

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Agraria e Medicina Veterinaria

**TESI DI LAUREA MAGISTRALE IN SCIENZE E TECNOLOGIE PER
L'AMBIENTE E IL TERRITORIO**

Messa a punto di tecniche di allevamento di *Habrobracon hebetor*
(Hymenoptera, Braconidae) e indagini sul comportamento
riproduttivo

Development of rearing techniques for *Habrobracon hebetor*
(Hymenoptera, Braconidae) and investigations on reproductive
behavior

Relatore:

Prof. Luca Mazzon

Correlatori:

Dott.ssa Ivana Carofano

Dott. Michele Ruzza

Laureando: Samuele Morao

Matricola: 1237754

Anno Accademico 2021/2022

INDICE

RIASSUNTO	iii
ABSTRACT	iv
1 INTRODUZIONE.....	1
1.1 LA LOTTA INTEGRATA NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE	1
1.2 LA NORMATIVA NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE	2
1.3 PREVENZIONE, MONITORAGGIO E TECNICHE DI DIFESA.....	4
1.4 CLASSIFICAZIONE DI <i>Ephestia cautella</i> E <i>Plodia interpunctella</i>	6
1.4.1 <i>Ephestia cautella</i>	7
1.4.1.1 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO.....	7
1.4.1.2 DANNI E DIFFUSIONE.....	10
1.4.2 <i>Plodia interpunctella</i>	11
1.4.1.1 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO.....	11
1.4.4.2 DANNI E DIFFUSIONE.....	13
1.5 <i>Habrobracon hebetor</i>	14
1.5.1 CLASSIFICAZIONE E DISTRIBUZIONE	14
1.4.2 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO.....	15
2 SCOPO DELLA TESI.....	17
3 MATERIALI E METODI.....	18
3.1 ALLEVAMENTI	18
3.2 PROVA 1: individuazione del numero minimo di ospiti da esporre al parassitoide nell'unità di tempo (test no-choice)	20
3.3 PROVA 2: Fecondità e longevità del parassitoide	21
3.4 PROVA 3: Test choice <i>E. cautella</i> – <i>P. interpunctella</i>.....	22
3.5 ANALISI STATISTICHE	23
4 RISULTATI	24
4.1 PROVA 1: individuazione del numero minimo di ospiti da esporre al parassitoide nell'unità di tempo (test no-choice)	24
4.2 PROVA 2: Fecondità e longevità del parassitoide	25
4.3 PROVA 3: Test choice <i>E. cautella</i> - <i>P. interpunctella</i>	27
5 DISCUSSIONE	29
6 CONCLUSIONI	33
7 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA	34
RINGRAZIAMENTI	48

RIASSUNTO

Insetti ed altri parassiti possono infestare i magazzini e i loro prodotti causando gravi perdite economiche a danno di silos, panifici, industrie di trasformazione alimentare, mulini e fabbriche alimentari. Solitamente la lotta si basa sull'utilizzo di prodotti di sintesi ma ad oggi a causa dei rischi legati ad essi, numerosi biocidi hanno subito delle restrizioni come neonicotinoidi e bromuro di metile. La ricerca per lo sviluppo di metodi sicuri, non tossici e sostenibili per il controllo di specie infestanti è da ritenersi quindi necessaria. Come in agricoltura, l'Integrated Pest Management (IPM) è considerato un metodo di controllo e prevenzione contro alcuni specifici organismi nocivi. Tra i più comuni parassiti del grano vi sono le tignole, tra cui *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella* utilizzate nel seguente studio. La loro presenza può causare danni ai macchinari e la contaminazione dei prodotti che diventano così invendibili. La presenza di questi insetti può essere limitata attraverso varie tecniche di tipo chimico, fisico e biologico tra cui l'utilizzo di antagonisti naturali: uno di questi è *Habrobracon hebetor* il quale parassitizza i propri ospiti quando questi si trovano allo stadio larvale. Nel seguente studio si è cercato di comprendere, nell'ottica di allevamento di massa, l'efficacia del parassitoide nel parassitizzare i propri ospiti nel tempo, il numero ottimale di ospiti da esporre e se vi è una preferenza tra le due specie ospite somministrate. La differenza nell'esposizione per un periodo di 24 h a 10 o a 20 larve ospite non è risultata significativa in termini di discendenti sfarfallati mentre una differenza significativa è stata dimostrata utilizzando 30 larve ospite. Dallo studio inoltre è emersa una preferenza delle femmine di *H. hebetor* nell'ovideporre più uova sulle larve di *E. cautella* e meno uova sulle larve di *P. interpunctella*. Inoltre, le femmine del parassitoide sono sopravvissute in media 37,2 giorni, la fecondità media è stata di 245,6 individui e la sex-ratio complessiva è stata dello 0,83 (femmine / maschi).

ABSTRACT

Insects and other pests can infest warehouses and their products causing severe economic losses to silos, bakeries, food processing industries, mills and food factories. Usually the fight is based on the use of synthetic products but to date, due to the risks associated with them, many biocides have undergone restrictions such as neonicotinoids and methyl bromide. Research for the development of safe, non-toxic and sustainable methods for the control of pests is therefore considered necessary. As in agriculture, Integrated Pest Management (IPM) is considered a method of control and prevention against some specific harmful organisms. Among the most common wheat pests are moths, including *Ephestia cautella* and *Plodia interpunctella* used in the following study. Their presence can cause damage to machinery and contamination of products which become unsaleable. The presence of these insects can be limited through various chemical, physical and biological techniques including the use of natural antagonists: one of these is *Habrobracon hebetor* which parasitizes its hosts when they are in the larval stage. In the following study we tried to understand, with a view to mass breeding, the effectiveness of the parasitoid in parasitizing its hosts over time, the optimal number of hosts to expose and if there is a preference between the two host species administered. The difference in the exposure for a period of 24 h to 10 or 20 host larvae was not significant in terms of escaped descendants while a significant difference was demonstrated using 30 host larvae. The study also revealed a preference of females of *H. hebetor* in laying more eggs on *E. cautella* larvae and fewer eggs on *P. interpunctella* larvae. Furthermore, the females of the parasitoid survived on average 37.2 days, from the host larvae an average of 245.6 individuals were born with an overall sex ratio of 0.83 (females / males).

1 INTRODUZIONE

1.1 LA LOTTA INTEGRATA NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE

I parassiti delle derrate alimentari possono provocare danni a livello quantitativo e qualitativo ai prodotti immagazzinati quali cereali, grano, legumi e sementi (Srivastava e Subramanian, 2016). La maggior parte di questi parassiti appartengono agli ordini dei coleotteri e dei lepidotteri (Khare, 1994) e possono deporre le uova sulla superficie o all'interno del cibo, da qui la distinzione di internal-feeders ed external-feeders (Cotton, 1960).

Per far fronte a questa problematica, in passato e tutt'ora vengono utilizzati diversi prodotti di sintesi (Dubey *et al.*, 2008) tra i quali possiamo citare: Cloruro di Metile, Malathion, Deltametrina o neonicotinoidi, con il tempo questi prodotti hanno subito sempre più restrizioni. Sebbene infatti l'efficacia dei biocidi risulti elevata, l'uso frequente e reiterato di questi può causare fenomeni di resistenza da parte delle specie target (Champ *et al.*, 1977) inoltre l'esposizione di insetticidi e sostanze volatili fumiganti da parte degli operatori può indurre a possibili danni acuti o cronici ed i consumatori potrebbero essere potenzialmente esposti ai composti residui negli alimenti (Damalas *et al.*, 2011).

Per far fronte alle problematiche relative agli organismi infestanti, anche negli ambienti chiusi, come le industrie alimentari, la soluzione più utilizzata in Europa è la lotta integrata, meglio nota come Integrated Pest Management (IPM) e l'applicazione dei suoi principi è stata resa obbligatoria con La Direttiva Europea 128/2009/CE (riguardante l'uso sostenibile dei pesticidi) a partire dal primo gennaio 2014 (Barzman *et al.*, 2015). L'IPM è definibile come un approccio o una strategia per combattere specie infestanti e parassiti delle piante che prevede l'utilizzo di tutti i metodi possibili come, per esempio, il mantenimento di un'igiene adeguata degli ambienti, il controllo fisico, biologico e chimico (Reichmuth, 1996) in modo da garantire il minimo quantitativo di pesticidi di sintesi applicati (D. Dent, 2000; R. Peshin and A. K. Dhawan 2009). L'obiettivo non è la completa eradicazione dei parassiti, ma la loro

gestione, mantenendo le popolazioni al di sotto dei livelli economicamente dannosi (R. F. Smith and R. Van Den Bosch 1967; M. V. Stern *et al.*, 1959) garantendo al contempo la salute umana e dell'ambiente (Reichmuth, 1996). La lotta integrata si basa sul concetto di "soglia" di danno economico, che richiede l'intervento solamente quando potenziali perdite di prodotto eccedono i costi necessari per le strategie di controllo disponibili per la gestione dell'infestazione; così facendo si riduce l'uso di antiparassitari favorendo la prevenzione, implementando la fase di monitoraggio e prediligendo, ove possibile, mezzi di lotta alternativi, quali biologici e fisici (Pagani *et al.*, 2009). Nel caso dei parassiti delle derrate alimentari, le infestazioni possono aver inizio nei magazzini di stoccaggio delle materie prime, proseguendo nelle industrie alimentari, nei centri di distribuzione delle merci e nella fase di trasporto. Gli attacchi possono esserci anche nei punti di vendita o nell'abitazione del consumatore, pertanto, data l'eterogeneità di tutti questi ambienti, le strategie e le tecniche di difesa devono inevitabilmente variare per garantire una sicurezza adeguata (Süss and Savoldelli, 2008).

1.2 LA NORMATIVA NELL'INDUSTRIA ALIMENTARE

Nell'industria alimentare la corretta applicazione dell'integrated pest management si basa su normative cogenti e normative volontarie oltre che dalla professionalità dell'azienda di pest control (M. Ruzza, 2022). Il decreto legislativo del 26 maggio 1997 n. 155 impone, con l'Art. 3, l'obbligo di predisporre un programma di autocontrollo basato sulla metodologia HACCP (Hazard analysis and critical control points) per permettere l'identificazione dei potenziali pericoli, la valutazione della gravità e della probabilità di una loro comparsa nonché l'individuazione e l'applicazione di procedure di controllo dei punti critici (Pagani *et al.*, 2009). Successivamente nel 2000 vengono emanati il "Libro Bianco sulla Sicurezza Alimentare" e

il Regolamento CE 178/2002: “General Food Law”; quest’ultimo evidenzia l’importanza dell’analisi del rischio e l’obbligo della tracciabilità dei prodotti e inoltre istituisce l’Autorità Europea per la Sicurezza Alimentare (EFSA) (M. Ruzza, 2022). Dal primo gennaio 2006 sono diventati applicabili i quattro Regolamenti Europei noti come “Pacchetto Igiene”, volti a garantire la sicurezza del processo produttivo degli alimenti, nonché dei relativi controlli (Pagani *et al.*, 2009; <http://www.pacchettoigiene.it>). In particolare, nel Regolamento CE n. 852/2004 sono individuati degli obblighi per le imprese mentre il Regolamento CE n. 854/2004 art. 4, punto 4, comma f, tra le procedure messe in atto dall’impresa troviamo anche la lotta contro i parassiti (C. Musella *et al.*, 2007; Pagani *et al.* 2009). Il decreto legislativo 193 del 2007 applica la direttiva 2004/41/CE relativa ai controlli in materia di sicurezza alimentare e applicazione dei regolamenti comunitari nel medesimo settore, in fine il regolamento UE 2017/625 riguarda invece i controlli ufficiali effettuati per garantire l’applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi e delle norme sulla salute e il benessere degli animali, sulla sanità delle piante, nonché sui prodotti fitosanitari (M. Ruzza, 2022). Come detto in precedenza, le aziende possono inoltre aderire a delle Normative Volontarie come le certificazioni per “Prodotti Alimentari Tipici”, le certificazioni per “Sistemi di Gestione Aziendale” e le certificazioni “Volontarie di Prodotto”; queste ultime sono riconosciute dal Global Food Safety initiative (GFSI) e hanno come requisito comune l’adozione della metodologia HACCP (M. Ruzza, 2022). Per quanto riguarda la corretta gestione del Pest Management, a fronte di diverse Certificazioni Volontarie, quelle che ad oggi trovano maggiore applicazione sono la BCR Food e la IFS Food Standard che mirano ad una accurata gestione degli infestanti tenendo conto anche della prevenzione: entrambe offrono delle linee guida per i controlli sugli infestanti basati sull’analisi dei pericoli e sulla valutazione dei rischi oltre che sui risultati ottenuti negli anni precedenti e più in generale garantiscono la manutenzione e il corretto utilizzo di tutte le strumentazioni. Anche per l’azienda di pest control, sempre più importante per una

corretta gestione dei servizi nelle aziende alimentari ci sono delle Normative volontarie, nello specifico le certificazioni UNI EN 16636:2015 e la UNI 11381:2010; la prima garantisce un flusso di processo dei servizi professionali quali contatto con il fruitore del servizio, raccolta delle informazioni preliminari, ispezione del sito con identificazione di tipo e livello di infestazione, eventuali rischi e le procedure di intervento e monitoraggio. La UNI 11381:2010 specifica invece come progettare il monitoraggio degli insetti negli ambienti presenti e alla collocazione delle trappole in relazione ai punti critici e alle specie considerate (M. Ruzza, 2022).

1.3 PREVENZIONE, MONITORAGGIO E TECNICHE DI DIFESA

Tra i vari gruppi di parassiti che possono infestare le derrate alimentari è bene citare le tignole, i punteruoli dei cereali, i silvanidi, i tarli dei cereali e i dermestidi (Bayer CropScience Italia S.r.l., 2008); questi, assieme ad altri animali come roditori e uccelli possono trovarsi in prossimità, sulla superficie o all'interno degli alimenti costituendo una fonte di microrganismi in grado di diffondere infezioni o intossicazioni alimentari; per tale ragione è previsto dalla norma vigente UNI EN 16636:2015, che questi siano tenuti lontani, mediante adeguati piani di prevenzione, lotta e monitoraggio, da tutti i locali destinati alla produzione, confezionamento, distribuzione e deposito di alimenti (C. Musella *et al.*, 2007). La prevenzione è particolarmente importante nei programmi di lotta integrata delle industrie alimentari visto che in questi luoghi si ha un microclima pressoché costante, tale da consentire un regolare sviluppo degli insetti dove mancano fattori di controllo naturali come predatori o parassitoidi e non ci si può affidare alla carenza di cibo per eliminare le infestazioni (Pagani *et al.*, 2009).

Il monitoraggio delle specie infestanti nelle industrie alimentari prevede il controllo di tutti gli insetti per i quali sussiste un rischio d'infestazione. Il monitoraggio viene eseguito mediante trappole a

cattura che devono essere collocate, a seguito di analisi del rischio, nelle zone più critiche degli stabilimenti e in modo da avere una buona copertura degli ambienti (P. Guerra, 2011). Sono disponibili diversi modelli di trappole attivate con feromoni, kairomoni, esche alimentari o con luce UV, ma poiché anche le trappole in commercio presentano delle limitazioni, occorre affiancarle ad un'ispezione visiva per individuare eventuali tracce della presenza di infestanti come per esempio bave sericee, escrementi od esuvie (Pagani *et al.*, 2009). Nelle industrie alimentari il monitoraggio viene effettuato settimanalmente o ogni 15 giorni in base alla specie monitorata e i dati raccolti devono servire a programmare gli interventi di controllo degli infestanti, in un'ottica di Integrated Pest Management (IPM). Per far questo è necessario quindi verificare il numero di catture prima dell'intervento e seguire poi l'andamento nelle settimane successive (Pagani *et al.*, 2009).

Una volta appurata la presenza di specie infestanti bisogna limitare la loro presenza attraverso l'uso di metodi di controllo preventivi o curativi che possono essere di tipo biologico, fisico o chimico.

Il controllo biologico viene effettuato principalmente con la confusione sessuale tramite l'utilizzo di feromoni sessuali o di aggregazione; i feromoni sono descritti da Dicke e Sabelis (1988) come semiochimici capaci di mediare un'interazione fra individui appartenenti alla stessa specie. Tale comunicazione può portare vantaggi all'organismo che produce la sostanza, all'individuo che la riceve o ad entrambi. I feromoni sessuali delle specie principali di lepidotteri infestanti sono delle catene idrocarburiche insature contenenti esteri, alcoli e aldeidi (Plarre, 1998), il componente principale del feromone, presente in tutte le tignole è lo (Z,E)-9,12-tetradecadienilacetato noto come ZETA o TDA, mentre un componente secondario caratteristico di *Ephestia cautella* è lo (Z)-9-tetradecenilacetato (ZTA) (Brady, 1973). Un ulteriore costituente è stato individuato da Krasnoff *et al.*, (1984) ovvero lo (Z,E)-9,12-tetradecadienolo (ZETOH), questa volta in femmine di *Ephestia elutella*.

Il controllo fisico invece è eseguito mediante mezzi ad azione preventiva come gli “Entoler” ovvero dei sistemi dove la farina transita ad alta velocità in una girante costituita da tondini in acciaio e attraverso gli impatti, le uova presenti all’interno del prodotto alimentare si rompono (Süss and Guerra, 2021). Un altro metodo è la modifica delle temperature per rendere meno favorevole lo sviluppo degli infestanti, ad esempio, per mezzo di trattamenti con calore (Pagani *et al.*, 2009; Richard T. Arbogast, 1981) o trattamenti con basse temperature (L. Suss *et al.*, 2021; H. D. Burges, 1956; E. Jonathan Donahaye *et al.*, 1995; Athanassiou, C. G. *et al.*, 2018).

Per quanto riguarda il controllo chimico invece, tra i principi attivi utilizzabili si identificano insetticidi organici di origine naturale e analoghi sintetici (piretri e piretroidi), insetticidi organici di sintesi (fosfororganici, carbammati, azotorganici, regolatori di crescita, neonicotinoidi), insetticidi biologici, insetto-repellenti e gas tossici (fosfina, difluoruro di solforile) regolamentati dal Regio Decreto n° 147 del 9 gennaio 1927. Per quanto riguarda i fumiganti, nel passato quello più comunemente utilizzato era il bromuro di metile, ma a seguito del protocollo di Montreal (convenzione internazionale del 16/09/1987,) il suo uso è stato ridotto fino alla sua completa dismissione nel 2005 dal momento che è un depletore dell’ozono stratosferico. Un’alternativa ancora oggi utilizzata è il difluoruro di solforile che è un fumigante ad ampio spettro d’azione efficace su tutti gli stadi degli insetti bersaglio.

1.4 CLASSIFICAZIONE DI *Ephestia cautella* E *Plodia interpunctella*

Ephestia cautella e *Plodia interpunctella* (Pyralidae) sono due lepidotteri appartenenti alla superfamiglia Pyraloidea che comprende 16000 specie circa. Questa è la terza delle più grandi superfamiglie di lepidotteri, preceduta dalle superfamiglie Noctuoidea e Geometroidea (M. Alma Solis, 2007). Pyraloidea attualmente è divisa nelle due famiglie Pyralidae e Crambidae: le loro differenze sono state osservate per la prima volta da Börner

(1925) e si basano essenzialmente sulla forma degli organi timpanici presenti sull'addome degli adulti. Le larve di questa superfamiglia presentano diverse caratteristiche comportamentali: alcuni gruppi si sono adattati ad ambienti acquatici e si cibano di piante (Lange 1956; Munroe 1972), altri possono essere predatori di insetti, o cibarsi di feci di bradipi (Waage and Montgomery 1976) e pipistrelli (Solis and Mitter 1992), di felci (Solis *et al.* 2005; Yen *et al.* 2004). Di particolare interesse per la filiera agroalimentare sono quelle specie che si nutrono appunto di prodotti immagazzinati (S. Mohandass *et al.*, 2007; Allotey, J. *et al.*, 1990; Ali A. Işikber *et al.*, 2009).

1.4.1 *Ephestia cautella*

1.4.1.1 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO

Il ciclo biologico di *E. cautella* presenta diverse generazioni all'anno, a seconda delle temperature (Husain *et al.*, 2017). Gli adulti sono distinguibili grazie alla forma della parte terminale dell'addome: nei maschi questa è più ampia, nelle femmine invece si restringe ed ha una forma tubolare (H. Setyaningrum, 2017). L'insetto adulto ha un'apertura alare di circa 20 mm e misura dai 13 ai 20 mm di lunghezza (A. Malik *et al.*, 2019), le ali sono di colore grigio screziato con linee più scure verso l'estremità, le ali posteriori invece sono più chiare e tutte le ali terminano con una frangia (R. Thangjam, 2003; A. Malik *et al.*, 2019). Gli adulti di *E. cautella* non hanno un apparato boccale masticatore, il loro apparato ha l'unica funzione di prelevare liquidi presenti nell'ambiente (Ryne, *et al.*, 2004). In presenza di una fonte d'acqua la loro aspettativa di vita aumenta e le femmine riescono a deporre più uova (Norris, 1934) passando da circa 150 - 200 uova per femmina, fino ad arrivare in alcuni casi a più di 300 (H. Setyaningrum, 2017).

Le uova vengono deposte singolarmente o in gruppo, hanno una forma leggermente ovale e sono inizialmente di colore bianco che va

a scurirsi man mano che l'embrione si sviluppa (Pagani *et al.*, 2009) (figura 1.4b).

Le larve presentano il capo scuro, ben distinto dal resto del corpo, il quale è di colore bianco/giallastro e segmentato: i tre segmenti toracici hanno un paio di zampe articolate ciascuno, mentre, dei dieci segmenti addominali, quelli dal terzo al sesto (compresi) e il decimo sono provvisti di pseudozampe uncinatate all'estremità (Bayer CropScience Italia S.r.l., 2008). Negli stadi larvali più avanzati è possibile determinare il sesso dell'insetto grazie all'individuazione di una macchia più scura sul dorso dell'addome presente solamente nei maschi (figure 1.4c e 1.4d), caratteristica che è presente anche nella fase pupale (H. Setyaningrum, 2017).

Anche le pupe virano di colorazione: dal marrone chiaro passano a tonalità più scure man mano che l'insetto si sviluppa all'interno (H. Setyaningrum, 2017) (figura 1.4e).

E. cautella è distinguibile da altre specie dello stesso genere per esempio osservando le caratteristiche dell'ottavo segmento addominale: *E. cautella* è distinguibile da *Ephestia elutella* (Figura 1.4a, al centro) perché lo spiracolo di quest'ultima è più piccolo rispetto all'area membranosa tra la sclerite e la setola p . Per distinguere *E. cautella* (Figura 1.4a, a sinistra) da *Ephestia kuehniella* (Figura 1.4a, a destra) bisogna osservare se il diametro dello spiracolo è uguale o maggiore rispetto all'area membranosa tra la sclerite e la setola p ; e se la distanza tra lo spiracolo e la setola ϵ è inferiore al diametro dell'area membranosa tra la sclerite e la setola p . (Audrey D. Atken, 1963).

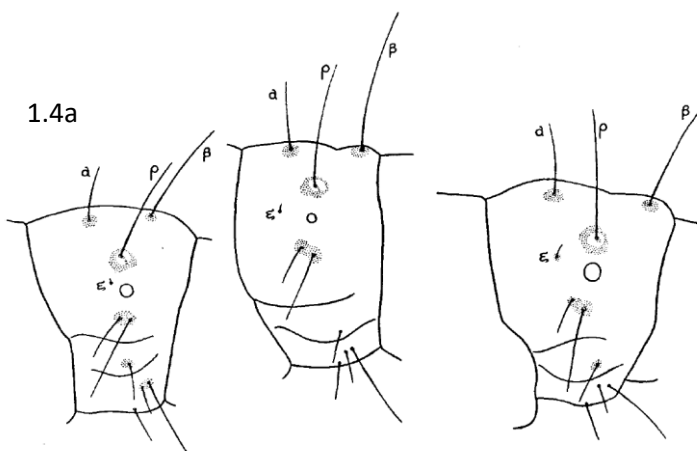


Figura 1.4a: Da sinistra verso destra: ottavo segmento addominale di *Ephestia cautella*, *Ephestia elutella* e *Ephestia kuehniella*. (immagine di Audrey D. Atken, 1963)



Figura 1.4b: Uova di *E. cautella* (foto di Samuele Morao);



Figura 1.4c: maschio di *E. cautella* allo stadio larvale (foto di Ivana Carofano); **Figura 1.4d:** femmina di *E. cautella* allo stadio larvale (foto di Ivana Carofano)



Figura 1.4e: pupe di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano); **Figura 1.4f:** adulto di *E. cautella* (foto di Samuele Morao)

Diversi studi hanno provato a definire dei parametri di crescita per questa specie: nello studio di Burgers e Haskins (1964) le uova di *E. cautella* si sono schiuse a temperature comprese tra i 15 e i 37.5°C; in uno studio precedente lo stesso Burges trovò un limite inferiore di 13°C al quale diverse uova schiusero; anche Yatomi e Yamashita (1938) ottennero dei risultati simili a temperature comprese tra i 10 e i 38°C. Nello studio di Mathlein (1961) le uova oggetto di studio si schiusero a 13.5°C ma non a 13°C, in questo caso le larve entrarono in uno stato di diapausa mentre riuscirono a completare lo sviluppo le larve poste a 15.5°C.

A differenza di uova e pupe, stadi in cui le differenze di umidità relativa provocano effetti minimi (Tuli e Mookherjee, 1963), le larve allevate a parametri di umidità differenti rispondono in modi diversi: la bassa umidità può frenare la crescita della larva e se eccessivamente bassa può portare alla morte dell'individuo; la larva

infatti, attraverso lo scambio respiratorio e attraverso le feci perde liquidi, i quali possono non essere riassorbiti nel caso in cui il cibo sia troppo secco, duro o difficile da mangiare (Burges, 1960). Ad umidità troppo elevate invece c'è il rischio che si formino muffe che possono portare alla morte di larve e pupe (H. D. Burgers and K. P. F. Haskins 1964).

1.4.1.2 DANNI E DIFFUSIONE

Ephestia cautella è una specie cosmopolita, ma particolarmente abbondante nelle regioni più calde e tropicali (Zacher, 1958).

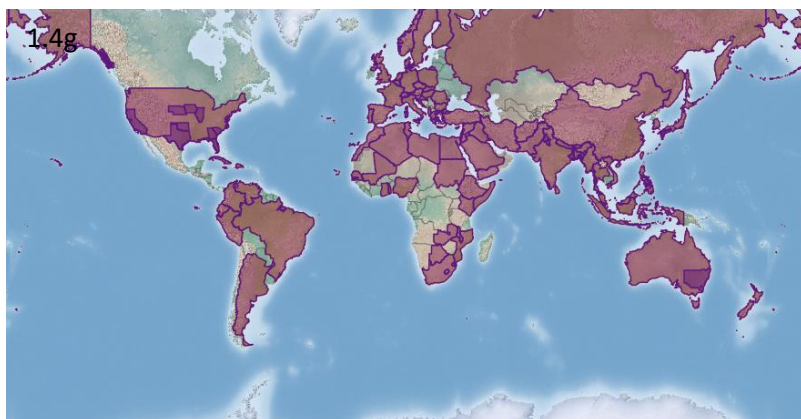


Figura 1.4g: stati dove è stata registrata la presenza di *Ephestia cautella*. (Fonte: www.cabi.org)

E. cautella è un parassita che può attaccare diversi tipi di prodotti come riso, mais, fagioli, soia, farina, arachidi e altri tipi di frutta secca (Malik *et al.* 2019). Le larve riescono a perforare vari materiali utilizzati per il confezionamento delle derrate alimentari come cellophane, polietilene, carta e polivinilcloruro (L. Daniel Cline, 1978). I danni sono provocati dalle larve che nutrendosi del cibo lo contaminano con escrementi, producono bave sericee e rilasciano frammenti delle esuvie che possono compattare il cibo provocando malfunzionamenti e blocchi dei condotti dei macchinari (Bayer CropScience Italia S.r.l., 2008). Questi danni ovviamente, oltre ad essere problematici per i macchinari utilizzati nelle industrie

alimentari, rendono il prodotto non più vendibile a causa dei problemi igienici (Khare, 1994) e possono causare perdite fino al 60% (Malik, 2019).

1.4.2 *Plodia interpunctella*

1.4.1.1 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO

Le uova di *Plodia interpunctella* variano dai 0,3 ai 0,5 mm di dimensione (Thomas R. Fasulo and Marle A. Knox, 2007), hanno delle escrescenze arrotondate e una carena prominente in un'estremità che permette di distinguerle dalle uova di altri insetti delle derrate (Mohandass et al., 2007).

Le larve possono essere lunghe da 8 fino a 20 mm, sono di colore biancastro, a volte tendente al verde pallido o al rosa chiaro; alla base delle sete non ci sono macchie scure chiamate pinnacoli (Pagani et al. 2009), caratteristica che permette di distinguere le larve da quelle di *Ephestia sp.* (figura 1.4h).

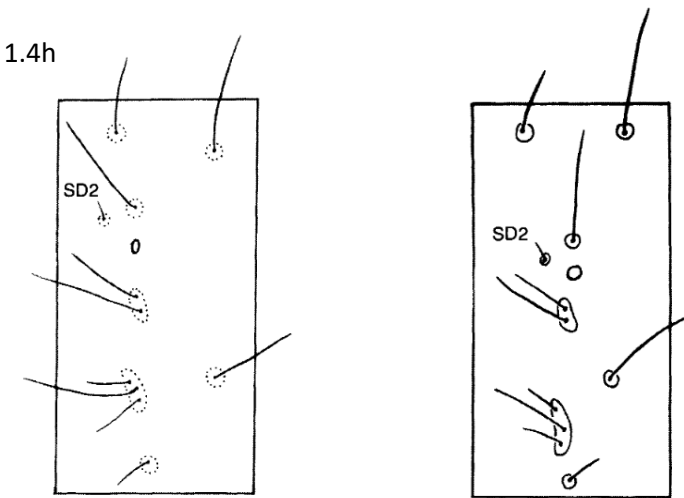


Figura 1.4h: a sinistra, ottavo segmento di *Plodia interpunctella*, caratterizzato dall'assenza di pinnacoli; a destra, ottavo segmento di *Ephestia sp.* caratterizzato da pinnacoli ben evidenti (J. Richard Gorham, 1999)

P. interpunctella ha 5 stadi larvali (Mohandass *et al.*, 2007; Gage, M. J. G. 1995), al quinto stadio può entrare in uno stato di diapausa se esposta a basse temperature (Tzanakakis, 1959; Johnson *et al.*, 1995) o a fotoperiodi corti (Tzanakakis, 1959; Bell and Walker, 1973): Come è stato rilevato da Bell (1976) che ha indotto lo stato di diapausa con fotoperiodo 13:11 e temperatura di 20 e 25 °C, o da Mbata (1987) che ha ottenuto lo stesso risultato portando delle larve allevate a 30°C ad una temperatura di 20°C. Nei periodi invernali quindi molti esemplari sopravvivono in uno stato di diapausa allo stadio larvale e con l'inizio della primavera queste possono proseguire nella loro crescita (Mason, 2003). In alcune aree geografiche, tuttavia, è possibile che il periodo di diapausa sia assente a causa delle temperature non sufficientemente basse (Prevet, 1971).

Gli adulti possono misurare dai 6 ai 9 mm e possono avere un'apertura alare che varia dai 14 ai 20 mm. Le ali anteriori presentano il terzo prossimale di colore giallo chiaro mentre i due terzi distali sono di colore rosso mattone con delle strisce trasversali nere; le ali posteriori sono biancastre mentre il capo e il torace sono molto scuri (Pagani *et al.* 2009). Le femmine adulte si orientano percependo gli odori rilasciati dal cibo e in prossimità di questo depositano molte più uova rispetto a substrati che ve ne sono privi; anche gli odori delle secrezioni larvali di individui della stessa specie incidono sulla deposizione delle uova (Phillips and Strand, 1994). Studi sulla fecondità di *P. interpunctella* hanno evidenziato che questa varia notevolmente a seconda del tipo di cibo, delle dimensioni della femmina e dalla presenza o meno di fonti d'acqua (Mbata, 1985; Y. S. Chow *et al.*, 1977). In particolare, Mbata (1985) riporta a 30°C la fecondità massima, mentre Bell (1975) evidenzia a questa temperatura solo un successo nell'accoppiamento. In quest'ultimo studio sono riportati anche i tempi di sfarfallamento degli adulti a 20 e 25°C, con umidità relativa del 70% e sono rispettivamente di 60 e 34 giorni. Johnson *et al.* (1992) hanno rilevato invece un tempo di sviluppo di 22,6 giorni a 28,3°C utilizzando crusca come substrato.



Figura 1.4i: uova di *P. interpunctella* (foto di Samuele Morao)



Figura 1.4j: larva maschio di *P. interpunctella* (foto di Samuele Morao); **Figura 1.4k:** larva femmina di *P. interpunctella* (foto di Samuele Morao)



Figura 1.4l (sotto): esemplari adulti di *P. interpunctella* durante l'accoppiamento (foto di Samuele Morao)

1.4.4.2 DANNI E DIFFUSIONE

Plodia interpunctella è una specie cosmopolita, presente in ogni continente, tranne l'Antartide (Rees, 2004) (figura 1.4j). Predilige climi temperati-caldi e viene spesso trovata nelle abitazioni, negli esercizi commerciali, nei depositi di derrate e nelle industrie.

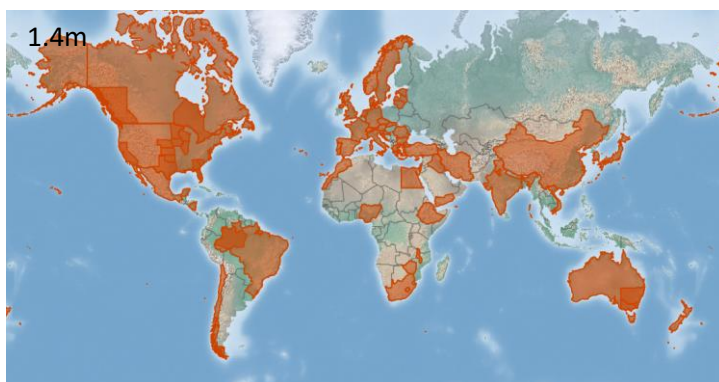


Figura 1.4m: stati dove è presente *Plodia interpunctella*. Fonte www.cabi.org

P. interpunctella è considerata una delle specie di lepidotteri più dannose a livello mondiale per le derrate alimentari; i danni sono gli stessi provocati da *E. cautella* descritti in precedenza, avendo queste due un simile comportamento (Phillips *et al.*, 2000). È un insetto estremamente polifago e i prodotti colpiti sono riportati in diverse pubblicazioni (Johnson *et al.*, 1992, 1995; Sedlacek *et al.*, 1996; Nansen and Phillips, 2003, 2004), attacca cariossidi (Predojević *et al.*, 2017; D.P. Locatelli *et al.*, 1998), farina e prodotti di derivazione cerealicola (Locatelli *et al.*, 1998; Doud and Phillips, 2000; Uechi *et al.*, 2007), frutta secca ed essiccata (Filip N. Vukajlovic *et al.*, 2019;), cacao e cioccolato (Trematerra *et al.*, 2016; Olsson *et al.*, 2005) e semi di vario genere (Pagani *et al.* 2009).

1.5 Habrobracon hebetor

1.5.1 CLASSIFICAZIONE E DISTRIBUZIONE

Habrobracon hebetor è un insetto presente principalmente nella fascia temperata del pianeta (cabi.org) (figura 1.5a); è un idiobionte ectoparassitoide della famiglia Braconidae (Eliopoulos and Stathas 2008); questa è una delle più abbondanti famiglie di parassitoidi (Shaw and Huddleston 1991, LaSalle and Gauld 1993) contenente più di 1100 generi e più di 21220 specie descritte (Yu *et al.*, 2016). Solitamente i braconidi parassitizzano larve di lepidotteri, coleotteri e ditteri (Wharton *et al.* 1997): *Habrobracon hebetor* ha come ospiti diversi lepidotteri che recano danni alle derrate alimentari come per esempio *Cadra calidella*, *Cadra figulilella*, *Corcyra cephalonica*, *Ephestia elutella*, *Ephestia cautella*, *Ephestia kuehniella*, *Helicoverpa armigera*, *Mamestra brassicae*, *Plodia interpunctella* e *Sitotroga cerealella* (www.cabi.org/isc/).

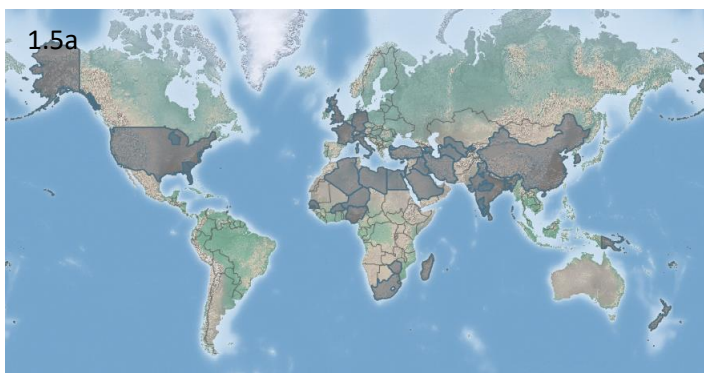


Figura 1.5a: Zone dove *Habrobracon hebetor* risulta presente; fonte: www.cabi.org/isc

1.4.2 MORFOLOGIA E CICLO BIOLOGICO

Nella scelta degli ospiti, le femmine prediligono larve di grandi dimensioni questo molto probabilmente perché più facili da individuare rispetto a quelle più piccole e perché permettono una fitness maggiore per la prole (R.O. Akinkulore *et al.*, 2009; E. Borzoui *et al.*, 2016). La femmina riesce a percepire i caironi prodotti e rilasciati dalle secrezioni sericee dei possibili ospiti; una volta individuati, li paralizza con il suo pungiglione (Dweck *et al.*, 2008) e in un momento successivo deposita sul corpo immobilizzato un numero variabile di uova (Antolin *et al.* 1995, Ulyett 1945); queste sono di colore bianco opaco, lisce e molto allungate, con una lunghezza media di circa 0.52 mm (Cleder Pezzini *et al.* 2017) (figura 1.5b). Una volta schiuse, le larve appaiono inizialmente trasparenti e successivamente diventano sempre più opache a causa dello sviluppo e dell'ingrandimento dell'intestino (Cleder Pezzini *et al.* 2017) (figura 1.5c); dopo circa 84 ore dalla parassitizzazione i tessuti dell'ospite sono quasi completamente consumati e il parassitoide si allontana per la fase pupale. Questa avviene all'interno di un bozzolo di seta creato grazie alle ghiandole labiali, che offre protezione da danni di tipo fisico, da predatori, dall'iperparassitoidismo e dall'essiccamento (Tagawa e Kitano 1981) (figura 1.5d). Una volta sfarfallate, le femmine adulte sono solitamente più grandi dei maschi e sono facilmente distinguibili da essi data la presenza dell'ovopositore; un'altra differenza consiste nella lunghezza delle antenne: esse, infatti, sono più lunghe nei maschi e presentano dai 18 ai 20 segmenti, le femmine invece hanno antenne più corte (H.K. Dweck and N.S. Gadallah, 2008) (figure 1.5e e 1.5f).

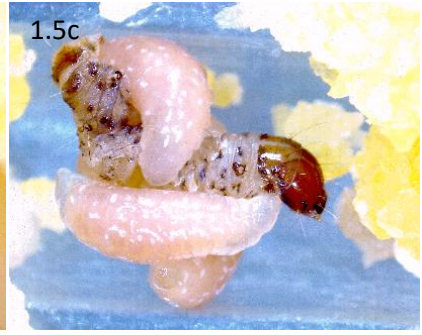
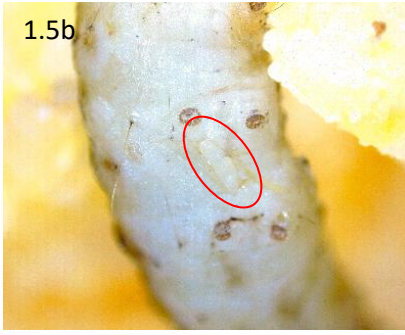


Figura 1.5b: uovo di *H. hebetor* su larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano); **figura 1.5c:** larve di *H. hebetor* su larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano)



Figura 1.5d: pupa di *H. hebetor* con resti di larva di *E. cautella* (foto di Ivana Carofano)



Figura 1.5e: maschio adulto di *H. hebetor* (foto di Ivana Carofano); **Figura 1.5f:** femmina adulta di *H. hebetor* (foto di Ivana Carofano)

2 SCOPO DELLA TESI

Habrobracon hebetor è tra i più efficaci parassitoidi di lepidotteri che attaccano le derrate alimentari, per questo è stato sempre soggetto a diversi studi. Con l'aumento delle restrizioni normative riguardanti i biocidi e la richiesta sempre crescente da parte dei consumatori di prodotti maggiormente rispettabili dell'ambiente, i ricercatori si sono focalizzati sullo sviluppo di tecniche alternative per sopperire la mancanza di determinati pesticidi in modo da garantire la vendita di prodotti alimentari limitando allo stesso tempo le perdite. Tra queste tecniche, la lotta biologica sfrutta le interazioni che avvengono di norma tra gli organismi dannosi e i loro antagonisti e, nell'industria alimentare, *H. hebetor* può ritenersi uno dei possibili alleati contro varie specie di tignole, ma per far questo servono ulteriori conoscenze e un metodo di allevamento di massa efficiente è da ritenersi fondamentale.

In questo studio sono state messe alla prova varie femmine di *H. hebetor* per acquisire maggiori informazioni su un possibile allevamento di massa; nello specifico, sono state svolte tre prove in modo da raggiungere i seguenti obiettivi:

- i)** comprendere il quantitativo ottimale di larve da esporre al parassitoide in un'ottica di allevamento di massa al fine di evitare da un lato la superparassitizzazione e dall'altro un impiego eccessivo di larve ospiti
- ii)** valutare la fecondità e la longevità del parassitoide nel tempo nell'ottica dell'ottimizzazione di allevamento di massa.
- iii)** valutare la preferenza del parassitoide tra due ospiti quali *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella*.

3 MATERIALI E METODI

3.1 ALLEVAMENTI

Le uova e le larve di *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella* sono state fornite dal laboratorio entomologico Entostudio (Viale del Lavoro, 66, 35020, Padova).

Le larve delle due tignole sono state allevate all'interno di un substrato di allevamento composto principalmente da farina di mais (circa 2/3) e farina di frumento (1/3) a cui sono stati aggiunti crusca, lievito secco, muesli tritato, miele e glicerolo. Sono stati utilizzati contenitori trasparenti di 11 cm di altezza e 9 cm di diametro, l'arieggiamento è stato reso possibile dall'applicazione sul coperchio di una retina in nylon con fori da 160 μm . A seconda delle necessità, le larve sono state poste a 25°C e 60 \pm 5% UR quando non erano ancora pronte per le prove di parassitizzazione e quindi aumentarne la velocità di crescita e a 16°C e 60 \pm 5% UR per rallentare la crescita delle larve. Gli adulti sfarfallati sono stati messi in un barattolo di vetro di 30 cm di altezza e 15 cm di diametro con una rete in plastica sull'apertura e capovolto su un vasetto raccoglitore per permette la caduta delle uova e una loro semplice raccolta.



Figura 3.1a: (davanti): vaso in vetro per la riproduzione degli adulti di *E. cautella*, nella parte bianca inferiore vengono raccolte le uova; (sullo sfondo): barattoli con substrato di allevamento e larve

La ditta Biologische-Beratung (Storkower Str. 55a, 10409, Berlino) ha invece fornito periodicamente il prodotto “Flour Moth Braconid” il quale contiene 30 esemplari di *Habrobracon hebetor* allo stadio pupale. Gli esemplari di *Habrobracon hebetor* sfarfallati sono stati messi all’interno di un contenitore di plastica di 18 x 13 x 7 cm, sul coperchio è stata applicata una retina ed è stata incollata un’ependorf con il fondo tagliato per facilitare l’inserimento degli insetti. Gli insetti sfarfallati inizialmente venivano trasferiti con un aspiratore in un contenitore per permettere l’accoppiamento; dopo un paio di giorni le femmine sono state spostate in altri contenitori con all’interno substrato e larve da parassitizzare in modo da aumentare il numero di parassitoidi a disposizione; periodicamente sono state aggiunte delle gocce di miele e acqua per permettere ai parassitoidi di cibarsi.



Figura 3.1b: una delle scatole utilizzate per iniziare l'allevamento di *H. hebetor* (foto di Samuele Morao)

3.2 PROVA 1: individuazione del numero minimo di ospiti da esporre al parassitoide nell'unità di tempo (test no-choice)

Lo scopo della prova era comprendere il quantitativo ottimale di larve da esporre al parassitoide in un'ottica di allevamento di massa al fine di evitare da un lato la superparassitizzazione e dall'altro un impiego eccessivo di larve ospiti.

Per questa prova sono state utilizzate delle piastre Petri in plastica trasparente di 10 cm di diametro con all'interno di ciascuna:

- 10, 20 o 30 larve di *E. cautella*
- Mezzo cucchiaino da caffè di substrato alimentare e una goccia di soluzione di acqua e miele (1:1) nella parte interna del coperchio
- Una femmina di *H. hebetor* di massimo 48 ore di età, precedentemente lasciata all'interno di una gabbia per 24 ore al fine di favorirne l'accoppiamento.

Una volta terminata la prova (dopo 24 h), i parassitoidi sono stati rimossi dalle piastre Petri.

Le piastre Petri sono state controllate ogni 2-3 giorni rilevando il numero di parassitoidi sfarfallati dagli ospiti (distinguendo tra maschi e femmine). Per la prova sono state fatte 8 repliche per ognuna delle 3 tesi (10, 20, 30 larve ospite) (Fig. 3.2a). la prova è stata svolta ad una temperatura di 25.4°C.

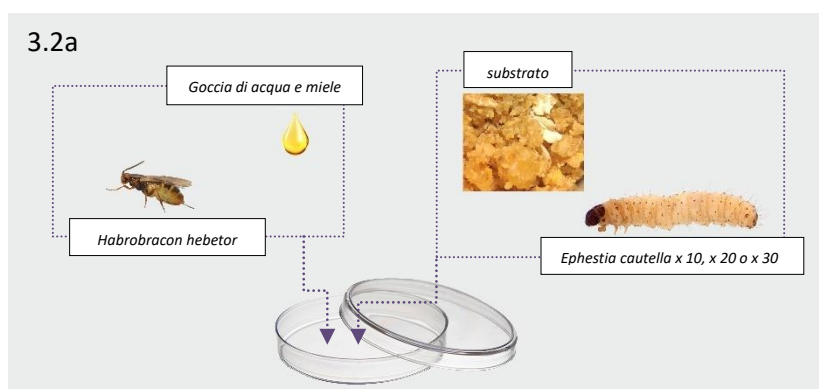


Figura 3.2a: rappresentazione del test no-choice (prova 1)

3.3 PROVA 2: Fecondità e longevità del parassitoide

Lo scopo della prova era valutare la fecondità e la longevità del parassitoide nel tempo nell'ottica di ottimizzazione dell'allevamento di massa. Analogamente alla prova precedente sono state preparate delle piastre Petri di uguale dimensione e con lo stesso substrato di allevamento per l'ospite. In questa prova in ciascuna Petri venivano inserite 20 larve di *E. cautella* e una femmina del parassitoide per 24 h. La stessa femmina dopo 24 h veniva estratta e inserita in una successiva piastra Petri analoga. Si è proceduto in questo modo fino al termine del ciclo vitale di ciascuna femmina. In totale la prova è stata replicata 10 volte. In occasione di periodi festivi (o in assenza di larve ospiti da fornire) le femmine venivano spostate in ulteriori piastre Petri con una goccia di miele e acqua come fonte di sostentamento in attesa della continuazione della prova.

Come descritto per la prova precedente, da ciascuna piastra Petri, sono stati contati il numero di adulti del parassitoide sfarfallati (distinguendo fra maschi e femmine). Inoltre, con questa prova, è stata ottenuta la longevità media delle femmine di *H. hebetor* e la loro capacità di parassitizzare larve nel corso della loro vita, il tempo medio di sfarfallamento della generazione F1, la sex ratio, nonché l'andamento dello sfarfallamento (Fig. 3.3a). la prova è stata svolta ad una temperatura di 25.4°C.

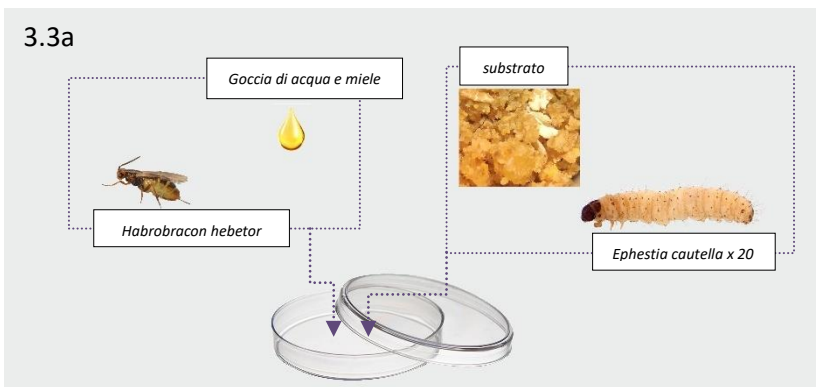


Figura 3.3a: rappresentazione della prova di fecondità e longevità (Prova 2).

3.4 PROVA 3: Test choice *E. cautella* – *P. interpunctella*

All'interno della piastra Petri sono state inserite due larve: una di *Ephestia cautella* e una di *Plodia interpunctella* di dimensioni simili (IV o V stadio). Successivamente è stata introdotta una femmina di *Habrobracon hebetor* allo scopo di rilevare la preferenza nella scelta dell'ospite da parassitizzare. In particolare, nella prima ora è stato rilevato i) il tempo trascorso dall'introduzione della femmina all'aggressione di ciascuna delle due larve ospiti e ii) il tempo trascorso dall'introduzione della femmina e la successiva paralisi dell'ospite.

Al termine dell'ora la femmina era lasciata all'interno della piastra Petri e venivano rilevate le uova deposte immediatamente (1 h), a 4 h e a 24 h. In seguito, la femmina veniva rimossa e tutte le Petri conservate al fine di rilevare il numero di parassitoidi sfarfallati. Quindi, i dati ottenuti sono stati: il tempo e la preferenza di parassitizzazione delle 2 larve e il numero di uova presenti su di esse dopo 1, 4 e 24 ore. Per questa prova sono state fatte 43 repliche. la prova è stata svolta ad una temperatura di 25.4°C.

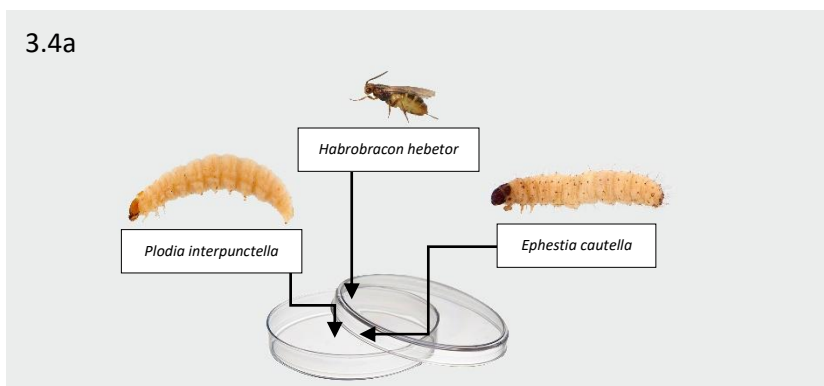


Figura 3.4a: rappresentazione del test choice (Prova 3)

3.5 ANALISI STATISTICHE

Per quanto riguarda l'esposizione a diversi quantitativi di *E. cautella*, si è utilizzato un modello di regressione lineare (ANOVA ad una via). La variabile risposta è rappresentata dal numero totale di adulti di *H. hebetor* sfarfallati dalle larve ospiti. La variabile esplicativa invece è rappresentata dalla tipologia di tesi, ossia il numero di larve di *E. cautella* utilizzate in ciascuna piastra Petri (variabile categorica con tre livelli: 10 larve, 20 larve e 30 larve).

Per quanto riguarda la prova choice con *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella* si è andati a valutare: 1) il tempo in minuti dall'inserimento di *H. hebetor* alla prima puntura sulle larve delle due specie, 2) il tempo in minuti dall'inserimento del parassitoide alla paralizzazione delle larve ed il numero di uova presenti nelle larve 3) dopo 1 ora 4) dopo 4 ore e 5) dopo 24 ore. Per effettuare i 5 confronti, si è utilizzato il test t di Student per dati appaiati.

I confronti a coppie tra le tesi sono stati effettuati utilizzando la correzione di Tukey per i p-value. I p-value vengono considerati significativi qualora maggiori di 0.05. Tutte le analisi sono state effettuate tramite il software R (R Code Team, 2021).

4 RISULTATI

4.1 PROVA 1: individuazione del numero minimo di ospiti da esporre al parassitoide nell'unità di tempo (test no-choice)

L'obiettivo di questa prova è stato quello di individuare il numero ottimale di larve da esporre al parassitoide in un'ottica di allevamento di massa. Dalla prova effettuata è stata rilevata una differenza non significativa nel numero di adulti di *H. hebetor* della generazione F1 per le piastre Petri contenenti 10 e 20 larve, mentre è stata osservata una differenza significativamente maggiore nelle piastre Petri contenenti 30 larve di *E. cautella* (Fig. 4.1a). degli ospiti esposti, in media l'1.25%, 6.25% e il 20% non sono stati paralizzati sul totale di 10, 20 e 30 larve. I risultati statistici (ANOVA) sono riportati nella tabella 4.1c.

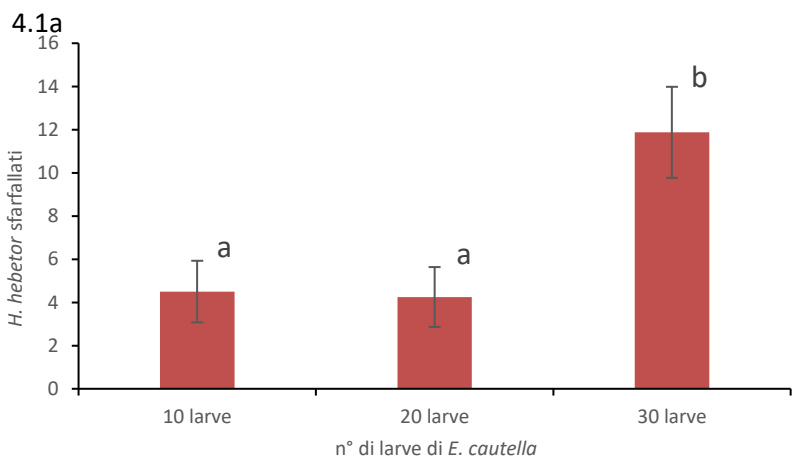


Figura 4.1a: numero medio di individui di *H. hebetor* sfarfallati utilizzando come ospiti un numero di 10, 20 o 30 larve di *Ephestia cautella* esposte per 24 ore alla femmina del parassitoide e numero medio di larve ospiti paralizzate dal parassitoide. A lettere diverse corrispondono differenze statisticamente significative ($p < 0.01$).

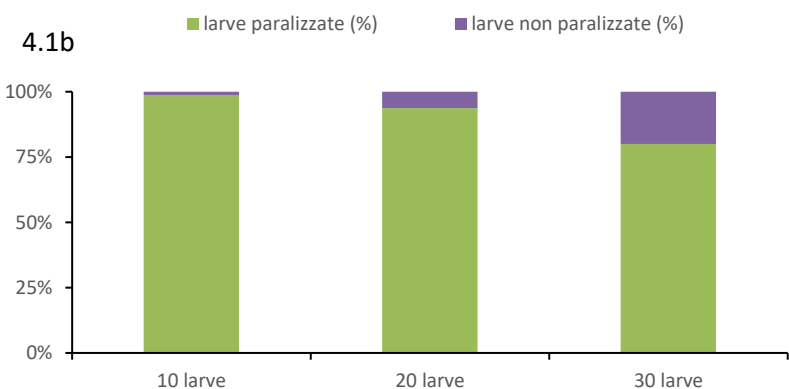


Figura 4.1b: percentuale di larve di *E. cautella* paralizzate dalle femmine di *H. hebetor* nella prova 1

4.1C	Gradi di Libertà	Somma Quadrati	Media Quadrati	F-value	p-value
Tesi	2	300.250	150.125	6.702	0.006
Residui	21	470.370	22.399		

Tabella 4.1c: test ANOVA della prova no-choice (numero di adulti di *H. hebetor* sfarfallati dalle diverse tesi)

4.2 PROVA 2: Fecondità e longevità del parassitoide

L'obiettivo della prova comprendeva la valutazione della fecondità e della longevità del parassitoide nel tempo per l'allevamento di massa. Dalla prova effettuata, utilizzando 10 femmine di *H. hebetor*, è stata osservata in media una longevità di 37.2 ± 4.2 giorni. Mediamente, da una femmina sono stati ottenuti 245.6 ± 32.2 individui della generazione F1 con una sex-ratio (femmine/maschi) di 0.83 (figura 4.2a e figura 4.2b). Gli sfarfallamenti nel tempo (distinti in femmine e maschi) della generazione F1 sono invece visibili in figura 4.2d; il grafico è stato ottenuto attraverso una media mobile a 3 punti. La figura 4.2e mostra invece il rapporto tra la longevità e la fecondità delle femmine di *H. hebetor*. Dal grafico non è emersa nessuna correlazione significativa.

4.2a Repliche	N° figli totale	Longevità (gg)	durata ovideposizione (gg)	♀	♂	SEX RATIO
1	279	56	38	109	170	0,641
2	178	37	22	78	100	0,780
3	411	44	38	219	192	1,141
4	241	51	31	103	138	0,746
5	249	44	36	90	159	0,566
6	286	20	15	121	165	0,733
7	176	24	15	101	75	1,347
8	370	30	25	155	215	0,721
9	213	47	33	119	94	1,266
10	53	19	11	17	36	0,472
media	245,6	37,2	26,4	111,2	134,4	0,827

Figura 4.2a: fecondità (totale, femmine e maschi), longevità e durata dell'ovideposizione delle 10 femmine di *H. hebetor* utilizzate e sex-ratio complessiva degli individui della generazione F1

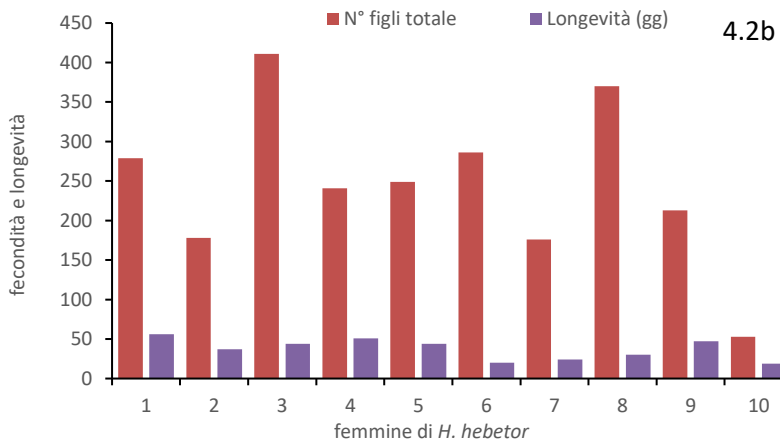


Figura 4.2b: longevità e numerosità dei figli ottenuti dalle 10 femmine di *H. hebetor* utilizzate; **Figura 4.2c (sotto):** valori medi ottenuti dalle 10 femmine di *H. hebetor* utilizzate

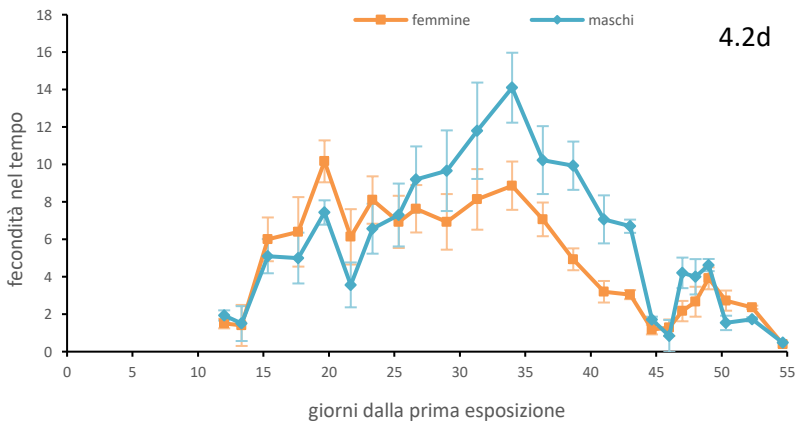
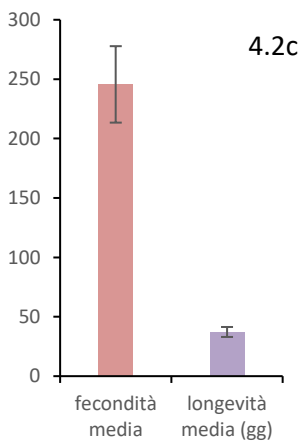


Figura 4.2d: andamento della fecondità nel tempo degli adulti di *H. hebetor* sfarfallati dall'inizio delle esposizioni. Le due curve nel grafico sono state realizzate facendo una media mobile a tre valori.

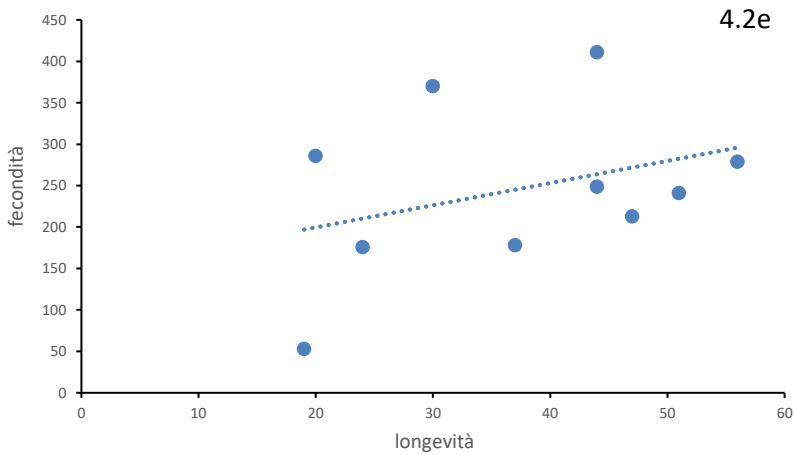


Figura 4.2e: rapporto tra longevità e fecondità di *H. hebetor*. Non è emersa alcuna correlazione significativa ($p > 0.05$)

4.3 PROVA 3: Test choice *E. cautella* - *P. interpunctella*

L'obiettivo della prova è stato quello di valutare la preferenza del parassitoide tra due ospiti: *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella*. Dalla prova effettuata non si rilevano differenze statisticamente significative (si nota tuttavia una tendenza alla significatività) tra il tempo intercorso tra l'inserimento di *H. hebetor* nella piastra Petri e la parassitizzazione delle larve di *P. interpunctella* ($t = 43.1 \pm 4.3$ min) e *E. cautella* ($t = 30.2 \pm 4.4$ min) (figura 4.3a).

Al contrario la paralisi della larva ospite subentra in un tempo significativamente inferiore in *E. cautella* (36.3 ± 3.0 min) rispetto al tempo in cui si verifica la paralisi in *P. interpunctella* (46.4 ± 2.9 min). Infatti, in quest'ultima specie la paralisi si manifesta mediamente in un tempo maggiore di 10 minuti ($p < 0.045$) (figura 4.3a).

Non sono invece state osservate differenze significative del numero di uova del parassitoide presenti nelle due specie dopo 1 ora (nessun uovo su *P. interpunctella*; 0.21 ± 0.02 su *E. cautella*), mentre si hanno differenze significative dopo 4 ore (in media 1.9 uova in più in *E. cautella*; $p < 0.001$) (0.67 ± 0.04 uova su *P. interpunctella* e 2.72 ± 0.07 su *E. cautella*) e dopo 24 ore (in media 2.4 uova in più in *E. cautella*; $P = 0.006$) (3.67 ± 0.10 uova su *P. interpunctella* e 6.16 ± 0.11 su *E. cautella*) (figura 4.3b).

4.3a

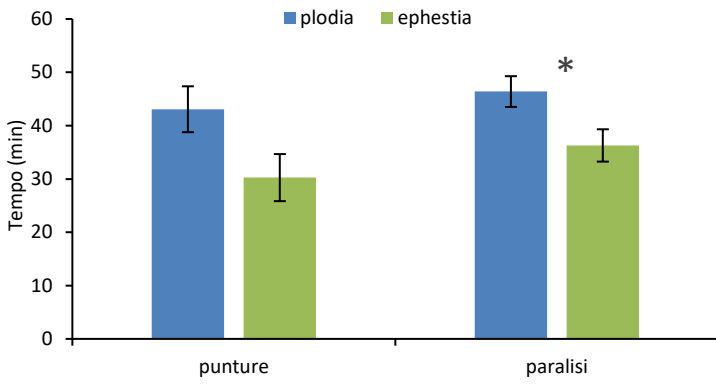


Figura 4.3a: tempi medi (43.1 ± 4.3 min per *P. interpunctella* e 30.2 ± 4.4 min per *E. cautella*) intercorsi dall'esposizione alla puntura delle femmine di *H. hebetor* utilizzate e tempi medi dall'esposizione alla paralisi della larva ospite (46.4 ± 2.9 min per *P. interpunctella* e 36.3 ± 3.0 min per *E. cautella*) (* = $p < 0.05$).

4.3b

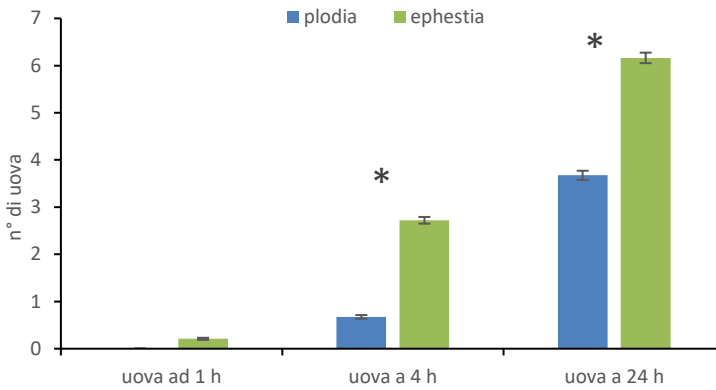


Figura 4.3b: numero di uova deposte mediamente dopo 1, 4 e 24 ore sulle larve ospiti dalle femmine di *H. hebetor* (* = $p < 0.05$).

5 DISCUSSIONE

Dalla prova 1, il cui obiettivo era quello di comprendere quante larve di *E. cautella* esporre al parassitoide, è stata ottenuta una differenza significativa con l'esposizione di 30 larve, mentre l'esposizione di 10 e 20 larve hanno ottenuto un quantitativo di parassitoidi sfarfallati molto simile tra loro. Questo può significare che un numero di 30 larve ospite in uno spazio delimitato come una piastra Petri permette lo sfarfallamento di più individui per almeno 3 motivi:

1) la frequenza con cui la femmina di *H. hebetor* incontra una larva ospite aumenta con l'aumentare della densità dell'ospite; quindi, questa riesce a parassitizzare con successo le larve più frequentemente dedicando così più tempo alla deposizione delle uova. Questo aumento di uova dipendente dalla densità degli ospiti è in accordo con quanto osservato nello studio di S. H. Yu *et al.* (2003) i quali, utilizzando *P. interpunctella* come ospite hanno osservato un numero crescente di larve paralizzate (esponendo da 1 a 32 larve) e un aumento di uova deposte dal parassitoide in presenza di 1 fino a 16 larve ospiti. Tuttavia, il calo di uova da loro riscontrato esponendo 32 larve, da noi non è stato osservato con l'esposizione di 30 larve.

2) Con una elevata disponibilità di larve ospiti, la femmina del parassitoide può deporre meno uova sulle singole larve per diminuire la competizione intraspecifica della progenie (superparassitizzazione inferiore), come evidenziato negli studi di Ulllyett (1945) utilizzando come ospiti delle larve di *Ephesia kuehniella* (in quantità di 2, 4, 6, 8 e 10) all'interno di vetrini Syracuse (Syracuse watch-glass) di piccole dimensioni.

3) Nel caso di superparassitizzazione le singole larve del parassitoidi hanno maggiore opportunità di spostarsi su altre larve dell'ospite diminuendo la competizione e aumentando le chances di sopravvivenza come descritto da Beard (1952).

Un ulteriore informazione è quella relativa al quantitativo di larve ospite paralizzate: con 10 e 20 larve, le femmine di *H. hebetor* hanno

paralizzato quasi tutte le larve a disposizione (1.25% e 6.25% rispettivamente) ma questo non si è tradotto in un elevato numero di prole sfarfallata. Con 30 larve invece, il 20% di queste non sono state paralizzate, ma il numero di individui della generazione F1 è risultato significativamente maggiore. È quindi possibile che la competizione intraspecifica abbia svolto un ruolo chiave nella riduzione della fecondità nelle prove con 10 e 20 larve.

Dalla prova 2: fecondità e longevità del parassitoide, il cui scopo era quello di valutare la fecondità e la longevità del parassitoide nel tempo nell'ottica dell'ottimizzazione allevamento di massa, è emerso che la vita media delle femmine utilizzate è di 37.2 ± 4.2 giorni. Il valore è molto simile a quello ottenuto da Nikam e Pawar, 1993 (37.5 giorni) utilizzando *Corcyra cephalonica* come ospite. Yu *et al.* (1999) invece hanno ottenuto una longevità media del parassitoide di 20.9 giorni, utilizzando *P. interpunctella* come ospite. A livello sperimentale, questa differenza può essere attribuibile (almeno in parte) alla presenza di cibo supplementare (soluzione 1:1 di acqua e miele) nel nostro studio e in quello di Nikam e Pawar e assente in quello di Yu *et al.* Alcune femmine si sono dimostrate molto longeve, arrivando a superare i 50 giorni di vita, altre sono sopravvissute solo per 20 giorni. In diversi studi riguardanti i parassitoidi come quelli di Pitcairn *et al.* (1992) su *Oomyzus incertus*, Waage *et al.* (1984) su *Trichogramma evanescens*, Eilers *et al.* (1998) su *Asobara tabida* suggeriscono una correlazione diretta tra le dimensioni e l'aspettativa di vita delle femmine di vari parassitoidi. Nello studio qui descritto non essendo state fatte misurazioni degli individui utilizzati non possiamo escludere che la diversa longevità riscontrata possa essere collegata alle dimensioni degli insetti.

Riguardo la fecondità, le femmine utilizzate hanno avuto in media un numero di 245.6 ± 32.2 figli, questo valore risulta simile alla media di 205.17 (± 13.03) ottenuta da Yu *et al.* (1999) utilizzando 5 larve di *P. interpunctella* al giorno e al valore di 258.9 (± 1.5) ottenuto da Nikam e Pawar (1993) utilizzando 30 larve di *Corcyra cephalonica* al giorno. La sex ratio da noi ottenuta è pari a 0.83

(femmine / maschi) (0.45 (femmine / (femmine + maschi)), un valore compreso tra le sex ratio ottenute da Yu *et al.* (1999) e Reinert e King (1971), rispettivamente 0.66 e 0.52 (utilizzando *P. interpunctella* come ospite) e le sex ratio ottenute da Ohh (1993) di 0.36 e 0.38 (utilizzando *E. elutella* e *P. interpunctella*). Fino a 25 giorni dall'inizio della prova, il quantitativo di femmine della generazione F1 risulta leggermente maggiore rispetto a quello dei maschi. Un risultato simile viene descritto dallo studio di Yu *et al.* (1999) nel quale le femmine di *H. hebetor* hanno prodotto più femmine nei loro primi 15 giorni di vita). Il picco di produzione di figli maschi lo si ha dopo 34 giorni, mentre per le femmine il picco al 34-esimo giorno non risulta particolarmente evidente rispetto ai picchi dei giorni precedenti. Dopo 34 giorni dall'inizio dell'esposizione, la fecondità dei parassitoidi subisce un calo fino a 55 giorni, dopo i quali non sono stati trovati più individui della generazione F1. Un'ulteriore informazione ottenuta dalla prova è che non sono stati osservati sfarfallamenti da larve esposte ai parassitoidi dopo il 38-esimo giorno di vita delle femmine di *H. hebetor* utilizzate, anche da quelle più longeve.

Dalla prova 3, il cui scopo era quello di valutare la preferenza del parassitoide tra *Ephestia cautella* e *Plodia interpunctella*, è emerso che le femmine del parassitoide pungono indistintamente le due specie di larva. Questo dato è in contrasto con quanto osservato da Taylor (1988) utilizzando *E. kuehniella* e *P. interpunctella* il quale afferma che *H. hebetor* preferisce pungere *P. interpunctella* perché meno aggressiva rispetto a *E. kuehniella*. Il fatto di aver esposto larve di dimensioni molto simili tra loro e un possibile simile comportamento delle larve ospite usate nel nostro studio potrebbe quindi giustificare il risultato ottenuto. Dallo studio effettuato è emersa una differenza significativa sia per quanto riguarda il tempo di paralisi dell'ospite (più veloce con *E. cautella*) che per il numero di uova deposte nelle due larve ospite (a favore di *E. cautella*, dove sono presenti più uova). Dopo un periodo di 24 h su *P. interpunctella* sono state osservate una media di 3.7 ± 0.1 uova, con un massimo di

12 uova in una larva; su *E. cautella* invece sono state trovate in media 6.2 ± 0.1 uova, con un massimo di 16 uova in una larva.

Questa differenza può indicare una preferenza delle femmine utilizzate per le larve di *E. cautella* oppure al contrario una preferenza per *P. interpunctella*. La femmina potrebbe deporre su questo ultimo ospite un numero inferiore di uova al fine di evitarne la superparassitizzazione e quindi preservare la prole da fenomeni di competizione. Questa seconda ipotesi, tuttavia, potrebbe essere smentita osservando i risultati ottenuti da Taylor (1988), il quale ha osservato un maggior numero di uova su larve di *E. kuehniella* rispetto alle uova su *P. interpunctella* (nonostante la presunta minor aggressività della seconda specie descritta dallo stesso autore). A questo proposito sarebbero necessari ulteriori approfondimenti, ad esempio, che mettano a confronto la sex ratio e la fitness in generale della prole ottenuta dai due ospiti considerati.

6 CONCLUSIONI

Le tignole delle derrate nell'industria alimentare sono degli insetti particolarmente dannosi, che rischiano di compromettere parte della produzione e rendono gli ambienti di lavorazione insalubri. L'utilizzo di insetti antagonisti risulta quindi utile per limitare le perdite produttive e i costi necessari per eventuali disinfestazioni con prodotti di sintesi. Tra questi insetti antagonisti, *H. hebetor* è da ritenersi un utile alleato; i dati raccolti nel presente lavoro possono essere utilizzati come supporto informativo per la realizzazione di sistemi di allevamento di massa in modo da comprendere quali ospiti esporre al parassitoide in differenti situazioni e quando quest'ultimo è da ritenersi non più utile per la produzione di ulteriori esemplari e quindi sostituibile per mantenere un livello di produzione ottimale. Questo e ulteriori studi inoltre potrebbero essere utili per la realizzazione di piani di liberazione o di utilizzo di *H. hebetor* all'interno di industrie del settore alimentare per contrastare la proliferazione di tignole evitando così perdite maggiori di prodotto o l'utilizzo di biocidi che potrebbero essere dannosi alla salute dell'operatore o dei consumatori.

7 BIBLIOGRAFIA E SITOGRAFIA

- Abdul Malik, Hüseyin Erten, Zerrin Erginkaya, 2019. Health and safety aspects of food processing technologies. Springer Nature Switzerland AG 2019, pp. 166-167.
- Alfio Nuncifora, Concetta Calabretta, Franco Greco, 1997. La conservazione del pistacchio in magazzino e l'attacco di *Plodia interpunctella* (Hübner) e *Ephestia elutella* (Hübner): etobiologia e possibilità di
- Ali A. Işikber; Serdar Öztekin (2009). Comparison of susceptibility of two stored-product insects, *Ephestia kuehniella* Zeller and *Tribolium confusum* du Val to gaseous ozone., 45(3), 159–164.
- Allotey, J.; Goswami, L. (1990). Comparative biology of two phycitid moths, *Plodia interpunctella* (Hubn.) and *Ephestia cautella* (Wlk.) on some selected food media. *International Journal of Tropical Insect Science*, 11(2), 209–215.
- Amos T. G., Evans P. W. C., Johns R. E., 1978. Laboratory evaluation of Pyrethrins for use on processed sultanas as a protectant against insect infestation. *Pyrethrum Post*, 14 (3), pp. 72-75
- Amos T. G., Evans P. W. C., Johns R. E., 1978. Laboratory evaluation of Pyrethrins for use on processed sultanas as a protectant against insect infestation. *Pyrethrum Post*, 14 (3), pp. 72-75
- Antolin, M. F., P. J. Ode, and M. R. Strand. 1995. Variable sex ratio and ovicide in an out breeding parasitic wasp. *Anim. Behav.* 17: 1-7.
- Barzman, M., Barberi, P., Birch, A.N.E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J.E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichhane, J.R., Messean, A., Moonen, A.-C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J.-L., Sattin, M., 2015. Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1199e1215.

- Barzman, M., Barberi, P., Birch, A.N.E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel, B., Jensen, J.E., Kiss, J., Kudsk, P., Lamichhane, J.R., Messean, A., Moonen, A.-C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J.-L., Sattin, M., 2015. Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* 35, 1199e1215.
- Bayer CropScience Italia S.r.l., 2008, Guida Agli Insetti Dannosi delle Derrate. Bayer CropScience Italia S.r.l. Environmental Science Viale Certosa, 130, 20156 Milano
- Beard R. L., 1952, The toxicology of *Habrobracon* venom: a study of a natural insecticide; the Connecticut Agricultural experiment station, New Haven, Bulletin 562.
- Bell, C.H., 1975. Effects of temperature and humidity on development of four pyralid moth pests of stored products. *Journal of Stored Products Research* 11, 167–175.
- Bell, C.H., 1976. Factors governing the induction of diapause in *Ephestia elutella* and *Plodia interpunctella*. *Physiological Entomology* 1, 83–92.
- Bell, C.H., Walker, D.J., 1973. Diapause induction in *Ephestia elutella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera. Pyralidae) with a dawn dusk lighting system. *Journal of Stored Products Research* 9, 149–158.
- Börner, C. 1925. *Lepidoptera, schmetterlinge*. pp. 382-421. in: Bröhmer, P. (ed.). *Fauna von Deutschland*: Berlin: Leipzig, Quelle & meyer: 561 p.
- Burgers H. D. 1960, Studies on the Dermestid beetle *Trogoderma granarium* Everts. IV. Feeding, growth and respiration with particular reference to diapause larvae. *J. Insect Physiol.* 5 pp. 317-334
- Camilla Ryne, P. Anders Nilsson, Michael T. Siva-Jothy, 2004. Dietary glycerol and adult access to water: effects on fecundity and longevity in the almond moth. *Journal of Insect Physiology* 50 pp. 429–434
- Capizzi E. e Nicassio F., 2022, Gestione e controllo degli infestanti nell'industria alimentare, Edizioni Avenue Media;

- Champ, B.R.; Dyte, C.E. FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. *FAO Plant Prot. Bull.* 1977, 25, 49–67.
- Chiara Musella, Alessandro Testa, Alberto Laguzzi, Francesca Piovesan, Giuseppe Sattanino, Roberta Goi, Valentina Marotta, Bartolomeo Griglio, 2007. *Linee Guida Per Un Corretto Controllo Delle Infestazioni Da Insetti e Animali Indesiderati*. Ce.I.R.S.A.
- Chitra Srivastava e Subramanian S., 2016 Storage Insect Pests and Their Damage Symptoms: An Overview. *Journal of Grain Storage Research*.
- Christos A. Damalas and Ilias G. Eleftherohorinos, 2011, Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2011, 8, 1402-1419
- Cleder Pezzini, Simone Mundstock Jahnke, Andreas Köhler, 2017, Morphological characterization of immature stages of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera, Braconidae) ectoparasitoid of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Journal of Hymenoptera Research* 60, pp. 157-171.
- Cotton, R.T. 1960, *Pest of stored grain on grain products*. Burges comp. Minneapolis, Minn. 289 pp
- D.P. Locatelli; L. Limonta (1998). Development of *Ephestia kuehniella* (Zeller), *Plodia interpunctella* (Hübner) and *Corcyra cephalonica* (Stainton) (Lepidoptera: Pyralidae) on kernels and wholemeal flours of *Fagopyrum esculentum* (Moench) and *Triticum aestivum* L., 34(4), 269–276.
- Dent, D. (2000) *Insect Pest Management*, CABI
- Di Domenico D., 2016, *Evoluzione del Pest Control nella filiera alimentare*, Edizioni Accademiche Italiane
- Dicke M., Sabelis M. W., 1988. Infochemical terminology: based on cost-benefit analysis rather than origin of compounds. *Functional Ecology*, 2: pp. 131-139.

- difesa. 6° simposio. La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti. Pp. 97-104.
- Ehsan Borzoui, Bahram Naseri, Zahra Abedi, Mohammad Sadegh Karimi-Pormehr, 2016, Lethal and Sublethal Effects of Essential Oils From *Artemisia khorassanica* and *Vitex pseudo-negundo* Against *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, Volume 45, Issue 5, October 2016, Pages 1220–1226
- Filip N. Vukajlovic, Dragana Z. Predojevic, Kristina O. Miljkovic, Snezana T. Tanaskovic, Sonja M. Gvozdenac, Vesna M. Perisic, Filip J. Grbovic, Snezana B. Pesic, 2019; Life history of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on dried fruits and nuts: Effects of macronutrients and secondary metabolites on immature stages³⁷; *Journal of Stored Products Research.*, 83 pp. 243-253
- Freeman J. A. 1948, Stored products pests: a survey of the principal entomological problems in the United-Kingdom. *Ann. appl. Biol.* 35 pp. 294-301.
- Gage, M. J. G. (1995). Continuous Variation in Reproductive Strategy as an Adaptive Response to Population Density in the Moth *Plodia interpunctella*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 261(1360), 25–30.
- H. D. Burgers e K. P. F. Haskins, 1964, Life-cycle of the tropical warehouse moth, *Cadra cautella* (Walker) at controlled temperatures and humidities. *Agricultural research council, pest infestation laboratory, Slough, Bucks* pp. 775-789
- Hany K. M. Dweck, Neveen S., Gadallah, Essam Darwish, 2008, Structure and sensory equipment of the ovipositor of *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Micron* 39 (2008) 1255-1261
- Haris Setyaningrum, 2017, Effect of Delayed Mating And Sex Ratio On Biological Performance Of Almond Moth, *Ephesia Cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *The 6th*

International Symposium for Sustainable Humanosphere
pp.31-36

- Husain M, Alwaneen WS, Mehmood K, Rasool KG, Tufail M, Aldawood AS. Biological traits of *Cadra cautella* (Lepidoptera: Pyralidae) reared on khodari date fruits under different temperature regimes. *J Econ Entomol.* 2017; 110(4):1923–8
- J. Richard Gorham, 1999, *Insect and mite pests in food; Agriculture handbook N° 655 p. 253*
- Jacintha Eilers; Jacques J.M. van Alphen; Jan G. Sevenster (1998). A field study of size–fitness relationships in the parasitoid *Asobara tabida*., 67(2), 318–324.
- Jeffrey K. Waage and Ng Sook Ming (1984). The Reproductive Strategy of a Parasitic Wasp: I. Optimal Progeny and Sex Allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53(2), 401–415.
- Jeffrey K. Waage and Ng Sook Ming (1984). The Reproductive Strategy of a Parasitic Wasp: I. Optimal Progeny and Sex Allocation in *Trichogramma evanescens*. *Journal of Animal Ecology*, 53(2), 401–415.
- Johnson, J.A., Wofford, P.L., Gill, R.F., 1995. Developmental thresholds and degree-day accumulations of Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on dried fruits and nuts. *Journal of Economic Entomology* 88, 734–741.
- Johnson, J.A., Wofford, P.L., Whitehand, L.C., 1992. Effect of diet and temperature on development rates, survival and reproduction of the Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 85, 561–566.
- K. Uechi; S. Matsuyama; T. Suzuki (2007). Oviposition attractants for *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) in the volatiles of whole wheat flour., 43(2), 193–201.
- Khare, B.P. 1994. *Pests of stored grain and their management.* Kalyani Publishers, New Delhi. 304 pp.

- L. Daniel Cline, 1978, Penetration of Seven Common Flexible Packaging Materials by Larvae and Adults of Eleven Species of Stored-Product Insects, J. Beon. Entomol. 71: pp. 726-729
- La Salle, J., and I. D. Gauld [eds.]. 1993. Hymenoptera and biodiversity. CAB, Wallingford, Oxon, UK.
- Lange, H. 1956. aquatic Lepidoptera, pp. 271-288. in: Usinger, R. L. (ed.). aquatic insects of California. University of California Press. Berkeley. 508 p.
- M. Alma Solis, 2007. Phylogenetic studies and modern classification of the Pyraloidea (Lepidoptera). Revista Colombiana de Entomología 33 (1): pp. 1-9
- Marco Pagani, Sara Savoldelli e Alberto Schiapparelli, 2009. Manuale pratico per il monitoraggio e riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari. Associazione Nazionale delle imprese di Disinfestazione, Vol 1, pp. 13-18.
- Mason, L., 2003. Insects and mites. In: Hui, Y.H., Bruinsma, B.L., Gorham, J.R., Nip, W.K., Tong, P.S., Ventresca, P. (Eds.), Food Plant Sanitation. Marcel Dekker, New York, pp. 293 - 315.
- Mathlein R., 1961, Studies on some major storage pests in Sweden, with special reference to their cold resistance. Medd. Växtskyddsanst. Stockh. 12 pp.1-49
- Mbata, G.N., 1985. Some physical and biological factors affecting oviposition by *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Phycitidae). Insect Science and its Application 6, 597–604.
- Mbata, G.N., 1987. Studies on induction of larval diapause in a Nigerian strain of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). Insect Science and its Application 8, 317–322.
- Mbata, George; Warsi, Sanower (2019). *Habrobracon hebetor* and *Pteromalus cerealellae* as Tools in Post-Harvest Integrated Pest Management. Insects, 10(4), 85
- Meikle R. W., Stewart D., Globus O. A., 1963. Drywood termite metabolism of Vikane fumigant as shown by labelled

- pool technique. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 11, pp. 226-230.
- Michele Ruzza, 2021, Sustainable pest management in pasta production, *Professional Pasta*, n° 4 October/December 2021, pp. 12-16
 - Michele Ruzza, 2022, Le normative cogenti e l'evoluzione delle normative volontarie, *Igiene Alimenti*, vol. settembre 2022, pp. 54-57.
 - Munroe, E. 1972. (Fasc. 13.1a-1B), 1973 (Fasc. 13.1C), 1976 (Fasc. 13.2a-B). *Pyraloidea. Pyralidae (in part)*. in: Dominick, R. B.; Ferguson, D. C.; Franclemont, J. G.; Hodges, R. W.; munroe, E. G. (eds.). *The moths of america North of mexico*. London: E.W. Classey, Ltd. and The Wedge Entomological Research Foundation: 1- 304, 1-150.
 - N. K. Dubey, Bhawana Srivastava and Ashok Kumar, 2008, Current Status of Plant Products as Botanical Pesticides in storage pest management, *Journal of Biopesticides*, 1(2):182 - 186 (2008)
 - Nansen, C., Phillips, T.W., 2003. Ovipositional responses of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) to oils. *Annals of the Entomological Society of America* 96, 524–531.
 - Nansen, C., Phillips, T.W., 2004. Attractancy and toxicity of an attracticide for Indianmeal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 97, 703–710.
 - Norris M. J. 1934, Contributions towards the study of insect fertility: adult nutrition, fecundity and longevity of the genus *Ephestia* (Lepidoptera, Phycitidae). *Proc. Zool. Soc. Lond.* pp. 333-360
 - Osbrink W. L. A., Scheffrahn R. H., Rust M. K., 1987. Laboratory comparison of sulfuryl fluoride toxicity and mean time mortality among ten termite species (isoptera: Hodotermitidae, Kalotermitidae, Rhinotermitidae). *Journal of Economic Entomology* 80, pp. 1044-1047.

- P. A. Eliopoulos And G. J. Stathas, 2008, Life Tables of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) Parasitizing *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): Effect of Host Density, *J. Econ. Entomol.* 101(3): 982-988 (2008)
- P. K. Nikam; Dr. C. V. Pawar (1993). Life tables and intrinsic rate of natural increase of *Bracon hebetor* Say (Hym., Braconidae) population on *Corcyra cephalonica* Staint. (Lep., Pyralidae), a key parasitoid of *Helicoverpa armigera* Hbn. (Lep., Noctuidae)., 115(1-5), 210–213.
- Pagani M, Savoldelli S., Schiapparelli A., 2009 *Manuale Pratico per il Monitoraggio e riconoscimento degli insetti infestanti le industrie alimentari*, vol. 1, Edizioni Singergitech Soc. Coop
- Peshin, R. and Dhawan, A.K. (2009) *Integrated Pest Management: Volume 1: Innovation-Development Process*, Springer Science & Business Media
- Phillips, T.W., Berbert, R.C., Cuperus, G.W., 2000a. Post-harvest integrated pest management. In: Francis, F.J. (Ed.), *Encyclopedia of Food Science and Technology*. 2nd ed. Wiley Inc., New York, pp. 2690–2701.
- Phillips, T.W., Strand, M.R., 1994. Larval secretions and food odors affect orientation in female *Plodia interpunctella*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71, 185–192
- Pitcairn, M. J., & Gutierrez, A. P. (1992). Influence of Adult Size and Age on the Fecundity and Longevity of *Tetrastichus incertus* (Hymenoptera: Eulophidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 85(1), 53–57.
- Pitcairn, M.J., and Gutierrez, A.P. (1992). Influence of adult size and age on the fecundity and longevity of *Tetrastichus incertus* (Hymenoptera: Eulophidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 85: 53–57.
- Predojević, Dragana Z.; Vukajlović, Filip N.; Tanasković, Snežana T.; Gvozdenac, Sonja M.; Pešić, Snežana B. (2017). Influence of maize kernel state and type on life history of

- Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Stored Products Research*, 72(), 121–127.
- Pevett, P.F., 1971. Some laboratory observations on the development of two African strains of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) with particular reference to the induction of diapause. *Journal of Stored Products Research* 7, 253–260
 - R. O. Akinkulore, Sebastien Boyer, Haoliang Chen, And Hongyu Zhang, 2009, Parasitism and Host-Location Preference in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae): Role of Refuge, Choice, and Host Instar. *J. Econ. Entomol.* 102(2): 610-615
 - Ratnieks, F. L. W.; Carreck, N. L. Clarity on honeybee collapse. *Science* 2010, 327 (5962), 152–153.
 - Rees, D., 2004. *Insects of Stored Products*. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia.
 - Reichmuth Ch. (1996) Stored product protection with alternative methods. In *Proceedings of the International Forum on Stored Product Protection and Post-harvest Treatment of Plant Products* pp. 129-135.
 - S. Mohandass; F.H. Arthur; K.Y. Zhu; J.E. Throne (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products., 43(3), 302–311.
 - S.-H. Yu, M.I. Ryoo, J.H. Na, W.I. Choi, 2003, Effect of host density on egg dispersion and the sex ratio of progeny of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae); *Journal of Stored Products Research* 39, pp. 385–393
 - Sedlacek, J.D., Weston P. A., BarneyJ., 1996. Lepidoptera and Psocoptera. In: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc., New York, pp. 41–70.
 - Seung-Hun Yu; Mun Il Ryoo; Ja Hyun Na (1999). Life History of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on a Dried Vegetable Commodity., 2(2), 149–152.

- Seung-Hun Yu; Mun Il Ryoo; Ja Hyun Na (1999). Life History of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) on a Dried Vegetable Commodity., 2(2), 149–152.
- Shaw, M. R., and T. Huddleston. 1991. Classification and Biology of Braconid Wasps (Hymenoptera. Braconidae). *Handb. Ident. Br. Insects* 7: 1-126.
- Smith, R.F. and van den Bosch, R. (1967) Integrated control. In *Pest Control: Biological, Physical and Selected Chemical Methods* (Kilgore, W.W. and Douthett, R.L., eds), pp. 295–340, Academic Press
- Solis, M. A.; Davis, D. R.; Nishida, K. 2005. Biology and systematics of *Albusambia elaphaglossumae*, a new genus and species of Crambidae (Lepidoptera: Pyraloidea: Crambidae) mining the fronds of *Elaphoglossum conspersum* (Pteridophyta: Lomariopsidaceae) in Costa Rica. *International Journal of Tropical Biology* 53 (3-4): pp. 487-501.
- Solis, M. A.; Mitter, C. 1992. Review and preliminary phylogenetic analysis of the subfamilies of the Pyralidae (sensu stricto) (Lepidoptera: Pyraloidea). *Systematic Entomology* 17: pp. 79-90.
- Stern, V.M. *et al.* (1959) The integrated control concept. *Hilgardia* 29, 81–101
- Stewart D., 1957. Sulfuryl fluoride: a new fumigant for the control of drywood termite *Kaloterms minor* Hajen. *Journal of Economic Entomology* 50, pp. 7-11.
- Süß L. e Guerra P., 2021. Gli Infestanti nelle Industrie Alimentari, Edizioni Avenue Media; pp 196-206
- Süß L. e S. Savodelli, 2008. La lotta integrata nelle aziende alimentari: limiti e possibilità. In: *Atti Accademia Nazionale Italiana di Entomologia* pp. 69-71
- Tagawa J, Kitano H (1981) Mating behaviour of the braconid wasp, *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptera, Braconidae) in the field. *Applied Entomology and Zoology* 16: 345–350.

- Thangjam Robert, 2003. *Cadra Cautella* Walker (Lepidoptera: Crambidae: Phycitinae)-a Pest on *Parkia Timoriana* (DC.) Merr. in Manipur. *Current Science* (2003).
- Thomas R. Fasulo and Marle A. Knox, 2007; Indianmeal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae), University of Florida
- Trematerra, Pasquale; Oliviero, Annachiara; Savoldelli, Sara; Schöller, Matthias (2016). Controlling infestation of a chocolate factory by *Plodia interpunctella* by combining mating disruption and the parasitoid *Habrobracon hebetor*. *Insect Science*, 00. Pp. 1-8
- Tuli S. and Mookherjee P. B. 1963, Ecological studies of *Cadra* (*Ephestia*) *cautella* (Walker). *Indian J. Ent.* 25 pp. 379-380
- Tzanakakis, M.E., 1959. An ecological study of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, with emphasis on diapause. *Hilgardia* 29, 205–246.
- Ulliyett, 1943, Distribution of progeny by, *Microbracon hebetor* Say; Parasite Laboratory, Division of Entomology, Pretoria
- Ulliyett, G. C. 1945. Distribution of progeny by *Microbracon hebetor* Say. *J. Entomol. Soc. S. Afr.* 8: 123-131.
- V. Zaffagnini, L. Suss, D. P. Locatelli, M. J. Drinkall, 2002, efficacia del fumigante fluoruro di solforile sui principali insetti infestanti l'industria molitoria: prima sperimentazione condotta in italia, in un moderno semolificio. 7° simposio. La difesa antiparassitaria nelle industrie alimentari e la protezione degli alimenti. Pp.208-218
- Waage, J. K.; Montgomery, G. G. 1976. *Cryptoses choloepi*: a coprophagous moth that lives on a sloth. *Science* 193: 157-158.
- Wharton, R. A., P. M. Marsh, and M. J. Sharkey [eds.]. 1997. Manual of the New World genera of the family Braconidae (Hymenoptera). *Spec. Publ. Int. Soc. Hym.* 1: 1-439.

- Y. S. Chow; D. F. Yen; S. H. Lin (1977). Water, a powerful attractant for the gravid females of *Plodia interpunctella* and *Cadra cautella*., 33(4), 453–455.
- Yatomi K. e Yamashita S., 1938, On the effect of temperature and humidity upon the hatching of the eggs of *Ephestia cautella* (Walker). *Oyo-Dobuts. Zasshi* 10 pp. 133-136
- Yen, S. H.; Solis, M. A.; Goolsby, J. A. 2004. *Austromusotima*, a new musotimine genus (Lepidoptera: Crambidae) feeding on old World climbing fern. *annals of the Entomological society of america* 97 (3): pp. 397-410
- Yu DSK, van Achterberg C, Horstmann K. 2016. *Taxapad 2016, Ichneumonoidea 2015*. Taxapad database on flash-drive, Ottawa, Can.
- Zacher F., 1958. Zwei wichtige Schädlinge der Süßwaren: Kakaomotte und Dattelmotte. *Süßwaren* 2 Heft 23 repr. 4 pp.

(1997) DECRETO LEGISLATIVO 26 maggio 1997, n. 155 Attuazione delle direttive 93/43/CEE e 96/3/CE concernenti l'igiene dei prodotti alimentari.

(2002) Regolamento (CE) n. 178/2002 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 28 gennaio 2002, che stabilisce i principi e i requisiti generali della legislazione alimentare, istituisce l'Autorità europea per la sicurezza alimentare e fissa procedure nel campo della sicurezza alimentare

(2004) regolamento (CE) n. 852/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, sull'igiene dei prodotti alimentari

(2004) Regolamento (CE) n. 854/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, che stabilisce norme specifiche per l'organizzazione di controlli ufficiali sui prodotti di origine animale destinati al consumo umano

(2007) DECRETO LEGISLATIVO 6 novembre 2007, n. 193 Attuazione della direttiva 2004/41/CE relativa ai controlli in materia di sicurezza alimentare e applicazione dei regolamenti comunitari nel medesimo settore.

(2009) Direttiva 2009/128/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, che istituisce un quadro per l'azione

comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi (Testo rilevante ai fini del SEE)

(2017) Regolamento (UE) 2017/625 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 15 marzo 2017, relativo ai controlli ufficiali e alle altre attività ufficiali effettuati per garantire l'applicazione della legislazione sugli alimenti e sui mangimi, delle norme sulla salute e sul benessere degli animali, sulla sanità delle piante nonché sui prodotti fitosanitari, recante modifica dei regolamenti (CE) n. 999/2001, (CE) n. 396/2005, (CE) n. 1069/2009, (CE) n. 1107/2009, (UE) n. 1151/2012, (UE) n. 652/2014, (UE) 2016/429 e (UE) 2016/2031 del Parlamento europeo e del Consiglio, dei regolamenti (CE) n. 1/2005 e (CE) n. 1099/2009 del Consiglio e delle direttive 98/58/CE, 1999/74/CE, 2007/43/CE, 2008/119/CE e 2008/120/CE del Consiglio, e che abroga i regolamenti (CE) n. 854/2004 e (CE) n. 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, le direttive 89/608/CEE, 89/662/CEE, 90/425/CEE, 91/496/CEE, 96/23/CE, 96/93/CE e 97/78/CE del Consiglio e la decisione 92/438/CEE del Consiglio (regolamento sui controlli ufficiali)Testo rilevante ai fini del SEE

- http://www.pacchettoigiene.it/pacchetto_igiene/
- https://ec.europa.eu/food/plants/pesticides/approval-active-substances/renewal-approval/neonicotinoids_en
- [https://echa.europa.eu/it/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr#:~:text=Il%20regolamento%20sui%20biocidi%20\(BPR,principi%20attivi%20contenuti%20nel%20biocida.](https://echa.europa.eu/it/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr#:~:text=Il%20regolamento%20sui%20biocidi%20(BPR,principi%20attivi%20contenuti%20nel%20biocida.)
- [https://echa.europa.eu/it/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr#:~:text=Il%20regolamento%20sui%20biocidi%20\(BPR,principi%20attivi%20contenuti%20nel%20biocida.](https://echa.europa.eu/it/regulations/biocidal-products-regulation/understanding-bpr#:~:text=Il%20regolamento%20sui%20biocidi%20(BPR,principi%20attivi%20contenuti%20nel%20biocida.)
- <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/HTML/?uri=LEGISSUM:4413653>
- <https://inpestlab.it/la-riscoperta-della-confusione-sessuale-con-twist-tie-md2-inpest>
- <https://inpestlab.it/la-riscoperta-della-confusione-sessuale-con-twist-tie-md2-inpest>
- https://issuu.com/avenuemedia.srl/docs/professionalpasta_ottobredicembre21?fr=sZGNjMDk5MzM5MA

- <https://www.brcgs.com/>
- <https://www.cabi.org/isc/datasheet/21402>
- <https://www.cabi.org/isc/datasheet/33889>
- <https://www.ciseonweb.it/download/La%20legislazione,%20le%20tecniche%20di%20monitoraggio%20e%20i%20risvolti%20tecnici%20ed%20operativi%20della%20nuova%20norma%20UNI%20sul%20controllo%20degli%20insetti%20nelle%20industrie%20alimentari%20-%20Guerra.pdf?chk=z4488ed7bh&DWN=8174>
- <https://www.ifs-certification.com/index.php/it/download-standards?item=4131>

RINGRAZIAMENTI

Ringrazio tutte le persone che mi hanno aiutato nella realizzazione della tesi (farò un punto elenco per triggerare la mia relatrice):

- *il Prof. Luca Mazzon e la relatrice Ivana Carofano, per i loro consigli e la loro pazienza nel decifrare i miei pensieri aggrovigliati*
- *il relatore Michele Ruzza, per avermi fatto da Virgilio nella selva selvaggia e aspra e forte di normative*
- *Giacomo Santoiemma, il sempre disponibile e gentile risolutore di ogni dubbio statistico*
- *Tutto il personale di Entostudio, che ci ha sommersi di barattoli di larve e Eppendorf da 200 uova ciascuna*
- *Gaia, che ha aiutato nella raccolta dati e nella realizzazione delle prove, soprattutto durante le durissime ed estenuanti giornate di “scova la larva”*
- *I miei genitori, per la realizzazione di alcune scatole e gabbie utilizzate per gli allevamenti*
- *Il Prof. Raffaele Cavalli, che, nella “guida alla compilazione della tesi”, ha scritto “il relatore non va ringraziato” ... Troppo tardi.*