

ADATTAMENTO DI LIMITATORI INDIGENI DI *TUTA ABSOLUTA* IN ITALIA: IL PARASSITOIDE *BRACON NIGRICANS*

LUCIA ZAPPALÀ (*) - ANTONIO BIONDI (*) (**) - GAETANO SISCARO (*)
GIOVANNA TROPEA GARZIA (*) - KEES VAN ACHTERBERG (***) - NICOLAS DESNEUX (**)

(*) *Dipartimento di Gestione dei Sistemi Agroalimentari e Ambientali, Università degli Studi di Catania, Italy; e-mail: lzappala@unict.it*

(**) *French National Institute for Agricultural Research (INRA), Sophia-Antipolis, France.*

(***) *Department of Terrestrial Zoology, Netherlands Centre for Biodiversity Naturalis, Leiden, The Netherlands*

Letture tenuta durante la Tavola Rotonda "La Tignola del pomodoro, *Tuta absoluta* (Meyrick)". Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 17 febbraio 2012.

Adaptation of indigenous parasitoids to Tuta absoluta in Italy: the parasitic wasp Bracon nigricans

During the years following the first report in Italy of the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), several indigenous generalist parasitoids have been recorded on this new host. Among these, only a few have been identified as potential biological control agents for the pest. In particular, the parasitoid *Bracon nigricans* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae), widely distributed in the whole Palaearctic region, has been largely found on the invasive moth. Data on *B. nigricans* biological traits on *T. absoluta* are here reported. Laboratory trials have been conducted to define the parasitoid host stage preference, its life tables, the young instars developmental time, its longevity, its reproductive behaviour, its progeny sex-ratio, the wasp host-killing activity, the effect of the host density on the parasitoid fecundity, fertility and biocontrol activity and the effect of a sugary-proteic diet on the adults performance. *Bracon nigricans* proved to be an idiobiont, synovigenic, gregarious, ectoparasitoid of *T. absoluta* 3rd and 4th instar larvae, with a slightly male-biased sex-ratio. Female wasps showed behavioural plasticity in host use, as initial host paralysis was followed by either host-feeding, oviposition or a rejection of the host. This led to high mortality rate in the exposed hosts (around 70%). While, only 33% of the laid parasitoid eggs reached adulthood, suggesting that the exotic moth showed only a partial suitability for the endemic parasitoid development. Although further field studies are needed, data obtained under laboratory conditions suggest that *B. nigricans* could be considered as a potential biological control agent of *T. absoluta* in the newly invaded areas.

KEY WORDS: Biology behaviour, Host-feeding, Life tables, Biological control, Tomato.

INTRODUZIONE

Il successo dell'insediamento di specie esotiche in aree di nuova colonizzazione è legato a una maggiore competitività rispetto alle specie indigene, nonché al ridotto controllo da parte degli agenti biotici di contenimento (GRABENWEGER *et al.*, 2010). Nelle aree di nuova colonizzazione, infatti, il numero dei nemici naturali presenti può essere ridotto, così come la loro efficacia nel contenimento delle specie esotiche. È altresì necessario tenere in considerazione che gli entomofagi indigeni necessitano tempo per adattarsi e controllare efficacemente le specie esotiche. Sono noti numerosi esempi di specie invasive su cui si sviluppa un ridotto numero di parassitoidi indigeni, per lo più costituiti da idiobionti che non devono adattarsi alla fisiologia del proprio ospite e possono pertanto spostarsi facilmente su nuovi ospiti (ASKEW e SHAW, 1986), assicurando in alcuni casi, un efficace controllo dei fitofagi (GODFRAY *et al.*, 1995; URBANEJA *et al.*, 2000). La

maggior parte di questi esempi, ovvero i fitofagi più vulnerabili, è rappresentata da specie endofitiche (GIRARDOZ *et al.*, 2006). La conoscenza della composizione e del ruolo dei fattori biotici di controllo e delle strategie per preservarli, è pertanto considerata una priorità nella messa a punto di efficaci strategie di controllo di fitofagi esotici (VAN LENTEREN e WOETS, 1988).

Il contesto nel quale si inserisce questo lavoro è quello dello studio della composizione del complesso parassitario in fase di adattamento al fitofago esotico delle Solanacee *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), nelle aree di nuova colonizzazione, e l'individuazione di potenziali agenti di controllo biologico¹. Diverse specie indigene di predatori e parassitoidi generalisti sono state trovate svilupparsi a carico di *T.*

¹ I risultati dello studio sui parassitoidi indigeni adattatisi a *T. absoluta* sono stati presentati, nel medesimo incontro, da M. Giorgini. Il suo contributo è pubblicato in questo stesso volume.

absoluta nel bacino del Mediterraneo e il loro ruolo come fattori di contenimento delle popolazioni del fitofago è ancora in corso di definizione (DESNEUX *et al.*, 2010; GABARRA & ARNÓ, 2010; MOLLÁ *et al.*, 2010; DO ANLAR & YI IT, 2011; LONI *et al.*, 2011; AL-JBOORY *et al.*, 2012; CHAILLEUX *et al.*, 2012; FERRACINI *et al.*, 2012; URBANEJA *et al.*, 2012; ZAPPALÀ *et al.*, 2012a). Tra questi si inserisce *Bracon (Habrobracon) nigricans* Szépligeti (= *concolorans* Marshall; *concolor* Thomson; *mongolicus* Telenga) (Hymenoptera: Braconidae), ectoparassitoide larvale a distribuzione Palearctica, già segnalato su diverse specie di Lepidotteri (YU & VAN ACHTERBERG, 2010). Tra i suoi ospiti se ne annoverano alcuni d'interesse applicato, quali ad esempio la tignola della patata, *Phtorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae), sulla quale il braconide era già stato rinvenuto in Sardegna (ORTU & FLORIS, 1989).

Bracon nigricans è stato recentemente segnalato per la prima volta in associazione con *T. absoluta* in Sicilia (ZAPPALÀ *et al.*, 2012a) e successivamente in Spagna (URBANEJA *et al.*, 2012) e in Giordania (AL-JBOORY *et al.*, 2012). Al fine di stabilire le potenziali capacità di controllo biologico di questa specie, sono stati avviati studi volti ad acquisire conoscenze di base sulla sua biologia e sulla sua strategia riproduttiva a carico del nuovo ospite (BIONDI *et al.*, 2012a). A tal fine sono state condotte prove di laboratorio atte a definire: (i) la preferenza per lo stadio dell'ospite in condizioni di scelta; (ii) le tavole di sopravvivenza e di durata dello sviluppo degli stadi giovanili; (iii) la longevità, la riproduzione degli adulti e la *sex-ratio* della loro progenie; (iv) l'attività di *host-killing* di tipo sia riproduttivo che non; (v) l'effetto della densità dell'ospite sulla fecondità, sulla fertilità e sull'attività di biocontrollo espressa in termini di ospiti uccisi e (vi) l'effetto di un nutrimento artificiale zuccherino-proteico nelle *performance* degli adulti.

ALLEVAMENTO DEGLI INSETTI

I ceppi del fitofago, *T. absoluta*, e del parassitoide, *B. nigricans*, sono stati ottenuti durante campionamenti condotti in coltivazioni commerciali di

pomodoro in pieno campo in Sicilia orientale, in agosto 2010 (ZAPPALÀ *et al.*, 2012a). Gli insetti utilizzati per la realizzazione dei biosaggi sono stati mantenuti su ospite vegetale naturale (piante di pomodoro cv. Marmande), all'interno di gabbie con una struttura in PVC ricoperta di rete anti-insetto, in condizioni ambientali controllate (25 ± 1 °C; $60 \pm 10\%$ U.R. e un fotoperiodo di 14L:10D). Le stesse condizioni sono state mantenute durante lo svolgimento di tutti i biosaggi.

PREFERENZA PER LO STADIO DELL'OSPITE

Al fine di stabilire lo stadio del fitofago preferito da *B. nigricans*, è stato condotto un esperimento in condizioni di scelta esponendo 5 esemplari di ciascuno degli stadi preimmaginali di sviluppo di *T. absoluta* (uova, L1, L2, L3, L4 e crisalidi) a una femmina e due maschi neo-sfarfallati (≤ 48 ore) di *B. nigricans* per 72 h. Il biosaggio è stato effettuato all'interno di piastre Petri (130 mm di diametro) dotate nella parte superiore di un'apertura coperta con rete a maglia fine per assicurare un'adeguata areazione dell'arena sperimentale. All'interno della stessa venivano anche poste microgocce di miele e sei foglioline, appena recise, di pomodoro. Al termine del periodo di esposizione sono stati registrati il numero di esemplari parassitizzati, divisi per stadio di sviluppo, e il numero di uova deposte per ciascuno stadio parassitizzato.

I risultati ottenuti hanno messo chiaramente in evidenza che l'attività di ovideposizione è significativamente influenzata dallo stadio biologico del fitofago, sia come percentuale di parassitizzazione che come numero medio di uova deposte per stadio. Entrambi tali valori sono risultati significativamente più elevati sulle larve di 3^a e 4^a età (Tab. 1). In particolare, *B. nigricans* ha parassitizzato il 31,98% ($\pm 4,30$) delle larve di 3^a età e il 61,87% ($\pm 4,03$) delle larve di 4^a età; significativamente inferiore è stata la parassitizzazione sulle larve di 2^a età ($6,15 \pm 2,71\%$) e nessuna attività è stata invece registrata su uova, larve di 1^a età e crisalidi (Tab. 1). Il numero medio di uova deposte per stadio parassitizzato è stato pari a $0,36 (\pm 0,15)$ sulle L2, $1,11 (\pm 0,06)$ sulle L3 e $1,78 (\pm 0,20)$ sulle L4 (Tab. 1).

Tabella 1 – Preferenza per lo stadio dell'ospite: Percentuale di stadi parassitizzati e numero di uova deposte nei vari stadi dell'ospite (media \pm ES) da parte di femmine di *Bracon nigricans* in condizioni di scelta.

	Uova	L1	L2	L3	L4	crisalidi
Percentuale ospiti parassitizzati	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	6,15 \pm 2,71	31,98 \pm 4,30	61,87 \pm 4,03	0,00 \pm 0,00
Numero uova deposte per stadio	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,36 \pm 0,15	1,11 \pm 0,06	1,78 \pm 0,20	0,00 \pm 0,00

TAVOLE DI SOPRAVVIVENZA DEGLI STADI PREIMMAGINALI

Il tempo di sviluppo e la sopravvivenza degli stadi giovanili di *B. nigricans* sono stati studiati seguendo lo sviluppo di uova deposte di recente (≤ 6 ore) fino allo sfarfallamento degli adulti. Quaranta femmine coetanee (10 giorni dal loro sfarfallamento), fecondate e con esperienza di ovideposizione, sono state poste singolarmente in piastre Petri da 2,5 cm di diametro insieme a una larva di 4^a età di *T. absoluta* (che è risultato lo stadio preferito dal parassitoide in base alle osservazioni precedenti) e alcune microgocce di miele. Prima dell'esposizione all'attività parassitaria, le larve dell'ospite sono state precedentemente pesate ($3,583 \pm 0,092$ mg in media; min: 3 mg; max 4 mg), considerato che il peso dell'ospite può significativamente influenzare lo sviluppo degli stadi giovanili del parassitoide (HARDY *et al.*, 1992). Dopo 6 ore di parassitizzazione le femmine venivano spostate in una nuova piastra Petri con una nuova larva, mentre le larve parassitizzate che presentavano 1 e 2 uova di *B. nigricans* venivano isolate per la prova. La decisione di scegliere questa dimensione di gruppo di uova deposte in un singolo evento (*clutch*) è stata presa in conformità a prove preliminari da cui è risultato che il numero medio di uova deposte dalle femmine di *B. nigricans* per ciascuna larva di *T. absoluta* è pari a circa 1,5 (BIONDI & ZAPPALÀ, dati non pubblicati). Pertanto sono stati isolati 50 *clutch* composti da un solo uovo e 50 *clutch* composti da 2. Il tempo di sviluppo e la sopravvivenza delle uova, delle larve e delle pupe sono stati controllati registrati a intervalli di 6 ore fino allo sfarfallamento degli adulti.

Lo sfarfallamento degli adulti di *B. nigricans* da uova neo-deposte è avvenuto dopo $269,65 \pm 2,70$ e $270,67 \pm 7,32$ ore (circa 11 giorni) per femmine e maschi rispettivamente, senza differenze significative tra i sessi (Tab. 2). Allo stesso modo nessuna differenza significativa tra i due sessi è stata rilevata nella durata dello sviluppo dei singoli stadi. In questa prova sono stati ottenuti 56 adulti in totale, di cui 22 femmine e 34 maschi, con una *sex-ratio* pertanto pari a 0,60 maschi/tot. Il tasso totale di sopravvivenza degli stadi giovanili (da uovo ad adulto) di *B. nigricans* su larve di 4^a età di *T. absoluta* è risultato pari a $37,4 \pm 4,11$ %. La quota di mortalità più elevata è stata registrata allo stadio larvale, quando solo il $42,63 \pm 4,49$ % delle larve è sopravvissuto. Differentemente, la quota di schiusura delle uova è stata dell' $86,4 \pm 2,90$ % mentre si sono ottenuti sfarfallamenti di adulti dal $98,11 \pm 1,88$ % delle pupe. Nonostante questa prova sia stata condotta utilizzando lo stadio dell'ospite pre-

Tabella 2 – Tavole di sopravvivenza delle forme giovanili: Tempo di sviluppo, in ore, dei diversi stadi giovanili maschili e femminili (media \pm ES) di *Bracon nigricans*.

	Femmine	Maschi
Uovo	27,35 \pm 1,01	27,83 \pm 0,83
Larva	68,50 \pm 5,26	72,73 \pm 4,10
Pupa	173,80 \pm 4,41	175,17 \pm 6,43
Totale	269,65 \pm 2,70	270,67 \pm 7,32

ferito dal parassitoide e selezionando le più comuni dimensioni del *clutch*, ulteriori prove dovrebbero essere condotte per valutare il ruolo della dimensione dell'ospite e del *clutch* nello sviluppo del parassitoide (HARDY *et al.*, 1992).

Il successo dell'attività parassitaria, dopo l'accettazione dell'ospite e pertanto lo sviluppo larvale del parassitoide, può dipendere da molteplici fattori fisiologici e genetici. Solitamente le interazioni tra parassitoide e ospite sono mediate da prodotti genici che le femmine del parassitoide iniettano nella vittima al momento dell'ovideposizione o che la progenie produce durante il suo sviluppo (PENNACCHIO & STRAND, 2006). Queste peculiari componenti inducono complesse alterazioni fisiologiche nell'ospite, in particolare a carico del suo sistema immunitario, favorendo lo sviluppo del parassitoide. Tali fattori sono molto studiati nel caso degli endoparassitoidi e, nonostante lo siano molto meno per gli ectoparassitoidi (PENNACCHIO & STRAND, 2006), il ridotto sviluppo larvale registrato nelle prove condotte suggerisce di interpretare le interazioni ospite/parassitoide anche in una prospettiva coevolutiva. In particolare, la mancanza di coevoluzione nel complesso *T. absoluta*-pomodoro e *B. nigricans* potrebbe giustificare l'assenza dei suddetti meccanismi e pertanto il ridotto sviluppo larvale. Un altro fattore che potrebbe avere influito sullo sviluppo larvale del parassitoide è la potenziale presenza di sostanze tossiche all'interno delle larve ospiti (DESNEUX *et al.*, 2009). In particolare, alcuni metaboliti secondari presenti nelle solanacee sono ben noti per le loro proprietà insetticide (NENAAH, 2011) e alcuni di questi potrebbero essere sequestrati dalla larve di *T. absoluta* e così veicolati indirettamente alle larve del parassitoide.

TAVOLE DI SOPRAVVIVENZA DEGLI ADULTI

Valori età-specifici di sopravvivenza, attività riproduttiva e di biocontrollo delle femmine del parassitoide sono stati studiati a temperatura costante (25 ± 1 °C). I valori giornalieri di riproduzione e di mortalità indotta nell'ospite non legata

ad attività riproduttiva (*host-stinging* e *host-feeding* non seguiti da ovideposizione) sono stati registrati su 15 femmine neo-sfarfallate (<12 ore) poste a contatto con 5 larve mature di *T. absoluta* ogni 24 ore in piastre Petri da 90 mm di diametro in presenza di microgocce di miele e foglioline di pomodoro appena recise. Per assicurare che le femmine fossero fecondate e si accoppiassero per l'intera durata della vita, per ogni femmina venivano aggiunti 2 maschi, che venivano rimpiazzati con altri maschi neosfarfallati ogni settimana. Giornalmente venivano registrati: (i) il numero di larve uccise e non parassitizzate, (ii) il numero di larve parassitizzate (cioè quelle che presentavano sul loro corpo o all'interno della propria mina almeno un uovo), (iii) il numero di uova deposte, (iv) la dimensione del *clutch* e (v) la sopravvivenza del parassitoide. Gli esemplari sopravvissuti erano poi trasferiti in piastre con nuove larve, mentre le larve precedentemente esposte venivano allevate fino allo sfarfallamento degli adulti per registrare numero e *sex-ratio* della progenie del parassitoide. Inoltre, per valutare se il contatto con l'ospite e pertanto l'attività di *host-feeding* potesse avere un'influenza sulla longevità delle femmine di *B. nigricans*, questa, oltre che nella prova sopra descritta, è stata misurata anche in assenza delle larve ospiti. Venti femmine e venti maschi neosfarfallati (<12 ore) sono stati isolati singolarmente all'interno di tubi in vetro (185 mm di lunghezza e 25 mm di diametro), chiusi con tappi in cotone e provvisti di microgocce di miele rinnovate ogni 5 giorni, quindi la sopravvivenza è stata registrata giornalmente.

Le femmine di *B. nigricans* hanno fatto registrare, come la maggior parte dei parassitoidi sinovigenici (JERVIS *et al.*, 2001), un breve periodo di pre-ovide-

posizione della durata media di $1,27 \pm 0,3$ giorni che rappresenta solo una minima parte dell'intera durata della vita. Il periodo di ovideposizione è durato $37,60 \pm 3,25$ giorni con una media di $1,66 \pm 0,14$ uova (min 0, max 8) deposte per femmina per giorno. Un totale di $82,8 \pm 7,81$ uova (min 48, max 127) sono state deposte da una femmina nel corso dell'intera vita. I valori medi di ovideposizione giornaliera sono risultati variabili tra 0 e $3,6 \pm 0,55$ uova deposte/femmina il 18° giorno, mentre il picco di sfarfallamenti ($1,7 \pm 0,43$ adulti/femmina/giorno), è stato registrato nel caso delle femmine di 16 giorni di età. La progenie prodotta lungo l'intero corso della vita è stata pari a $29,79 \pm 3,01$ (min 13, max 40) adulti/femmina, con una *sex-ratio* di $0,63 \pm 0,05$ maschi sfarfallati sul totale della progenie. L'attività di ovideposizione di *B. nigricans* è risultata irregolare e tale andamento potrebbe essere legato all'oogenesi nelle specie sinovigeniche con uova anidropiche, come la congenera *B. hebetor* (Say) le cui femmine hanno un corto ovidotto e ovari provvisti di pochi ovaroli che non sono in grado di contenere un ampio numero di uova grandi e ricche di tuorlo (JERVIS & KIDD, 1986).

Il numero di uova deposte per ospite parassitizzato è risultato uniforme nel corso della vita, con un livello di gregarismo (media generale $1,52 \pm 0,07$; max 5 uova deposte/ospite parassitizzato) non differente in maniera significativa tra le settimane di vita delle femmine (Tab. 3). Dai risultati ottenuti dalle suddette prove emerge che le femmine di *B. nigricans*, a densità costanti dell'ospite, non modificano la dimensione del *clutch* in funzione della loro età e pertanto del loro carico di uova, mentre quando il carico di uova è massimo, esso viene suddiviso tra un numero più elevato di ospiti, aumentando così il numero di larve parassi-

Tabella 3 – Tavole di sopravvivenza degli adulti: Medie settimanali (\pm ES) dei valori età specifici dei parametri biologici di femmine di *Bracon nigricans*.

	1ª settimana	2ª settimana	3ª settimana	4ª settimana	5ª settimana	6ª settimana	7ª settimana
N. medio uova deposte giorno/femmina	$1,95 \pm 0,27$	$2,35 \pm 0,54$	$2,51 \pm 0,18$	$2,27 \pm 0,32$	$1,72 \pm 0,36$	$0,91 \pm 0,20$	$0,40 \pm 0,21$
N. medio uova deposite/ospite parassitizzato (grado di gregarismo)	$1,62 \pm 0,11$	$1,39 \pm 0,12$	$1,54 \pm 0,08$	$1,54 \pm 0,12$	$1,52 \pm 0,11$	$1,28 \pm 0,11$	$1,63 \pm 0,06$
N. medio progenie prodotta/giorno/femmina	$0,37 \pm 0,08$	$0,85 \pm 0,20$	$1,00 \pm 0,1$	$0,87 \pm 0,13$	$0,63 \pm 0,13$	$0,38 \pm 0,09$	$0,09 \pm 0,05$
% ospiti parassitizzati	$24,38 \pm 2,63$	$29,14 \pm 4,82$	$35,84 \pm 2,74$	$30,98 \pm 4,14$	$21,32 \pm 4,57$	$12,86 \pm 2,42$	$4,93 \pm 2,52$
% ospiti paralizzati	$46,48 \pm 2,45$	$47,62 \pm 4,02$	$43,75 \pm 3,83$	$45,46 \pm 4,24$	$33,96 \pm 6,34$	$34,00 \pm 3,39$	$22,12 \pm 4,95$
<i>Sex-ratio</i> media della progenie (mm/totale)	$0,94 \pm 0,03$	$0,66 \pm 0,04$	$0,62 \pm 0,08$	$0,59 \pm 0,10$	$0,63 \pm 0,11$	$0,54 \pm 0,14$	$0,52 \pm 0,02$
Media della sopravvivenza degli stadi giovanili della progenie	$13,82 \pm 2,23$	$32,29 \pm 3,09$	$36,96 \pm 3,73$	$35,57 \pm 4,33$	$32,44 \pm 6,00$	$22,22 \pm 5,07$	$12,78 \pm 0,73$

tizzate nel periodo di maggiore produzione delle uova. Infatti, i valori settimanali di ospiti parassitizzati hanno raggiunto il loro massimo quando il carico di uova da deporre era altrettanto elevato, cioè nel corso della 3^a settimana ($35,83 \pm 2,73$ %) con dati significativamente differenti se confrontati con quelli registrati nelle ultime 2 settimane (Tab. 3). Questi risultati sono da mettere in relazione soprattutto con la fase di senescenza riproduttiva delle femmine i cui ovarii non presentano più oociti (MANGEL & HEIMPEL, 1998). In realtà, è stato registrato un periodo di post-ovideposizione della durata di $3,67 \pm 0,6$ giorni.

Sia il numero di uova deposte che la progenie prodotta per settimana hanno seguito questo andamento ed entrambi i valori sono risultati significativamente differenti tra le settimane (Tab. 3). In particolare, la massima attività riproduttiva è stata registrata nella 3^a settimana, con una media di $2,51 \pm 0,18$ uova deposte/femmina/giorno e $1,00 \pm 0,13$ progenie prodotta/femmina/giorno (Tab. 3).

La *sex-ratio* della progenie ha fatto registrare differenze statisticamente significative tra le settimane di vita delle femmine. In particolare i suoi valori sono variati tra $0,94 \pm 0,03$ e $0,52 \pm 0,02$ maschi sfarfallati/progenie totale (Tab. 3). Ciò suggerisce che le femmine di *B. nigricans* presentano partenogenesi arrenotoca e che le uova deposte nei primi giorni di ovideposizione sono aploidi (non fecondate), dato che le femmine necessitano di tempo per accoppiarsi con successo dopo il loro sfarfallamento. Inoltre, la *sex-ratio* della progenie totale è risultata lievemente sbilanciata a favore dei maschi ($0,62 \pm 0,05$ maschi/progenie totale). Ciò può essere spiegato col fatto che, così come si osserva in molte specie di braconidi, le uova non fecondate danno origine a maschi aploidi, mentre le fecondate (diploidi) possono svilupparsi in maschi o femmine. Inoltre, l'aplodiploidia è associata ad un meccanismo genetico tipico di molti Imenotteri i quali se eterozigoti al locus del sesso si sviluppano come femmine, mentre se omozigoti o emizigoti allo stesso locus si sviluppano come maschi diploidi e aploidi (HEIMPEL & DE BOER, 2008). Ciò comporta che a maggiori livelli di eterozigosi, generalmente presenti nelle popolazioni naturali, corrisponde una *sex-ratio* a favore delle femmine, mentre al contrario nelle popolazioni ottenute da allevamenti, come nel caso di questo studio, alti livelli di inbreeding portano all'incremento della quota di maschi nella popolazione (HEIMPEL *et al.*, 1999; BIONDI *et al.*, 2012a). Inoltre, numerosi sono i casi noti di ridotta o nulla sopravvivenza di maschi diploidi, come riscontrato per esempio in diverse specie del genere *Bracon* (HOLLOWAY *et al.*, 1999). Pertanto, la

ridotta *fitness* dei maschi diploidi di *B. nigricans* dovrebbe essere ulteriormente indagata per spiegare la sua *sex-ratio*, così come il suo ridotto tasso di sviluppo da uovo ad adulto.

Le osservazioni giornaliere sulle uova deposte e sugli adulti di conseguenza sviluppati hanno mostrato che, nonostante la media generale della percentuale di adulti sfarfallati per uova deposte nel corso dell'intera vita ($32,11 \pm 3,43$ %) fosse simile a quella ottenuta nella prova sullo sviluppo delle forme pre-immaginali, questo valore è risultato fortemente legato all'età della madre. In particolare, le percentuali della 1^a e della 7^a settimana ($13,82 \pm 2,23$ % e $12,78 \pm 0,73$ %, rispettivamente) erano significativamente inferiori rispetto alle percentuali di sviluppo osservate nelle altre settimane (Tab. 3). Pertanto, i risultati ottenuti in queste prove dimostrano che le strategie riproduttive delle femmine di *B. nigricans* sono fortemente correlate alla loro età. In tal modo potrebbe spiegarsi la produzione di progenie di scarsa qualità (per esempio uova meno vitali), durante la 1^a e la 7^a settimana. Le giovani femmine di *B. nigricans*, come la maggioranza degli Imenotteri sinovigenici, hanno necessità di alimentarsi sull'ospite per allocare risorse nutritive nei processi riproduttivi e pertanto la progenie prodotta inizialmente potrebbe essere di qualità inferiore rispetto a quella delle femmine con esperienza (JERVIS & KIDD, 1986). La produzione di progenie di qualità ridotta prima della limitazione nella dotazione di uova della madre (*senescenza riproduttiva*) è già documentata per altre specie di braconidi (MANGEL & HEIMPEL, 1998).

Un'altra ipotesi per spiegare questo risultato è il compromesso riproduttivo della madre tra *host-feeding* e ovideposizione; in altri termini, a causa di esigenze nutrizionali maggiori, le femmine giovani e vecchie possono praticare più *host-feeding*, nonché quest'ultimo associato a ovideposizione sullo stesso ospite. Infatti, nella maggioranza dei sistemi ospite-parassitoide, le punture di alimentazione sull'ospite sono di tipo distruttivo, cioè uccidono l'ospite e lo rendono inadatto alla ovideposizione, mentre in altri sistemi, come in quello *B. nigricans*/*T. absoluta*, i singoli ospiti possono sostenere sia parassitizzazione che punture di alimentazione (JERVIS & KIDD, 1986).

Le femmine di *B. nigricans* uccidono le larve dell'ospite con una iniezione di veleno che causa, dopo pochi secondi, una paralisi permanente. Dopo questa immobilizzazione dell'ospite, le femmine hanno mostrato un'intensa attività di *host-stinging* seguita da ovideposizione o da *host-feeding*. Quest'ultima attività da parte di *B. nigricans* è stata provata dalla presenza di "tubi di alimentazione" costruiti dalla femmine del parassitoide

(BIONDI, osservazione personale). È ben noto che le sostanze ottenute a seguito delle punture di alimentazione sono utilizzate per maturare le uova e, senza eccezioni, le specie che si nutrono allo stadio adulto sull'ospite sono sinovigeniche (JERVIS & KIDD, 1986).

Grazie a questa attività di *host-killing* di tipo non riproduttivo, le femmine di *B. nigricans* hanno ucciso nel corso della vita una media di $87,40 \pm 8,46$ (min 55; max 123) larve dell'ospite, mentre il valore medio giornaliero era $2,01 \pm 0,09$ (min 0; max 5) larve uccise/femmina (40% degli ospiti esposti). Il periodo di *host-killing* ha avuto durata pari a $39,70 \pm 3,43$ giorni, e ciò indica che le femmine hanno continuato a uccidere ospiti anche dopo la fine del periodo di ovideposizione. La stessa attività post-riproduttiva era già stata osservata anche su *B. hebetor* (JERVIS *et al.*, 1994).

I valori settimanali di larve ospiti paralizzate sono risultati significativamente differenti tra le prime quattro settimane e le ultime tre, con i primi più alti dei secondi. In particolare, le percentuali di larve paralizzate sono variate tra $47,62 \pm 4,02$ % e $22,12 \pm 4,95$ % nella seconda e nell'ultima settimana, rispettivamente. La quota di ospiti paralizzati e non parassitizzati potrebbe essere anche dovuta a una strategia per controllare la densità del fillominatore sul vegetale ospite in modo tale da assicurare che una fogliolina contenente una larva parassitizzata non rischi di andare perduta a seguito dell'attività trofica delle larve non parassitizzate che si alimentano sullo stesso substrato (PATEL *et al.*, 2003). È evidente che, un eccesso di attività trofica sulle foglie può causare disseccamento, necrosi e abscissione delle foglioline, causando in tal modo una potenziale riduzione della sopravvivenza delle larve del parassitoide. Un'altra possibile causa di questo comportamento è che le femmine del parassitoide uccidano più larve per fornire una riserva alimentare per attività riproduttiva futura e/o per la progenie, ovvero per le larve del parassitoide in corso di sviluppo (LAUZIÈRE *et al.*, 1999).

Il tempo necessario per raggiungere il 50% di mortalità degli adulti del parassitoide (LT_{50}) è risultato pari a 44,5 e 45 giorni per le femmine in contatto con larve dell'ospite nelle piastre Petri e per quelle mantenute nei tubi in vetro senza ospite, rispettivamente. La sopravvivenza media è di $41,47 \pm 2,42$ giorni per le femmine con ospite e miele, e $42,75 \pm 2,28$ per le femmine alimentate solo con miele, senza differenze significative tra i trattamenti. Al contrario sono state rilevate differenze significative di longevità tra maschi e femmine mantenuti all'interno dei tubi in vetro; in particolare la longevità dei maschi alimentati solo con miele è stata di $27,20 \pm 2,39$ (min 10, max 47) giorni, con una LT_{50} di 27 giorni.

Il contributo dei regimi alimentari alla sopravvivenza è ben documentato per numerose specie di parassitoidi in condizioni di laboratorio (JERVIS *et al.*, 2001), e mentre una correlazione positiva tra *host-feeding* e fecondità sembra essere distribuita in maniera omogenea tra le specie di parassitoidi, lo stesso *host-feeding* può avere un effetto positivo o nessun effetto sulla longevità (HEIMPEL & COLLIER, 1996). Nelle prove condotte, l'*host-feeding* non presenta vantaggi per le femmine di *B. nigricans* in termini di longevità quando un'altra fonte alimentare (nello specifico miele) è contestualmente disponibile.

EFFETTO DELLA DENSITÀ DELL'OSPITE E DELL'ALIMENTO

Al fine di valutare l'eventuale risposta funzionale del parassitoide all'aumentare della densità dell'ospite parassitizzabile nonché l'effetto della presenza di un addizionale apporto zuccherino-proteico (Protonectar[®], Lega Italia) sulla *fitness* delle femmine, 10 femmine neo sfarfallate di *B. nigricans* per ciascun biosaggio sono state singolarmente esposte, per l'intera durata della vita, a tre diverse densità dell'ospite (10, 20 e 40 larve) e a 10 larve con e senza la presenza dell'alimento artificiale, rispettivamente. Le larve utilizzate per questi biosaggi erano di 3^a e 4^a età, stadi che sono risultati, come già detto, maggiormente parassitizzati nella prova di preferenza per lo stadio dell'ospite. L'arena, le procedure sperimentali e i parametri registrati sono stati gli stessi di quelli descritti in precedenza per lo studio delle tavole di sopravvivenza degli adulti a eccezione del fatto che gli ospiti venivano sostituiti a intervalli regolari di tre giorni.

I risultati ottenuti, hanno evidenziato un effetto significativo dell'alimento zuccherino-proteico sulla longevità sia delle femmine che dei maschi. Un effetto significativo è stato registrato anche sulla mortalità complessivamente indotta nell'ospite, in termini sia di ospiti parassitizzati che di larve paralizzate. Dall'analisi dei dati emerge che il numero di larve paralizzate è più elevato senza nutrimento aggiuntivo rispetto alla quota di larve parassitizzate che è più bassa a causa di una minore disponibilità di uova mature (Tab. 4).

Lo stesso tipo d'influenza dell'alimento è stato riscontrato anche sulla fecondità giornaliera che è risultata più elevata per le femmine con alimento addizionale rispetto a quella delle femmine a cui sono state somministrate solo larve senza alimento aggiuntivo. E le stesse femmine altresì sopravvivono più a lungo, come visto anche in precedenza. Questo effetto è ancora più evidente quando si

Tabella 4 – Effetto dell'alimento: Numero di uova deposte, progenie ottenuta, larve parassitizzate e paralizzante (media \pm ES) da ciascuna femmina di *Bracon nigricans* in presenza o in assenza di alimento aggiuntivo.

	Senza alimento addizionale	Con alimento addizionale
Totale uova deposte/femmina/intera vita	20,33 \pm 2,96	128,70 \pm 23,99
Totale progenie/femmina/intera vita	12,11 \pm 1,81	56,67 \pm 10,90
% larve parassitizzate	34,52 \pm 2,99	49,69 \pm 2,88
Totale larve parassitizzate/femmina/intera vita	17,30 \pm 3,21	62,10 \pm 11,03
% larve paralizzante	46,96 \pm 2,12	37,05 \pm 1,3
Totale larve paralizzante/femmina/intera vita	19,81 \pm 1,45	46,71 \pm 7,77

guarda al numero totale di uova deposte da ciascuna femmina lungo l'intera durata della vita (Tab. 4). Lo stesso effetto è chiaramente emerso sia sulla progenie ottenuta giornalmente per ciascuna femmina che sulla fertilità totale nel corso della vita (Tab. 4).

Le prove volte a valutare gli effetti della densità dell'ospite sul parassitoide hanno mostrato un effetto significativo sulla longevità dei maschi, mentre nessun effetto è stato riscontrato sulla longevità delle femmine nonché sulla fecondità e fertilità del parassitoide che, tuttavia, sono risultate leggermente più elevate a densità crescenti (Tab. 5).

L'effetto della densità dell'ospite è chiaramente evidente quando si osservano sia il numero di larve parassitizzate che quello delle larve paralizzante. Queste ultime in particolare aumentano in misura sensibilmente superiore rispetto alle prime (Tab. 5). Questa risposta funzionale (descrive l'entità di ovideposizione in relazione alla densità dell'ospite e deve essere necessariamente preso in considerazione quando si determina il potenziale di controllo biologico di una nuova specie (SOLOMON 1949; LUNA *et al.*, 2007).

CONCLUSIONI

Bracon nigricans ha dimostrato di essere un ectoparassitoide idiobionte, gregario, con una *sex-ratio* lievemente a favore dei maschi. Tuttavia, questa specie ha fatto registrare una notevole plasticità

comportamentale in rapporto al nuovo ospite *T. absoluta*, considerato che le punture sull'ospite possono o meno essere seguite da *host-feeding* e ovideposizione. Questo braconide è una specie tipicamente sinovigenica e pertanto longeva, capace di riprodursi a basse densità dell'ospite e, producendo uova anidropiche, è in grado di conservare il materiale riproduttivo in funzione della densità dell'ospite (JERVIS *et al.*, 2001). Inoltre, è interessante considerare che le specie sinovigeniche, non essendo limitate da parametri temporali, possono spendere più tempo nelle attività di foraggiamento e di ricerca dell'ospite.

Tutte le caratteristiche biologiche e comportamentali di *B. nigricans*, come emerge dai dati ottenuti nelle prove condotte, indicano che questo parassitoide potrebbe essere efficacemente impiegato per applicazioni di controllo biologico di *T. absoluta*. Tuttavia, prima di poter fare qualunque considerazione sull'efficacia in campo di *B. nigricans*, è necessario indagare su diversi ulteriori elementi che potrebbero fortemente incidere sull'attività di biocontrollo e sulle dinamiche di popolazione del parassitoide in condizioni di campo. Tali parametri sono essenzialmente rappresentati dalle interazioni tra nemici naturali (predatori e parassitoidi) che condividono lo stesso ospite/preda (LUNA *et al.*, 2010, BOMPARD *et al.*, 2012), la capacità di dispersione (SÁNCHEZ *et al.*, 2009; ZAPPALÀ *et al.*, 2012b), gli effetti letali e sub letali dei pesticidi (DESNEUX *et al.*, 2007; BIONDI *et al.*, 2012b; LU *et al.*, 2012), le condizioni agronomiche

Tabella 5 – Effetto della densità dell'ospite: Numero di uova deposte, progenie ottenuta, larve parassitizzate e paralizzante (media \pm ES) da ciascuna femmina di *Bracon nigricans* a diverse densità dell'ospite (10, 20 e 40 larve).

	10 ospiti	20 ospiti	40 ospiti
Tot. uova deposte/femmina/intera vita	128,70 \pm 23,99	141,51 \pm 21,83	160,90 \pm 12,00
Tot. progenie/femmina/intera vita	56,67 \pm 10,90	82,5 \pm 13,24	91,60 \pm 0,48
% larve parassitizzate	49,69 \pm 2,88	32,95 \pm 3,54	18,52 \pm 1,62
Tot. larve parassitizzate/femmina/intera vita	62,10 \pm 11,03	82,20 \pm 10,94	101,06 \pm 6,63
% larve paralizzante	37,05 \pm 1,3	32,99 \pm 2,27	22,07 \pm 0,87
Tot. larve paralizzante/femmina/intera vita	46,71 \pm 7,77	89,60 \pm 13,51	186,20 \pm 12,73

(DESNEUX & RAMIREZ-ROMERO, 2009) e i livelli di biodiversità funzionale presenti all'interno degli agro-ecosistemi nonché nelle loro adiacenze (GARDINER *et al.*, 2009; ZAPPALÀ *et al.*, 2012a).

Negli ultimi anni, una crescente attenzione è stata rivolta al ruolo dei nemici naturali generalisti come regolatori delle popolazioni di fitofagi in agro-ecosistemi. L'impiego di queste specie come agenti biotici di contenimento non è stato efficacemente implementato soprattutto a causa di carenze conoscitive della loro biologia e capacità parassitaria, che costituiscono elementi chiave per il successo di un programma di controllo biologico. I risultati ottenuti in questo studio rappresentano il primo passo verso l'acquisizione di elementi scientifici per un efficace inserimento di *B. nigricans* nei programmi di controllo biologico e integrato di *T. absoluta* in aree di nuova colonizzazione.

RIASSUNTO

Negli anni successivi alla prima segnalazione in Italia della Tignola del pomodoro, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), diversi parassitoidi indigeni generalisti sono stati ritrovati su questo nuovo ospite. Tra questi, solo alcuni sono stati identificati come potenziali agenti di controllo biologico del fitofago esotico. In particolare, il parassitoide *Bracon nigricans* Szépligeti (Hymenoptera: Braconidae), distribuito nell'intera regione Paleartica, è stato largamente rinvenuto sul lepidottero esotico. Sono qui riportati dati sulla biologia di *B. nigricans* su *T. absoluta*. Prove di laboratorio sono state condotte per definire la preferenza per lo stadio dell'ospite, le tavole di sopravvivenza e di durata dello sviluppo degli stadi giovanili, la longevità, la riproduzione degli adulti e la *sex-ratio* della loro progenie, l'attività di *host-killing*, l'effetto della densità dell'ospite sulla fecondità, sulla fertilità e sull'attività di biocontrollo nonché l'effetto di un nutrimento artificiale zuccherino-proteico sulle *performance* degli adulti. *Bracon nigricans* è risultato essere un ectoparassitoide idiobionte, gregario e sinovigenico di larve di 3^a e 4^a età di *T. absoluta* con una *sex-ratio* leggermente sbilanciata a favore dei maschi. Le femmine hanno fatto registrare una plasticità comportamentale nell'utilizzazione dell'ospite, testimoniata dal fatto che l'iniziale paralisi dell'ospite fosse seguita da host-feeding, da ovideposizione o da rifiuto dell'ospite. Ciò ha comportato elevati livelli di mortalità negli ospiti esposti (intorno al 70%); mentre solo il 33% delle uova deposte ha raggiunto lo stadio adulto, facendo desumere che il nuovo ospite, *T. absoluta*, non sia pienamente adatto allo sviluppo del parassitoide indigeno. Nonostante siano necessari ulteriori studi in condizioni di campo, i dati ottenuti in laboratorio suggeriscono che *B. nigricans* possa essere considerato un potenziale agente di controllo biologico di *T. absoluta* nelle aree di nuova colonizzazione.

BIBLIOGRAFIA

AL-JBOORY I.J., KATBEH-BADER A., AL-ZAIDI S., 2012 – *First observation and identification of some natural enemies collected from heavily infested tomato by Tuta*

- absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Jordan. Middle East J. Sci. Res., 11: 435-438.
- ASKEW R.R., SHAW S.R., 1986 – *Parasitoid Communities: Their size, structure and development*. pp 225-264. In: *Insect Parasitoids* (Waage J., Greathead D., Eds).- London Academic Press.
- BIONDI A., DESNEUX N., AMIENS-DESNEUX E., SISCARO G., ZAPPALÀ L., 2012a – *Biology and developmental strategies of the Palaearctic parasitoid Bracon nigricans on the Neotropical moth Tuta absoluta*. J. Econ. Entomol., submitted.
- BIONDI A., MOMMAERTS V., SMAGGHE G., VIÑUELA E., ZAPPALÀ L., DESNEUX N., 2012b – *The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods*. Pest Manag. Sci. (in press) DOI: 10.1002/ps.3396.
- BOMPARD A., JAWORSKI C.C., DESNEUX N., 2012 – *Sharing a predator: can an invasive species affect the predation pressure on a local pest?* Popul. Ecol. (in press).
- CHAILLEUX A., DESNEUX N., SEGURET J., THI KHANH H.D., MAIGNET P., TABONE E., 2012 – *Assessing European egg parasitoids as a mean of controlling the invasive South American tomato pinworm Tuta absoluta*. PLoS ONE, 7(10): e48068. doi:10.1371/journal.pone.0048068
- DESNEUX N., BARTA R.J., HOELMER K.A., HOPPER K.R., HEIMPEL G.E., 2009 - *Multifaceted determinants of host specificity in an aphid parasitoid*. - Oecologia, 160: 387-398.
- DESNEUX N., DECOURTYE A., DELPUECH J.M., 2007 – *The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods*. Ann. Rev. Entomol., 52: 81-106.
- DESNEUX N., RAMIREZ-ROMERO R., 2009 – *Plant characteristics mediated by growing conditions can impact parasitoid's ability to attack host aphids in winter canola*. - J. Pest Sci. 82: 335-342.
- DESNEUX N., WAJNBERG E., WYCKHUYS K.A.G., BURGIO G., ARPAIA S., NARVÁEZ-VASQUEZ C.A., GONZÁLEZ-CABRERA J., CATALÁN RUESCAS D., TABONE E., FRANDON J., PIZZOL J., PONCET C., CABELLO T., URBANEJA A., 2010 – *Biological invasion of European tomato crops by Tuta absoluta: ecology, geographic expansion and prospects for biological control*. - J. Pest Sci., 83: 197-215.
- DOANLAR M., YIIT A., 2011 – *Parasitoid Complex of the Tomato Leaf Miner, Tuta absoluta (Meyrick 1917), (Lepidoptera: Gelechiidae) in Hatay, Turkey*. - KSU J. Nat. Sci., 14: 28-37.
- FERRACINI C., INGEGNO B.L., NAVONE P., FERRARI E., MOSTI M., TAVELLA L., ALMA A., 2012 – *Adaptation of indigenous larval parasitoids to Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae) in Italy*. - J. Econ. Entomol., 105: 1311-1319.
- GABARRA R., ARNÓ J., 2010 – *Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña*. - Phytoma España, 217: 66-68.
- GARDINER M.M., LANDIS D.A., GRATTON C., DIFONZO C.D., O'NEAL M., CHACON J.M., WAYO M.T., SCHMIDT N.P., MUELLER F.F., HEIMPEL G.E., 2009 – *Landscape diversity enhances biological control of an introduced crop pest in the north-central USA*. - Ecol. Appl., 19: 143-154.
- GIRARDOZ S., KENIS M., QUICKE D.L.J., 2006 – *Recruitment of native parasitoids by an exotic leaf miner, Cameraria ohridella: host-parasitoid synchronization and influence of the environment*. - Agric. For. Entomol., 8: 49-56.
- GODFRAY H.C.J., AGASSIZ D.L.J., NASH D.R., LAWTON

- J.H., 1995 – *The recruitment of parasitoid species to two invading herbivores*. - J. Anim. Ecol., 64: 671-684.
- GRABENWEGER G., KEHRLI P., ZWEIMÜLLER I., AUGUSTIN S., AVTZIS N., BACHER S., FREISE J., GIRARDOZ S., GUICHARD S., HEITLAND W., LETHMAYER C., STOLZ M., TOMOV R., VOLTER L., KENIS M., 2010 – *Temporal and spatial variations in the parasitoid complex of the horse chestnut leafminer during its invasion of Europe*. - Biol. Invasions, 12: 2797-2813.
- HARDY I.C.W., GRIFFITHS N.T., GODFRAY H.C., 1992 – *Clutch size in a parasitoid wasp: a manipulation experiment*. - J. Anim. Ecol., 61: 121-129.
- HEIMPEL G.E., ANTOLIN M.F., STRAND M.R., 1999 – *Diversity of sex-determining alleles in Bracon hebetor*. - Heredity, 82: 282-291.
- HEIMPEL G.E., COLLIER T.R., 1996 – *The evolution of host-feeding behaviour in insect parasitoids*. - Biol. Rev., 71: 373-400.
- HEIMPEL G.E., DE BOER J.G., 2008 – *Sex Determination in the Hymenoptera*. - Annu. Rev. Entomol., 53: 209-30.
- HOLLOWAY A.K., HEIMPEL G.E., STRAND M.R., 1999 – *Survival of diploid males in Bracon sp. near hebetor (Hymenoptera: Braconidae)*. - Ann. Entomol. Soc. Am., 92: 110-116.
- JERVIS M.A., HEIMPEL G.E., FERNS P.N., HARVEY J.A., KIDD N.A.C., 2001 – *Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of 'ovigeny'*. - J. Anim. Ecol., 70: 442-458.
- Jervis M.A., Kidd N.A.C., 1986 – *Host-feeding strategies in hymenopteran parasitoids*. - Biol. Rev., 61: 395-434.
- JERVIS M.A., KIDD N.A.C., ALMEY H.E., 1994 – *Post-reproductive life in the parasitoid Bracon hebetor (Say) (Hym., Braconidae)*. - J. Appl. Entomol., 117: 72-77.
- LAUZIÈRE I., PÉREZ-LACHAUD G., BRODEUR J., 1999 – *Influence of host density on the reproductive strategy of Cephalonomia stephanoderis, a parasitoid of the coffee berry borer*. - Entomol. Exp. Appl., 92: 21-28.
- LONI A., ROSSI E., VAN ACHTERBERG K., 2011 – *First report of Agathis fuscipennis in Europe as parasitoid of the tomato leafminer Tuta absoluta*. - Bull. Insectol., 64: 115-117.
- LU Y.H., WU K.M., JIANG Y.Y., GUO Y.Y., DESNEUX N., 2012 – *Widespread adoption of Bt cotton and insecticide decrease promotes biocontrol services*. - Nature 487: 362-365.
- LUNA M.A.G., SÁNCHEZ N.E., PEREYRA P.C., 2007 – *Parasitism of Tuta absoluta (Lepidoptera, Gelechiidae) by Pseudapanteles dignus (Hymenoptera, Braconidae) under laboratory conditions*. - Environ. Entomol., 36: 887-893.
- LUNA M.A.G., WADA V.I., SÁNCHEZ N.E., 2010 – *Biology of Dineulophus phtorimaeae (Hymenoptera: Eulophidae) and field interaction with Pseudapanteles dignus (Hymenoptera: Braconidae), larval parasitoids of Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato*. - Ann. Entomol. Soc. Am., 103: 936-942.
- MANGEL M., HEIMPEL G.E., 1998 – *Reproductive senescence and dynamic oviposition behaviour in insects*. - Evol. Ecol. 12, 871-879.
- MOLLÁ O., ALONSO M., MONTON H., BEITIA F., VERDÚ M. J., GONZALEZ-CABRERA J., URBANEJA A., 2010 – *Control biológico de Tuta absoluta: catalogación de enemigos naturales y potencial de los miridos depredadores como agentes de control*. - Phytoma España, 217: 42-47.
- NENAAH G., 2011 – *Individual and synergistic toxicity of solanaceous glycoalkaloids against two coleopteran stored-product insects*. - J. Pest Sci., 84: 77-86.
- ORTU S., FLORIS I., 1989 – *Indagine preliminare per il controllo di Phtorimaea operculella su coltivazioni di patata in Sardegna*. - La difesa delle piante, 12: 81-88.
- PATEL K.J., SCHUSTER D.J., SMERAGE G.H., 2003 – *Density dependent parasitism and host-killing of Liriomyza trifolii (Diptera: Agromyzidae) by Diglyphus intermedius (Hymenoptera: Eulophidae)*. - Fla. Entomol., 86: 8-14.
- PENNACCHIO F., STRAND M.R., 2006 – *Evolution of developmental strategies in parasitic Hymenoptera*. - Ann. Rev. Entomol., 51: 233-258.
- SÁNCHEZ N.E., PEREYRA P.C., LUNA M.G.A., 2009 – *Spatial patterns of parasitism of the solitary parasitoid Pseudapanteles dignus (Hymenoptera: Braconidae) on Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae)*. - Environ. Entomol., 38: 365-374.
- SOLOMON M.E., 1949 – *The natural control of animal populations*. - J. Anim. Ecol., 18: 1-35.
- Urbaneja A., Gonzalez-Cabrera J., Arnò J., Gabarra R., 2012 – *Prospects for the biological control of Tuta absoluta in tomatoes of the Mediterranean basin*. - Pest Manag. Sci., 68: 1215-1222.
- URBANEJA A., LLÁCER E., TOMÁS O., GARRIDO A., JACAS J.A., 2000 – *Indigenous natural enemies associated with Phyllocnistis citrella (Lepidoptera: Gracillariidae) in Eastern Spain*. - Biol. Control, 18: 199-207.
- VAN LENTEREN J.C., WOETS J., 1988 – *Biological and integrated pest control in greenhouses*. - Annu. Rev. Entomol., 33: 239-269.
- YU D.S.K., VAN ACHTERBERG C., 2010 – *Taxapad Ichneumonoidea (May 2009 version)*. In: *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life: 2010 Annual Checklist* (Bisby F.A., Roskov Y. R., Orrell T.M., Nicolson D., Paglinawan L.E., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., Baillargeon G., Eds). - DVD, Species 2000, Reading, UK.
- ZAPPALÀ L., BERNARDO U., BIONDI A., COCCO A., DELIPERI S., DELRIO G., GIORGINI M., PEDATA P.A., RAPISARDA C., TROPEA GARZIA G., SISCARO G., 2012a – *Recruitment of native parasitoids by the exotic pest Tuta absoluta (Meyrick) in Southern Italy*. - Bull. Insectol., 65: 51-61.
- ZAPPALÀ L., CAMPOLO O., GRANDE S.B., SARACENO F., BIONDI A., SISCARO G., PALMERI V. 2012b – *Dispersal of Aphytis melinus (Hymenoptera: Aphelinidae) after augmentative releases in citrus orchards*. - Eur. J. Entomol., 109: 561-568.