1) La suddivisione pertanto è stata la seguente:

- C1: tre vasche destinate a *P. speciosissima* e due a *P. aemula*;
- C2: due destinate a per *P. speciosissima* e tre a *P. aemula*.

L'SO è stato utilizzato nelle stesse cinque ripetizioni per entrambe le specie. Esso è composto da:

- 1/3 di terriccio senza fertilizzante “Ahrens Erde”;
- 1/3 di foglie secche di quercia fungate sminuzzate;
- 1/3 di legno di quercia fungato triturato.

Inoltre, soltanto per *P. speciosissima* sono state allestiti degli allevamenti simili ai precedenti con due ripetizioni ciascuna di:

- Compost contenente letame di capra e scarti di ortaggi;
- Substrato composto da 80% legno fungato triturato e 20% paglia d’orzo idratata (ottimale secondo alcuni studi per l’allevamento di *Protaetia brevitarsis*, cetonino asiatico).

Oltre alle vasche in cui sono state allevate le larve, sono state predisposte anche vasche con i diversi substrati prive di larve, allo scopo di consentire un confronto successivo come gruppo di controllo.

2.4.3 Campioni raccolti

L’esperimento è stato suddiviso in due momenti. In un primo momento sono state allevate le larve di *P. speciosissima*, e una volta concluso l’esperimento e raccolti i dati è iniziato l’esperimento con *P. aemula*.

In totale, per le analisi di laboratorio sono stati raccolti 37 campioni di substrato (Figura 18) e 22 campioni di larve. I campioni di substrato sono stati essiccati a 40°C per 48 ore prima di essere sigillati in provette, mentre le larve sono state conservate in congelatore subito dopo la misurazione. Di seguito saranno presentate le tabelle con i campioni ottenuti.

Le sigle che nominano i campioni sono composte da tre parti separate da un “-“. Il primo valore indica il tipo di substrato:

- “O” corrisponde al substrato ottimale;
- “C1” corrisponde al compost di origine vegetale ottenuto il 15/10;
- “C2” corrisponde al compost di origine vegetale ottenuto il 05/11;
- “L” corrisponde al compost contenente letame di capra;
- “P” corrisponde al substrato ottimale per *P. brevitarsis* contenente paglia d’orzo.

Il secondo valore dopo il “-“ indica la specie:

- “0” indica l’assenza di larve;
- “Ps” corrisponde a *P. speciosissima*;
- “Pa” corrisponde a *P. aemula*;
- I numeri al seguito della specie [1-5] fanno riferimento alla ripetizione.

Infine, il terzo valore indica il tipo di campione:

- “S” se si tratta di substrato;
- “L” se si tratta di larve.

Nella Tabella 4 sono elencati i campioni del gruppo di controllo, costituiti da substrato sempre privo di larve. Il terzo valore non è presente in quanto non esiste un campione corrispondente di larve. In questo caso è presente una lettera complementare dopo lo "0" che indica:

- "A" inizio del primo esperimento;
- "B" fine del primo esperimento e inizio del secondo;
- "C" fine del secondo esperimento.

Codice campioni substrato senza larve	Peso campione essiccato a 40°C per 48 ore (g)	Data preparazione o raccolta substrato	Data di campionatura e etichettatura	Giorni trascorsi fino alla campionatura	Temperatura media (°C)
O-0A	34	01/11/2022	05/11/2022	4	24,2
O-0B	47	01/11/2022	12/01/2023	72	23,1
O-0C	154	01/11/2022	15/03/2023	134	25,2
C1-0A	187	15/10/2022	05/11/2022	21	24,6
C1-0B	398	15/10/2022	12/01/2023	89	25,0
C1-0C	418	15/10/2022	15/03/2023	151	25,1
C2-0A	82	05/11/2022	05/11/2022	0	23,6
C2-0B	156	05/11/2022	12/01/2023	68	25,1
C2-0C	304	05/11/2022	15/03/2023	130	25,2
L-0A	98	27/11/2022	10/12/2022	13	24,6
L-0B	192	27/11/2022	02/03/2023	95	25,1
P-0A	43	20/12/2022	20/12/2022	0	24,6
P-0B	158	20/12/2022	21/03/2023	91	25,6

Tabella 4 - Campioni di substrato privo di larve.

Nella Tabella 5 sono contenuti i campioni di substrato in cui sono state allevate le larve.

Codice campioni substrato con larve	Data inizio allevamento	Data di campionatura e etichettatura	Peso campione essiccato a 40°C per 48 ore (g)	Giorni trascorsi fino alla data di campionatura	Temperatura media nel periodo descritto (°C)
O-Ps1-S	05/11/2022	11/01/2023	181	68	25,1
O-Ps2-S	05/11/2022	11/01/2023	189	68	25,1
O-Ps3-S	05/11/2022	11/01/2023	179	68	25,1
O-Ps4-S	05/11/2022	11/01/2023	162	68	25,1
O-Ps5-S	05/11/2022	11/01/2023	171	68	25,1
C1-Ps1-S	05/11/2022	11/01/2023	373	68	25,1
C1-Ps2-S	05/11/2022	11/01/2023	377	68	25,1
C1-Ps3-S	05/11/2022	11/01/2023	355	68	25,1
C2-Ps4-S	05/11/2022	11/01/2023	229	68	25,1
C2-Ps5-S	05/11/2022	11/01/2023	253	68	25,1

L-Ps1-S	10/12/2022	02/03/2023	197	82	25,2
L-Ps2-S	10/12/2022	02/03/2023	164	82	25,2
P-Ps1-S	20/12/2022	21/03/2023	151	91	25,6
P-Ps2-S	20/12/2022	21/03/2023	138	91	25,6
O-Pa1-S	12/01/2023	15/03/2023	151	59	25,4
O-Pa2-S	12/01/2023	15/03/2023	215	59	25,4
O-Pa3-S	12/01/2023	15/03/2023	147	59	25,4
O-Pa4-S	12/01/2023	15/03/2023	143	59	25,4
O-Pa5-S	12/01/2023	15/03/2023	200	59	25,4
C1-Pa1-S	12/01/2023	15/03/2023	333	59	25,4
C1-Pa2-S	12/01/2023	15/03/2023	329	59	25,4
C2-Pa3-S	12/01/2023	15/03/2023	257	59	25,4
C2-Pa4-S	12/01/2023	15/03/2023	277	59	25,4
C2-Pa5-S	12/01/2023	15/03/2023	223	59	25,4

Tabella 5 - Campioni di substrato in cui sono state allevate larve.

Nella Tabella 6 infine, sono elencati i campioni di larve.

Codice campioni larve	Data inizio allevamento larve	Data di campionatura e etichettatura	Numero di larve sopravvissute	Peso campione fresco (g)	Giorni trascorsi fino alla data di campionatura
O-Ps1-L	05/11/2022	11/01/2023	14	30,34	68
O-Ps2-L	05/11/2022	11/01/2023	16	26,82	68
O-Ps3-L	05/11/2022	11/01/2023	15	28,79	68
O-Ps4-L	05/11/2022	11/01/2023	12	21,71	68
O-Ps5-L	05/11/2022	11/01/2023	14	27,69	68
C1-Ps1-L	05/11/2022	11/01/2023	16	9,64	68
C1-Ps2-L	05/11/2022	11/01/2023	15	12,46	68
C1-Ps3-L	05/11/2022	11/01/2023	12	6,69	68
C2-Ps4-L	05/11/2022	11/01/2023	11	19,83	68
C2-Ps5-L	05/11/2022	11/01/2023	12	21,96	68
L-Ps1-L	10/12/2022	02/03/2023	13	18,74	82
L-Ps2-L	10/12/2022	02/03/2023	15	20,96	82
O-Pa1-L	12/01/2023	15/03/2023	11	26,95	59
O-Pa2-L	12/01/2023	15/03/2023	9	30,85	59
O-Pa3-L	12/01/2023	15/03/2023	7	20,93	59
O-Pa4-L	12/01/2023	15/03/2023	7	23,58	59
O-Pa5-L	12/01/2023	15/03/2023	8	28,8	59
C1-Pa1-L	12/01/2023	15/03/2023	7	7,82	59
C1-Pa2-L	12/01/2023	15/03/2023	8	4,13	59
C2-Pa3-L	12/01/2023	15/03/2023	7	6,10	59
C2-Pa4-L	12/01/2023	15/03/2023	9	7,65	59
C2-Pa5-L	12/01/2023	15/03/2023	10	14,59	59

Tabella 6 - Campioni di larve.

Di tutti i campioni raccolti soltanto alcuni sono stati inviati al laboratorio al fine di contenere i costi. Perciò, nel prossimo capitolo, i risultati faranno riferimento ai campioni delle tre ripetizioni più abbondanti.

Sui substrati sono state usate le seguenti metodologie e analisi:

- Essiccamento a 40°C per 48 ore,
- Macinazione con mulino a griglia,
- Determinazione azoto e carbonio (%) tramite analizzatore elementale,
- Solubilizzazione ed estrazione DTPA dei metalli pesanti arsenico, cadmio e mercurio,

I campioni di larve invece sono stati preparati e analizzati con le seguenti tecniche:

- Liofilizzazione,
- Macinazione con mulino a griglia,
- Essiccazione in stufa per determinare la sostanza secca totale,
- Incenerimento in muffola per determinazione ceneri (%),
- Determinazione della quantità di proteine gregge (%) con il metodo Kjeldhal con fattore di conversione 6,25 (metodo generico che calcola la quantità di N come 16% del peso degli aminoacidi proteici) e 5,60 (specifico per gli insetti che tiene conto del N presente nella chitina, evitando una sovrastima della frazione proteica),
- Determinazione della quantità di lipidi (%) tramite estrazione a caldo,
- Tecnica ICP – OES per l'identificazione dei metalli pesanti arsenico, cadmio e mercurio,
- Profilo amminoacidico con metodologia HPLC,
- Profilo della frazione di acidi grassi (Acidogramma avanzato) tramite gascromatografia.



Figura 18 - Provette contenenti campioni di essiccato di substrato. Questi campioni e i campioni delle larve, che al momento della foto erano conservati in congelatore, sono stati analizzati dal laboratorio di chimica del DAFNAE.

3. Risultati

3.1 Misurazione delle larve

Nella seguente Tabella 7, vengono riportati le dimensioni della capsula cefalica e il peso delle larve di *P. speciosissima* di 63 giorni di età in ogni substrato. Viene presa come misura la capsula cefalica in quanto è l'unica parte rigida del corpo larvale.

Vasca di allevamento	Sopravvissute su 16	Capsula cefalica (mm)	Peso (g)
Compost vegetale (C1-Ps1)	13	4,66	1,32
Compost vegetale (C1-Ps2)	12	4,86	1,50
Compost vegetale (C1-Ps3)	12	4,52	1,27
Media	12,3	4,68	1,36
Tasso sopravvivenza	77%		
Compost vegetale (C2-Ps4)	11	5,45	3,33
Compost vegetale (C2-Ps5)	12	5,42	3,56
Media	11,5	5,44	3,45
Tasso sopravvivenza	72%		
Substrato ottimale (O-Ps1)	14	5,41	3,99
Substrato ottimale (O-Ps2)	16	5,30	3,41
Substrato ottimale (O-Ps3)	15	5,22	3,70
Substrato ottimale (O-Ps4)	12	5,24	3,52
Substrato ottimale (O-Ps5)	14	5,46	4,04
Media	14,2	5,33	3,73
Tasso sopravvivenza	89%		
Compost con letame (L-Ps1)	13	4,86	2,79
Compost con letame (L-Ps2)	15	5,20	3,60
Media	14	5,03	3,20
Tasso sopravvivenza	88%		
Substrato con paglia (P-Ps1)	4	4,39	2,08
Substrato con paglia (P-Ps2)	10	3,35	0,92
Media	7	3,87	1,50
Tasso sopravvivenza	44%		

Tabella 7 - Misurazione delle larve di *P. speciosissima*. I valori di capsula cefalica e peso sono una media di tutte le larve allevate all'interno della stessa vasca.

È evidente dalla Tabella 7 che il tasso di sopravvivenza è più elevato tra le larve allevate nei substrati ottimale (O) e in quello contenente il letame (L). Questo risultato potrebbe essere attribuito alla maggiore concentrazione di sostanze nutritive presenti in questi substrati, dato che anche il peso medio è superiore.

Nonostante le larve siano detritivore, sembrano beneficiare della presenza di materia organica. Inoltre, nelle gabbie di riproduzione degli adulti, le larve spesso

hanno dimostrato di essere interessate alla frutta rimasta a contatto con il terreno nella vasca di deposizione, indicando un possibile comportamento alimentare che non si limita soltanto a materiali vegetali legnosi e ad alto contenuto di cellulosa.

Le dimensioni delle capsule cefaliche sono simili nei substrati C2, O e L. Nel substrato C1, sia le dimensioni delle capsule cefaliche che il peso sono inferiori rispetto agli altri tre substrati.

Il substrato P è caratterizzato da un alto tasso di mortalità delle larve, oltre a presentare valori inferiori di crescita e peso. Probabilmente questo substrato non è idoneo per l'allevamento del cetonino *P. speciosissima*, almeno non in questa formulazione. È interessante notare una differenza sostanziale tra le due ripetizioni di P. Nella vasca in cui è sopravvissuto un minor numero di larve, queste sono risultate più grandi e pesanti, mentre nella vasca in cui sono sopravvissute in maggior numero, le larve sono state più piccole e magre. Questo potrebbe suggerire casi di cannibalismo dovuti alla mancanza di risorse nutritive, in cui le larve che hanno adottato questo comportamento sono state ricompensate con uno sviluppo maggiore. Il cannibalismo tra insetti in cattività è già ben documentato in letteratura, come per esempio nel caso di *A. domesticus* che in assenza di nutrimento sufficiente divora i suoi simili (Jucker *et al.*, 2021).

Trascorsi venti giorni dalla conclusione dell'esperimento, le larve rimanenti sono state osservate per verificare se avevano continuato il loro sviluppo. Durante questa osservazione, è stato notato che una di esse era riuscita a formare una pupa, tuttavia il bozzolo era stato forato e la pupa veniva divorata da un'altra larva (Figura 19).



Figura 19 - Pupa parzialmente cannibalizzata da un'altra larva.

Conclusosi l'allevamento sperimentale di *P. speciosissima*, è iniziato quello con *P. aemula*, per il quale sono stati utilizzati 12 individui invece di 16, con una durata di 63 giorni. I risultati sono riportati nella Tabella 8 seguente:

Vasca di allevamento	Sopravvissute su 12	Capsula cefalica (mm)	Peso (g)
Compost vegetale (C1-Pa1)	7	3,78	1,12
Compost vegetale (C1-Pa2)	8	2,94	0,52
Media	7,5	3,36	0,82
Tasso sopravvivenza	63%		
Compost vegetale (C2-Pa3)	7	3,32	0,87
Compost vegetale (C2-Pa4)	9	3,54	0,85
Compost vegetale (C2-Pa5)	10	4,33	1,46
Media	8,7	3,73	1,06
Tasso sopravvivenza	72%		
Substrato ottimale (O-Pa1)	11	4,80	2,45
Substrato ottimale (O-Pa2)	9	4,82	3,43
Substrato ottimale (O-Pa3)	7	4,81	2,99
Substrato ottimale (O-Pa4)	7	4,83	3,37
Substrato ottimale (O-Pa5)	8	4,80	3,60
Media	8,4	4,81	3,17
Tasso sopravvivenza	70%		

Tabella 8 - Misurazione delle larve di *P. aemula*. I valori di capsula cefalica e peso sono una media di tutte le larve allevate all'interno della stessa vasca.

In quest'esperimento, si osserva una netta differenza nelle dimensioni delle larve cresciute nel substrato O in confronto ai substrati C1 e C2. Le capsule cefaliche delle larve allevate nel substrato O sono maggiori del 36% rispetto a quelle cresciute nei compost vegetali, e presentano un peso che supera di oltre tre volte quello delle altre.

È importante notare che questa specie è stata allevata in cattività per diverse generazioni. La disparità osservata potrebbe derivare da un processo di selezione avvenuto all'interno degli allevamenti preesistenti, in cui gli individui capaci di massimizzare il beneficio da un substrato ricco sono stati favoriti da un maggiore successo riproduttivo. È possibile che, una volta introdotti in un nuovo ambiente caratterizzato da una minore disponibilità di sostanze nutritive, il loro sviluppo si sia rallentato in risposta a questa nuova condizione.

Questa differenza potrebbe anche essere attribuita al fatto che le larve allevate nei substrati C1 e C2 potrebbero aver sperimentato un tempo di sviluppo più simile a quello degli esemplari selvatici in un ambiente naturale, dove la disponibilità di sostanze nutritive è più limitata. In questo contesto, la disparità osservata potrebbe rappresentare il naturale tempo di sviluppo delle larve

nell'ambiente selvatico, evidenziando una risposta adattativa all'abbondanza delle risorse alimentari.

3.2 Analisi chimiche dei substrati di controllo

I campioni di substrato nella Tabella 9 di seguito sono stati prelevati dalle vasche senza larve in modo da avere un gruppo di controllo e verificare le differenze nei substrati all'inizio dell'allevamento, e se avvenivano dei cambiamenti nel tempo. Il substrato P non è stato analizzato in quanto non ha prodotto risultati soddisfacenti durante l'allevamento delle larve.

Campioni substrato	N tot (%)	C org (%)	C inorg (%)	C tot (%)
C1-0A	0,65	9,92	1,84	11,76
C1-0B	0,82	11,40	1,23	12,63
C1-0C	0,83	8,84	1,31	10,15
C2-0A	1,49	21,21	1,22	22,43
C2-0B	1,37	15,98	1,91	17,89
C2-0C	1,17	15,07	1,46	16,53
O-0A	0,90	41,60	0,56	42,16
O-0B	1,08	41,25	0,45	41,70
O-0C	0,94	42,91	0,44	43,35
L-0A	2,83	33,77	0,58	34,35
L-0B	2,41	25,80	0,73	26,53

Tabella 9 - Valori relativi di azoto totale (N tot), carbonio totale (C tot), carbonio organico (C org) e carbonio inorganico (C inorg) dei campioni di substrato di controllo, nei quali non sono mai state inserite larve.

Si può osservare come nei substrati O e L siano presenti quantità maggiori di carbonio organico rispetto ai substrati C1 e C2, il che è correlato alle maggiori dimensioni delle larve osservate.

Sebbene le larve di *P. aemula* non abbiano mostrato grandi differenze di crescita tra C1 e C2, nel caso di *P. speciosissima* invece, sono emerse differenze importanti. Di conseguenza, tra i due substrati, il compost C2 è stato preferibile per l'allevamento della seconda specie.

Il substrato C2 rivela valori di azoto e carbonio superiori di circa il doppio rispetto a C1. L'unica differenza nella storia dei due substrati è stata l'abbondanza di precipitazioni autunnali avvenute nei 20 giorni di distanza tra i campionamenti dei materiali. Un possibile motivo che spiega questa differenza è certamente dovuto al periodo di fermentazione più lungo del compost vegetale C2 e all'umidità molto maggiore che potrebbe avere aumentato il numero di micro e piccoli organismi

che lo hanno colonizzato, degradando il materiale vegetale trinciato e arricchendo il terreno.

Infine, va sottolineato che durante il periodo dell'esperimento, nei substrati C1 e O mantenuti senza larve non sono state osservate variazioni rilevanti nel tempo, mentre nei substrati C2 ed L è avvenuta una graduale diminuzione di azoto e carbonio (vedi Tabella 9).

3.3 Analisi chimiche dei substrati di allevamento

Alla fine dell'esperimento, sono stati prelevati campioni di substrato dalle vasche di allevamento per consentire un confronto con il substrato iniziale, prima dell'introduzione degli esemplari. Oltre ai valori di Azoto e Carbonio, è stata presa la decisione di verificare la presenza di Arsenico, Cadmio e Mercurio in campioni casuali. Questo perché sono metalli pesanti tossici che potrebbero accumularsi nelle larve se presenti in determinate quantità nel terreno.

3.3.1 *Protaetia speciosissima*

Di seguito vengono presentate le tabelle contenenti i risultati delle analisi effettuate sui substrati in cui sono state allevate le larve di *P. speciosissima*.

Campioni compost	N tot (%)	C tot (%)	C org (%)	C inorg (%)
Compost vegetale (C1-Ps1)	0,87	12,09	10,61	1,48
Compost vegetale (C1-Ps2)	0,87	13,86	12,17	1,69
Compost vegetale (C1-Ps3)	0,94	14,61	12,85	1,76
Media	0,90	13,52	11,88	1,64
Compost vegetale (C2-Ps4)	1,16	19,92	17,32	2,6
Compost vegetale (C2-Ps5)	1,21	18,9	17,04	1,86
Media	1,19	19,41	17,18	2,23
Substrato ottimale (O-Ps3)	1,17	42,57	41,99	0,58
Substrato ottimale (O-Ps4)	1,18	41,89	41,38	0,51
Substrato ottimale (O-Ps5)	1,13	40,7	40,13	0,57
Media	1,16	41,72	41,17	0,55
Compost con letame (L-Ps1)	2,57	27,28	26,53	0,75
Compost con letame (L-Ps2)	2,53	26,09	24,76	1,33
Media	2,55	26,69	25,65	1,04

Tabella 10 - Risultati delle analisi sui diversi substrati di allevamento di *P. speciosissima* al fine dei 63 giorni di sperimentazione. Codice di ogni campione tra parentesi.

Campioni compost	As (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)	Hg (mg/Kg)
Compost vegetale (C1-Ps2)	13,44	0,61	<0,01
Compost vegetale (C2-Ps5)	11,47	0,64	<0,01
Substrato ottimale (O-Ps3)	1,06	0,25	<0,01
Compost con letame (L-Ps1)	2,77	0,31	<0,01

Tabella 11 - Risultati delle analisi per la determinazione dei metalli pesanti nei substrati di allevamento di *P. speciosissima*. Queste analisi sono state effettuate soltanto in una ripetizione per ogni serie. Codice del campione tra parentesi.

Di seguito vengono presentati i grafici comparativi delle composizioni chimiche tra i substrati di controllo e i substrati in cui sono state allevate le larve di *P. speciosissima*.

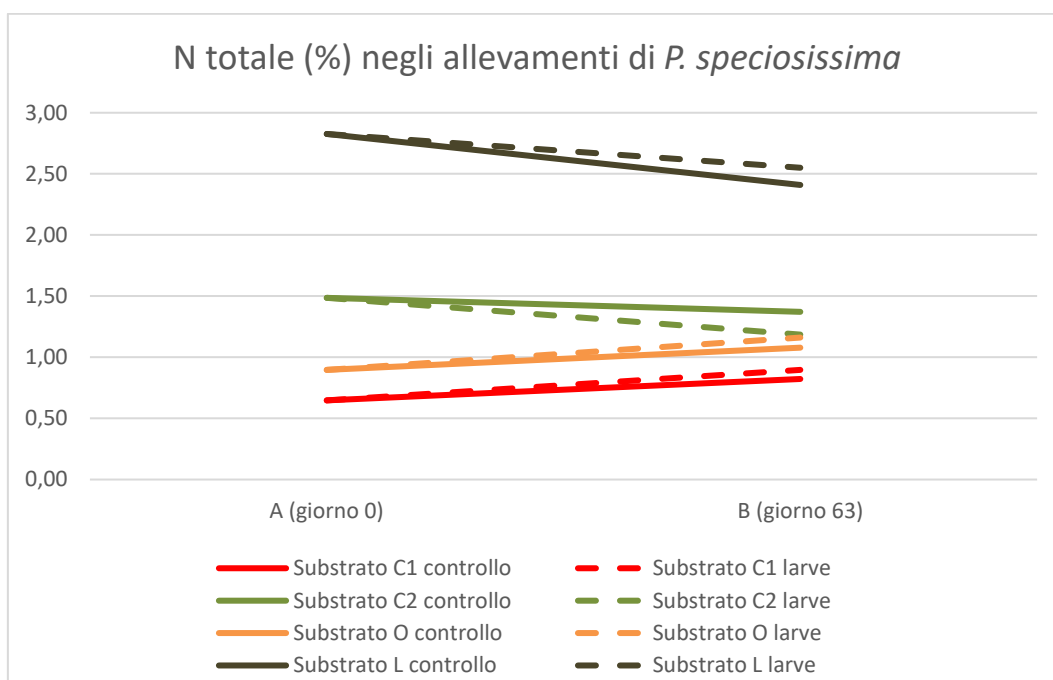


Grafico 9 - Variazione di azoto totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. speciosissima*.

Nonostante l'azoto assimilabile sia spesso un fattore limitante nella crescita degli insetti, è interessante notare la tendenza all'aumento di N in substrati con presenza di larve, invece della sua diminuzione. Questa tendenza è stata osservata anche in altri studi riguardanti cetonini (Balaguer *et al.*, 2011).

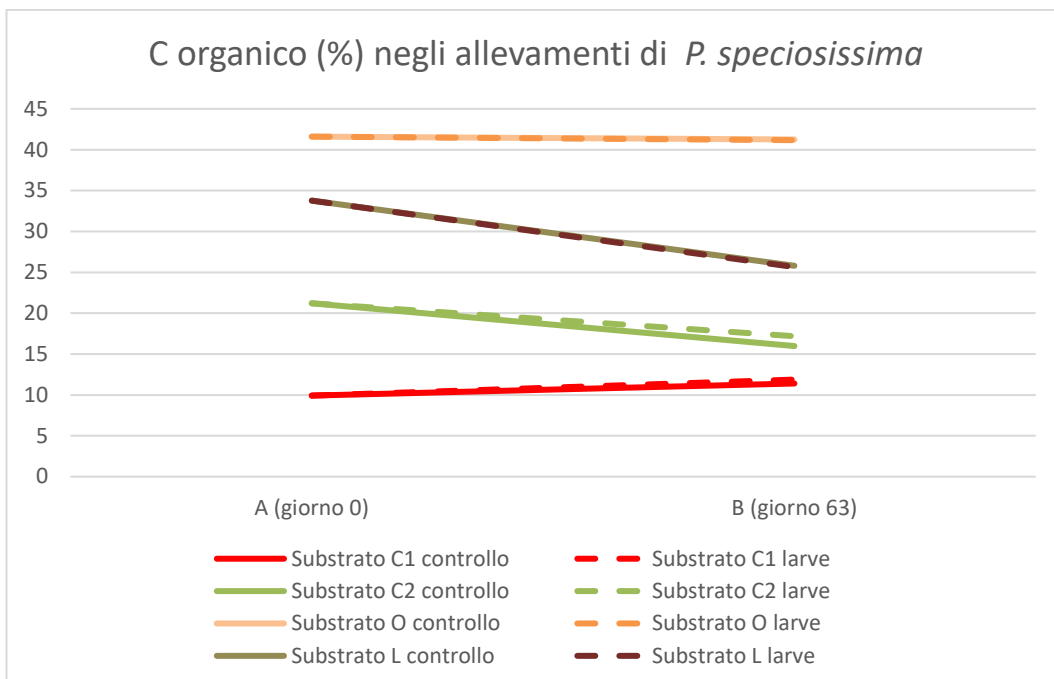


Grafico 10 - Variazione di carbonio organico totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. speciosissima*.

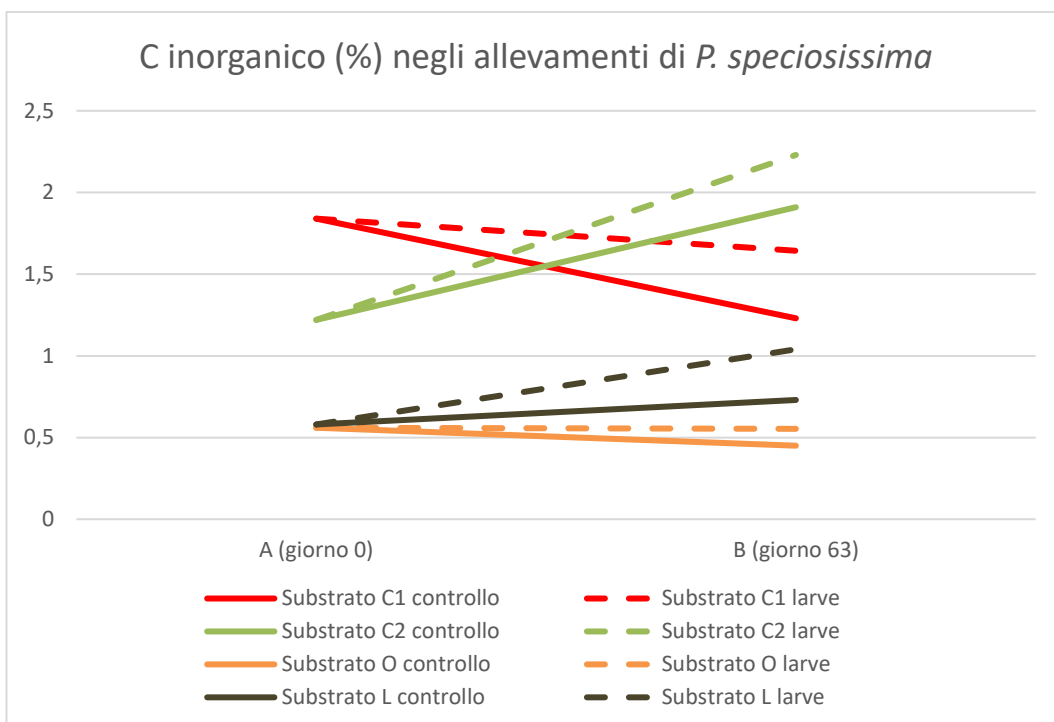


Grafico 11 - Variazione di carbonio inorganico totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. speciosissima*.

I campioni di substrato C1 raccolti alla fine dell'esperimento hanno mostrato un aumento del contenuto di azoto e di carbonio organico, e una diminuzione del carbonio inorganico, quest'ultima più marcata in assenza di larve. Nel caso dei campioni di substrato C2, si è verificato un andamento opposto: c'è stata una lieve

diminuzione del contenuto di azoto e carbonio organico, mentre il carbonio inorganico è aumentato.

Nel substrato O, l'azoto è aumentato in tutti i campioni mentre i valori di carbonio sono rimasti pressoché uguali. In L invece, la quantità di azoto è diminuita, come quella di carbonio organico. Il Carbonio inorganico invece ha subito un aumento.

I substrati di allevamento mostrano andamenti diversi riguardo la quantità di azoto disponibile sia con che senza larve (Grafico 9).

La presenza di larve non sembra influire molto nella quantità di C organico nel substrato (Grafico 10). Diversamente, le analisi fatte per il C inorganico dimostrano che la loro presenza ha portato a una variazione, incrementando la sua disponibilità nei casi in cui esso aumentava, come in C2 e L, e rallentando il suo deperimento in C1 e O (Grafico 11).

I valori di arsenico rilevati in C1 e C2 (Tabella 11) risultano piuttosto elevati, ma è probabile che questo elemento derivi in modo naturale dal terreno in cui il compost era a contatto. Questo dato è supportato dai rilevamenti dell'Arpav, che hanno stimato un valore di fondo di 39 mg/Kg di arsenico nei Colli Berici (Giandon *et al.*, 2019). Cadmio si trova in quantità molto ridotte, mentre la presenza di mercurio è trascurabile.

3.3.2 *Pachnoda aemula*

Di seguito vengono presentate le tabelle contenenti i risultati delle analisi effettuate sui substrati in cui sono state allevate le larve di *P. aemula*:

Campioni compost	N tot (%)	C tot (%)	C org (%)	C inorg (%)
Compost vegetale (C1-Pa1)	0,87	13,11	10,71	2,40
Compost vegetale (C1-Pa2)	0,86	13,13	10,97	2,16
Media	0,87	13,12	10,84	2,28
Compost vegetale (C2-Pa3)	1,38	19,49	17,14	2,35
Compost vegetale (C2-Pa4)	1,37	19,03	17,36	1,67
Compost vegetale (C2-Pa5)	1,34	18,38	15,73	2,65
Media	1,36	18,97	16,74	2,22
Substrato ottimale (O-Pa3)	1,05	38,58	37,69	0,89
Substrato ottimale (O-Pa4)	1,17	42,17	41,63	0,54
Substrato ottimale (O-Pa5)	0,97	37,12	36,59	0,53
Media	1,06	39,29	38,64	0,65

Tabella 12 - Risultati delle analisi sui diversi substrati di allevamento di *P. aemula* al fine dei 63 giorni di sperimentazione. Codice di ogni campione tra parentesi.

Campioni compost	As (mg/Kg)	Cd (mg/Kg)	Hg (mg/Kg)
C1-Pa1-S	14,75	0,68	<0,01
C2-Pa4-S	11,74	0,60	<0,01
O-Pa5-S	1,03	0,28	<0,01

Tabella 13 - Risultati delle analisi per la determinazione dei metalli pesanti nei substrati di allevamento di *P. aemula*. Queste analisi sono state effettuate soltanto in una ripetizione per ogni serie. Codice del campione tra parentesi.

Nei grafici di seguito viene fatta una comparazione tra le variazioni delle componenti del substrato in assenza e in presenza di larve.

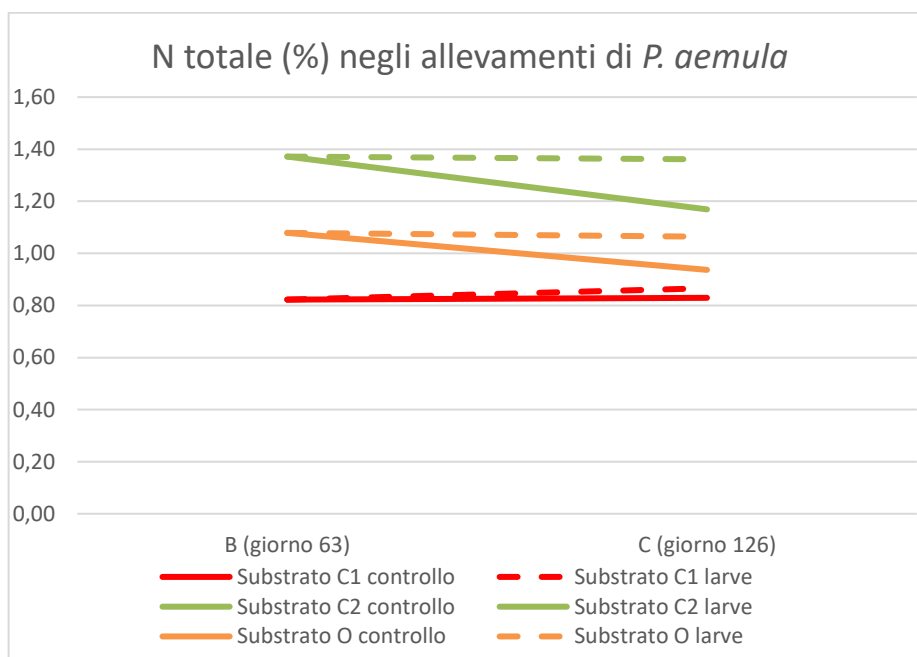


Tabella 14 - Variazione di azoto totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. aemula*.

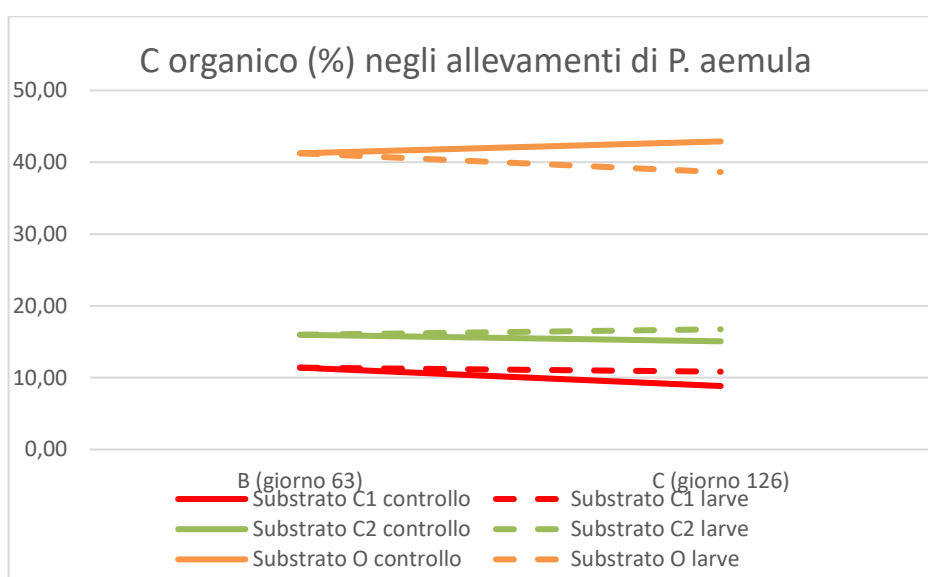


Tabella 15 - Variazione di carbonio organico totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. aemula*.

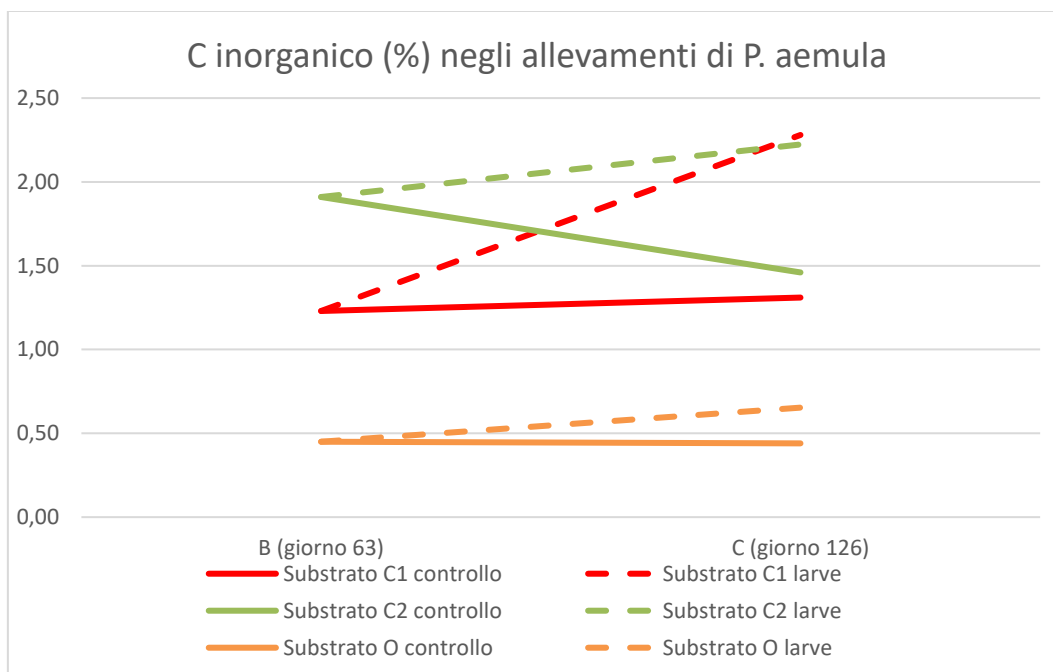


Tabella 16 - Variazione di carbonio inorganico totale (%) nel tempo nei substrati di controllo e in quelli di allevamento di *P. aemula*.

In tutti e tre i substrati non si è osservata una variazione rilevante di azoto e carbonio organico in presenza di larve. In C1 e C2 però, la loro assenza ha portato a una diminuzione di N.

Come nel caso dell'altra specie, la presenza di larve non sembra influire in modo rilevante sul normale andamento della quantità di carbonio organico. Il substrato O in assenza di larve ha mostrato un leggero aumento del C organico.

Le variazioni riscontrate sono comunque minime. Questi risultati potrebbero derivare dal fatto che le larve di *P. aemula* allevate in questi substrati non hanno raggiunto una crescita tale da influenzare in modo significativo la composizione del substrato.

I dati sul carbonio inorganico sono interessanti perché, come prima, i substrati con larve hanno avuto una variazione positiva della sua disponibilità, sia nei casi in cui esso aumenta, sia nel caso in cui diminuisce. Nel caso di C1 in particolare, nel substrato di controllo non è avvenuta una variazione, mentre nello stesso substrato usato per l'allevamento da sua quantità è raddoppiata.

I valori di arsenico risultano ancora elevati per lo stesso motivo menzionato prima.

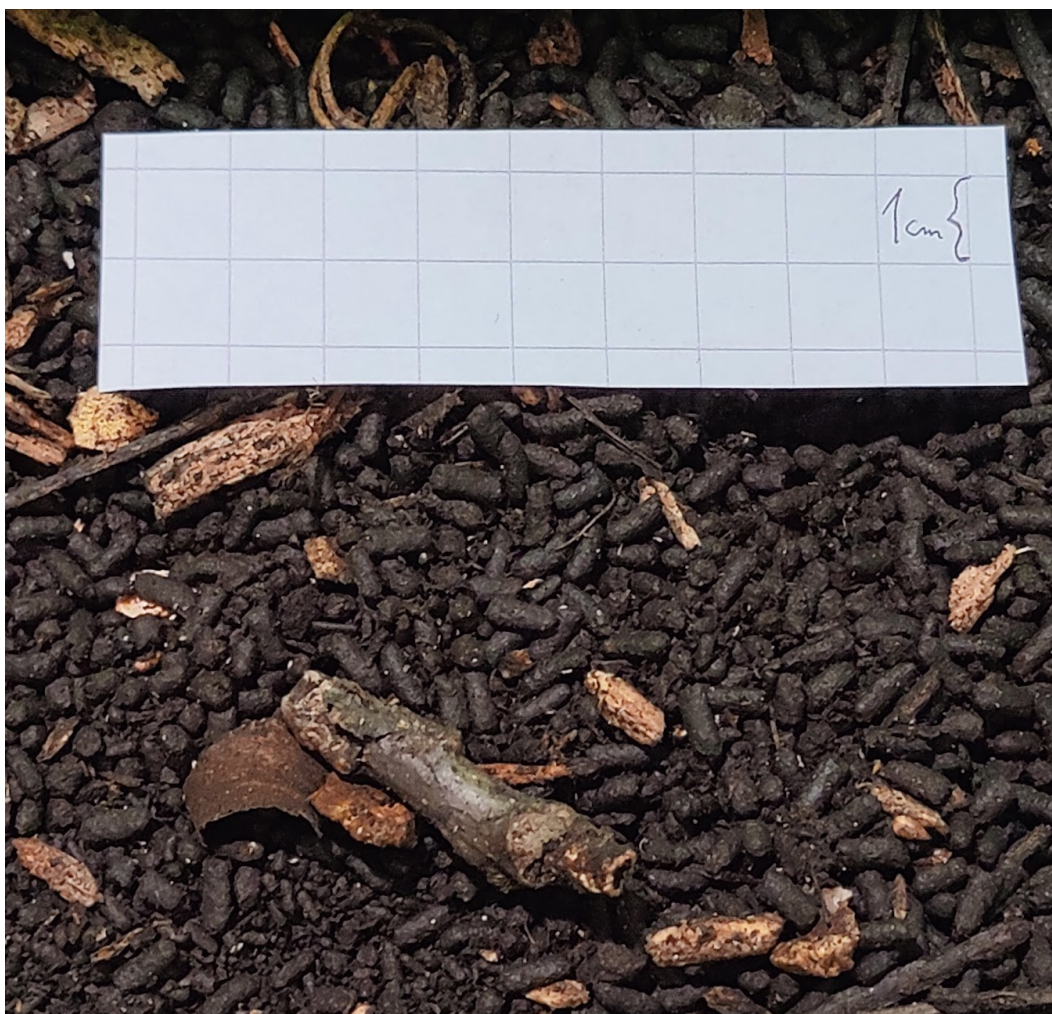


Figura 20 - Substrato O-Pc quasi completamente lavorato dalle larve lasciate a completare lo sviluppo dopo la fine dell'esperimento. Sono ben visibili i pellet fecali escreti. La fotografia è stata scattata il 15 marzo, ossia due mesi dopo la fine del primo esperimento. Non sono stati raccolti campioni di questo substrato in tale data.

3.4 Composizioni nutrizionali delle larve

Le prime analisi chimiche condotte sulle larve avevano come obiettivo la quantificazione delle percentuali di proteine e lipidi rispetto al peso secco. Inoltre, è stata considerata la presenza di metalli pesanti come arsenico, cadmio e mercurio, al fine di valutare se tali elementi sono stati assorbiti dal substrato attraverso le larve. Le tabelle presenti in questa sezione riporteranno i risultati espressi in percentuale del peso secco (%ss). I risultati ottenuti da queste analisi verranno confrontati con i valori dei substrati iniziali, riportati in Tabella 4, per comprendere se la differente disponibilità di nutrienti nel substrato ha influenzato la composizione biochimica delle larve. Si è cercato anche di capire se i metalli pesanti presenti nel substrato sono stato assorbiti dalle larve.

3.4.1 *Protaetia speciosissima*

A seguire, sono presentate le tabelle contenenti i risultati delle analisi chimiche di *P. speciosissima* allevate nei diversi substrati.

Campioni larve	Sostanza secca totale (%)	Ceneri (%ss)	Proteine gregge 6,25 (%ss)	Proteine gregge 5,60 (%ss)	Lipidi (%ss)	Chitina (%ss)
C1-Ps1	15,75	N. D.	43,41	38,90	2,71	7,03
C1-Ps2	15,01	N. D.	40,46	36,25	2,27	9,10
C1-Ps3	12,91	N. D.	41,55	37,22	2,53	7,66
Media	14,56	N. D.	41,81	37,46	2,50	7,93
C2-Ps4	15,73	24,34	40,87	36,62	3,34	9,25
C2-Ps5	16,34	25,44	36,09	32,34	4,34	9,84
Media	16,03	24,89	38,48	34,48	3,84	9,54
O-Ps3	15,63	12,61	43,22	38,73	14,11	10,03
O-Ps4	15,16	13,33	41,37	37,07	10,41	10,00
O-Ps5	16,55	14,05	43,80	39,24	10,90	9,74
Media	15,78	13,33	42,80	38,35	11,81	9,92
L-Ps1	15,26	22,68	44,57	39,93	2,35	8,99
L-Ps2	15,34	19,41	48,66	43,60	5,98	8,00
Media	15,30	21,04	46,61	41,76	4,17	8,49

Tabella 17 – Composizione biochimica di larve di *P. speciosissima* allevate nei diversi substrati.

Campione	C1-Ps	C2-Ps	O-Ps	L-Ps
Arsenico	5,14	3,86	<0,1	2,5
Cadmio	0,41	0,38	0,19	0,27

Tabella 18 - Metalli pesanti assorbiti dalle larve di *P. speciosissima* alla fine dell'allevamento.

La quantità relativa di proteine (gregge 5,60) risulta paragonabile in tutti i campioni, con una media complessiva del 38% del peso secco. Le variazioni di questa percentuale sembrano in alcuni casi accompagnare la quantità di azoto disponibile nel substrato iniziale. Come illustrato nella Tabella 17, le larve L-Ps hanno sintetizzato la quantità maggiore di proteine (41,76% del peso secco) partendo da un substrato ricco di N come L-0A (con 2,83% di N totale). Anche nei casi di C1-Ps (media 37,46 PG %ss,) e O-Ps (38,35 PG %ss,), la quantità di proteine sembra seguire la quantità di N nei substrati C1-0A (con 0,65% di N tot) e O-0A (con 0,90% di N tot). C2-Ps è un caso distinto: nonostante abbia una quantità abbastanza elevata di N disponibile nel campione C2-0A (con 1,49% di N tot), presenta la percentuale minore di proteine nella sua composizione (38,48 PG %ss).

Osservando il Grafico 12 non sembra esserci una correlazione tra la quantità di proteine e la disponibilità di carbonio.

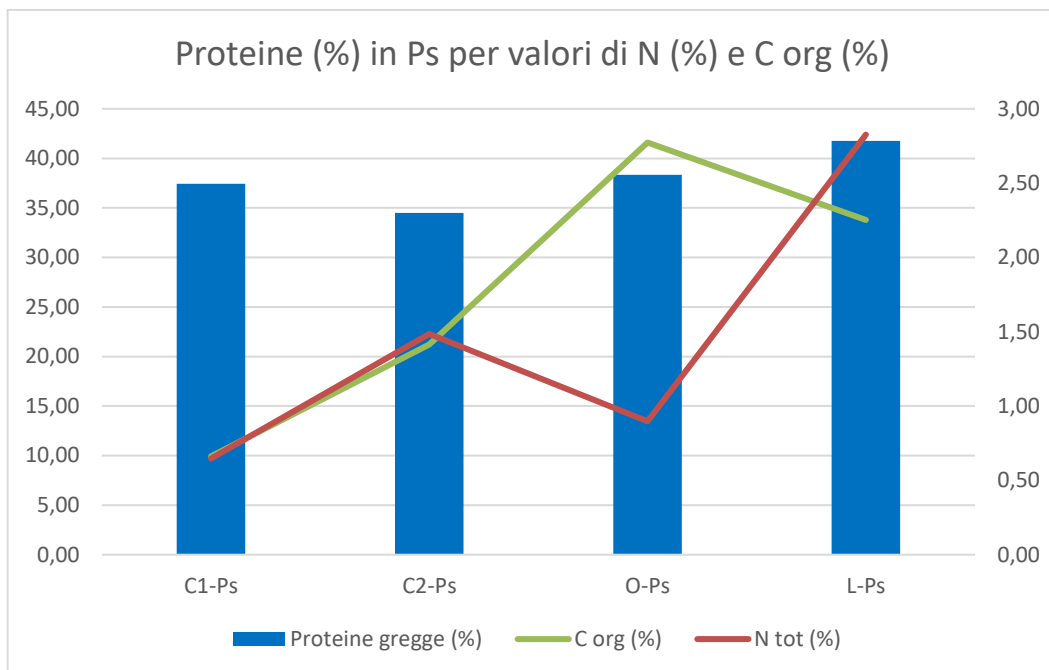


Grafico 12 - Componente proteica (greggia 5,6) di *P. speciosissima* in relazione ad azoto e carbonio organico.

Riguardo alla componente lipidica (Grafico 13), risulta interessante osservare che le larve O-Ps, allevate nel substrato più ricco di Carbonio (O-0A con 42,16% di C totale), hanno sintetizzato quasi il triplo di grassi rispetto alle altre. Nei restanti campioni, una maggiore produzione di lipidi è rispecchiata da una maggiore quantità di C nel substrato.

La quantità di azoto invece, non sembra influire sulla sintesi di lipidi.

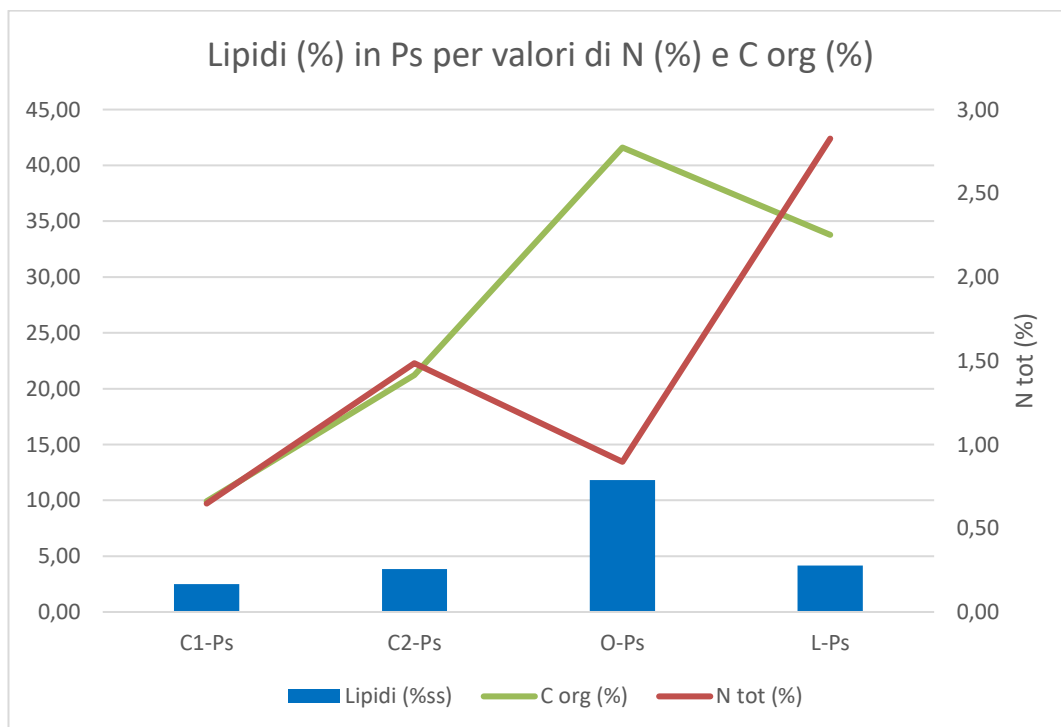


Grafico 13 - Componente lipidica di *P. speciosissima* in relazione ad azoto e carbonio organico.

Sulla base dei dati raccolti, emerge una tendenza ad assorbire metalli pesanti presenti nel substrato di allevamento (Grafico 14 e Grafico 15).

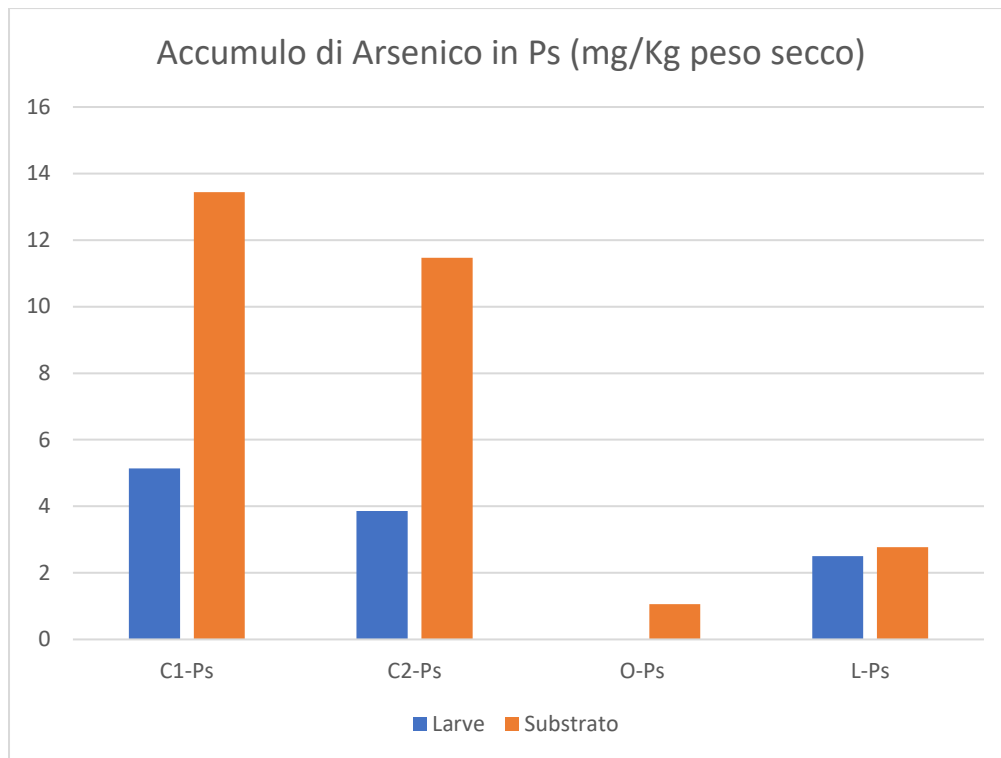


Grafico 14 - Presenza di Arsenico in larve di *P. speciosissima* e nei substrati di allevamento.

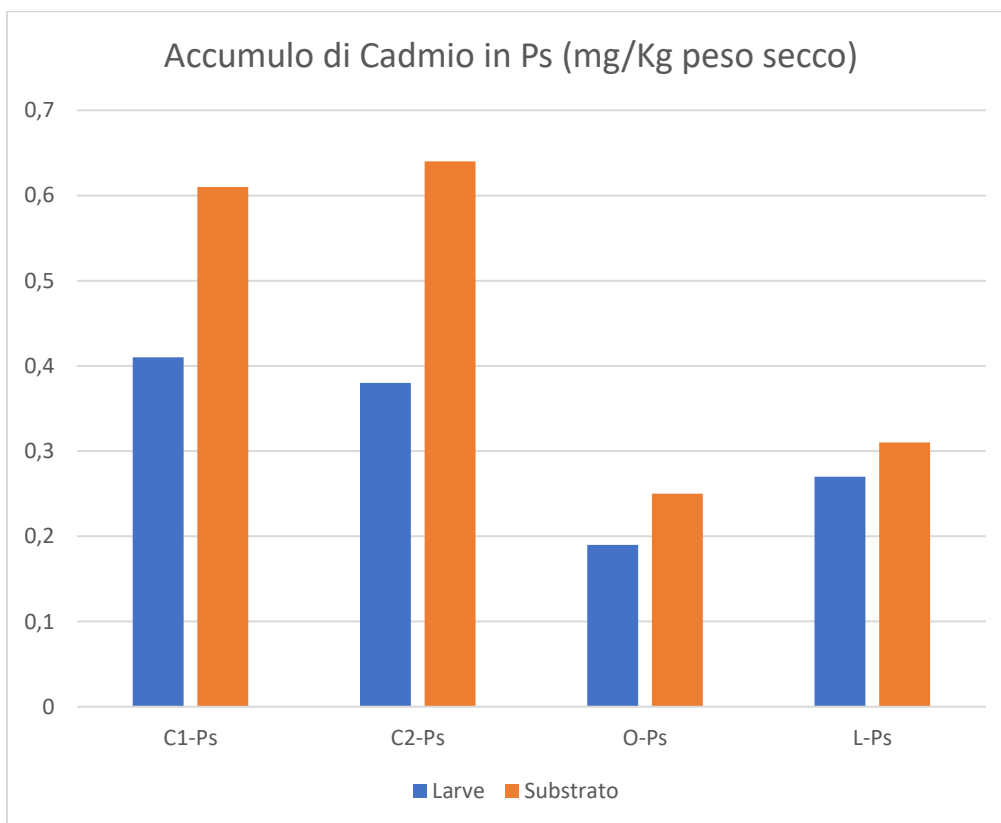


Grafico 15 - Presenza di Cadmio in larve di *P. speciosissima* e nei substrati di allevamento.

3.4.2 *Pachnoda aemula*

Le stesse analisi sono state condotte anche su *P. aemula*, e i risultati sono riportati nelle tabelle seguenti.

Campioni larve	Sostanza secca totale (%)	Ceneri (%ss)	Proteine gregge 6,25 (%ss)	Proteine gregge 5,60 (%ss)	Lipidi (%ss)	Chitina (%ss)
C1-Pa1-L	15,05	N. D.	48,81	43,73	3,47	8,11
C1-Pa2-L	22,95	N. D.	43,10	38,62	2,62	6,72
Media	19,00	N. D.	45,96	41,18	3,04	7,42
C2-Pa3-L	16,50	N. D.	50,27	45,04	2,93	8,46
C2-Pa4-L	14,00	N. D.	46,26	41,45	2,24	10,24
C2-Pa5-L	18,26	N. D.	50,09	44,88	3,73	8,49
Media	16,25	N. D.	48,87	43,79	2,97	9,06
O-Pa3-L	18,84	12,28	46,58	41,74	9,67	8,81
O-Pa4-L	16,01	12,85	49,57	44,42	10,71	9,61
O-Pa5-L	17,23	11,19	48,11	43,10	13,64	6,01
Media	17,36	12,11	48,09	43,09	11,34	8,14

Tabella 19 – Composizione biochimica di larve di *P. aemula* allevate nei diversi substrati.

Campione	C1-Pa	C2-Pa	O-Pa
Arsenico	4,76	2,10	<0,1
Cadmio	0,46	0,30	0,24

Tabella 20 - Metalli pesanti assorbiti dalle larve di *P. aemula* alla fine dell'allevamento.

Nell'allevamento di *P. aemula*, la quantità di proteine (gregge 5,6) sintetizzate risulta superiore rispetto a *P. speciosissima* con una media complessiva di 42,68%, rispecchiando inoltre in modo più fedele la quantità di N disponibile nei substrati (Grafico 16).

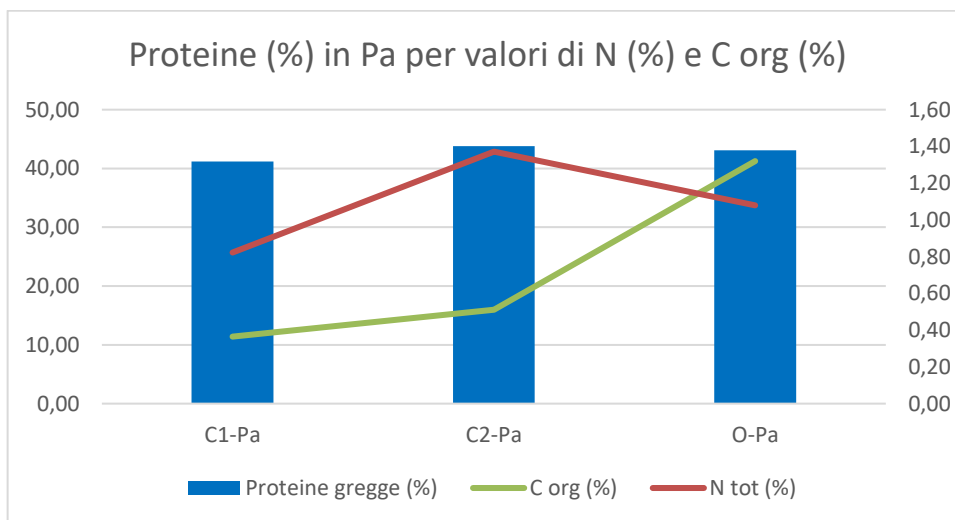


Grafico 16 - Componente proteica (greggia 5,6) di *P. aemula* in relazione ad azoto e carbonio organico.

Analogamente, anche la componente lipidica riflette la quantità di carbonio presente nel substrato, aumentando di quasi il triplo quando la percentuale di C raggiunge il 41,7% in O-OB (Grafico 17).

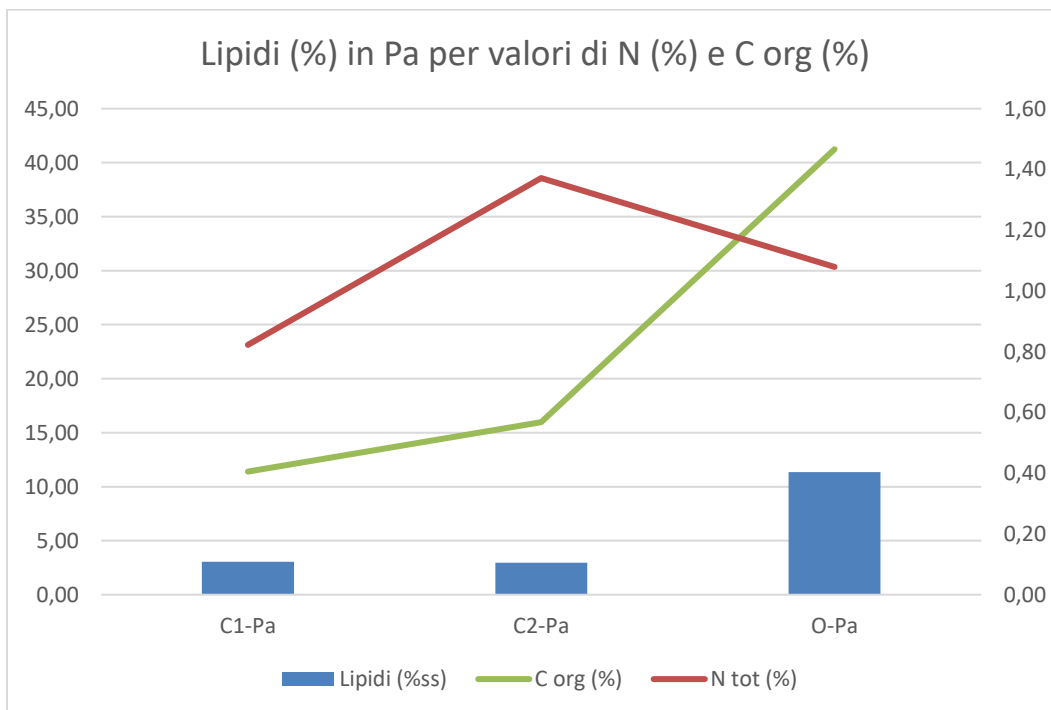


Grafico 17 - Componente lipidica di *P. aemula* in relazione ad azoto e carbonio organico.

In linea con quanto osservato per *P. speciosissima*, anche in *P. aemula* si evidenzia che la presenza di metalli pesanti nelle larve è proporzionale alla quantità rilevata nel substrato di allevamento (come riportato in Grafico 18 e Grafico 19).

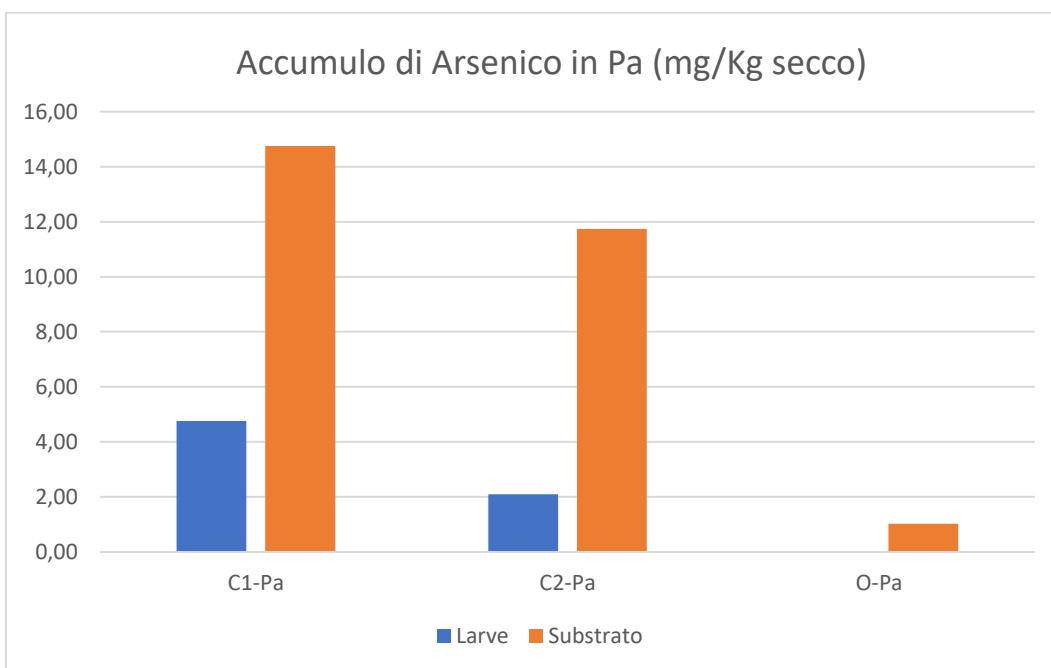


Grafico 18 - Presenza di Arsenico in larve di *P. aemula* e nei substrati di allevamento.

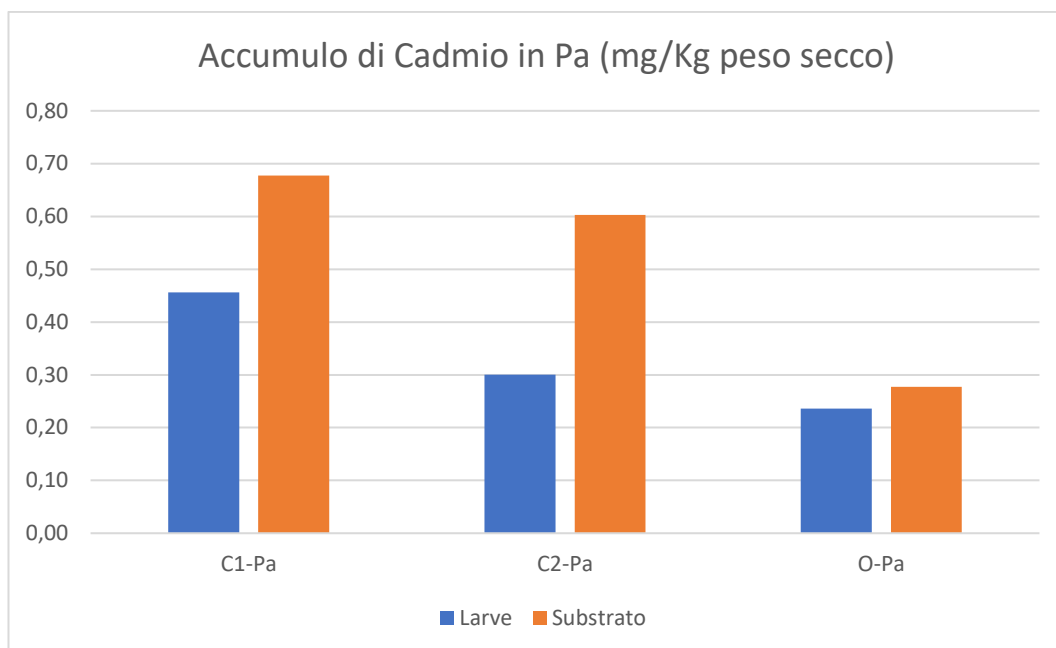


Grafico 19 - Presenza di Cadmio in larve di *P. aemula* e nei substrati di allevamento.

3.4.3 *Protaetia brevitarsis*

I valori nutrizionali ottenuti in questo studio risultano comparabili a quelli riportati per *P. brevitarsis* (Nikkah, et al., 2021), come indicato nella Tabella 21. La minore quantità di proteine e lipidi prodotta dalle larve allevate in questo esperimento rispetto al cetonino asiatico potrebbe essere giustificata dal fatto che quest'ultimo viene allevato a fini commerciali, e quindi il substrato fornito alle larve dai produttori è preparato seguendo una formulazione ottimale per il loro sviluppo.

Specie	Media complessiva p. g. 6,25	Media complessiva lipidi
<i>P. speciosissima</i>	42,42%	5,58%
<i>P. aemula</i>	47,64%	5,78%
<i>P. brevitarsis</i>	50,50%	13,5%

Tabella 21 - Media complessiva tra tutti gli allevamenti della stessa specie comparati con i valori ottenuti da Nikkah, et al. (2021) per *P. brevitarsis*. È stato utilizzato il fattore di conversione 6,25 per essere coerenti con il dato ottenuto nell'altro studio.

3.5 Composizione amminoacidica

La componente relativa di aminoacidi su peso secco è stata raccolta ed è stata calcolata una media per i campioni di larve dei diversi substrati.

Nella Tabella 22 di seguito è riportata la quantità relativa di 18 aminoacidi identificati su *P. speciosissima*.

Aminoacido (g/100g secco)	Media C1*	Media C2	Media O	Media L
Istidina	1,34	1,38	1,22	1,53
Arginina	1,58	1,52	1,62	1,60
Serina	1,70	1,65	2,02	1,64
Glicina	2,49	2,36	2,22	2,46
Aspartico	2,59	2,54	2,28	2,37
Glutammico	4,56	4,40	4,16	4,05
Treonina	1,41	1,38	1,29	1,33
Alanina	2,01	1,85	1,57	1,93
Prolina	2,31	3,20	3,26	3,36
Lisina	2,09	2,09	2,00	1,94
Metionina	0,30	0,31	0,40	0,45
Tirosina	1,25	1,38	2,48	1,81
Valina	1,69	1,69	1,56	1,70
Cisteina	0,67	0,62	0,59	0,78
Isoleucina	1,25	1,22	1,19	1,21
Leucina	1,91	1,83	1,85	1,80
Fenilalanina	1,09	1,08	1,34	1,21
Triptofano	0,26	0,29	0,42	0,32

*Tabella 22 - Profilo amminoacidico di P. speciosissima nei diversi tipi di substrato. *la quantità della terza ripetizione della serie non era sufficiente per condurre l'analisi.*

Nella Tabella 23 di seguito invece, è riportata la quantità relativa di 18 aminoacidi identificati su *P. aemula*.

Aminoacido (g/100g secco)	Media C1-Pa	C2*	Media O
Istidina	N. D.	1,23	1,31
Arginina	N. D.	1,72	1,77
Serina	N. D.	1,67	2,21
Glicina	N. D.	2,36	2,53
Acido Aspartico	N. D.	2,22	2,33
Acido Glutammico	N. D.	3,87	4,36
Treonina	N. D.	1,19	1,30
Alanina	N. D.	1,69	1,51
Prolina	N. D.	2,08	2,62

Lisina	N. D.	1,91	2,03
Metionina	N. D.	0,43	0,48
Tirosina	N. D.	1,48	3,05
Valina	N. D.	1,37	1,59
Cisteina	N. D.	0,68	0,76
Isoleucina	N. D.	1,10	1,26
Leucina	N. D.	1,78	2,01
Fenilalanina	N. D.	1,24	1,60
Triptofano	N. D.	0,42	0,52

Tabella 23 - Profilo amminoacidico di *P. aemula* nei diversi tipi di substrato. *nella serie C2 le analisi sono state condotte solo nella terza ripetizione (C2-Pa3).

Infine, è stata calcolata la media complessiva della quantità di amminoacidi rilevati nelle specie studiate, e il risultato è stato confrontato nella Tabella 24 con il cetonino *P. brevitarsis* (Yoon *et al.*, 2020), già ampiamente utilizzato in Asia a scopi alimentari e medicinali.

Amminoacido (g/100g secco)	<i>P. speciosissima</i> Media complessiva	<i>P. aemula</i> Media complessiva	<i>P. brevitarsis</i>
Istidina	1,36 ± 0,13	1,27 ± 0,04	1,24
Arginina	1,58 ± 0,04	1,74 ± 0,03	2,22
Serina	1,75 ± 0,18	1,94 ± 0,27	2,66
Glicina	2,38 ± 0,12	2,44 ± 0,09	3,55
Acido Aspartico	2,44 ± 0,14	2,27 ± 0,05	4,30
Acido Glutammico	4,29 ± 0,23	4,11 ± 0,24	7,02
Treonina	1,35 ± 0,05	1,24 ± 0,05	2,23
Alanina	1,84 ± 0,19	1,60 ± 0,09	2,82
Prolina	3,03 ± 0,49	2,35 ± 0,27	2,77
Lisina	2,03 ± 0,07	1,97 ± 0,06	3,43
Metionina	0,36 ± 0,07	0,45 ± 0,03	0,44
Tirosina	1,73 ± 0,55	2,27 ± 0,78	5,29
Valina	1,66 ± 0,07	1,48 ± 0,11	2,61
Cisteina	0,67 ± 0,09	0,72 ± 0,04	0,33
Isoleucina	1,22 ± 0,02	1,18 ± 0,08	2,19
Leucina	1,85 ± 0,04	1,89 ± 0,11	3,38
Fenilalanina	1,18 ± 0,12	1,42 ± 0,18	2,73
Triptofano	0,32 ± 0,07	0,47 ± 0,05	N. D.
Totale	31,06	30,83	48,07

Tabella 24 - Media complessiva degli amminoacidi ottenuti dalle specie allevate a confronto con *P. brevitarsis* (Yoon *et al.*, 2020).

Le quantità di aminoacidi prodotti da *P. speciosissima* e *P. aemula* sono paragonabili tra di loro (Grafico 20). Alcuni di essi come prolina e valina vengono sintetizzati in quantità maggiori, altri invece come metionina, tirosina e triptofano si riscontrano maggiormente nella seconda specie.

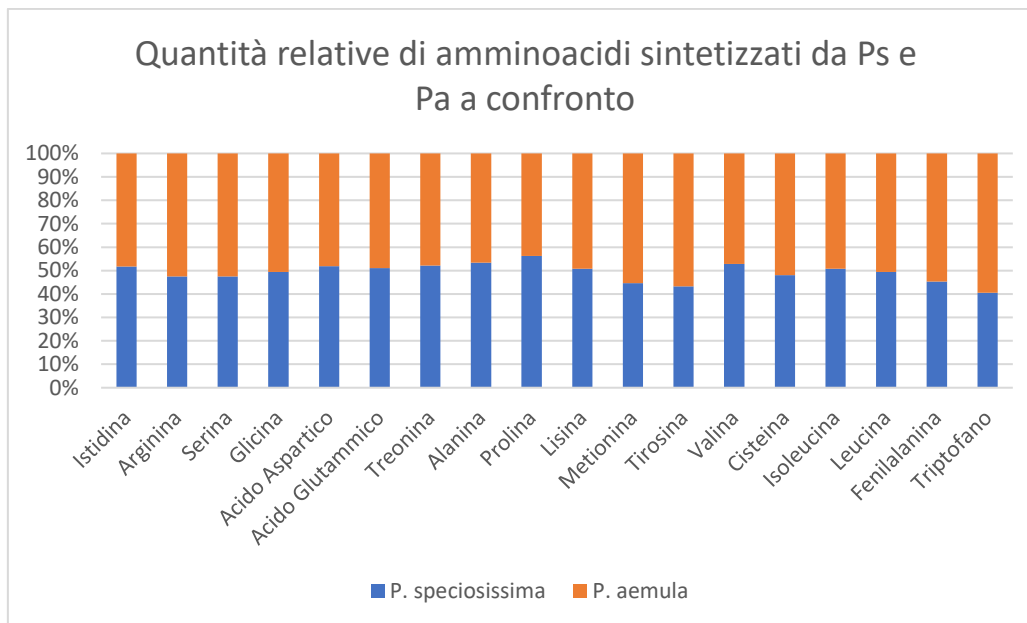


Grafico 20 - Amminoacidi prodotti da *P. speciosissima* e *P. aemula* a confronto.

Un ulteriore confronto è stato fatto prendendo in considerazione gli aminoacidi essenziali che si trovano nelle fonti animali più comuni (Jeong e Shin, 2020), compresi gli insetti di recente introduzione nella dieta europea (Tabella 25).

Animale	Amminoacidi (g/Kg)								
	Hys	Ile	Leu	Lys	Met	Phe	Thr	Trp	Val
<i>Tenebrio molitor</i> (larva)	8,3	13,1	22,0	15,8	6,0	13,0	12,6	2,9	18,9
<i>Bombix mori</i> (Larva)	6,8	9,5	17,0	16,9	7,7	11,5	11,0	3,4	13,6
<i>Acheta domesticus</i> (adulto)	6,9	10,9	23,4	17,3	4,4	10,3	12,0	2,9	20,1
Pollo (coscia, senza pelle)	8,3	11,0	18,6	21,6	5,8	9,0	10,0	2,8	11,6
Manzo (bistecca)	6,7	9,6	16,8	17,9	5,5	8,3	8,4	1,3	10,5
Maiale (parte magra)	8,1	9,5	16,4	18,4	5,4	8,1	9,3	2,6	11,1
<i>Protaetia speciosissima</i> (larva)	13,6	12,2	18,5	20,3	3,6	11,8	13,5	3,2	16,6
<i>Pachnoda aemula</i> (larva)	12,7	11,8	18,9	19,7	4,5	14,2	12,4	4,7	14,8

Tabella 25 - Quantità di aminoacidi essenziali presenti nelle principali fonti proteiche, espressa in g/Kg. I dati del confronto sono stati presi da Jeong e Shin (2020).

I cetonini studiati dimostrano valori molto elevati di istidina e triptofano rispetto agli altri alimenti. Tutti gli altri aminoacidi sono in linea con i valori riscontrati nelle fonti proteiche più comuni, tranne per metionina che presenta i valori più bassi.

3.6 Profilo degli acidi grassi

Nella Tabella 26 di seguito sono calcolate le diverse frazioni di acidi grassi identificati nei cetonini studiati.

	<i>P. speciosissima</i>	<i>P. aemula</i>
Acidi grassi	Frazione (%)	Frazione (%)
Saturi	30,37	46,71
a catena ramificata	1,12	1,15
Monoinsaturi	54,00	36,76
a catena ramificata	0,78	0,78
Polinsaturi	11,76	12,74
Carbociclici, idrossiacidi, isoprenoidi e acido fitanico	1,98	1,86
Totale	100,00	100,00

Tabella 26 - Diverse frazioni di acidi grassi calcolate in *P. speciosissima* e *P. aemula*.

Da questi dati emerge una componente maggiore di acidi grassi saturi in *P. aemula* e una parte maggiore di monoinsaturi in *P. speciosissima*. Gli acidi grassi polinsaturi sono equivalenti.

Le analisi chimiche condotte nelle larve hanno permesso di tracciare un profilo degli acidi grassi per entrambe le specie. Nella Tabella 27 di seguito ne sono elencati i principali (in percentuale sul totale di acidi grassi identificati) e viene fatto un confronto con *P. brevitarsis* (Yeo, *et al.*, 2013).

Componente	Acido grasso	<i>P. speciosissima</i>	<i>P. aemula</i>	<i>P. brevitarsis</i>
		(%)	(%)	(%)
Acido miristico	C14:0	1,62	1,93	0,70
Acido miristoleico	C14:1	0,21	0,06	0,15
Acido pentadecanoico	C15:0	0,54	0,69	0,11
Acido palmitico	C16:0	18,38	30,51	15,89
Acido palmitoleico	C16:1	10,50	3,05	10,43
Acido margarico	C17:0	0,50	0,71	0,09
Acido margaroleico	C17:1	0,02	0,00	0,30
Acido stearico	C18:0	2,23	4,97	1,81
Acido oleico	C18:1	37,21	28,85	64,24
Acido linoleico	C18:2	9,78	10,54	4,69
Acido arachidico	C20:0	0,171	0,175	0,54
Acido gamma-linolenico	C18:3	0,15	0,18	0,05
Acido gondoico	C20:1	0,05	0,01	0,45
Acido linolenico	C18:3	0,41	0,36	0,23
Acido eneicosanoico	C21:0	0,00	0,00	0,09
Acido tricosanoico	C23:0	0,02	0,03	0,23

Tabella 27 - Principali acidi grassi rilevati in *P. speciosissima* e *P. aemula*. Nelle ultime due colonne sono presenti i dati relativi a *P. brevitarsis* per un confronto.

Yeo *et al.* (2013) dichiara che gli acidi grassi di *P. brevitarsis* sono per l'80,54% insaturi, circa 15% in più rispetto a *P. speciosissima*. Oltre a quelli elencati di seguito sono stati identificati molti altri in quantità esigue. Non essendo lo scopo di questa tesi non saranno elencati tutti, ma soltanto quelli relativamente più abbondanti e interessanti (Tabella 28).

Componente	Acido grasso	<i>P. speciosissima</i> <i>P. aemula</i>	
		(%)	(%)
Acido isopentadecanoico	C15:0	2,24	2,54
Acido cis-7-esadecenoico	C16:1	0,67	0,52
Acido cis-11-esadecenoico	C16:1	2,08	1,64
Acido cis-9-eptadecenoico	C17:1	0,67	0,56
Acido 7-metil-6-esadecenoico	C17:1	0,55	0,59
Acido asclepico	C18:1	1,48	1,18
Acido arachidonico	C20:4	0,26	0,50

Tabella 28 - Altri acidi grassi interessanti identificati nelle due specie dello studio.

Per approfondire, si è deciso di verificare se esiste una correlazione tra la quantità di C organico disponibile nel substrato di allevamento e la composizione degli acidi grassi.

Protaetia speciosissima

Negli allevamenti di *P. speciosissima* si è osservata una maggiore produzione di acidi grassi monoinsaturi a discapito dei saturi, in proporzione alla quantità di C organico disponibile (Grafico 21).

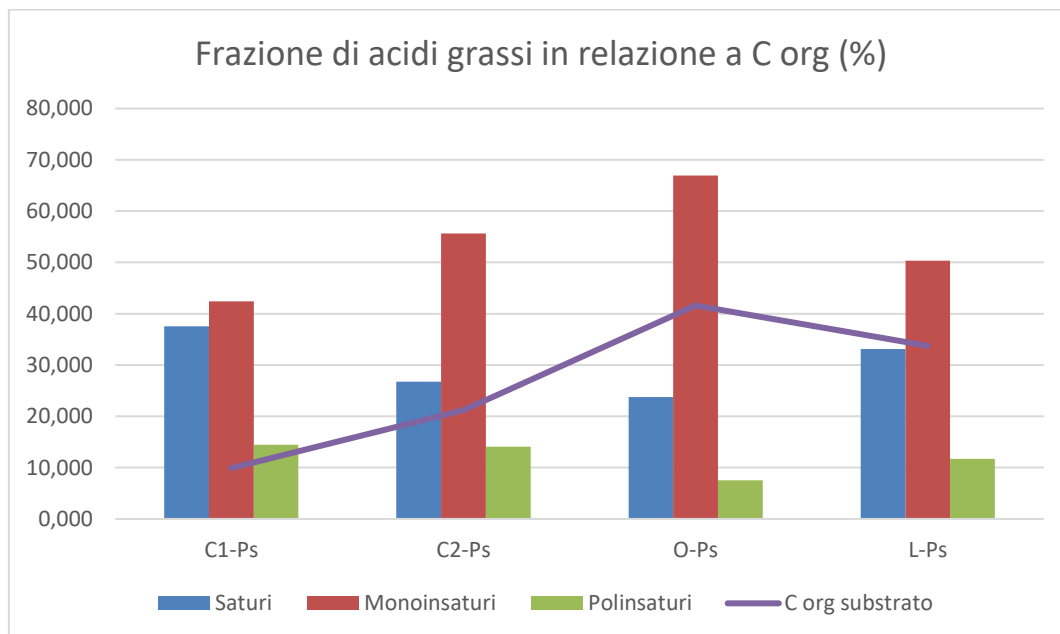


Grafico 21 - Composizione degli acidi grassi in relazione al carbonio organico disponibile nei diversi substrati di allevamento di *P. speciosissima*.

Pachnoda aemula

In *P. aemula* la tendenza osservata prima è meno evidente e sembra esserci una distribuzione più costante della frazione di acidi grassi nei diversi substrati (Grafico 22).

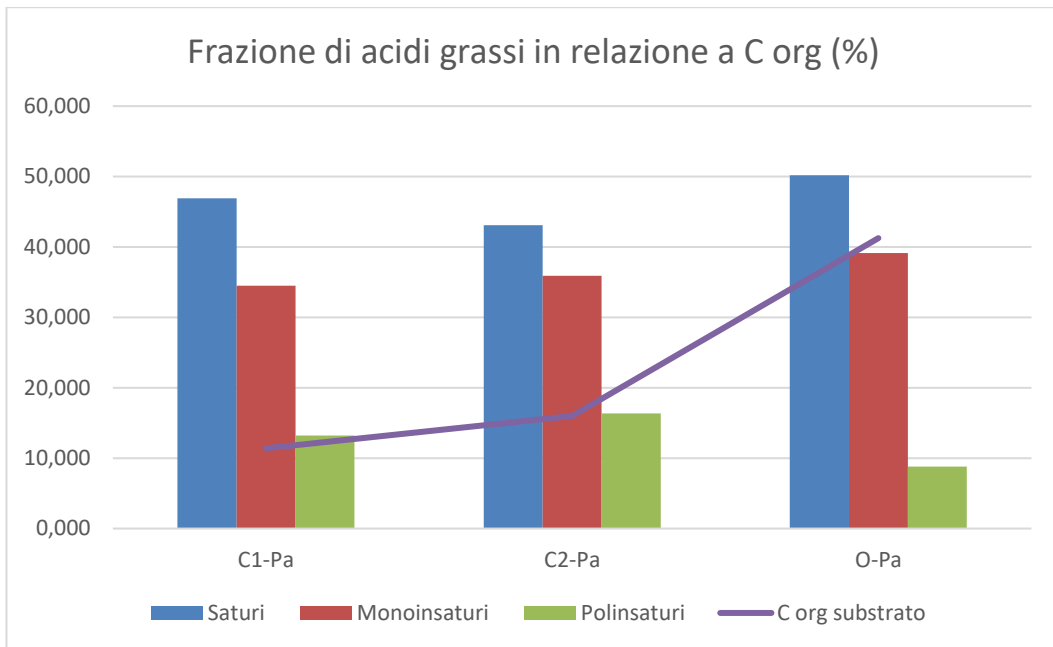


Grafico 22 - Composizione degli acidi grassi in relazione al carbonio organico disponibile nei diversi substrati di allevamento di *P. aemula*.



Figura 21 - Larva di P. speciosissima appena conclusa la muta. Si può osservare la vecchia cuticola accartocciata sotto di essa.

4. Conclusione

Allevamenti

Gli allevamenti di *P. cuprea* e *P. speciosissima* sono stati condotti con successo. È stato dimostrato che entrambe le specie possiedono buone capacità di sopravvivenza e riproduzione in cattività in un ambiente con un ciclo di luce di 16 ore e una temperatura media di 25°C. *C. aurata* non è stata in grado di sopravvivere in cattività, forse a causa delle condizioni ambientali a cui è stata sottoposta in laboratorio, ma ciò non preclude la possibilità di ripetere l'esperimento successivamente in condizioni adeguate. *O. funesta* ha dimostrato di avere del potenziale in questo contesto e potrebbe essere, in futuro, oggetto di interesse per studi di approfondimento.

Trasformazione del substrato

L'interpretazione dei dati relativi alla trasformazione del substrato da parte delle larve risulta complessa, principalmente a causa del numero limitato di ripetizioni. Inoltre, va considerato che, al termine degli esperimenti oltre la metà del substrato non era stato ancora trasformato in pellet fecali. Sebbene fosse stato calcolato che la quantità ottimale di substrato dovesse essere uguale a 0,5 l per larva, forse a causa delle condizioni ambientali o della durata troppo corta dell'esperimento questo si è dimostrato troppo abbondante per lo scopo di questa valutazione.

Un dato interessante emerso è che l'azoto presente nei substrati tendeva ad aumentare in presenza di larve. Questo dato è stato osservato anche negli esperimenti condotti da Balaguer *et al.* nel 2011 su *Cetonia aurataeformis*. L'interpretazione che hanno dato a questo evento è che avviene una possibile fissazione di azoto da parte delle larve, come già dimostrato in letteratura anche da altri autori per altri insetti saproxilici (vedi Balaguer *et al.*, 2011).

Per ottenere risultati più completi e rappresentativi, sarebbe interessante replicare l'esperimento con un numero maggiore di ripetizioni, proseguendo l'allevamento delle larve fino al termine dello sviluppo o, almeno, fino alla fase di pupa. Sarebbe possibile rispettare questa condizione negli allevamenti di *P. speciosissima* dato il lungo periodo di sviluppo larvale osservato, e così si potrebbe ottenere una quantità maggiore di materiale trasformato per ulteriori analisi quantitative.

Va prestata particolare attenzione alla presenza di metalli pesanti nella scelta del substrato di allevamento, poiché è stato dimostrato che questi possono venire assorbiti dalle larve in quantità non ancora del tutto chiare. L'utilizzo di terreni di coltura privi di sostanze inquinanti, in questo caso metalli tossici, eviterebbe il superamento della soglia definita dagli organi di sicurezza alimentare.

La legislazione europea definisce i limiti massimi di alcuni elementi tossici all'interno di alimenti e mangimi per garantire la sicurezza per il consumatore in tutta la filiera produttiva. Nel caso dell'arsenico questo valore è di

- **Negli alimenti:** per ora il limite di arsenico esiste solamente per il riso, che e va da 0,15 a 0,3 mg/Kg di peso fresco a seconda della tipologia di prodotto, e il sale che non deve superare il 0,5 mg/Kg (Regolamento (UE) 2023/465),
- **Nei mangimi:** 2 mg/Kg in materie prime per mangimi con tasso di umidità del 12% (Regolamento (UE) N. 744/2012).

Per il cadmio i valori sono i seguenti:

- **Negli alimenti:** 0,5 mg/Kg per i crostacei, ma può variare molto a seconda dell'alimento, arrivando a 0,05 mg/Kg per manzo, ovini, pollame e suini (Regolamento (UE) 2021/1323),
- **Nei mangimi:** 2 mg/Kg in materie prime per mangimi di origine animale con umidità del 12% (Regolamento (UE) N. 1275/2013).

Riguardo ai campioni raccolti, il contenuto di arsenico è sempre stato superiore alla soglia nelle larve allevate in substrati ricchi di questo elemento, ma questi valori fanno riferimento al peso secco. L'idoneità delle larve per la produzione di mangimi va chiarita calcolando la quantità di As presente in un campione con 12% di umidità residua. Il contenuto di Cd invece è stato sempre molto inferiore alla soglia per la produzione di mangimi in tutti i campioni. Non esiste ancora un limite di Cd definito per gli insetti, ma va notato che la quantità di Cd non ha mai superato la soglia dei 0,5 mg/Kg.

Valori nutrizionali delle larve

Le larve reagiscono in modo differenziale ai diversi tipi di substrato, con una preferenza per substrati ricchi di materiale organico: maggiore è la presenza di componenti azotate e carboniose nel terreno, maggiore sarà la sintesi di proteine e lipidi da parte delle larve dei cetoni, con un conseguente maggiore interesse nutrizionale.

Le quantità di proteine, lipidi e aminoacidi sintetizzati dalle larve sono inferiori rispetto a quelle ottenuti da Nikkah *et al.* (2021) e Yoon *et al.* (2020) per *P. brevitarsis*. Un'importante considerazione da fare è che *P. brevitarsis* viene allevata a livello commerciale in Repubblica di Corea da molti anni e esiste una ricerca continua per ottimizzare la produzione di questo cetone. Inoltre, sono disponibili nel mercato mangimi con una formulazione ottimale per incrementare la sua crescita (vedi Ham, *et al.*, 2021).

I risultati ottenuti aprono la strada a un'indagine sulla possibile formulazione ottimale di un substrato destinato all'allevamento di larve autoctone di cetoni per la produzione di mangimi e a scopi alimentari.

Composizioni biochimiche

È stato definito un profilo amminoacidico per *P. speciosissima* e *P. aemula* rivelando una interessante composizione, paragonabile con quella di altre fonti proteiche come carni e altri insetti. In particolare, entrambe hanno sintetizzato quantità molto alte di istidina.

Anche la composizione degli acidi grassi è di notevole rilevanza, con una frazione di acidi grassi insaturi superiore al 65% in *P. speciosissima* e circa del 50% in *P. aemula*. Sono presenti sostanze nutritive importanti come Omega 3 e Omega 6 e si è osservato inoltre che, almeno per *P. speciosissima*, esiste una correlazione tra la quantità di acidi grassi monoinsaturi sintetizzati e la quantità di carbonio organico disponibile nel substrato di allevamento.

Considerazioni finali

Come visto nel primo capitolo, la necessità di nuove fonti proteiche è un problema che va affrontato in modo prioritario in un mondo con una popolazione sempre più numerosa e affamata. La produzione di mangimi e alimenti a partire da insetti è un'alternativa valida agli allevamenti tradizionali per quanto riguarda l'impatto ambientale, ed è già praticata da molti secoli, se non millenni, dall'uomo. In Europa è già iniziata l'esplorazione di nuovi percorsi in questo ambito con l'introduzione di diverse specie di insetto nella filiera produttiva alimentare, avvenuta con cautela e ponderando eventuali rischi per la salute dell'uomo e dell'ambiente prima dell'approvazione di ognuno di essi.

Considerando l'utilizzo di larve di cetonino nella cultura asiatica, con questo lavoro si è cercato di fare una valutazione preliminare dell'idoneità di *P. speciosissima* come nuovo candidato nello scenario occidentale. I risultati sono stati promettenti, e aprono le porte per altri studi sull'argomento in futuro.



Figura 22 – Esempio adulto di P. speciosissima è stato spillato.

Bibliografia

- Alexandratos N., Bruinsma J., (2012), World agriculture towards 2030/2050: The 2012 Revision. Global Perspective Studies Team ESA Working Paper No 12-03. Rome: Agricultural Development Economics Division of the Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Asem-Hiablíe S., Battagliese T., Stackhouse-Lawson K. R., Alan Rotz C., (2018), A life cycle assessment of the environmental impacts of a beef system in the USA. *The International Journal of Life Cycle Assessment*, 24(3), 441-455. <https://doi.org/10.1007/s11367-018-1464-6>
- Babarabie M., Zarei H., & Yazdanian M., (2018). Investigate the possibility of converting some of organic material to pellets compost by the larvae of *Potosia cuprea* and compare their contents with vermicompost. *Journal of Applied Biology (Iran)*, 31(3), 87-97.
- Balaguer E., Juárez M., Sánchez-Sánchez A., Galante E., (2011), Action of the saproxylic scarab larva *Cetonia aurataeformis* (Coleoptera: Scarabaeoidea: Cetoniidae) on woody substrates. *Journal of Natural History*. 45. 41-42. 10.1080/00222933.2011.596953.
- Cho M.-S., Cho, Y.-S, (2021a), Historical Uses and Breeding Technologies of *Protaetia brevitarsis surensis* (Larvae for Food) for the Edible Insect Industry in South Korea. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 16(1), 58–66. 2021. <https://doi.org/10.9734/ajaar/2021/v16i130168>
- Cho M.-S., Cho, Y.-S, (2021b), Multi-functions of *Protaetia brevitarsis surensis* (PBS, Larvae for Food) Reported in South Korea. *Asian Journal of Advances in Agricultural Research*, 16(4), 1–8. 2021. <https://doi.org/10.9734/ajaar/2021/v16i430179>
- Choi I. H., Yu R., Lim Y.-J., Choi G.-S., Choi S.-U., Hwang J.-I., Son J.-S., Chung T.-H., (2019), Antithrombotic Efficacy of *Protaetia brevitarsis* Extract. *Journal of Environmental Science International*. 28. 639-643. 10.5322/JESI.2019.28.7.639.
- Durst P. B., Hanboonsong Y., (2015), Small-scale production of edible insects for enhanced food security and rural livelihoods: Experience from Thailand and Lao People's Democratic Republic, *Journal of Insects as Food and Feed*, 1, 25-31, 10.3920/JIFF2014.0019
- Chen X., Feng Y., Chen Z., (2009), Common edible insects and their utilization in China: INVITED REVIEW, *Entomological Research*, 39, 299-303, 10.1111/j.1748-5967.2009.00237.x.
- EFSA Scientific Committee, (2015), Scientific Opinion on a risk profile related to production and consumption of insects as food and feed. *EFSA Journal* 2015; 13 (10):4257, 60 pp., doi:[10.2903/j.efsa.2015.4257](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4257)

- EFSA (European Food Safety Authority), (2021), Safety of frozen and dried formulations from whole yellow mealworm (*Tenebrio molitor* larva) as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283, Scientific Opinion, DOI: [10.2903/j.efsa.2021.6343](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6343)
- EFSA (European Food Safety Authority), (2022), Safety of partially defatted house cricket (*Acheta domesticus*) powder as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283, Scientific Opinion, DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7258>
- Feng Y., Chen X., Zhao M., He Z., Sun L., Wang C., Ding W., , (2017), Edible insects in China: Utilization and prospects, *Insect science*, 25, DOI:10.1111/1744-7917.12449
- FAO, (2013), *Edible insects: Future prospects for food and feed security*, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations
- FAO, (2009), *The state of food and agriculture: Livestock in the balance*, Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations
- Fu Q., Cao D., Sun J., Liu X., Li H., Shu C., Liu R., (2023). Prediction and bioactivity of small-molecule antimicrobial peptides from *Protaetia brevitarsis* Lewis larvae. *Frontiers in microbiology*. 14. 1124672. [10.3389/fmicb.2023.1124672](https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1124672).
- Giandon P., Garlato A., Ragazzi F., (2019), *Metalli e metalloidi nei suoli del Veneto–Determinazione dei valori di fondo (Metals and metalloids in the Veneto soils–Background determination)*. ARPAV, *Agenzia Regionale per la Prevenzione e Protezione Ambientale, Regione Veneto, Padova*.
- Halloran A., Roos N., Eilenberg J., Cerutti A., Bruun S., (2016). Life cycle assessment of edible insects for food protein: A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 36. [10.1007/s13593-016-0392-8](https://doi.org/10.1007/s13593-016-0392-8).
- Ham Y.-K., Kim S.-W., Song D. H., Kim H.-W., Kim I.-S., (2021), Nutritional Composition of White-spotted Flower Chafer (*Protaetia brevitarsis*) Larvae Produced from Commercial Insect Farms in South Korea. *Food Science of Animal Resources*. 41. [10.5851/kosfa.2021.e7](https://doi.org/10.5851/kosfa.2021.e7).
- Han R., Shin J. T., Kim J., Choi Y. S., Kim Y. W., (2017), An overview of the South Korean edible insect food industry: challenges and future pricing/promotion strategies, *Entomological Research*, 47: 141–151. doi: [10.1111/1748-5967.12230](https://doi.org/10.1111/1748-5967.12230).
- Hanboonsong Y., Jamjanya T., Durst P.B., (2013), *Six-legged livestock: edible insect farming, collecting and marketing in Thailand*. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Bangkok, Thailand, 57 pp.
- Jang H., Choi M. B., Lee H., Kim Y., Kwon, O. (2018) The effects of cold treatment on the pupal period, emergence rate, and number of *Protaetia brevitarsis* larvae spawned. *Entomological Research*, 48: 550–558. <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12332>.

- Jeong, H., Shin K., (2020), What Is Required for Edible Insects to Become Medical Food? From a Health Professionals and Caregivers' Perspective. *Insects*. 11. 388. [10.3390/insects11060388](https://doi.org/10.3390/insects11060388).
- Jongema Y., (2014), List of edible insect species of the world, Wageningen: Laboratory of Entomology, Wageningen University, The Netherlands.
- Joung K.H., Kim J.-W., Lee S.-B., Jang D.-H., Yoo B.-M., Bea S.-M., Chang Y.-H., Lee Y. H., Seo D.-C., (2022a), "Effects of *Protaetia brevitarsis* Larvae Manure Application on Lettuce Growth and Soil Chemical Properties." *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* 55, no. 1 (2022): 80-85, <https://doi.org/10.7745/KJSSF.2022.55.1.080>
- Joung K.-H, Yoo B.-M., Kim J.-W., Bea S.-M., Lee S.-B., Jang D.-H., Lee Y. H., Seo D.-C., (2022b). *Protaetia brevitarsis* Larvae Manure as an Organic Amendment for Cultivation of Lettuce and Red Pepper. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 55(3), 246-250. doi:10.7745/KJSSF.2022.55.3.246
- Jucker C., Belluco S., Bellezza Oddon S., Ricci A., Bonizzi L., Lupi, Savoldelli S., Biasato I., Caimi C., Mascaretti A., Gasco L., (2021), Impact of some local organic by-products on Acheta domesticus growth and meal production, *Journal of Insects as Food and Feed* 2022 8:6, 631-640
- Kang M., Kang Ch., Lee H., Seyedian R., Kim, J., Kwon O., Lee H., Kang H., Kim C., Jang H., (2012). Effects of fermented aloe vera mixed diet on larval growth of *Protaetia brevitarsis seulensis* (Kolbe) (coleopteran:Cetoniidae) and protective effects of its extract against CCl₄-induced hepatotoxicity in Sprague–Dawley rats. *Entomological Research*. 42. [10.1111/j.1748-5967.2012.00444.x](https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2012.00444.x).
- Kwak K. W., Aktaruzzaman Md., Kim E., Kim S., Hong S. B., Park J., Park K., Koo B., Kim Y. S., (2021), Identification and characterization of *Metarhizium majus* isolated from the edible insect *Protaetia brevitarsis* in Korea, *Entomological Research*, 51. DOI:10.1111/1748-5967.12554.
- Kwon O., (2009), Effect of different diets on larval growth of *Protaetia brevitarsis seulensis* (Kolbe) (Coleoptera: Cetoniidae). *Entomological Research*, 39: 152-154. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00213.x>
- Kwon O., (2022), Future prospects and development strategies of insect industry for food and feed in Korea. *Entomological Research*, 52: 341–344. DOI: <https://doi.org/10.1111/1748-5967.12611>.
- Lee J., Hong H., Kim J.-K., Hwang J.-S., Kim Y., Lee D., (2009). A novel antifungal analog peptide derived from protaetiamycine. *Molecules and cells*. 28. 473-7. [10.1007/s10059-009-0155-3](https://doi.org/10.1007/s10059-009-0155-3). Lesnik J., (2018), *Edible Insects and Human Evolution*, University Press of Florida
- Mazzonetto R., (2015), Messa a punto di allevamenti larvali di coleotteri cetonini nell'ottica del riciclo dei residui di origine vegetale, Tesi di laurea triennale in Scienze e tecnologie per l'ambiente, Università di Padova

- Nikkhah A., Haute S., Jovanovic V., Jung H., Dewulf J., Cirkovic Velickovic T., Ghnimi Sami,(2021), Life cycle assessment of edible insects (*Protaetia brevitarsis seulensis* larvae) as a future protein and fat source, *Scientific Reports*. 11. 10.1038/s41598-021-93284-8.
- Orkusz, A. 2021. "Edible Insects versus Meat—Nutritional Comparison: Knowledge of Their Composition Is the Key to Good Health" *Nutrients* 13, no. 4: 1207. <https://doi.org/10.3390/nu13041207>
- Regolamento di Esecuzione (UE) 2021/882 della Commissione del 1° giugno 2021 che autorizza l'immissione sul mercato della larva di *Tenebrio molitor* essiccata quale nuovo alimento a norma del regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/2470 della Commissione
- Regolamento di Esecuzione (UE) 2021/1975 della Commissione del 12 novembre 2021 che autorizza l'immissione sul mercato della *Locusta migratoria* congelata, essiccata e in polvere quale nuovo alimento a norma del regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/2470
- Regolamento di Esecuzione (UE) 2022/188 della Commissione del 10 febbraio 2022 che autorizza l'immissione sul mercato di *Acheta domesticus* congelato, essiccato e in polvere quale nuovo alimento a norma del regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento europeo e del Consiglio e che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/2470 della Commissione
- Regolamento di Esecuzione (UE) 2023/58 della Commissione del 5 gennaio 2023 che autorizza l'immissione sul mercato delle larve di *Alphitobius diaperinus* (verme della farina minore) congelate, in pasta, essiccate e in polvere quale nuovo alimento e che modifica il regolamento di esecuzione (UE) 2017/2470
- Regolamento (CE) N. 629/2008 della Commissione del 2 luglio 2008 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari
- Regolamento (UE) N. 744/2012 della Commissione del 16 agosto 2012 che modifica gli allegati I e II della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di arsenico, fluoro, piombo, mercurio, endosulfan, diossine, *Ambrosia* spp., diclazuril e lasalocid A sodico e le soglie d'intervento per le diossine
- Regolamento (CE) n. 1069/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 recante norme sanitarie relative ai sottoprodotti di origine animale e ai prodotti derivati non destinati al consumo umano e che abroga il regolamento (CE) n. 1774/2002 (regolamento sui sottoprodotti di origine animale)
- Regolamento (UE) N. 1275/2013 della Commissione del 6 dicembre 2013 che modifica l'allegato I della direttiva 2002/32/CE del Parlamento europeo e

del Consiglio per quanto riguarda i livelli massimi di arsenico, cadmio, piombo, nitriti, essenza volatile di senape e impurità botaniche nocive

Regolamento (UE) 2015/2283 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 25 novembre 2015 relativo ai nuovi alimenti e che modifica il regolamento (UE) n. 1169/2011 del Parlamento europeo e del Consiglio e abroga il regolamento (CE) n. 258/97 del Parlamento europeo e del Consiglio e il regolamento (CE) n. 1852/2001 della Commissione

Regolamento (UE) 2017/893 della Commissione del 24 maggio 2017 che modifica gli allegati I e IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio e gli allegati X, XIV e XV del regolamento (UE) n. 142/2011 della Commissione per quanto riguarda le disposizioni in materia di proteine animali

Regolamento (UE) 2021/1323 della Commissione del 10 agosto 2021 che modifica il regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di cadmio in alcuni prodotti alimentari

Regolamento (UE) 2021/1372 della Commissione del 17 agosto 2021 che modifica l'allegato IV del regolamento (CE) n. 999/2001 del Parlamento europeo e del Consiglio per quanto riguarda il divieto di somministrazione di proteine animali agli animali d'allevamento non ruminanti diversi dagli animali da pelliccia

Regolamento (UE) 2023/465 della Commissione del 3 marzo 2023 recante modifica del regolamento (CE) n. 1881/2006 per quanto riguarda i tenori massimi di arsenico in alcuni alimenti

Rumpold B.A., Schlüter O.K. (2013), Nutritional composition and safety aspects of edible insects. *Mol. Nutr. Food Res.*, 57: 802-823. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201200735>

Shapiro Ari, "*For One Couple, Grub Farm Cures Stress Of Modern Korean Life*", NPR, 9 agosto 2015, <https://www.npr.org/2015/08/09/431025516/for-one-couple-grub-farm-cures-stress-of-modern-korean-life>

Steinfeld H., Gerber P., Wassenaar T., Castel V., Rosales M., de Haan C., editors. (2006), *Livestock's long shadow Environmental issues and options*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.

Sogari G., Liu A., Li J., (2019), *Understanding Edible Insects as Food in Western and Eastern Societies*, DOI: 10.4018/978-1-5225-7350-0.ch009

Suh H.-J., Kim S. R., Hwang J.-S., Kim M. J., Kim I., (2011). Antioxidant activity of aqueous methanol extracts from the lucanid beetle, *Serrognathus platymelus castanicolor* Motschulsky (Coleoptera: Lucanidae). *Journal of Asia-pacific Entomology - J ASIA-PAC ENTOMOL.* 14. 95-98. 10.1016/j.aspen.2010.10.002.

- Van Huis A., Van Itterbeeck J., Klunder H., Mertens E., Halloran A., Mui G., (2013), Edible insects: future prospects for food and feed security, Food and agriculture organization of the united nations, Rome
- Wei P., Li Y., Lai D., Geng L., Liu C., Zhang J., Shu C., Liu R., (2020), *Protaetia brevitarsis* larvae can feed on and convert spent mushroom substrate from *Auricularia auricula* and *Lentinula edodes* cultivation. *Waste Manag.* 2020 Aug 1;114:234-239. doi: 10.1016/j.wasman.2020.07.009. Epub 2020 Jul 15. PMID: 32682088.
- Weis Tony, (2013), The meat of the global food crisis, *The Journal of Peasant Studies*, 40:1, 65-85, DOI: [10.1080/03066150.2012.752357](https://doi.org/10.1080/03066150.2012.752357)
- Yeo H., Youn K., Kim M., Yun EY., Hwang JS., Jeong WS., Jun M., (2013), Fatty Acid Composition and Volatile Constituents of *Protaetia brevitarsis* Larvae. *Prev Nutr Food Sci.* 2013 Jun;18(2):150-6. doi: 10.3746/pnf.2013.18.2.150. PMID: 24471125; PMCID: PMC3892504.
- Yoo Y.C., Shin B.H., Hong J.H., Lee J., Chee H.Y., Song K.S., Lee K.B., (2007), Isolation of fatty acids with anticancer activity from *Protaetia brevitarsis* larva. *Arch Pharm Res.* 2007 Mar;30(3):361-5. doi: 10.1007/BF02977619. PMID: 17424944.
- Yoon C.H., Jeon S.H., Ha Y.J., Kim S.W., Bang W.Y., Bang K.H., Gal S.W., Kim I.S., Cho Y.S., (2020), Functional Chemical Components in *Protaetia brevitarsis* Larvae: Impact of Supplementary Feeds. *Food Sci Anim Resour.* 2020 Apr;40(3):461-473. doi: 10.5851/kosfa.2020.e25. Epub 2020 Apr 30. PMID: 32426723; PMCID: PMC7207086.
- Yoon H., Lee C., Lee S., Choi C., Lee I., Yoe S., Kim H., (2003). Purification and cDNA cloning of inducible antibacterial peptides from *Protaetia brevitarsis* (Coleoptera). *Archives of insect biochemistry and physiology.* 52. 92-103. 10.1002/arch.10072.

Sitografia

EFSA Scientific Opinion on the safety of *Tenebrio molitor* larvae (mealworms) and *Acheta domesticus* (cricket) as a novel food source:

<https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/6444>

List of edible insects:

<http://www.wageningenur.nl/en/Expertise-Services/Chair-groups/Plant-Sciences/Laboratory-of-Entomology/Edible-insects/Worldwide-species-list.htm>

Società Entomologica Italiana – Scarabaeoidea:

https://www.societaentomologicaitaliana.it/Coleotteri_Scarabaeoidea_d'Italia_2014/scarabeidi/SCARAB in ITALIA INTR.htm

Oryctes – allevamento degli scarabeidi:

<http://www.oryctes.com/allevascara.htm>