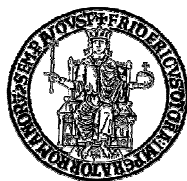


UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"



DOTTORATO DI RICERCA IN AGROBIOLOGIA E AGROCHIMICA

XX CICLO

Indirizzo di Entomologia Generale ed Applicata



TESI DI DOTTORATO

**“Caratterizzazione biologico-molecolare di popolazioni di *Anagrus*
gruppo *atomus* Linnaeus (Hymenoptera: Mymaridae)”**

TUTORE:
PROF. GENNARO VIGGIANI

COORDINATORE DEL CORSO:
PROF. ANTONIO VIOLANTE

CANDIDATO:
DOTT. GIUSTINIANO MATTEUCIG

Anno 2007

1. Introduzione	Pag. 1
2. Genere <i>Anagrus</i> Haliday	Pag. 6
2.1. Morfologia	Pag. 9
2.2. Biologia	Pag. 18
3. Scopo della tesi	Pag. 21
4. Materiali e metodi	Pag. 23
4.1. Analisi morfometrica	Pag. 25
4.2. Studi molecolari	Pag. 30
4.3. Studi biologici	Pag. 33
5. Risultati	Pag. 35
5.1. Risultati morfometrici	Pag. 35
5.2. Risultati molecolari	Pag. 38
5.3. Risultati biologici	Pag. 46
6. Discussioni e conclusioni	Pag. 55
<i>Riferimenti bibliografici</i>	Pag. 60

1. Introduzione

Il genere *Anagrus* Haliday (1833) (Hymenoptera: Mymaridae), comprende circa un centinaio di specie ritenute valide, di piccolissime dimensioni (0.2 – 1.2 mm), che parassitizzano uova di Rhynchota, principalmente di Cercopidae, Cicadellidae, Delphacidae, Miridae e Tingidae, anche se i cicadellidi risultano gli ospiti prediletti (Huber, 1986). Negli ultimi decenni l'interesse per il genere *Anagrus* è aumentato notevolmente soprattutto in rapporto al loro ruolo di ooparassitoidi di cicaline infestanti piante di rilevanza economica.

Le cicaline sono fitofagi infeudati su di un'ampia gamma di piante ospiti e la loro importanza negli agroecosistemi varia in funzione dei comportamenti bio-etologici delle diverse specie: modalità di alimentazione sulla pianta, il numero di generazioni annuali e lo stadio di svernamento, la monofagia o la polifagia, i rapporti più o meno stretti e obbligati con gli ospiti, la modalità di ovideposizione, il loro possibile ruolo di vettori di microrganismi fitopatogeni.

Vari di questi aspetti si ricollegano in modo più o meno stretto ai diversi tipi di danno, diretti ed indiretti, che possono arrecare alle piante.

Questi possono essere ascritti a quelli causati da punture di nutrizione, da incisioni di ovideposizione, da secrezioni ed escrementi.

Le punture di nutrizione risultano di gran lunga quelle di maggiore danno agronomico essendo le cicaline, come tutti i Rincoti, dotate di apparato boccale pungente succhiante. Il regime alimentare, in tutti gli Omotteri, è di tipo fitomizo. Generalmente le specie di cicaline floemomize e xilemomize risultano molto più dannose di quelle mesofillomize in quanto, oltre a recare danni diretti, possono essere vettrici di microrganismi fitopatogeni.

I danni da ovideposizione risultano, in genere, irrilevanti, mentre quelli da secrezioni ed escrementi possono risultare dannosi allorché le

secrezioni cerose e di melata ricoprono parzialmente le parti epigee delle piante infestate, dando luogo allo sviluppo di fumaggini.

L'avvento di forti infestazioni di cicaline in vaste aree monocolturali a vite del Nord America (Doutt & Nakata, 1965, 1973), e in piccoli vigneti intensivi dell'Europa Centrale (Cerutti *et al.*, 1989, 1991), accrebbe, negli ambienti scientifici del settore, l'interesse per gli *Anagrus* quali agenti di controllo biologico. Infatti le vigorose infestazioni rilevate soprattutto nelle aree interne dei vigneti mettevano in evidenza la tardiva azione degli ooparassitoidi.

Così ebbe inizio una rivisitazione delle popolazioni di *Anagrus* su scala mondiale dal momento che risultarono scarse, e in certi casi inesistenti, le conoscenze morfologiche, tassonomiche e bio-etologiche di questo gruppo di ooparassitoidi.

Nel Nord America i primi studi partirono specialmente in relazione alla cicalina della vite *Erythroneura elegantula* Osborn (Cate, 1975; Corbett & Rosenheim, 1996; Settle & Wilson 1990; Triapitsyn, 1998). Infatti con l'estensione dei vigneti in California fu progressivamente eliminata la flora spontanea limitrofa ed in particolar modo il rovo. Quest'ultimo era parte integrante dell'ecosistema vigneto in quanto ospitava un'altra cicalina, la *Dikrella californica* Lawson, che permetteva all'*Anagrus epos* Girault di svernare (Doutt & Nakata, 1965, 1973; Doutt *et al.*, 1966). Questo ooparassitoide era un efficiente fattore di mortalità dell'*E. elegantula* se i rovi crescevano nelle vicinanze del vigneto, se esisteva una sincronizzazione tra *D. californica* e *A. epos* e se la quantità di rovi era sufficientemente grande da garantire una forte popolazione dell'ooparassitoide in primavera (Williams, 1984). Tuttavia i dati sulla dinamica di dispersione dimostravano che, seppur l'*Anagrus* avesse un raggio di dispersione molto grande, esso era a detrimento dell'efficienza del parassitoide stesso (Antolin & Strong, 1987). Infatti, i vigneti più vicini al

luogo di svernamento venivano colonizzati da *Anagrus* in primavera, mentre i vigneti più lontani lo erano solo a stagione inoltrata.

Per lungo tempo *A. epos* è stato ritenuto il principale ooparassitoide di cicaline della vite in molti degli Stati Nord Americani (Wells & Cone, 1989; Zimmerman *et al.*, 1996; Krugner, 2007), sebbene studi successivi sulle popolazioni di *Anagrus* nei vigneti californiani hanno dimostrato che ciò che si era identificato come *A. epos* era in realtà un complesso di specie delle quali alcune non descritte, *A. daanei* Triapitsyn e *A. erythroneuræ* Triapitsyn & Chiappini (Triapitsyn, 1998).

A. daanei è risultato essere un ooparassitoide associato ad *Edwardsiana rosæ* Linnaeus ed ad altre cicaline del genere *Dikrella* Osborn su rovo (Triapitsyn, 1998). Inoltre esso è stato ottenuto molto frequentemente da uova infestate da *Typhlocyba pomaria* McAtee su foglie di melo (Seyedoleslami & Croft, 1980).

A. erythroneuræ, specie molto simile ad *A. ustulatus* Haliday, è risultata essere maggiormente ooparassitoide del genere *Erythroneura* Fitch. Numerosi studi indicano l'importanza di questa specie come parassitoide di cicaline nei vigneti in California e nello Stato di New York (Triapitsyn & Chiappini, 1994; Triapitsyn, 1998; Williams & Martinson, 2000). Triapitsyn (1998) considerava l'*A. erythroneuræ* come uno dei più importanti ooparassitoidi delle due maggiori cicaline infestanti i vigneti in California e nel nord del Messico.

Nello Stato di New York (Williams & Martinson, 2000) hanno trovato un complesso di specie che parassitizzavano le uova di cicaline sulla vite che includevano *A. daanei*, *A. erythroneuræ*, *A. epos*, *A. nigriventris* Girault e *A. tretiakovæ* Triapitsyn. Da trappole associate a piante di rovo, vite e rosa selvatica sono stati ottenuti *A. atomus* (Linnaeus), *A. daanei*, *A. erythroneuræ* e *A. tretiakovæ* insieme ad alcuni potenziali cicaline ospiti (Prischmann *et al.*, 2007). Nel Nord America *A. atomus* risulta un

ooperassitoide di diverse cicaline dei generi *Dikrella*, *Edwardsiana* Zachvatkin e *Typhlocyba* Germar, ma esso sembra non parassitizzare le cicaline del genere *Erythroneura* (Triapitsyn, 1998).

Infine, sempre nel Nord America, diversi lavori hanno dimostrato che, oltre alle cicaline del rovo e della rosa selvatica, anche altre cicaline infeudate su acero, frassino, melo, noce, olmo, pesco, prugno, quercia, robinia pseudoacacia e salice erano importanti ospiti alternativi per lo svernamento dell'*Anagrus* (Cone *et al.*, 1990; Kido *et al.*, 1984; Martinson, 2000; Murphy *et al.*, 1996; Nicholls *et al.*, 2001; Prischmann *et al.*, 2007; Williams & Wilson *et al.*, 1989).

Anche in Europa, la cicalina verde della vite *Empoasca vitis* (Goëthe) e la cicalina del cotone *Jacobiasca lybica* de Bergevin, provocarono forti infestazioni rispettivamente nei vigneti dell'Europa centrale e in quelli dell'area Mediterranea, con l'utilizzazione indiscriminata nella pratica agricola di prodotti chimici a tutto campo, che se per certi versi aveva risolto adeguatamente determinate emergenze fitoiatriche, d'altro canto aveva creato problemi di ordine tossicologico ed ambientale.

La maggior parte delle ricerche sul ruolo e sulla gestione degli ooperassitoidi di cicaline in Europa sono stati condotti su *E. vitis* considerata dannosa nei vigneti del Nord Italia (Arnò *et al.* 1987; Pavan, 2000; Pavan *et al.* 1992; Picotti & Pavan, 1991; Vidano *et al.*, 1987, 1988), in minor modo in quelli dell'Italia centrale (Ponti *et al.*, 2003, 2005), in Svizzera (Cerutti *et al.*, 1989; Genini 2000), in Germania (Böll & Herrmann, 2004; Herrmann & Eichler, 2000) ed in Francia (Van Helden & Decante, 2001).

La maggior parte degli individui di *Anagrus* rinvenuti su *E. vitis* erano ascrivibili ad *A. atomus*, sebbene sarebbe meglio considerarli gruppo *atomus* in quanto in quel tempo era ancora deficitaria e caotica la classificazione di tali entità. Questa popolazione era, altresì, comune

ooperassitoide di varie cicaline infeudate su diverse piante coltivate e spontanee. A tal riguardo Arnò *et al.* (1987) pubblicavano una lista di 34 specie di Tiflocibidi parassitizzati da *Anagrus* del gruppo *atomus* in Italia su 24 diverse essenze vegetali.

I primi studi nel Sud Italia cominciarono nel 2002 con un programma di ricerca biennale incentrato sulle interrelazioni vigneto, cicaline, ooperassitoidi e loro ospiti alternativi, che vide impegnato in prima persona il Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria “F. Silvestri”, Facoltà di Agraria – Università degli Studi di Napoli “Federico II”–.

Dalle ricerche sulle popolazioni di *Anagrus* in rapporto alle cicaline della vite e del rovo in Campania emerse che le specie di *Anagrus* ottenute erano da attribuirsi ad *A. atomus* (Linnaeus) e *A. ustulatus* Haliday, ed in rapporto variabile alle cicaline ospiti e al tempo di raccolta (Viggiani, 2003; Viggiani & Jesu, 2003; Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b, Viggiani *et al.*, 2006).

Attualmente, l’identificazione di diverse specie di *Anagrus*, risulta ancora molto difficoltosa specialmente per quelle descritte nel passato, delle quali, tra l’altro, si conoscono pochissimi dati sulla loro variabilità e sulle cause che le determinano, come ad esempio le dimensioni delle uova ospiti, il clima e lo stadio fenologico della pianta (Moratorio, 1977).

Al momento, in attesa di approfondimenti, si preferisce mantenere come specie differenti anche popolazioni morfologicamente distinguibili per qualche piccolo carattere come ad esempio le specie del gruppo *atomus* (Chiappini, 1989).

Ancora più superficiali sono le conoscenze bio-ecologiche di queste popolazioni che rendono difficile, se non impossibile, la loro gestione razionale ed equilibrata negli agroecosistemi (Altieri, 2004; Altieri *et al.*, 2006).

2. Genere *Anagrus* Haliday 1833

Sinonimi: *Pteratomus* Packard, 1864, *Packardiella* Ashmead, 1904, *Paranagrus* Perkins, 1905, *Anagrella* Bakkendorf, 1962.

Il genere *Anagrus* (Foto 1) appartiene all'ordine degli Hymenoptera, sottordine Apocrita superfamiglia Chalcidoidea, famiglia Mymaridae (Haliday).

Quest'ultima è composta da circa 86 generi e 1170 specie ritenute valide. I mimaridi sono parassitoidi dalle piccolissime dimensioni (0.2 – 5 mm), caratterizzati da capo con una carena trasversale e due carene orbitali interne, a mo' di "H".

Le antenne, connesse ad i toruli molto distanziati, sono lunghe e sottili senza anelli e costituite di 8-13 articoli.

Le ali anteriori hanno venulazione ridotta, generalmente estesa nel loro terzo basale, con vena postmarginale indistinta e vena stigmatica molto breve; il disco è di varia ampiezza, ma spesso è stretto e porta una lunga frangia.

Il gastro è sessile o peziolato; l'ovipositore ha forma molto variabile e talvolta prominente all'estremità addominale o esteso in avanti anche sino all'altezza delle coxe anteriori. I tarsi sono composti da 4 o 5 tarsomeri.

Tutti i mimaridi sono ooparassitoidi di insetti principalmente afferenti al sottordine degli Homoptera, sezione Auchenorrhyncha. Numerose e poco conosciute sono le specie del genere *Anagrus*.

Per la loro identificazione, oltre i caratteri tradizionali (ali, antenne, gastro, etc.), risulta importante anche l'esame dell'organo copulatore maschile (Viggiani, 1970; Chiappini & Mazzoni, 2000).

Il genere *Anagrus* fu istituito nel 1833 dall'entomologo irlandese Alexander Henry Haliday. Nel nuovo genere venne incluso *Ichneumon atomus*, descritto per la prima volta nel 1767 dal naturalista svedese Linneo nel suo "*Systema Naturae*". Quest'ultimo autore fa una breve descrizione di un *I. atomus*, raccolto nell'habitat di Uppsala, affermando che esso appariva come: "chiaro e scuro variopinto, più piccolo dell'*Acarus sirenae*, così

piccolo che è visibile solo quando è in movimento e può essere annoverato tra i più piccoli insetti alati”.

Il tipo di *I. atomus* è andato perduto e il concetto di questa specie è stato per lungo tempo quello di vari autori (Debauche, 1948; Graham, 1982). Recentemente (Chiappini & Triapitsyn, 2007) ne hanno fissato un neotipo:

– Neotipo femmina di *Ichneumon atomus* Linnaeus, 1767, catalogato in conformità dell'Articolo 75 della Commissione Internazionale sulla Nomenclatura Zoologica (ICZN, 1999), da vetrino, etichettato: *Ichneumon atomus* Linnaeus, 1767 = *Anagrus atomus* (Linnaeus, 1767) (Hymenoptera: Mymaridae) NEOTYPE [♀] Des. da S. Tryapitsyn & E. Chiappini (2003). Il neotipo è in ottime condizioni, montato in balsamo del Canada sotto due coprioggetto, uno contenenti le ali, e l'altro il resto del corpo.



Foto 1. Adulto del genere *Anagrus* ♀ (Foto PhD candidate UCR R. Krugner)

2.1. Morfologia

Tarsi di quattro articoli. Addome sessile. Antenne filiformi di tredici articoli nel maschio (♂) e di nove articoli nella femmina (♀). Clava della femmina non articolata. Corpo slanciato, stretto e allungato. Ali strette, lunghe e frangiate. Colorazione generalmente chiara, variante dal giallo molto pallido al rosso-bruno.

Capo subglobuloso, trasverso, un po' più largo del torace, carene cefaliche ben marcate, ocelli disposti a triangolo, occhi prominenti; apparato boccale ben sviluppato con mandibole tridentate.

Antenne femminili di nove articoli: scapo largo con la radicola fusa; pedicello piriforme molto più corto dello scapo; primo articolo del funicolo molto breve e stretto, lungo meno della metà del successivo e circa una volta e mezzo la sua larghezza; secondo e terzo articolo leggermente più stretti del primo; quarto e quinto articolo subeguali, di poco più lunghi e larghi del precedente, appena più allargati all'estremità distale; sesto articolo lungo quanto i precedenti, ma leggermente più largo; clava lunga circa il doppio e larga più di un terzo dell'articolo precedente (Foto 2.A).

Antenne maschili di tredici articoli: scapo più breve rispetto a quella della femmina; pedicello fortemente dilatato, corto, pressoché globuloso; flagello filiforme, tutti gli elementi che li compongono sono allungati, cilindrici, ciascuno munito di quattro-cinque sensilli (Foto 2.B).

Torace stretto, allungato, poco convesso; pronoto molto sviluppato anche ai lati; mesonoto trasversale ben sviluppato e arrotondato in avanti; scutello trasversale, tagliato dritto posteriormente; frenulo ben marcato; postscutello della stessa lunghezza dello scutello, arrotondato in profondità; metanoto molto corto, trasversale, un po' più largo in profondità del postscutello; segmento mediano corto, trasversale, tronco dritto distalmente; postfragma molto lungo.

Ali anteriori strette, presentano una prima dilatazione a livello della nervatura marginale costituente il retinacolo, più dilatata di nuovo nel loro quarto distale al bordo costale (Foto 2.C).

Venulazione: vena submarginale lunga, che fiancheggia il bordo adiacente; vena marginale allungata, ma circa metà più corta di quella submarginale; ramificazione stigmatica ben sviluppata, che raggiunge quasi la lunghezza della vena marginale, presentando una debole dilatazione stigmatica; processo radiale più o meno distinto, portante quattro grandi sensilli costituenti il gruppo distale; sensillo prossimale assente; macrocheta prossimale situata verso la metà della vena marginale, macrocheta distale all'estremità della sua cella. Pubescenza discale formata da qualche fila longitudinale più o meno regolare, ciliazione marginale molto lunga.

Ali posteriori strette, pressoché della stessa lunghezza di quelle anteriori con ciliazione marginale molto lunga.

Zampe anteriori più corte delle restanti; tarsi allungati, sottili, di quattro articoli (Foto 2.D); speroni anteriori curvi, pettinati, con l'estremità bifida; i restanti speroni semplici, dritti.

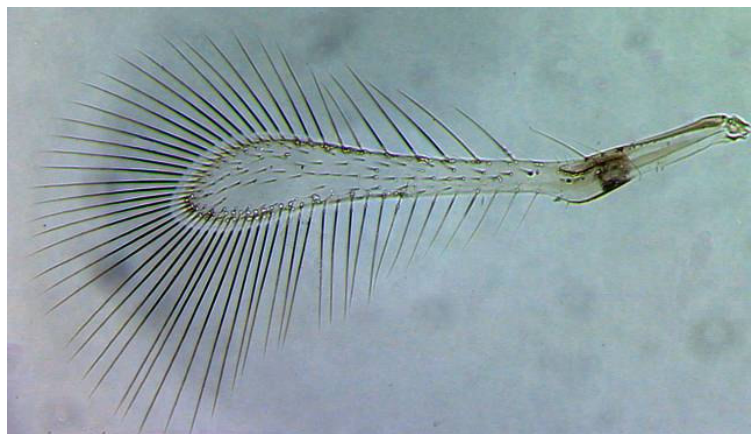
Addome conico, allungato, sessile. L'ovipositore ben sviluppato, a volte molto lungo (Foto 2.E). L'organo copulatore maschile presenta lamine paramerali con un processo distale a forma di cono o di uncino; l'edeago è tubulare e ricurvo verso il basso (Foto 2.F).



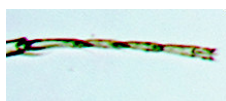
A. Antenna di *Anagrus* ♀



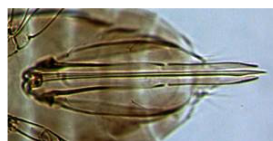
B. Antenna di *Anagrus* ♂



C. Ala anteriore di *Anagrus* ♀



D. Tarso



E. Ovipositore



F. Organo copulatore

Foto 2. Caratteristiche morfologiche discriminanti gli *Anagrus* (Foto Matteucig)

Sviluppo degli stadi preimmaginali

I primi studi fondamentali sugli stadi preimmaginali dei mimaridi sono stati condotti da Bakkendorf (1933) e Jackson (1961).

Gli stadi preimmaginali degli *Anagrus* sono: uovo, larva I tipo, larva II tipo e pupa. Lo sviluppo degli stadi preimmaginali di *A. atomus*, qui sotto esposto, è stato studiato recentemente da Hesami *et al.* (2004) su foglie di *Vitis* sp., su substrato artificiale, infestate da *Aboridia kermanshah* Dlabola alla temperatura di $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ed a un umidità relativa di $33 \pm 3\%$ (RH).

Uovo – Le uova ovariche di *A. atomus* sono ovoidali-allungate e peduncolate (Tavola 1.A). Ci sono piccole diversificazioni nella forma dell'uovo all'interno della famiglia dei Mimaridi, e le uova ovariali sono di forma pressoché identica alle uova deposte (Clausen, 1940). Le uova sono trasparenti e il corion ha una superficie liscia. La lunghezza media è di 102 μm (Tavola 1.B).

Stadi larvali: finora la distinzione delle larve si basa sulle più apparenti caratteristiche morfologiche. Mancano studi approfonditi, anche perché molto difficoltosi, nel numero delle mute larvali e periodi delle età.

Primo tipo larvale – Bakkendorf (1933) ha descritto per primo le larve di *Anagrus* nel gruppo dei mimaridi, e ha indicato che esse sono “a forma di sacchetto con parti cefaliche e caudali goffe”, che in seguito Clausen (1940) ha chiamato “sacciformi”, come in altre specie di *Anagrus* fin ora osservate al primo stadio larvale (Dumbleton, 1937; Sahad, 1984; Moratorio & Chiappini 1995) (Tavola 1.C). Le larve di questo stadio risultano sacciformi, non segmentate, levigate e completamente immobili. La parte caudale della larva rimane sempre attaccata al corion; questo suggerisce che il primo stadio larvale assuma il cibo attraverso la diffusione e l'assorbimento (Sahad, 1984; Moratorio & Chiappini 1995). La lunghezza media della larva I tipo è di 203 μm .

Secondo tipo larvale – Il secondo tipo larvale, chiamato isterobdellide, è alquanto cilindrico comparato al primo stadio larvale, ed è diviso in sei segmenti con costrizioni (Tavola 1.D). Le larve isterobdellidi sono riportate per numerose specie di *Anagrus* (Dumbleton, 1937; Sahad, 1984; Meyerdirk & Moratorio, 1987a/b; Cronin & Strong, 1990; Moratorio & Chiappini 1995), sebbene il termine sia stato coniato da Ganin (1869) per descrivere le larve del genere *Polynema* (Jesu, 2001). La testa è conica e carnosa con processi pelosi e un paio di robuste mandibole (Tavola 1.E). Sahad (1984) ha ipotizzato che dai processi cefalici si formassero le antenne, ma Moratorio e Chiappini (1995) hanno messo in dubbio questa ipotesi in quanto nel processo non era visibile alcuna struttura o sensillo che potesse condurre loro a questa conclusione.

Anche un paio di larghi organi a forma di “orecchie sagomate”, con funzione sconosciuta, sono riportate nell’ultimo segmento di alcune differenti specie di *Anagrus* (Sahad, 1984; Moratorio & Chiappini 1995), ma nelle larve di *A. atomus* (Hesami *et al.*, 2004) non è stato osservato tale processo.

Le mandibole sono lievemente curve, e non retrattili come in altri parassitoidi; esse sono lunghe circa 39 μm (Tavola 1.F). Le larve di secondo stadio restano piuttosto immobili per le prime quattro ore e poi gradualmente diventano attive e si nutrono del tuorlo dell’uovo ospite. Il tuorlo ingerito è visibile dentro il loro intestino. Il secondo stadio prematuro (lunghezza media 369 μm) agita il contenuto delle uova. Questo movimento rende più disponibile il cibo alle larve tenendo le sostanze interne delle uova in continua circolazione. Moratorio e Chiappini (1995) affermano che questo comportamento è particolarmente importante per le larve parassitoidi affinché ottengano sufficiente cibo nel caso in cui l’oviposizione sia avvenuta in un uovo dove già era presente l’embrione; in questo caso, la larva del parassitoide distrugge i tessuti embrionali. Il secondo stadio

larvale ha dei corpi o aggregazioni sferiche bianche che possono essere trovate sparse sopra lo stomodeo. Il secondo stadio maturo (lunghezza media 581 μm) diventa meno attivo e lentamente ruota su se stessa occupando pressoché l'intero spazio all'interno dell'uovo ospite (Tavola 1.G). Come le larve sono sviluppate, la loro colorazione cresce in intensità, fatto dovuto al cambiamento di colore delle cellule pingue dentro il canale alimentare. Esse volgono all'arancione verso il settimo giorno dopo l'oviposizione e diventano arancione scuro-rosso verso il decimo giorno. Il secondo stadio larvale dura approssimativamente per sette giorni, e nel corso di questo periodo il corpo raddoppia nella sua lunghezza.

Pupa – Dalla fine del decimo giorno dopo l'oviposizione, le larve del secondo tipo mostrano una completa cessazione di ogni movimento, indicando l'entrata nello stadio di prepupa. Quest'ultima dura circa un giorno e sviluppa costrizioni a delimitare la testa, il mesosoma ed il metasoma. In questo stadio il colore diventa rosso vivo. Lo stadio pupale dura circa sei giorni. Nella pupa sono depositate delle concrezioni biancastre, probabilmente prodotti di scarto, a livello dell'intestino posteriore, che appaiono come un grumo bianco. Dal tredicesimo giorno dall'oviposizione gli occhi composti e gli ocelli diventano scuri, e con la fine del quarto giorno di pupazione le appendici sono completamente sviluppate. Il sesso può essere ben distinto dalla conformazione della clava antennale e dell'addome (Foto 3). Le pupe della femmina sono più lunghe di quelle del maschio (lunghezza media della pupa ♀ è di 580 μm ; 545 μm del ♂).

L'adulto inizia la fase di sfarfallamento al sedicesimo giorno dalla oviposizione, che culmina al 17 giorno quando l'adulto sfarfalla facendo un foro rotondeggiante nel guscio dell'uovo ospite e nel tessuto dell'organo vegetale, aiutato dalle sue mandibole.

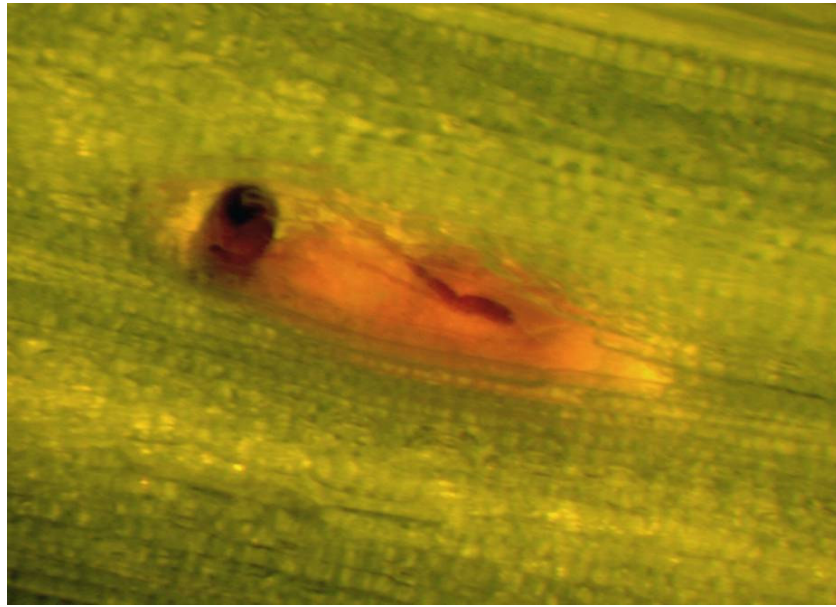


Foto 3. Pupa ♀ distinguibile dalla clava antennale
(Foto R. Krugner)

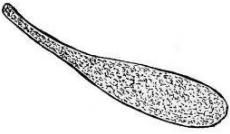
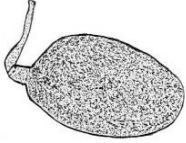
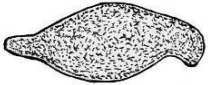
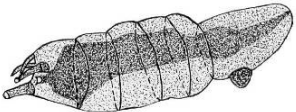


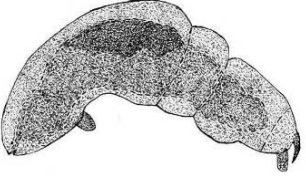
 <p>A. Uovo ovarico</p>	 <p>B. Uovo deposto</p>
 <p>C. Larva di I tipo</p>	 <p>D. Larva di II tipo (fase iniziale)</p>
 <p>E. Capo di larva di II tipo (fase iniziale)</p>	 <p>F. Mandibola di larva di II tipo (fase iniziale)</p>
 <p>G. Larva di II tipo (fase finale)</p>	

Tavola 1. Sviluppo degli stadi preimmaginali di *Anagrus* (Da Jesu, 2001)

Gruppo atomus Linnaeus

Quando Haliday istituì il genere *Anagrus* e vi incluse dentro le due nuove specie *A. incarnatus* ed *A. ustulatus*, designò l'*A. atomus* come tipo. Bakkendorf nel 1926 pose in sinonimia tutte le specie precedentemente descritte con *A. incarnatus*, mentre Debauche, nel 1948, ristabilì l'*A. atomus* come specie valida e pose in sinonimia l'*A. ustulatus* con quest'ultima. Nel 1982 Graham riconsiderò *A. ustulatus* Haliday come specie valida. Alla fine del 1983, erano state descritte 91 specie di *Anagrus* (Huber, 1986).

In una revisione degli *Anagrus* europei (Chiappini, 1989) il numero di specie valide è di 68: 39 delle quali Paleartiche, 11 Nearctiche e 50 Oloartiche. Nella medesima revisione sono stati riconosciuti tre subgeneri *Paranagrus* Perkins, 1905, *Anagrella* Bakkendorf, 1962 e *Anagrus* s. str. Haliday, 1833. *Anagrus* (*Anagrus*) è stato suddiviso in due gruppi-specie: *atomus* e *incarnatus* (Graham, 1982; Chiappini, 1989; Chiappini *et al.*, 1996).

Il primo gruppo si caratterizza per tre sensilli lineari sui $\frac{2}{3}$ distali della clava e con un rapporto tra i macrocheti generalmente in misura di più di due; il secondo gruppo per cinque sensilli lineari sulla clava, due dei quali sulla metà del segmento ed il rapporto dei macrocheti generalmente minore o uguale a due.

2.2. Biologia

Comportamento degli Anagrus sp. nell'ovideposizione

Il modo con il quale gli ospiti vengano trovati, e molti altri fattori che determinano l'esistenza e il mantenimento della interrelazione ospite-parassitoide, sono fra i più difficili e affascinanti problemi della ricerca biologica dei parassitoidi. Le piante e gli insetti producono numerose sostanze che rappresentano veri e propri messaggi chimici che funzionano in maniera intraspecifica (feromoni), interspecifica (sinomoni o cairomoni) o polivalente tra gli organismi delle catene trofiche ed hanno un ruolo determinante nella vita degli insetti. Un sistema tritrofico costituito da piante coltivate, fitofagi ed entomofagi è regolato quindi attraverso messaggi semiochimici.

Dopo lo sfarfallamento, la femmina adulta di *Anagrus*, si ritrova spesso in un habitat alieno. Essa ha bisogno di trovare un ospite adatto per riprodursi. Il modo in cui, un parassitoide piccolo come l'*Anagrus*, con ovvie difficoltà per il suo piccolo raggio d'azione rispetto l'ambiente circostante, possa trovare l'ospite, è un problema ancora più intrigante. Generalmente il successo del processo di parassitizzazione passa attraverso 4 fasi: ubicazione dell'habitat dell'ospite, ritrovamento dell'ospite, accettazione dell'ospite, idoneità dell'ospite (Moratorio, 1977).

La prima fase consta nel riconoscimento da parte della femmina di *Anagrus*, attraverso la captazione dei semiochimici, della pianta dove probabilmente troverà le uova dell'insetto ospite (Agboka *et al.*, 2003; Al-Wahaibi & Walker, 2000a e b; Choudhury & Copland, 2003).

Riconosciuta la pianta essa si poggia sulla foglia o altro organo vegetale muovendosi relativamente veloce in cerca di uova da parassitizzare e battendo costantemente il substrato vegetale con l'ultimo subsegmento antennale. Riconosciuto l'uovo attraverso i tangorecettori antennali la

femmina rallenta notevolmente il suo passo, mentre i battiti delle antenne crescono considerevolmente in numero, con le punte che rimangono molto vicine alla porzione d'organo dov'è deposto l'uovo.

La presenza di uova ospiti è segnalata dalle ferite di ovideposizione o dalle protuberanze delle uova stesse. A questo punto la femmina inarca il suo corpo, azione che l'aiuta ad estrarre l'ovipositore (Foto 4). Quest'ultimo è calato perpendicolarmente all'organo vegetale con l'uovo sottostante. L'asse principale del corpo della femmina forma un angolo di circa 30° rispetto alla superficie dell'organo vegetale stesso.

Per cercare le uova non parassitizzate la femmina dà dei colpetti sulla superficie dell'uovo con la punta del suo ovipositore e muove l'addome su e giù. Se l'uovo è idoneo alla parassitizzazione l'ovipositore lo perfora penetrando per circa $\frac{3}{4}$ della sua lunghezza nel corion.

La deposizione dell'uovo da parte della femmina è favorita da numerose contrazioni addominali.

La durata di questo processo può variare da qualche secondo a 1-2 minuti a secondo della pianta (Choudhury e Copland, 2003), dell'uovo ospite e dalla specie di *Anagrus* in questione (Moratorio, 1977).

Tempo di sviluppo uovo-adulto

Il ciclo biologico di *A. atomus*, qui sotto esposto, è stato studiato da Agboka *et al.* (2004) su piante di *Vicia faba* infestate da *Empoasca decipiens* Paoli a quattro diverse temperature (16-20-24-28 ± 1°C), con un umidità relativa di 65-70% (RH) e un fotoperiodo di 16:8 (L:D).

Il tempo di sviluppo medio di *A. atomus* è risultato a 16°C pari a 33.6 giorni, a 20°C pari a 22.6 giorni, a 24°C pari a 16.3 giorni (risultato che concorda con Hesami *et al.*, 2004) e a 28°C pari a 13.3 giorni.

In base alla regressione lineare della percentuale di sviluppo la soglia più bassa è stata stimata intorno a 8.39°C. L' *A. atomus* richiede 263.2

gradi/giorno per completare il suo ciclo di sviluppo da uovo ad adulto. Il tasso di sopravvivenza uovo-adulto ed il rapporto tra i sessi è significativamente basso a 28°C rispetto alle altre tre temperature testate.

Il potenziale d'attacco delle uova ospiti a diverse età da parte di *A. atomus* ha dimostrato che quasi l'80% della parassitizzazione delle uova avviene nei primi sei giorni dalla deposizione con un picco del 30% al terzo giorno.



Foto 4. *Anagrus* ♀ ovideponente (Foto R. Krugner)

3. Scopo della tesi

Studi sulle popolazioni di *Anagrus* gruppo *atomus* ottenuti da diverse cicaline della vite, rovo, fico, lonicera e leccio sono stati avviati di recente in Campania (Viggiani, 2003; Viggiani & Jesu 2003; Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b). Continuando tale linea di ricerca l'oggetto di studio della tesi di dottorato in epigrafe è stato diretto al raggiungimento di tre obiettivi principali.

Il primo è consistito nel caratterizzare le popolazioni del genere *Anagrus* "gruppo *atomus*", in diversi agroecosistemi dei nostri ambienti utilizzando sia le tecniche tradizionali d'identificazione specifica, come la valutazione dei caratteri morfologici attraverso i preparati microscopici permanenti, e sia l'impiego di marcatori molecolari a livello mitocondriale e ribosomiale attraverso le tecniche dell'ISSR-PCR fingerprinting (*Intersimple Sequence Repeat*), COI (*Cytochrome Oxidase Subunit I*) e ITS2 (*Internal Transcribed Spacer 2*).

Il secondo obiettivo è stato lo studio biologico di queste popolazioni nel corso dell'anno in relazione alla fenologia delle cicaline e delle piante ospiti. Infatti è noto che nei nostri ambienti non si sono mai verificati casi di forti infestazioni in agroecosistemi di interesse agrario, probabilmente perché le cicaline sono ben contenute dagli *Anagrus*.

Dagli studi condotti in precedenza sulla vegetazione spontanea era risultato che gli ospiti alternativi del rovo e del leccio, erano un importante serbatoio di uova da parassitizzare per gli *Anagrus* durante il periodo autunno-invernale (Viggiani, 2003; Viggiani & Jesu 2003; Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b). Questi parassitoidi, inoltre, negli ambienti campani indagati a differenza di quanto avviene nel Centro e nel Nord Italia, possono svernare anche da adulto in attività produttiva.

Sulla base di questi risultati si è proseguito uno screening su diverse essenze vegetali selvatiche nei nostri ambienti al fine di identificare

nell'arco dell'anno quali fossero gli ospiti alternativi delle popolazioni di *Anagrus*, e soprattutto in che modo variasse il rapporto tra le specie del gruppo *atomus*.

Terzo ed ultimo obiettivo è stato quello di confrontare le popolazioni ottenute nei nostri ambienti (*A. atomus* e *A. ustulatus*) con una specie esotica Nord Americana affine, l'*A. erythroneurae*.

Le tre specie di *Anagrus* studiate sono appartenenti al gruppo *atomus* e si distinguerebbero tra loro secondo i seguenti caratteri morfologici:

A. atomus (Linnaeus): ♀ con mesoscuto senza setole. Area glabra presso la parte più ampia dell'ala anteriore; ali con tre file irregolari di ciglia discali presso la metà basale e tre o quattro file anteriori con area glabra. Rapporto ovipositore/tibia anteriore pari a circa 2.0.

A. ustulatus Haliday: ♀ con rapporto ovipositore/tibia anteriore pari a 1.8-1.9. Ciliazione discale presso la parte più ampia dell'ala anteriore in quattro o cinque file.

A. erythroneurae S. Triapitsyn e Chiappini: ♀ con rapporto ovipositore/tibia anteriore pari a 2.0-2.2. Ciliazione discale presso la parte più ampia dell'ala anteriore in due o tre file.

Tuttavia, i caratteri discriminanti indicati per le prime due specie (*A. atomus* e *A. ustulatus*), nel corso d'identificazioni preliminari di materiale italiano, si sono dimostrati deboli a seguito della variabilità riscontrata.

Lo studio delle tre specie sopra dette è stato svolto durante un soggiorno presso l'Università della California, Riverside, Entomology Research Museum, sotto la guida del Dr. Serguei Triapitsyn.

4. Materiali e metodi

In varie località campane, soprattutto a Portici (NA), Parco Gussone, e occasionalmente in altre regioni d'Italia, sono state prelevate foglie da piante coltivate e spontanee con evidenti sintomi di infestazioni da parte di cicadellidi.

Su tale materiale, in laboratorio, sono state rilevate, con l'ausilio di un microscopio ottico, le uova apparentemente parassitizzate da *Anagrus* (se con larve mature del parassitoide, di colore arancione) (Foto 5), nonché gli stadi preimmaginali di cicaline presenti.

Sezioni circolari di circa 15 mm di lembo fogliare con la presenza di uova di cicaline con larve mature e pupe di *Anagrus* sono state isolate e messe in microcapsule di 15 mm di diametro e 15 mm di altezza per ottenerne lo sviluppo fino allo sfarfallamento dell'adulto.

Gli esemplari di *Anagrus* neosfarfallati sono stati stoccati in alcool etilico al 75% in microprovette Eppendorf di 0.5 mL, per allestire successivamente i preparati microscopici necessari per la determinazione specifica. Allo stesso modo per le analisi molecolari gli *Anagrus* neosfarfallati sono stati conservati in alcool etilico al 75% a - 20°C.

Gli adulti e le forme preimmaginali di cicalina rinvenuti sul materiale vegetale sono state isolate e allevate in capsule Petri del diametro di 9 cm, su foglia con picciolo inserito in microprovetta Eppendorf di 18cc privata di tappo e chiusa con cotone idrofilo. Le capsule Petri sono state chiuse con pellicola di paraffina per permettere la traspirazione. Ottenuti gli adulti della cicalina, di alcuni di essi, sono stati allestiti preparati microscopici delle armature genitali maschili per l'identificazione specifica.

Per gli studi biologici e per l'analisi morfometrica delle specie raccolte sono stati allestiti preparati microscopici permanenti su vetrino in balsamo fenolo attraverso la seguente procedura:

l'*Anagrus*, conservato in provetta Eppendorf da 0.5 mL con alcool etilico al 75%, veniva estratto e posto in un pozzetto contenente potassa al 10% per circa 40 minuti; da qui veniva trasferito in un pozzetto contenente acido acetico glaciale per altri circa 40 minuti. A questo punto veniva collocato su di un vetrino a goccia pendente, prima per 10 minuti in fenolo al 50% e poi altri 10 minuti in fenolo saturo, dove avveniva il sezionamento con spilli entomologici. Le parti sezionate venivano adagiate in una gocciolina di balsamo fenolo posta su di un vetrino portaoggetto e, dopo averle posizionate nel modo più opportuno, ricoperte con vetrino coprioggetto. I vetrini venivano lasciati, successivamente, in stufa a 40°C per circa 2 settimane per essicarli.



Foto 5. Uovo di *Eupteryx zelleri* parassitizzato da *Anagrus ustulatus* su Menta
(Foto Matteucig)

4.1. Analisi morfometrica

Dai vetrini della collezione Entomologica del Dipartimento di Entomologia e Zoologia Agraria «Filippo Silvestri», Università degli Studi di Napoli, «Federico II» [IENU] e Entomology Research Museum, University of California at Riverside, California [UCRC] sono stati misurati diversi caratteri e rapporti di tre specie di *Anagrus* “gruppo *atomus*” Linnaeus avvalendosi di un microscopio composto Zeiss Axioskop 2 plus usando il differenziale ad interferenza ottica Nomarski. Sono state rilevate alcune lunghezze, espresse in micrometri (μm), e determinati alcuni rapporti. Più approfonditamente sono state misurate nelle femmine di *Anagrus*:

1. lunghezza dell'ovipositore, F1, F2, F3, F4, F5, F6, clava, funicolo, protibia, metatibia, lunghezza e larghezza dell'ala anteriore, setola discale più lunga dell'ala anteriore;

2. rapporti dell'ovipositore/protibia, ovipositore/metatibia, lunghezza/larghezza dell'ala anteriore, setola discale più lunga ala anteriore/larghezza dell'ala anteriore, funicolo/clava

I termini per le caratteristiche morfologiche sono quelli di Gibson (1997). L'abbreviazione “F” adoperata sta per segmento funicolare dell'antenna. Inoltre di tutti i dati raccolti sono stati calcolati le medie e gli intervalli delle lunghezze e dei rapporti.

Infine sono state misurate la lunghezza e la larghezza, con relativo rapporto medio, dell'ala anteriore di cinque maschi di *A. ustulatus*, con dieci *A. erythroneuræ* (vedi “vetrini esaminati e misurati”). Di questi sono stati altresì confrontati i genitali.

Vetrini che sono stati esaminati ed utilizzati per le misurazioni:

Anagrus atomus: CANADA, British Columbia, Summerland, 5.iii.2000, sfarfallato il 26.iii.2000, D. T. Lowery (da uova su ciliegio) [1♀,

UCRC]. EGITTO, Alexandria, University of Alexandria, Faculty of Agric. Farm, vi.2001, M. Abd-El-Fattah (da uova di *Empoasca* sp. su fagiolo) [1♀, UCRC]. FRANCIA, Yvelines, Bèhoust, 6.i.1987 (da fagiolo infestato da *Typhlocyba* sp.) [1♀, UCRC]. IRAN, Khoarasan Province, Asadabad & Pustfoorshan Village (Zebazjan), 7.x.1994, J. Vafabaksh, (sfarfallato da foglie di vite) [1♀, UCRC]. ITALIA, Lazio, Castel Porziano (Roma), 11-12.vi.2003 J. Pinto, J. Munro, J. Owen, M. Bologna, [1♀, UCRC]. Lombardia: Rovescala (PV), 12.ix.1984, E. Chiappini, (in trappola malaise in vigneto) [1♀, UCRC]. Rovescala (PV), 6.ix.1984, E. Chiappini (in trappola malaise in vigneto) [1♀, UCRC]. RUSSIA, Primarskiy Krai, Ussuriysk District, Gornotayozhnoye, 12.x.2000, M. V. Michailovskaya, YPT [1♀, UCRC]. SUD COREA, Jeju-do Jeju-si 38° 29'N, 126° 31'E, 3-7.ix.2001, J. W. Kim [1♀, UCRC]. TURKMENISTAN, Ashgabat region, Bihrova, 19.vii.1993, S. N. Myartseva, (da uova di *Empoasca* sp. su fagiolo) [1♀, UCRC]. Ashgabat region, Enev, 19.viii.1993, S. N. Myartseva, (da uova di *Empoasca* sp. su fagiolo) [1♀, UCRC]. USA, California: El Dorado Co., Irvine Ranch, Camino 11.iii.1996, M. Moratorio, (da *Edwardsiana rosae* su *Malus domestica*) [1♀, UCRC]. El Dorado Co., Camino Mother Lode Orchard, 19.vii.1995, M. S. Moratorio, (sfarfallato da foglie di “Semillon”) [1♀, UCRC]. Fresno Co., Readly nr. Wahtoke Creek, 15.iv.1996, K. Daane, (sfarfallato da foglie di rovo) [1♀, UCRC]. California, Napa Co., Oakville, 1/2ml E of HWY nr. vinery. coll.19.ii.1996, S. Triapitsyn, (da uova di *Dikrella* sp. su foglie di rovo) [1♀, UCRC]. Sonoma Co., Glen Ellen, 04.v.1996 e 26.ix.1995, S. Triapitsyn, (sfarfallati da foglie di rovo) [2♀, UCRC]. New York: Yates Co., 15.iv.1994 - 7.vi.1994, L. H. Williams, (su *Ostrya virginiana*) [1♀, UCRC]. Yates Co., 20-30.iii.1994, L. H. Williams, (da uova di *Edwardsiana rosae* su *Rosa multiflora*) [1♀, UCRC]. Yates Co., 24.v.1995, T. Martinson, (da uova di *Edwardsiana rosae* su *Rosa multiflora*) [2♀, UCRC]. Washington:

Toppenish, 1 mile NW, 2.iv.2000, D. James, (da *Rubus procerus*) [1♀, UCRC]. Zillah, East Canal, 30.iv.2000, D. James, (da rovo sempreverde) [2♀, UCRC]. Benton Co., Case Rd., 9.ii.2000, D. James, (da rovo sempreverde) [4♀, UCRC]. Yakima Co., Harrah, 11.iv.2000 e 2.iv.2000, D. James, (da rovo sempreverde) [2♀, UCRC].

Anagrus erythroneurae: MESSICO. Baja California: Ejido Guerrero, 16.ix.1988, D. González, (da uova di *Erythroneura variabilis* Beamer su *Vitis* sp.) [1♀, UCRC]. Mexicali, 11.v.1988, D. González, (da uova di *E. variabilis* su *Vitis* sp.) [2♀ e 2♂, UCRC]. USA. California: Fresno Co., Reedley, 11.iv.1996, K. Daane, (su *Rubus* sp.) [3♀, UCRC]. 24.iv.1996, K. Daane (su *Rubus* sp.) [2♂, UCRC]. Kern Co., Porterville, 16.vii.1994, T. M. Tretiakova, (da uova di *Edwardsiana prunicola* (Edwards) su *Prunus* sp.) [2♀ e 2♂, UCRC]. Madera Co., Madera: 11.iv.1996, K. Daane, (su *Rubus* sp.) [1♀ e 1♂, UCRC]; 18.iv.1996, K. Daane, (su *Rubus* sp.) [1♂, UCRC]; 24.iv.1996, K. Daane (su *Rubus* sp.) [1♀, UCRC]; 12.vi.1996, K. Daane, (su *Prunus* sp.) [2♀, UCRC]. Merced Co., 25.iii.1996, S. V. Triapitsyn, (su *Malus domestica*) [2♀, UCRC]. Napa Co., Oakville, 19.ii.1996, S. V. Triapitsyn, (da uova di *Dikrella* sp. su *Rubus* sp.) [2♀, UCRC]. Riverside Co., Coachella, vii.1988, D. González, (da uova di *E. variabilis* su *Vitis* sp.) [2♀ e 2♂, UCRC]. San Bernardino Co., San Bernardino, 10.ix.1985, D. González, [2♀, UCRC]. San Joaquin Co., 28.iv.1995, K. Daane, (da uova di *E. prunicola* su *Prunus* sp.) [2♀, UCRC]. New Mexico, Dona Ana Co., Mesilla Valley, 3.vii.1986, D. González, (da uova di *Dikrella* sp. su *Vitis* sp.) [2♀, UCRC]. New York: Ontario Co., Geneva, 29.viii.1994, T. Martinson, (da uova di *Erythroneura bistrata* McAtee su *Vitis* sp.) [2♀, UCRC]. Seneca Co.: 15-20.ix.1994, L. H. Williams, (on *Vitis vinifera*) [1♀, UCRC]. 30.viii.1995, T. Martinson, (da uova di *E. bistrata* su *Vitis vinifera*) [2♀, UCRC]. Washington, Benton Co., Prosser, Chandler Canal, 23.iii.2000, D. James, (su *Rosa* sp. selvatica) [1♀, UCRC].

Anagrus ustulatus: ITALIA. Calabria, Provincia di Cosenza, Camigliatello Silano, 26.vi.1988, J. Pinto, [1♀, UCRC]. Campania, Provincia di Napoli: Domicella: 25.ii.2004, sfarfallato il 7.iii.2004, G. Viggiani, (su *Rubus* sp.) [1♀, IENU]; 22-24.iii.2004, sfarfallato il 31.iii-2.iv.2004, G. Viggiani, (on *Rubus* sp.) [4♀, IENU]; 13.iv-6.v.2004, A. Di Luca, (da uova di *Ribautiana* sp. e *Edwardsiana* sp. su *Rubus* sp.) [4♀, IENU]. Pompei, 1.xii.2006, G. Matteucig, (da uova di *Eupteryx zelleri* (Kirschbaum) su *Mentha* sp.) [3♀, IENU]. San Giorgio a Cremano, 3.ix.2002, G. Viggiani, (on *Vitis* sp.) [1♀, IENU]. Emilia-Romagna, Provincia di Piacenza: Asciano, 3.ii.2005, sfarfallato il 14.ii.2005, V. Mazzoni, (su *Rubus* sp.) [6♀, IENU]. Verago, 27.x.1986, E. Chiappini, (su *Rubus* sp.) [1♀, UCRC]. Lazio: Provincia di Roma: Caldara di Manziana, 10.vi.2003, J. Pinto, J. Munro, A. Owen, M. Bologna, [2♀, UCRC]. Castel Porziano, 12.vi.2003 J. Pinto, J. Munro, A. Owen, M. Bologna, [1♀, UCRC]. Provincia di Viterbo: Ponte San Pietro, 10.vi.2003, M. Bologna, J. Munro, A. Owen, J. Pinto, [1♀, UCRC]. Roccaccia, 10.vi.2003, M. Bologna, J. Munro, A. Owen, J. Pinto, [2♀, UCRC]. Lombardia, Provincia di Pavia, Rovescala, 17.x.1986, E. Chiappini, (su *Vitis* sp.) [1♀, UCRC]. Toscana: Provincia di Arezzo, Ambra, 2.xii.2006, sfarfallati il 22.xii.2006-9.i.2007, G. Matteucig, (da uova di *E. zelleri* su *Mentha* sp.) [2♀ e 5♂, IENU]. Provincia di Lucca, Matraia, 3.ii.2005, sfarfallati il 10.ii.2005, V. Mazzoni, (su *Rosa* sp.) [4♀, IENU]. NUOVA ZEALANDA. South Island, Christchurch, 30.xi.1995, G. Burnip, (da melo “Fuji”, Lincoln University biological fruit production block) [3♀, UCRC].

Analisi statistica multivariata

I dati morfometrici delle tre popolazioni di *Anagrus* sono stati confrontati attraverso l’analisi della funzione discriminante canonica per differenziare gli uni dagli altri.

Tutta l'analisi statistica è stata effettuata con il programma Statgraphics Plus (1997) software.

Diverse combinazioni dei caratteri esaminati sono stati testati per identificare l'insieme più piccolo che eseguisse una migliore separazione delle tre popolazioni ed eliminasse caratteri ridondanti. L'insieme più efficace dei tratti è risultato quello costituito dai seguenti caratteri immessi come dati non-trasformati:

- lunghezza dell'ovipositore, F1, F2, F3, F4, F5, F6, clava e funicolo,
- rapporti dell'ovipositore/protibia, ovipositore/metatibia, lunghezza/larghezza dell'ala anteriore, setola discale più lunga/larghezza dell'ala anteriore, funicolo/clava.

L'abbreviazione "F" adoperata sta per segmento funicolare dell'antenna.

4.2. Studi molecolari

Le indagini molecolari sotto esposte sono state svolte avvalendosi dell'aiuto del Dr. Jessy De Leon dell'USDA, Beneficial Insects Research Unit, Weslaco, Texas.

***Anagrus* utilizzati per gli studi molecolari**

Per gli studi molecolari, sono state utilizzate le seguenti specie (molte delle quali distrutte nel processo):

Anagrus atomus: USA, California, Riverside Co., Riverside, University of California, Entomology Department Quarantine Laboratory, IV generazione allevata in laboratorio, 15.vii.1998, I. Bayoun (da uova di *Circulifer tenellus* (Baker) su barbabietole da zucchero (*Beta vulgaris*); originariamente proveniente dall' IRAN, Fars, Kavar, 15.v.1998, N. Zareh, da uova di *C. tenellus* su barbabietola da zucchero) [diversi ♂ e ♀].

Anagrus erythroneuræ: USA, California, Riverside Co., Thermal, in un vigneto lungo il bordo della strada tra Airport St. e Buchanan Ave., 12.vii.1994, D. González & S.V. Triapitsyn (da uova di *Eythroneura variabilis* Beamer su foglie di *Vitis* sp.) [diversi ♂ e ♀].

Anagrus ustulatus: ITALIA: Campania, Provincia di Napoli, Portici, 3.xi.2006, G. Matteucig (da uova di *Eupteryx zelleri* (Kirschbaum) su *Mentha* sp.) [2♀]. Toscana, Provincia di Arezzo, Ambra, 2.xii.2006, sfarfallati il 22.xii.2006-9.i.2007, G. Matteucig (da uova di *E. zelleri* su *Mentha* sp.) [numerose ♀ e ♂]. NEW ZEALAND, South Island, Christchurch, 27.iii.2001, C.D. Fletcher & D.A.J. Teulon (sfarfallati il 3.iv.2001 da uova di *Edwardsiana froggatti* (Baker) da foglie di melo "red" lungo il bordo di Highsted Rd.) [2♀].

Estrazione del DNA

Il DNA genomico è stato estratto in accordo ai metodi standard (Sambrook & Russell, 2001) come è stato descritto in lavori precedenti (de León *et al.*, 2004, 2006; de León e Jones, 2005). Per un breve periodo, gli *Anagrus* sono stati omogeneizzati su ghiaccio in 60 µl di buffer litico [10 mM Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM EDTA (pH 7.5), 1% IGEPAL CA-630)] in due fasi da 20 secondi ciascuna intervallate da 10 minuti in ghiaccio (Pellet Pestle Motor, Bel-Art Products, Pequannock, NJ USA). Il pellet finale di DNA è stato risospeso in 61 µl di TE [Tris-HCl (pH 7.5), 1 mM EDTA (pH 7.5)]. Per confermare la presenza di DNA genomico, sono state eseguite reazioni di amplificazione con 1 µl di DNA stoccato e primers della 28S ad una temperatura di appaiamento di 65°C (forward: 5'-CCCTGTTGAGCTTGACTCTAGTCTGGC -3' e reverse: 5'-AAGAGCCGACATCGAAGGATC -3') (Werren *et al.*, 1995) con 2.0 mM MgCl₂ e le condizioni di amplificazione sono state descritte sotto.

ISSR-PCR DNA fingerprinting

Le reazioni di amplificazione ISSR-PCR sono state eseguite come precedentemente descritte in altri lavori (de León & Jones, 2004, 2005; de León *et al.*, 2004, 2006). Le reazioni sono state eseguite con il primer HVH(TG)₇T (Zietkiewicz *et al.*, 1994), dove H = A/T/C, e V = G/C/A.

Le reazioni sono state eseguite in un volume finale di 20 µl con i seguenti componenti: 1X PCR buffer [50 mM KCl, 20 mM Tris-HCl (pH 8.4), 2.0 mM MgCl₂, e 0.01% di gelatina], 0.25 mM di deossinucleotidi trifosfati, 0.25 µM ISSR primer, 1.0 µl di DNA genomico stoccato e 0.10 U/µl di Taq DNA Polimerasi (New England Biolabs, Beverly, MA USA). I parametri dei cicli sono stati come segue: 1 ciclo di denaturazione a 94°C per 2 min, seguito da 45 cicli (con denaturazione a 94°C per 1 min,

accoppiamento a 50°C per 1 min e allungamento a 72°C per 1 min) seguita da un'estensione finale a 72°C per 2 min.

I prodotti dell'amplificazione sono stati fatti correre su gel d'agarosio al 2% e sottoposti ad elettroforesi in un buffer di 1X TBE (90 mM Tris-borato, 2 mM EDTA) in presenza di 0.2 µg/ml di bromuro d'etidio.

Amplificazione, clonaggio, e sequenziamento della (COI) e (ITS2)

Queste procedure sono state eseguite come descritto in de León *et al.* (2006). In breve, i primers generici C1-J-1718 (forward: 5'-GGAGGATTTGGAAATTGATTAGTTCC-3') e C1-N-2191 (reverse: 5'-CCCGGTAAAATTTAAAATATAAACTTC-3') da Simon *et al.* (1994) sono stati utilizzati per amplificare (T_m = 58°C; 2.0 mM MgCl₂; 35 cicli) un frammento della COI da uova dei parassitoidi nel buffer descritto sopra.

Per i frammenti di rDNA della ITS2, sono stati utilizzati i seguenti primers: 5.8S-F (forward), 5'-TGTGAACTGCAGGACACATGAAC-3' e 28S-R (reverse), 5'-ATGCTTAAATTTAGGGGGTA-3' (Porter & Collins, 1991) (T_m = 45°C, 3.0 mM MgCl₂, 45 cicli).

I prodotti dell'amplificazione sono stati subclonati con il TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen Life Technologies, Carlsbad, CA USA), minipreps plasmidiche sono state preparate usando il QIAprep Spin Miniprep Kit (Qiagen Inc, Valencia, CA USA), e il sequenziamento è stato eseguito dalla Davis Sequencing (Davis, California USA).

Sequenziamento del DNA

Il programma Sequencher (Gene Codes Corp., Ann Arbor, MI USA) per il sequenziamento di DNA è stato utilizzato per elaborare le sequenze grezze e il pacchetto DNASTar (DNASTar, Inc; Madison, WI USA), che include il programma SeqMan per l'allineamento multiplo di sequenze, usando l'algoritmo ClustalW (Thompson *et al.*, 1994), è stato adoperato per

calcolare la percentuale di divergenze (%D), misurata in funzione della distanza genetica come descritto in precedenza (de León *et al.*, 2004, 2006).

Il programma di allineamento ClustalX (Thompson *et al.*, 1997) e il programma per analisi filogenetiche PAUP versione 4.0b10 per Macintosh (PPC) (Swofford, 2002) sono stati impiegati per l'allineamento delle sequenze, per il "bootstrapping" (come percentuale di 1000 repliche) (Felsenstein, 1985), e per la ricostruzione di alberi filogenetici.

Per i frammenti di rDNA della ITS2, l'approccio ad approssimazione rapida di ClustalX è stato utilizzato per gli allineamenti a coppie.

Gli alberi filogenetici sono stati costruiti usando sia il metodo della distanza che quello della massima parsimonia. Per le analisi della distanza, è stato usato il metodo basato sull'algoritmo del "neighbor-joining" utilizzando il parametro di distanza genetica 'p' non corretto (Saitou & Nei, 1987).

L'analisi della parsimonia è stata effettuata in base a una ricerca euristica usando l'approccio "fast-stepwise addition" e impostando i seguenti parametri implementati in PAUP: "closest step-wise addition" e l'algoritmo "branch-swapping" con tre "bisection-reconnection". In tutte le analisi, tutti i caratteri sono stati non ordinati e non pesati, i gaps sono stati trattati come dati mancanti, e non sono state imposte costrizioni.

Le sequenze di DNA mitocondriale sono state tradotte in sequenze aminoacidiche usando il codice mitocondriale degli invertebrati con il programma sul sito web <http://www.ebi.ac.uk/emboss/transeq/index.html> EMBOSS Transeq.

4.3. Studi biologici

L'indagine biologica sugli *Anagrus* è consistita prevalentemente nello studio della fenologia di questi ooparassitoidi lungo l'intero arco dell'anno in relazione alle fenologia delle cicaline e delle piante ospiti.

Per attuare questo si è proceduto alla raccolta, in varie località campane, soprattutto a Portici (NA), Parco Gussone, di piante spontanee e coltivate con evidenti segni d'attacco, dovuti a punture di alimentazione, da parte di cicadellidi.

Le piante sono state identificate annotando anche il loro stadio fenologico su delle apposite tabelle.

Sotto il microscopio sono stati visionati gli organi vegetali infestati registrando le uova sane e gli stadi preimmaginali delle cicaline.

Allo stesso modo avveniva l'identificazione delle uova parassitizzate dagli *Anagrus*, facilmente distinguibili dal caratteristico colore arancione. Sia gli *Anagrus*, che le cicaline erano separati in appositi isolatori per aspettare il loro pieno sviluppo, come già indicato in precedenza.

Ottenuti gli adulti si annotava il sesso e si procedeva all'identificazione specifica attraverso preparati microscopici permanenti.

Con questo metodo è stato possibile ottenere, un quadro d'insieme d'interrelazione tra la pianta studiata, la cicalina infeudata su di essa ed il rapporto tra le due specie di *Anagrus* in funzione al tempo di raccolta.

5. Risultati

5.1 Analisi morfometrica

I risultati dell'analisi morfometrica di *A. atomus* (30 femmine), *A. erythroneuræ* (30 femmine) e *A. ustulatus* (37 femmine) in merito alle loro lunghezze e rapporti, con relative medie ed intervalli, sono presentati nella tabella 1.

	LUNGHEZZE (µm)									RAPPORTI				
	Ovipositore	F1	F2	F3	F4	F5	F6	Clava	Funicolo	Ovipos. / protib.	Ovipos. / metatib.	Lung. / larg.ala anter.	Seta marg. + lunga / larg.ala anter.	Fun. / clava
MEDIE														
<i>A. atomus</i>	233	19	43	42	47	50	53	102	356	1,9	1,3	8,1	3,0	3,5
<i>A. erythroneuræ</i>	223	17	40	37	41	44	48	97	324	2,1	1,4	8,1	3,2	3,3
<i>A. ustulatus</i>	220	18	39	36	41	47	50	99	330	2,0	1,3	8,1	3,2	3,3
INTERVALLI														
<i>A. atomus</i> (max)	261	21	48	48	61	61	61	112	403	2,0	1,5	8,9	3,2	3,8
<i>A. atomus</i> (min)	209	18	39	36	42	42	45	91	315	1,8	1,1	7,0	2,6	3,4
<i>A. erythroneuræ</i> (max)	251	18	48	45	48	48	55	106	351	2,5	1,5	8,9	3,6	3,6
<i>A. erythroneuræ</i> (min)	197	15	33	30	36	39	45	91	291	1,8	1,3	7,0	2,9	3,2
<i>A. ustulatus</i> (max)	273	21	45	45	52	58	61	112	388	2,4	1,5	9,8	3,9	3,5
<i>A. ustulatus</i> (min)	173	15	33	27	30	39	42	91	282	1,7	1,2	6,9	2,8	3,1

Tabella 1. Medie ed intervalli delle lunghezze e dei rapporti rilevati su *A. atomus*, *A. erythroneuræ* e *A. ustulatus*.

Essi rivelano delle dissomiglianze morfologiche non significative tra le femmine di queste tre specie. Le differenze tra le medie risultano statisticamente non significative.

Anche la misurazione del rapporto medio tra la lunghezza e la larghezza dell'ala anteriore dei maschi di *A. ustulatus* (5 ♂) e *A. erythroneuræ* (10 ♂) ha mostrato lo stesso risultato: 7.9 per entrambi.

Altresì il confronto dei genitali dei maschi di queste due specie è risultato morfologicamente identico.

Analisi statistica multivariata

L'approccio multivariato ha consentito di classificare correttamente circa l'80% dei 97 campioni esaminati ($p_1 < 0.000$, $df_1 = 28$; $p_2 < 0.003$, $df_2 = 13$) attraverso 2 funzioni discriminanti con valori di $p < 0.05$ (Tabella 2.).

Classification Table

Actual Specie	Group Size	Predicted Species		
		1 <i>A. ato.</i>	2 <i>A. ery.</i>	3 <i>A. ust.</i>
1 <i>A. atomus</i>	30	30 (100.00%)	0 (0.00%)	0 (0.00%)
2 <i>A. erythroneuræ</i>	30	1 (3.33%)	23 (76.67%)	6 (20.00%)
3 <i>A. ustulatus</i>	37	3 (8.11%)	9 (24.32%)	25 (67.57%)

Tabella 2. Percentuale dei casi correttamente classificati: 80.41%

In particolare, l'analisi multivariata ha discriminato il 100% dei 30 individui di *A. atomus*, il 76.7% dei 30 individui di *A. erythroneuræ* ed il 67.6% dei 37 individui di *A. ustulatus*.

Da questa analisi si può dedurre che sia possibile discriminare l' *A. atomus* dall'*A. erythroneuræ* e *A. ustulatus*, ma non il contrario, in quanto alcuni individui di *A. erythroneuræ* (1 individuo) e *A. ustulatus* (3 individui) sono risultati avere le caratteristiche discriminanti dell'*A. atomus*.

Da questa analisi si evince altresì che sia impossibile distinguere tra gli individui di *A. erythroneuræ* e *A. ustulatus* in quanto è risultata una forte sovrapposizione di caratteri discriminanti le due entità, facilmente osservabile anche nel plot delle due funzioni discriminanti (grafico 1).

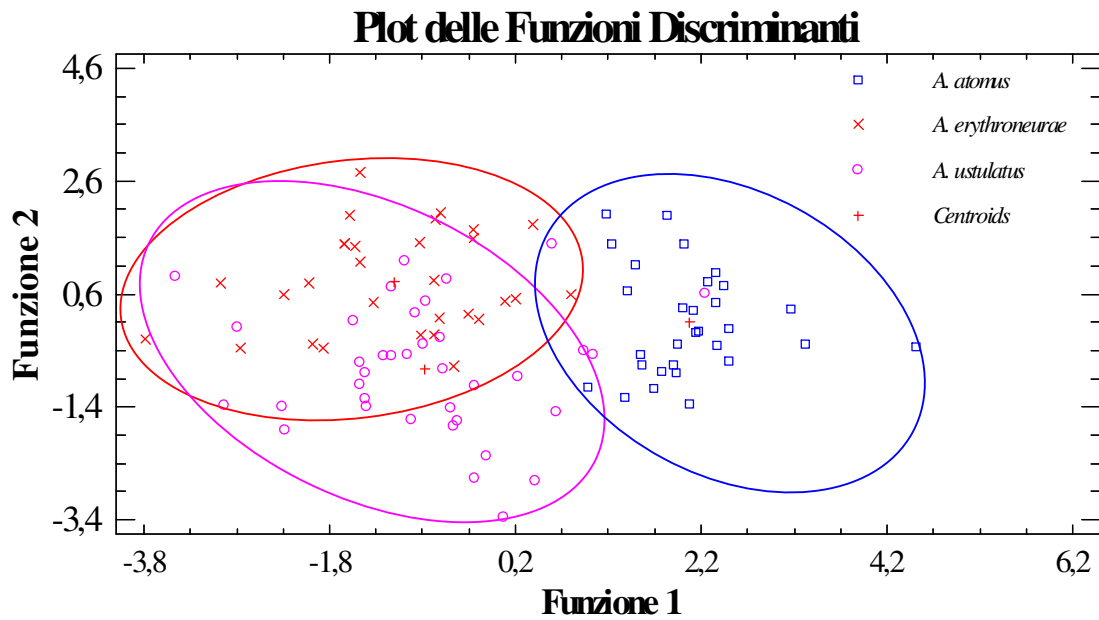


Grafico 1. Plot delle due funzioni discriminanti di *A. atomus*, *A. erythroneuræ* e *A. ustulatus* con relativi centroidi.

5.2. Risultati molecolari

ISSR-PCR DNA fingerprinting

L'analisi ha dimostrato che due popolazioni geografiche di *A. ustulatus* sono associate ad una ampia variazione genetica, con un'alta variabilità intra-individuale, pertanto non sono stati identificati marcatori diagnostici fissati (Figura 1). La variazione è stata osservata in tutte le tre specie di *Anagrus*, impedendo così l'uso del metodo della ISSR-PCR come strumento diagnostico per discriminare le tre specie. La ISSR-PCR è stata utilizzata con successo a scopo diagnostico in alcune specie di *Gonatocerus* Nees, ad esempio, *G. morrilli* (Howard) (Hymenoptera: Mymaridae) e *G. walkerjonesi* S. Triapitsyn (de León *et al.*, 2004, 2006b, 2007) e il complesso del *G. tuberculifemur* (Ogloblin) (de León *et al.*, 2007), tuttavia i risultati di questo esperimento hanno dimostrato l'inadeguatezza di questa tecnica per differenziare le tre specie di *Anagrus*.

Gene parziale della COI

Il sequenziamento del gene della COI ha generato un frammento di 518 coppie di basi per tutte le specie di *Anagrus*. Combinando le tre specie, è stato identificato un totale di 20 aplotipi (H) su 20 individui, il che dimostra un'ampia variazione aplotipica, in accordo con l'esperimento della ISSR-PCR. Gli aplotipi H1-H5 sono stati identificati come *A. atomus*, H6-H13 come *A. ustulatus* dall'Italia, H14-18 come *A. erythroneurae*, e H19-20 come *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda. La tabella 3 mostra i nucleotidi clade-specifici (sottolineati) che hanno consentito di discriminare *A. erythroneurae* da *A. atomus* (individui dall'Iran) e *A. ustulatus* (individui dall'Italia).

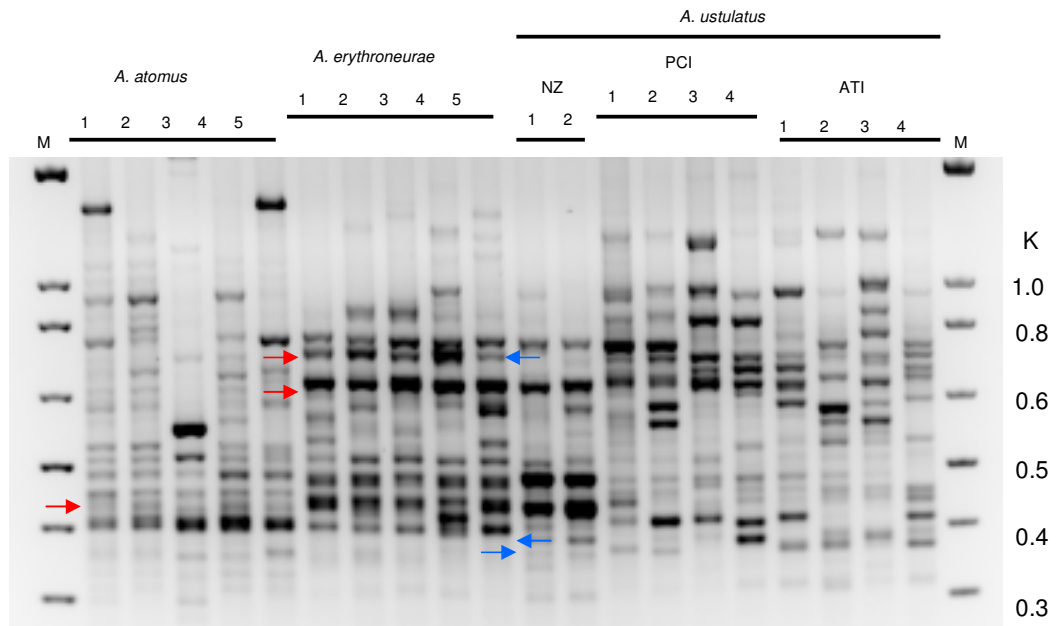


Figura 1. ISSR-PCR DNA fingerprinting delle tre specie di *Anagrus*. Per ogni specie due individui scelti a caso su cinque raccolti in campo sono stati inclusi nell'analisi eseguita usando un primer ISSR ancorato all'estremità 5'. NZ, Nuova Zelanda; PCI, Portici, Campania, Italia; e ATI, Arezzo, Toscana, Italia. Le frecce rosse indicano le differenze tra *A. atomus* e *A. erythroneuræ* e quelle blue le differenze tra *A. erythroneuræ* e *A. ustulatus* da NZ. M, 1.0 Kb Plus DNA Ladder. (de León)

Dodici sostituzioni nucleotidiche sono state identificate tra *A. erythroneuræ* e *A. atomus*, 1 transizione e 11 transversioni. Tutte le sostituzioni sono silenziose, dal momento che nessuna ha portato a cambiamenti fissati negli aminoacidi. Uno specifico nucleotide è stato identificato in *A. ustulatus* dall'Italia in posizione #330, mentre nessuno è stato identificato in *A. atomus*. Sebbene solo uno specifico nucleotide sia stato identificato in *A. ustulatus* dall'Italia, esso è associato ad una più alta frequenza di certi nucleotide in due posizioni (#192 e #384), che si aggiungono alla differenziazione genetica della popolazione.

Haplotype	Species	Nucleotide Position No.																
		0	1	1	1	1	2	2	2	2	3	3	3	4	4	4	4	
		6	3	4	4	9	0	1	4	9	3	8	8	2	2	3	3	4
		4	8	4	7	2	4	3	3	4	0	1	4	0	3	5	8	4
Clade 1																		
1	<i>A. atomus</i> #1	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	C	A	T	T	T	T	T
2	<i>A. atomus</i> #2	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	C	A	T	T	T	T	T
3	<i>A. atomus</i> #3	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	T	A	T	T	T	T	T
4	<i>A. atomus</i> #4	A	T	T	T	T	A	A	T	G	C	T	A	T	T	T	T	T
5	<i>A. atomus</i> #5	A	T	T	T	T	A	A	T	G	T	C	A	T	T	T	T	T
Clade 2																		
6	<i>A. ustulatus</i> PCI #1	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
7	<i>A. ustulatus</i> PCI #2	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
8	<i>A. ustulatus</i> PCI #3	A	T	T	T	T	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
9	<i>A. ustulatus</i> PCI #4	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
10	<i>A. ustulatus</i> ATI #1	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
11	<i>A. ustulatus</i> ATI #2	A	T	T	T	T	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	C
12	<i>A. ustulatus</i> ATI #3	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	T	T	T	T	T	T
13	<i>A. ustulatus</i> ATI #4	A	T	T	T	G	A	A	T	G	A	T	A	T	T	T	T	T
Clade 3																		
14	<i>A. erythroneuræ</i> #1	T	A	A	A	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	A	A	A
15	<i>A. erythroneuræ</i> #2	T	A	A	A	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	A	A	A
16	<i>A. erythroneuræ</i> #3	T	A	A	A	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	A	A	A
17	<i>A. erythroneuræ</i> #4	C	A	A	A	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	A	A	A
18	<i>A. erythroneuræ</i> #5	T	A	A	A	T	T	T	T	A	T	T	A	A	A	A	A	A
19	<i>A. ustulatus</i> NZ #1	T	G	A	A	A	T	T	A	A	T	G	A	A	T	A	A	A
20	<i>A. ustulatus</i> NZ #2	T	G	A	A	A	T	T	A	A	T	G	A	A	G	A	A	A

Tabella 3. - Nucleotidi specie-specifici o diagnostici identificati nel gene mitocondriale parziale della COI. Dettagli specifici sugli aplotipi non sono stati mostrati qui. PCI, Portici, Campania, Italia; e ATI, Arezzo, Toscana, Italia. I nucleotidi sottolineati sono clade-specifici mentre quelli in grassetto sono specie-specifici. I nucleotidi evidenziati in celeste sono presenti con una frequenza maggiore. (de León)

L'*A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda si è rivelato essere più strettamente correlato all'*A. erythroneuræ* dalla California, USA, che all'*A. ustulatus* dall'Italia. Queste specie condividono 10 nucleotidi, dimostrando la loro similarità genetica, comunque *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda è risultato avere quattro nucleotidi specifici (sottolineati e in grassetto). I risultati dall'*A. ustulatus* da Nuova Zelanda sono preliminari dato che al momento non sono disponibili sufficienti individui. Un albero parsimonioso di consenso

50% majority-rule ha dimostrato che le specie di *Anagrus* sono raggruppate in tre principali cladi distinti con valori di bootstrap da moderati ad alti (56-95%) (Figura 2). L'*A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda è inserito nel clade 3 insieme ad *A. erythroneuræ*, comunque *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda è raggruppato in un unico subclade all'interno del clade 3 con un supporto di bootstrap molto forte (95%), in accordo con i risultati mostrati in Tabella 3 e in Figura 1. Un filogramma delle distanze basate sul neighbor-joining ha mostrato la stessa topologia dell'albero parsimonioso con alti valori di bootstrap (70-97%). La discriminazione tra *A. atomus* e *A. erythroneuræ* era stata già dimostrata in precedenza quando queste specie furono utilizzate come outgroups in uno studio filogenetico di alcune specie di *Gonatocerus* basato su sequenze di COI (de León *et al.*, 2007). La differenziazione osservata tra specie di *Anagrus* è dovuta soprattutto a nucleotidi fissati clade-specifici; per esempio, la sovrapposizione di distanze genetiche (divergenza percentuale, %D) è stata osservata tra le 3 specie: *A. atomus*, *A. ustulatus* dall'Italia, e *A. erythroneuræ* con valori di 0.4-3.8, 2.2-3.8, e 3.4-5.8%, rispettivamente (Tabella 4). Differenze nella distanza genetica comunque sono state osservate tra *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda e *A. erythroneuræ* quando comparate con *A. ustulatus* dall'Italia (4.6-6.0%).

Specie	1	2	3	4	5	6
1. <i>A. atomus</i>	0.4-3.8					
2. <i>A. ustulatus</i> Italy	2.2-3.8	0.4-2.6				
3. <i>A. ustulatus</i> NZ	4.6-5.4	4.6-6.0	0.8-0.8			
4. <i>A. erythroneuræ</i>	3.4-5.8	3.6-5.8	1.6-3.0	0.2-2.6		
5. <i>G. triguttatus</i>	11.9-12.8	11.7-12.6	11.5-11.9	11.3-12.6	0.2-0.2	
6. <i>G. ashmeadi</i>	12.4-13.3	11.5-13.3	12.2-12.4	11.7-12.8	6.5-6.7	0.2-0.2

Tabella 4. Distanze a coppie basate su sequenze di DNA di un frammento parziale del gene COI da specie di *Anagrus* evidenziando la divergenza percentuale (% D). NZ, New Zealand. *Gonatocerus ashmeadi* e *G. triguttatus* sono inclusi come outgroups. (de León)

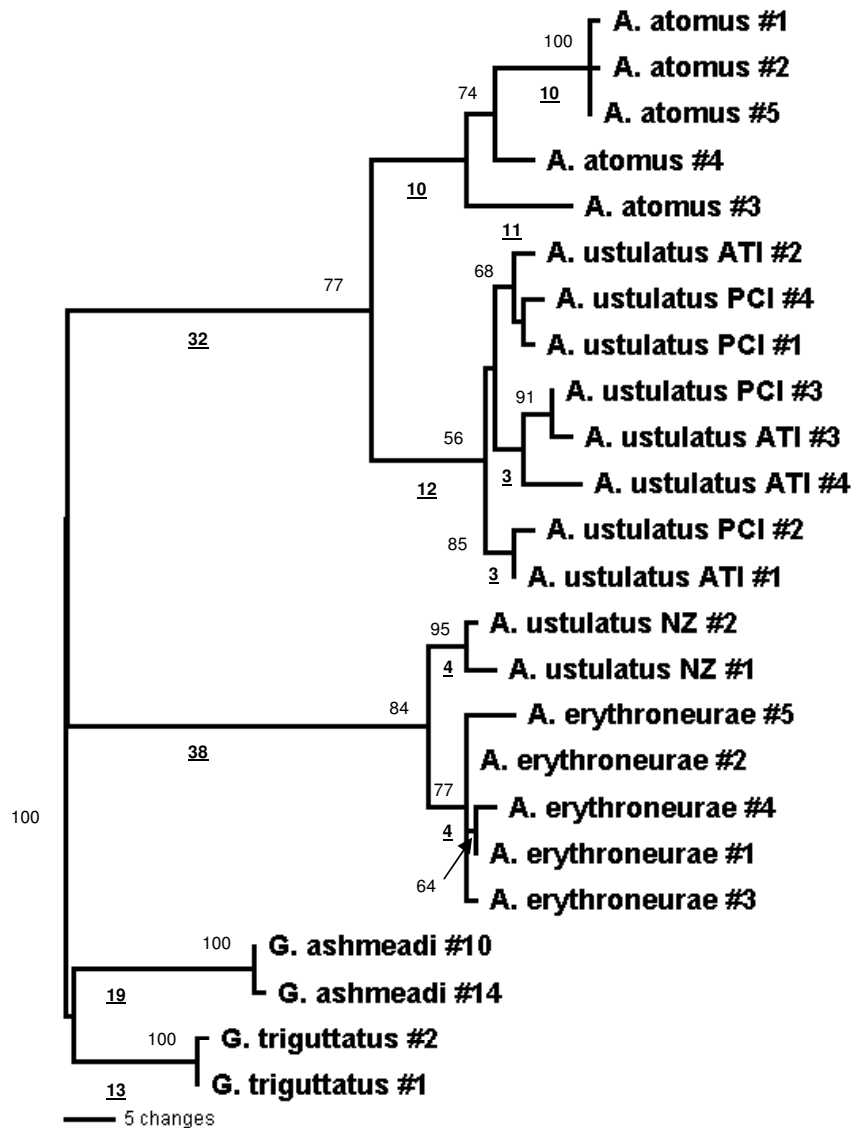


Figura 2. Filogramma ottenuto dal gene parziale mitocondriale COI. Albero parsimonioso: albero di consenso 50% majority-rule basato su 89 caratteri informativi con bootstrap. Lunghezza dell'albero = 157 steps; indice di consistenza (CI) = 0.796; e indice di ritenzione (RI) = 0.900. Sull'albero sono indicati i valori di bootstrap (al di sopra dei rami) come percentuale di 1000 repliche, e la lunghezza stimata dei rami (al di sotto dei rami, sottolineata). *Gonatocercus triguttatus* e *G. ashmeadi* (un altro genere di mimaridi) sono stati inclusi come outgroups. Per rendere conto della variabilità intra- e inter-specifica, sono stati inclusi diversi individui raccolti in campo e scelti a caso. PCI, Portici, Campania, Italia; ATI, Arezzo, Toscana, Italia; e NZ, Nuova Zelanda. (de León)

Frammenti di rDNA della ITS2

Il sequenziamento di frammenti di rDNA della ITS2 dalle tre specie di *Anagrus* ha generato 16 varianti (combinando differenze nella dimensione e nella composizione in basi) su un totale di 17 individui, dimostrando un'ampia variazione genetica. La dimensione delle varianti di ITS2 va da 581 a 599, 577 a 603, e 586 a 609 coppie di basi per *A. atomus*, *A. ustulatus*, e *A. erythroneuræ* rispettivamente. Questo tipo di variazione naturale è attesa per le regioni ITS (de León *et al.*, 2006). L'ampia variazione osservata con la ITS2 è in accordo con la variazione generata sia dalla ISSR-PCR sia dalle sequenze della COI. I risultati della ITS2 che dimostrano una variazione dovuta sia alla dimensione che alle differenze in coppie di basi suggerisce che i frammenti non si sono ancora omogeneizzati, un processo questo noto come evoluzione concertata (Dover, 1982).

Un filogramma parsimonioso di consenso 50% majority-rule ottenuto dalle sequenze di rDNA della ITS2 ha evidenziato che questa regione genica è in grado di discriminare *A. erythroneuræ* da *A. ustulatus* (Italia) e *A. atomus*, ma non *A. ustulatus* (Italia) da *A. atomus* (Figura 3). *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda, come nel caso delle sequenze della COI, si raggruppa con *A. erythroneuræ*, dimostrando ancora una volta la sua similarità genetica con questa specie. Un filogramma di neighbor-joining ha evidenziato la stessa topologia di albero. Come con le sequenze della COI, *A. ustulatus* dalla Nuova Zelanda diverge leggermente da *A. erythroneuræ*.

Comunque, a questo punto occorre cautela circa tale interpretazione, dal momento che si tratta di dati preliminari e solo uno o due individui erano disponibili per il sequenziamento. Tuttavia, sulla base di tutto il lavoro molecolare svolto nel presente studio, è interessante chiedersi se *A. ustulatus* accidentalmente introdotto in Nuova Zelanda presumibilmente dall'Europa è stato male identificato o se questo ooparassitoide ha avuto

tempo sufficiente per divergere geneticamente. Sembra comunque che la specie dalla Nuova Zelanda identificata da Triapitsyn & Teulon (2002) come *A. ustulatus* sia piuttosto un *A. erythroneuræ* introdotto accidentalmente dal Nord America.

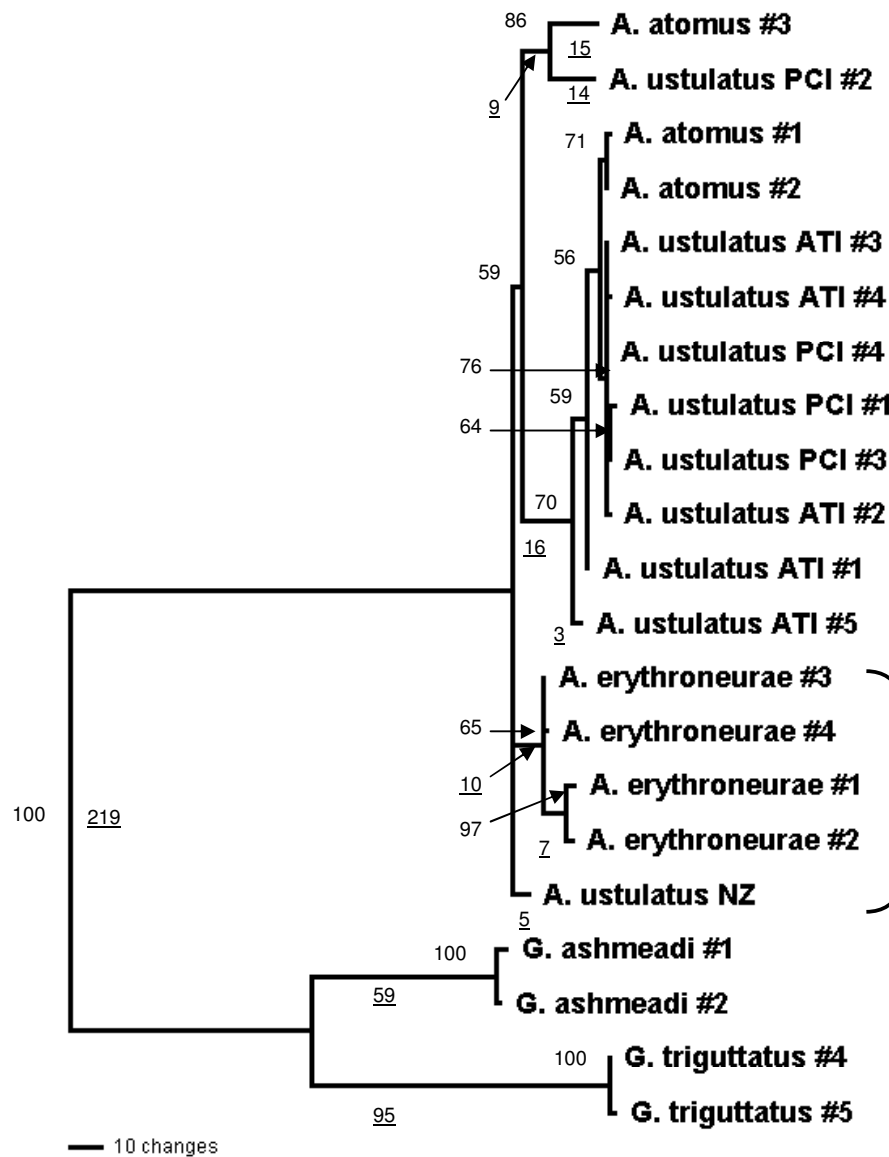


Figura 3. Filogramma ottenuto dal frammento di ITS2 rDNA. Albero parsimonioso: albero di consenso 50% majority-rule basato su 381 caratteri informativi con bootstrap. Lunghezza dell'albero = 467 steps; indice di consistenza (CI) = 0.949; e indice di ritenzione (RI) = 0.974. PCI, Portici, Campania, Italia; ATI, Arezzo, Toscana, Italia; and NZ, Nuova Zelanda. (de León)

Questo è un argomento interessante che richiede ulteriori ricerche. In riferimento ad un caso specifico, l'ooparassitoide *Gonatocerus morrilli* (Howard) (Hymenoptera: Mymaridae) fu importato dal Texas USA in California USA contro *Homalodisca vitripennis* (Germar) (Hemiptera: Cicadellidae), nel 2001 e non fu possibile distinguerlo dalla popolazione indigena per determinare il suo acclimatemento (Phillips *et al.*, 2001). In seguito, studi molecolari effettuati da de León *et al.* (2004, 2006b) e studi morfologici eseguiti da Triapitsyn (2006) hanno dimostrato che le popolazioni della California erano invece una nuova specie, *G. walkerjonesi* S. Triapitsyn. Marcatori molecolari diagnostici furono utilizzati per effettuare una valutazione post-rilascio di *G. morrilli* nell'ambito del programma di controllo biologico e emerse che tutti i ritrovamenti passati erano della specie indigena e non di quella importata. Un'analisi della "colonia di rilascio" dimostrò che essa era contaminate con la specie indigena (de León & Morgan, 2007).

Il fatto che le sequenze della ITS2 non risolvano le relazioni tra tutte le specie di *Anagrus* analizzate non è insolito. Stouthamer *et al.* (2000) trovarono che non c'erano differenze nei frammenti di rDNA della ITS2 di due note specie criptiche (*Trichogramma minutum* Riley e *T. platneri* Nagarkatti) (Hymenoptera: Trichogrammatidae) che erano state dimostrate essere riproduttivamente incompatibili. Nella stessa specie, Borghuis *et al.* (2004) utilizzarono una parte del gene della COII per discriminarle elaborando saggi diagnostici specifici con l'uso di endonucleasi di restrizione. In modo simile, in *Tetranychus urticae* Koch, Navajas *et al.* (1998) rivelarono una divergenza genetica utilizzando sequenze della COI, ma nessuna differenza fu trovata con frammenti di rDNA della ITS2. In un altro sistema, sequenziando rDNA della ITS2, Baayen *et al.* (2002) non riuscirono a risolvere le relazioni genetiche di certi ceppi di funghi (*Guignardia bidwellii* e *Pyllosticta eugeniae*).

5.3. Risultati biologici

Raccolta degli Anagrus

Nel triennio di ricerca sono stati raccolti i seguenti *Anagrus* su: *Acanthus mollis*, da uovo di *Empoasca* sp.: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.14.ix.05, sf.15.ix.05 [1♀]; G. Matteucig. *Conyza canadensis*, da uova di *Hauptidia provincialis*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.28.ii.05, sf.8.iii.05 [1♀]; coll.7.iii.05, sf.14.iii.05 [1♀]; coll.7.iii.05, sf.21.iii.05 [1♀]; G. Matteucig. *Delphinium* sp., uovo di *Hauptidia provincialis*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.i.iii.06, sf.7.iii.06 [1♂]; G. Matteucig. *Ficus carica*, da uova di *Typhlocyba ficaria*: Basilicata, Rivello (PZ), coll.11.vii.04 [7♀ e 1♂]; coll.26.vii.04 [1♀] G. Viggiani; Campania, Torre le Nocelle (AV) coll.14,ix.04 [1♂]; Torrecuso (BN), coll.2.vii.04 [6♀]; coll.8.vii.04 [4♀]; coll.11.vii.04 [1♀]; 12.vii.04 [1♂]; 18.xi.04 [2♀]; Prata Sannita (CE), 12.x.04 [1♀]; Napoli (NA), coll.20.x.05 [1♀]; coll.7.xi.05 [1♂ e 1♀]; coll.24.xi.06 [3♀]; coll.28.xi.06 [3♀] G. Matteucig; Portici (NA) Parco Gussone, coll.22.vi.04 [2♀]; coll.26.vii.04 [2♀]; coll.29.vii.04 [6♀]; coll.24.xi.06 [1♀] A. Di Luca; San Giovanni a Teduccio (NA), coll.23.vi.04 [1♀]; coll.17.vii.04 [1♀]; coll.6.ix.04 [1♀]; coll.9.ix.04 [1♀] R. Sasso; Camerota (SA), coll.16.xi.05 [1♂ e 1♀] A. Di Luca; Nocera (SA), 28.ix.04 [1♀]; 8.x.04 [1♀]; 11.x.04 [1♀]; 13.x.04 [1♀]; 20.x.05 [1♀]; Tramonti (SA), coll.26.vi.04 [2♂]; coll.12.vii.04 [2♀]; coll.13.vii.04 [3♀]; coll.15.vii.04 [1♂]; coll.21.vii.04 [2♀]; coll.29.vii.04 [2♀]; coll.1.ix.04 [1♀]; coll.2.ix.04 [1♀]; coll.7.ix.04 [2♀]; coll.9.ix.04 [5♀]; coll.15.ix.04 [2♀]; coll.21.ix.04 [2♀]; coll.22.ix.04 [4♀]; coll.1.x.04 [2♀]; coll.4.x.04 [1♀]; coll.5.x.04 [2♀]; coll.6.x.04 [2♀]; coll.8.x.04 [2♀]; coll.11.x.04 [2♀]; coll.13.x.04 [1♀]; Lazio, Isola del Liri (FR), coll.9.vii.06 [1♀]; *Fumaria officinalis*, da uova di *Hauptidia provincialis* Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.27.i.06, sf.4.ii.06 [1♀ e 1♂]; G. Matteucig. *Galium* sp. da uova di *Hauptidia provincialis* Campania, Portici

(NA) Parco Gussone, coll.2.iii.05, sf.8.iii.05 [1♀]; coll.10.iii.05, sf.14.iii.05 [1♀ e 1♂]; coll.9.xi.05, sf.5.xii.05 [1♀]; G. Matteucig. *Geranium mollis*, da uova di *Hauptidia provincialis* ed *Empoasca* sp.: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.2.v.05, sf.9.v.05 [1♂]; coll.2.v.05, sf.23.v.05 [1♀]; coll.2.v.05, sf.25.v.05 [2♀ e 1♂]; coll.18.x.06, sf.15.xi.06 [1♀ e 1♂]; coll.15.xi.06, sf.15.xi.06 [1♀]; coll.15.xi.06, sf.16.xi.06 [1♀]; coll.16.xi.06, sf.22.xi.06 [1♀]; Toscana, Ambra (AR) coll.19.xi.06, sf.22.xi.06 [1♀]; G. Matteucig. *Leonthodon* sp., da uova di *Hauptidia provincialis* ed *Empoasca* sp.: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.17.vi.06, sf.20.vi.06 [7♂ e 10♀]; coll.17.vi.06, sf.24.vi.06 [1♂]; coll.17.vi.06, sf.30.vi.06 [1♂]; coll.14.vii.06, sf.21.vii.06 [1♂ e 1♀]; G. Matteucig. *Lonicera implexa*, da uova di *Typhlocyba ficaria*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.10.i.05, sf.13.i.05 [2♂ e 1♀]; coll.10.i.05, sf.14.i.05 [6♂ e 12♀]; coll.10.i.05, sf.24.i.05 [10♂ e 13♀]; coll.10.i.05, sf.25.i.05 [9♂ e 11♀]; coll.10.i.05, sf.26.i.05 [8♂ e 4♀]; coll.10.i.05, sf.27.i.05 [7♂ e 2♀]; coll.10.i.05, sf.28.i.05 [3♂ e 7♀]; coll.10.i.05, sf.31.i.05 [1♂ e 3♀]; coll.10.i.05, sf.2.ii.05 [1♂ e 1♀]; coll.18.i.05, sf.14.i.05 [2♀]; coll.18.i.05, sf.29.i.05 [4♀]; coll.18.i.05, sf.31.i.05 [1♀]; coll.18.i.05, sf.2.ii.05 [1♀]; coll.18.i.05, sf.3.ii.05 [1♂ e 3♀]; coll.18.i.05, sf.3.ii.05 [3♂]; coll.18.i.05, sf.4.ii.05 [1♀]; coll.25.i.05, sf.31.i.05 [1♀]; coll.25.i.05, sf.1.ii.05 [1♂ e 1♀]; coll.25.i.05, sf.2.ii.05 [1♂]; coll.1.ii.05, sf.2.ii.05 [1♀]; coll.1.ii.05, sf.3.ii.05 [1♀]; coll.16.xii.05, sf.20.xii.05 [2♀]; coll.13.i.06, sf.16.i.06 [1♂]; coll.13.i.06, sf.23.i.06 [2♀]; coll.23.i.06, sf.30.i.06 [3♀]; coll.23.i.06, sf.2.ii.06 [1♂]; coll.29.i.06, sf.3.ii.06 [1♂]; coll.29.i.06, sf.6.ii.06 [1♂ e 1♀]; coll.29.i.06, sf.9.ii.06 [1♂ e 1♀]; coll.29.i.06, sf.15.ii.06 [10♂ e 5♀]; coll.29.i.06, sf.17.ii.06 [1♂ e 5♀]; A. Di Luca. *Mentha* sp., da uova di *Eupteryx zelleri*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.18.x.05, sf.19.x.05 [1♀]; coll.18.x.05, sf.21.x.05 [1♂]; coll.18.x.05, sf.25.x.05 [1♀]; coll.18.x.05, sf.26.x.05 [3♀ e 2♂]; coll.18.x.05, sf.3.xi.05 [1♀];

coll.18.x.05, sf.7.xi.05 [1♂]; coll.18.x.05, sf.8.xi.05 [1♀]; coll.8.xi.05, sf.9.xi.05 [2♀ e 1♂]; coll.8.xi.05, sf.11.xi.05 [1♂]; coll.8.xi.05, sf.14.xi.05 [4♀]; coll.8.xi.05, sf.15.xi.05 [5♀ e 1♂]; coll.12.ix.06, sf.29.ix.06 [1♀]; coll.16.x.06, sf.3.xi.06 [2♀]; coll.16.x.06, sf.6.xi.06 [2♂]; coll.16.x.06, sf.9.xi.06 [1♀ e 1♂]; coll.9.xi.06, sf.15.xi.06 [2♀ e 1♂]; Campania, Pompei (NA), coll.15.xi.05, sf.17.xi.05 [1♀]; coll.15.xi.05, sf.21.xi.05 [1♀]; coll.15.xi.05, sf.24.xi.05 [3♂]; coll.15.xi.05, sf.25.xi.05 [1♀]; coll.25.xi.05, sf.28.xi.05 [1♀ e 3♂]; coll.25.xi.05, sf.1.xii.05 [6♀ e 2♂]; coll.25.xi.05, sf.2.xii.05 [1♀]; coll.25.xi.05, sf.9.xii.05 [1♂]; coll.25.xi.05, sf.13.xii.05 [2♀]; Toscana, Ambra (AR) coll.19.xi.06, sf.22.xi.06 [2♀ e 2♂]; coll.19.xi.06, sf.23.xi.06 [5♂]; coll.19.xi.06, sf.24.xi.06 [1♀ e 1♂]; coll.19.xi.06, sf.28.xi.06 [8♀ e 7♂]; G. Matteucig. *Mirabilis jalapa*, da uova di *Hauptidia*: Lazio, Roma, coll.18.xii.06 [2♀]; E. Di Nocera. *Mirtus communis*, da uova di *Lindbergina aurovittata*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.28.ii.05, sf.8.iii.05 [1♀]; coll.28.ii.05, sf.14.iii.05 [1♀]; coll.10.iii.05, sf.14.iii.05 [1♀]; coll.10.iii.05, sf.16.iii.05 [1♀]; G. Matteucig. *Parietaria* sp., da uova di *Hauptidia provincialis* o *Eupteryx urticae*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.13.vi.05, sf.21.vi.05 [2♂]; G. Matteucig. *Phytolacca decandra*, da uova di *Empoasca* sp.: Portici (NA) Parco Gussone, coll.14.vii.06, sf.22.vii.06 [1♂]; coll.10.ix.06, sf.18.ix.06 [1♀]; coll.15.ix.06, sf.26.ix.06 [1♀]; G. Matteucig. *Quercus ilex*, dati già pubblicati (Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b). *Quercus pubescens*, da uova di *Lindbergina aurovittata*, *Alebra arbostiella*, *Ribautiana alces*, *R. tenerrima*, *Zygina rorida*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.9.ii.04, sf.11.ii.04 [3♀]; coll.9.ii.04, sf.22.ii.04 [1♂]; coll.27.vii.06, sf.28.vii.06 [1♀]; A. Di Luca. *Rubus ulmifolius*, dati già pubblicati (Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b). *Salvia officinalis*, da uova di *Eupteryx decemnotata*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.2.v.06, sf.12.v.06 [4♀]; coll.2.vii.07, sf.9.vii.07 [18♀ e 1♂]; G. Matteucig.

Scrophularia peregrina, da uova di *Hauptidia provincialis*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.26.iv.05, sf.3.v.05 [1♀]; coll.5.v.05, sf.10.v.05 [2♀]; coll.7.v.05, sf.12.v.05 [1♀]; coll.12.v.05, sf.16.v.05 [2♀ e 1♂]; coll.12.v.05, sf.17.v.05 [1♀]; coll.16.vi.05, sf.27.vi.05 [5♀ e 1♂]; coll.3.xi.05, sf.9.xi.05 [1♀]; coll.3.xi.05, sf.17.xi.05 [1♀]; coll.5.v.06, sf.11.v.06 [2♀]; coll.5.v.06, sf.30.v.06 [8♀ e 2♂]; coll.11.v.06, sf.22.v.06 [22♀ e 13♂]; coll.16.v.06, sf.18.v.06 [10♀ e 3♂]; G. Matteucig. *Silene album*, da uova di *Hauptidia provincialis* o *Empoasca* sp.: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.14.vii.05, sf.22.vii.05 [1♀]; coll.3.xi.05, sf.11.xi.05 [2♀]; coll.4.xi.05, sf.7.xi.05 [1♀ e 1♂]; coll.4.xi.05, sf.9.xi.05 [1♀]; coll.4.ix.06, sf.8.ix.06 [1♀]; coll.4.ix.06, sf.10.ix.06 [1♀]; coll.4.ix.06, sf.12.ix.06 [1♀ e 1♂]; coll.4.ix.06, sf.14.ix.06 [2♂]; coll.4.ix.06, sf.18.ix.06 [3♀ e 1♂]; coll.4.ix.06, sf.28.ix.06 [1♀ e 1♂]; G. Matteucig. *Solanum esculentum*, da uova di *Hauptidia provincialis* o *Empoasca* sp.: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.19.v.05, sf.22.v.05 [1♀]; coll.19.v.05, sf.23.v.05 [1♀ e 1♂]; coll.25.v.05, sf.1.vi.05 [8♀ e 12♂]; coll.25.v.05, sf.7.vi.05 [1♂]; coll.6.vi.05, sf.13.vi.05 [1♀ e 4♂]; coll.10.vi.05, sf.15.vi.05 [1♀]; coll.10.vi.05, sf.16.vi.05 [5♀ e 3♂]; coll.10.vi.05, sf.23.vi.05 [1♂]; coll.11.vi.05, sf.15.vi.05 [1♀]; coll.17.vi.05, sf.21.vi.05 [4♀]; coll.17.vi.05, sf.24.vi.05 [1♀ e 4♂]; coll.19.vi.05, sf.24.vi.05 [1♀ e 1♂]; coll.17.vi.05, sf.27.vi.05 [2♀]; coll.30.vi.05, sf.4.vii.05 [5♀ e 6♂]; coll.7.vii.05, sf.8.vii.05 [1♀]; coll.7.vii.05, sf.11.vii.05 [1♀]; coll.6.vi.06, sf.12.vi.06 [5♀ e 2♂]; coll.21.vi.06, sf.29.vi.06 [1♀]; coll.12.x.06, sf.28.xi.06 [1♂]; G. Matteucig. *Sorbus* sp., da uova di *Zygina* sp.: Campania, Licusati (SA), coll.2.xi.05, sf.11.xi.05 [1♀]; A. Di Luca. *Ulmus minor*, da uova di *Edwardsiana* spp., *Empoasca* sp., *Ribautiana cruciata*, *R. tenerrima*: Campania, Camerota (SA), coll.16.vii.06, sf.24.vii.06 [1♀]; coll.viii.06, sf.20.ix.06 [1♀]; coll.21.x.06 [1♀]; coll.13.v.07, sf.21.v.07 [1♀]; coll.27.v.07, sf.3.vi.07 [1♀];

Pontecagnano (SA), coll.10.ix.06 [1♀]; A. Di Luca. Abruzzo, Castel di Sangro (AQ), coll.4.xi.06 [1♀]; R. Jesu. *Urtica dioica* da uova di *Hauptidia provincialis* o *Eupteryx urticae*: Campania, Portici (NA) Parco Gussone, coll.8.v.05, sf.12.v.05 [1♂]; coll.11.v.05, sf.16.v.05 [1♀]; coll.15.v.05, sf.19.v.05 [1♀]; G. Matteucig. *Vitis vinifera*, dati già pubblicati (Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b).

Nella tabella 5 sono riassunti in breve il numero totale di individui raccolti sulle diverse essenze vegetali, divisi per sesso, con relativo rapporto tra maschi e femmine.

Pianta	N°ind. tot.	N°ind. ♀	N°ind. ♂	Rapp. ♂:♀	Alcool 75%	Alcool 75% -20°C
<i>Acanthus mollis</i>	1	1	0	0:1	1	0
<i>Conyza</i> sp.	3	3	0	0:3	3	0
<i>Delphinium</i> sp.	1	1	0	0:1	1	0
<i>Ficus carica</i>	96	88	8	1:11	83	13
<i>Fumaria officinalis</i>	2	1	1	1:1	2	0
<i>Galium</i> sp.	4	3	1	1:3	4	0
<i>Geranium mollis</i>	8	7	1	1:7	8	0
<i>Leonthodon</i> sp.	19	11	8	1:1,4	19	0
<i>Lonicera implexa</i>	157	94	63	1:1,5	78	79
<i>Mentha</i> sp.	59	31	28	1:1,1	36	13
<i>Mirabilis jalapa</i>	2	2	0	0:2	2	0
<i>Myrtus communis</i>	8	8	0	0:8	4	4
<i>Parietaria</i> spp.	2	2	0	0:2	2	0
<i>Phytolacca decandra</i>	3	2	1	1:2	3	0
<i>Quercus ilex</i>	66	66	0	0:66	19	37
<i>Quercus pubescens</i>	5	4	1	1:4	1	4
<i>Rubus ulmifolius</i>	47	21	26	1:0,8	32	15
<i>Salvia officinalis</i>	23	22	1	1:22	23	0
<i>Scophularia peregrina</i>	76	56	20	1:2,8	63	13
<i>Silene album</i>	19	11	8	1:1,6	18	1
<i>Solanum esculentum</i>	74	39	35	1:1,1	72	2
<i>Sorbus</i> sp.	1	1	0	0:1	1	0
<i>Ulmus minor</i>	5	5	0	0:5	5	0
<i>Urtica dioica</i>	3	2	1	1:2	3	0
<i>Vitis vinifera</i>	25	14	11	1:1,3	13	12

Tabella 5. Numero di individui totali di *Anagrus* raccolti e stoccati con relativo rapporto tra i sessi sulle diverse essenze vegetali

Dai dati raccolti emerge che negli ambienti dell'Italia Meridionale vi sono condizioni favorevoli (clima, ospiti alternativi su diverse piante ospiti) per il mantenimento delle popolazioni di *Anagrus* durante il periodo autunno-invernale (Viggiani *et al.*, 2003) e per la loro dispersione nelle colture nel periodo primaverile-estivo (tabella 6).

Pianta	G	F	M	A	M	G	L	A	S	O	N	D
<i>Acanthus mollis</i>									•			
<i>Conyza</i> sp.		•	•	•						•	•	
<i>Delphinium</i> sp.			•									
<i>Ficus carica</i>						•	•	•	•	•	•	
<i>Fumaria officinalis</i>	•	•										
<i>Galium</i> sp.	•	•	•								•	•
<i>Geranium mollis</i>	•				•	•				•	•	•
<i>Leontodon</i> sp.					•	•	•					
<i>Lonicera implexa</i>	•	•										•
<i>Mentha</i> sp.										•	•	•
<i>Mirabilis jalapa</i>												•
<i>Myrtus communis</i>		•	•	•								
<i>Parietaria</i> spp.					•	•						
<i>Phytolacca decandra</i>							•	•	•			
<i>Quercus ilex</i>		•	•	•								
<i>Quercus pubescens</i>					•	•	•		•	•		
<i>Rubus ulmifolius</i>	•	•	•	•	•							•
<i>Salvia officinalis</i>					•	•	•					
<i>Scrophularia peregrina</i>				•	•	•				•	•	
<i>Silene album</i>	•				•	•	•			•	•	•
<i>Solanum esculentum</i>					•	•	•			•	•	
<i>Sorbus</i> sp.											•	
<i>Ulmus minor</i>							•	•	•			
<i>Urtica dioica</i>					•	•						
<i>Vitis vinifera</i>					•	•						

Tabella 6. Presenza degli *Anagrus* sulle diverse essenze vegetali lungo l'intero arco dell'anno

Identificazione delle cicaline

Dall'identificazione delle cicaline ottenute dagli stadi preimmaginali su diverse essenze vegetali sono emersi una serie di ospiti afferenti a diversi generi di cicadellidi come è possibile osservare nella tabella 7.

PIANTA	CICALINA
<i>Acanthus mollis</i>	<i>Empoasca</i> sp.
<i>Conyza</i> sp.	<i>Empoasca</i> sp. - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Delphinium</i> sp.	<i>Empoasca</i> sp. - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Ficus carica</i>	<i>Typhlocyba ficaria</i>
<i>Felix arborea</i>	<i>Eupteryx filicum</i>
<i>Fumaria</i> sp.	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Galium</i> sp.	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Geranium mollis</i>	<i>Empoasca</i> sp. - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Leonthodon</i> sp.	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Lonicera implexa</i>	<i>Typhlocyba ficaria</i>
<i>Mentha</i> sp.	<i>Eupteryx zelleri</i>
<i>Mirabilis jalapa</i>	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Myrtus communis</i>	<i>Lindbergina aurovittata</i>
<i>Ocium basilicum</i>	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Parietaria</i> spp.	<i>Eupteryx urticae</i> - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Phytolacca decandra</i>	<i>Empoasca</i> sp.
<i>Quercus ilex</i>	<i>Lindbergina aurovittata</i> - <i>Alebra arbostiella</i>
<i>Quercus pubescens</i>	<i>Lindbergina aurovittata</i> - <i>Alebra arbostiella</i> <i>Ribautiana alces</i> - <i>R. tenerrima</i> <i>Zygina rorida</i>
<i>Rubus ulmifolius</i>	<i>Arboridia parvula</i> - <i>Edwardsiana diversa</i> <i>E. rosae</i> - <i>Empoasca</i> spp. - <i>Lindbergina aurovittata</i> - <i>Ribautiana cruciata</i> - <i>R. debilis</i> <i>R. tenerrima</i> - <i>Zygina flammigera</i> - <i>Z. rhamni</i>
<i>Salvia officinalis</i>	<i>Eupteryx decemnotata</i>
<i>Scrophularia peregrina</i>	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Silene album</i>	<i>Empoasca</i> sp. - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Solanum esculentum</i>	<i>Empoasca</i> sp. - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Sorbus</i> sp.	<i>Zygina</i> sp.
<i>Taraxum officinalis</i>	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Ulmus minor</i>	<i>Edwardsiana rosae</i> - <i>Empoasca</i> sp. <i>Lindbergina aurovittata</i> - <i>Ribautiana cruciata</i> <i>R. tenerrima</i>
<i>Urtica dioica</i>	<i>Eupteryx urticae</i> - <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Valerianella locusta</i>	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Vitis vinifera</i>	<i>Cicadella viridis</i> - <i>Empoasca vitis</i> <i>Zygina rhamni</i> - <i>Z. flammigera</i>

Tabella 7. Cicaline identificate sulle diverse essenze vegetali

Alcune cicaline sono risultate strettamente correlate alla pianta ospite, come ad esempio le cicaline del genere *Eupteryx* Curtis su felce, menta, ortica, parietaria e salvia. La *Typhlocyba ficaria* Horváth ha presentato

dioicia obbligata, essendo infeudata sul fico nel periodo estivo – autunnale e sulla lonicera nel periodo invernale (Vidano, 1960). Altre cicaline sono risultate oligofaghe come ad esempio le cicaline del genere *Edwardsiana* Zachvatkin, *Lindbergina* Dlabola, *Ribautiana* Zachvatkin e *Zygina* Fieber su leccio, roverella, rovo e vite. Molto polifaghe sono risultate infine le cicaline del genere *Empoasca* Walsh e *Hauptidia* Dworakowska. In particolar modo è emerso che l'*Hauptidia provincialis* (Ribaut) è ampiamente insediata su diverse piante erbacee spontanee afferenti ai generi *Conyza*, *Fumaria*, *Galium*, *Geranium*, *Leonthodon*, *Mirabilis*, *Ocium*, *Parietaria*, *Scrophularia*, *Silene*, *Solanum*, *Taraxum*, *Urtica* e *Valerianella* molto diffuse nei nostri ambienti (Matteucig & Viggiani, 2007). Essa è in grado di svolgere attività riproduttiva pressoché continua nel corso dell'anno, utilizzando vari ospiti, che abbandona in genere dalla fase di prefioritura (Tabella 8). Da questo si deduce che l'*H. provincialis* svolge un ruolo ecologico importante, quale ospite alternativo molto comune di *Anagrus* anche nel periodo autunno – invernale.

Famiglia	Pianta	G	F	M	A	M	G	L	A	S	O	N	D
Asteraceae	<i>Conyza</i> spp.		x	x	x						x	x	
	<i>Leonthodon</i> sp.				x	x	x	x	x				
	<i>Taraxum officinale</i>		x	x	x	x	x	x		x	x	x	
Fumariaceae	<i>Fumaria</i> sp.		x									x	
Rubiaceae	<i>Galium</i> spp.	x	x	x	x								x
Geraniaceae	<i>Geranium mollis</i>	x	x		x	x	x			x	x	x	x
Solanaceae	<i>Solanum esculentum</i>						x	x			x	x	
Lamiaceae	<i>Ocium basilicum</i>					x	x	x	x	x			
Nyctaginaceae	<i>Mirabilis jalapa</i>								x	x	x		
Urticaceae	<i>Parietaria</i> spp.		x	x		x	x	x			x	x	
	<i>Urtica</i> spp.		x	x			x						
Scrophulariaceae	<i>Scrophularia peregrina</i>					x	x	x			x	x	
Caryophyllaceae	<i>Silene</i> spp.	x				x	x			x	x	x	x
Valerianaceae	<i>Valerianella locusta</i>				x	x	x				x	x	

Tabella 8. Fenologia dell'*H. provincialis* nel corso dell'anno sulle diverse piante ospiti

Identificazione degli Anagrus

Dalle uova delle cicaline infestanti differenti essenze vegetali sono stati ottenuti diversi individui di *Anagrus* del gruppo *atomus*. Le popolazioni di questi parassitoidi sono state attribuite per la maggior parte ad *A. atomus* e *A. ustulatus*. In alcuni casi l'identificazione è stata impossibile per la presenza di alcuni individui con caratteristiche intermedie, vale a dire individui che presentavano contemporaneamente un'antenna di tipo “*atomus*” ed una di tipo “*ustulatus*”. Il rapporto tra il numero degli individui delle due specie ottenuto è risultato molto variabile in relazione alle diverse essenze vegetali e uova ospiti (tabella 9).

Pianta	n° vetr.	<i>A. atomus</i>	<i>A. ustulatus</i>	Ospiti
<i>Ficus carica</i>	30	93%	7%	<i>Typhlocyba ficaria</i>
<i>Geranium mollis</i>	7	43%	57%	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Leonthodon sp.</i>	12	58%	42%	<i>Empoasca sp.</i> <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Lonicera implexa</i>	30	90%	10%	<i>Typhlocyba ficaria</i>
<i>Mentha sp.</i>	63	0%	100%	<i>Eupteryx zelleri</i>
<i>Mirtus communis</i>	8	0%	100%	<i>Lindbergina aurovittata</i>
<i>Rubus ulmifolius</i>	68	25%	75%	<i>Arboridia parvula</i> <i>Edwardsiana diversa</i> <i>Edwardsiana rosae</i> <i>Empoasca spp.</i> <i>Lindbergina aurovittata</i> <i>Ribautiana cruciata</i> <i>Ribautiana debilis</i> <i>Ribautiana tenerrima</i> <i>Zygina flammigera</i> <i>Zygina rhamni</i>
<i>Salvia officinalis</i>	22	100%	0%	<i>Eupteryx decemnotata</i>
<i>Scrophularia peregrina</i>	21	22%	78%	<i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Silene album</i>	9	44%	56%	<i>Empoasca sp.</i> <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Solanum esculentum</i>	20	45%	55%	<i>Empoasca sp.</i> <i>Hauptidia provincialis</i>
<i>Ulmus sp.</i>	6	0%	100%	<i>Edwardsiana spp.</i> <i>Empoasca sp.</i> <i>Ribautiana cruciata</i> <i>Ribautiana tenerrima</i>
<i>Vitis vinifera</i>	21	8%	92%	<i>Cicadella viridis</i> <i>Empoasca vitis</i> <i>Zygina rhamni</i> <i>Zygina flammigera</i>

Tabella 9. Presenza in percentuale di *A. atomus* e *A. ustulatus* su diverse piante con relativi ospiti

6. Discussioni e conclusioni

La gestione delle aree marginali incolte e/o delle siepi al fine di favorire il controllo materiale delle cicaline del vigneto per l'attività di ooparassitoidi del genere *Anagrus*, è stata posta in evidenza da vari autori (Doutt & Nakata 1965, 1973; Cerutti *et al.*, 1991; Kido *et al.* 1984; Murphy *et al.*, 1996 e 1998; Pickett *et al.* 1990; Ponti *et al.*, 2003 e 2005; Viggiani *et al.*, 2003; Williams, 1984; Wilson *et al.*, 1989).

Tra le piante indicate quali possibili “serbatoi” di uova di cicalina da parassitizzare, soprattutto durante il periodo invernale sono state indicate le specie del genere, *Lonicera*, *Quercus*, *Rosa*, *Rubus* e *Ulmus*. Altro aspetto considerato è la consociazione con piante produttrici di fiori-nettare all'interno delle coltivazioni (English-Loeb *et al.*, 2003).

Sulla base di queste conoscenze, nel 2002, è cominciato nel Sud Italia uno studio incentrato sulle interrelazioni vigneto, cicaline, ooparassitoidi e loro ospiti alternativi. Dalle ricerche sulle popolazioni di *Anagrus* in rapporto alle cicaline della vite e del rovo in Campania è emerso che le specie di *Anagrus* ottenute erano da attribuirsi ad *A. atomus* e *A. ustulatus*, ed in rapporto variabile alle cicaline ospiti e al tempo di raccolta (Viggiani, 2003; Viggiani & Jesu, 2003; Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b).

Tenendo conto di questi risultati si è proseguito lo screening su diverse essenze vegetali spontanee nei nostri ambienti al fine di identificare nell'arco dell'anno quali fossero gli ospiti alternativi delle popolazioni di *Anagrus*, e soprattutto in che modo variasse il rapporto tra le specie fin ora attribuite al gruppo *atomus*.

In questo triennio oggetto di tesi sono state raccolte e campionate circa 30 diverse essenze arboree ed erbacee, sia coltivate che spontanee, dalle quali sono state identificate, partendo dagli stadi preimmaginali, 21 specie di cicaline afferenti ad 11 generi (*Arboridia*, *Alebra*, *Cicadella*,

Edwardsiana, Empoasca, Eupteryx, Hauptidia, Lindbergina, Ribautiana, Typhlocyba, Zygina).

Allo stesso modo di quanto riscontrato in passato nel nord Italia (Arnò *et al.*, 1987), nel centro Italia (Ponti *et al.*, 2003, 2005) e nel sud Italia (Viggiani, 2003; Viggiani & Jesu, 2003; Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b), in tutte le aree oggetto di studio in questa tesi, le popolazioni di *Anagrus* raccolte dalle uova di cicaline parassitizzate sono risultate essere appartenenti al gruppo *atomus*. In accordo alla recente revisione tassonomica delle specie di *Anagrus* (Graham, 1982; Chiappini, 1989; Chiappini *et al.*, 1996) esse sono state attribuite ad *A. atomus* e *A. ustulatus*.

A tal riguardo va chiarito che molti dati presenti in letteratura, a seguito della nuova classificazione tassonomica, molto spesso sono riferiti a diverse specie. Basti pensare, per esempio, al solo caso di *A. epos* Girault che per lungo tempo era considerato unico ooparassitoide di diverse cicaline della vite nel nord America, in realtà è risultato essere un complesso di almeno cinque nuove differenti specie (Triapitsyn, 1998).

Va precisato che alcuni degli esemplari raccolti dalle uova delle cicaline studiate hanno mostrato caratteristiche intermedie tra le due specie del gruppo *atomus* sopra dette, per cui non è stata possibile la loro discriminazione specifica, come d'altronde già era affiorato in altri ambienti (Carnius & Pavan, 2007; Chiappini, 1987). A tal riguardo anche l'esame morfometrico tra *A. atomus* e *A. ustulatus* ha messo in luce che alcuni rapporti, presi come riferimento per la discriminazione specifica (Chiappini & Curto, 1988; Chiappini *et al.*, 1996), andrebbero, se non altro, rivisti.

Entrambe le specie sono risultate, nella maggior parte dei casi, essere ooparassitoidi della medesima cicalina o di un complesso di cicaline ospiti, seppur in percentuale diversa. Fanno eccezione a quanto detto gli individui ottenuti da *Eupteryx zelleri* Kirschbaum su *Mentha* sp. e *Eupteryx*

decemnotata Rey su *Salvia officinalis*, dove sono sfarfallati solo individui appartenenti rispettivamente ad *A. ustulatus* e *A. atomus*.

Allo stesso modo che nei nostri ambienti, in Nuova Zelanda, *A. atomus* e *A. ustulatus* sono stati ottenuti contemporaneamente da uova parassitizzate di *Edwardsiana crateagi* (Douglas) su melo e *Ribautiana tenerrima* (Herrich-Schäffer) su varie specie del genere *Rubus* (Triapitsyn, 2001; Triapitsyn e Teulon, 2002).

A. ustulatus è segnalato in Italia, consociato quasi sempre ad *A. atomus*, come ooparassitoide di *Edwardsiana rosae* Linnaeus su rovo (Chiappini, 1987), *Lindbergina aurovittata* (Douglas) e *Zygina rorida* (Mulsant & Rey) su leccio (Viggiani, 2003), *Empoasca vitis* (Goëthe) e *Zygina rhamni* Ferrari su rovo (Pavan, 2000; Viggiani 2003) e dal complesso di cicaline infeudate sul rovo (*Empoasca*, *Edwardsiana*, *Lindbergina*, *Ribautiana*, *Zygina*) e vite (*E. vitis* e *Z. rhamni*) (Viggiani *et al.*, 2004a, 2004b).

A. atomus, specie fino a qualche anno fa considerata paleartica, ma recentemente segnalata anche in altre regioni geografiche ed in America, è indicata come ooparassitoide su cicaline dei generi *Arboridia* (Hesami *et al.*, 2004), *Empoasca* (Bünger *et al.*, 2002; de Courcy Williams & Gill, 1996), *Dikrella*, *Edwardsiana* e *Typhlocyba* (Triapitsyn, 1998).

Per ciò che concerne l'*A. ustulatus* è interessante notare come esso sia risultato morfologicamente indistinguibile dalla specie nearctica *A. erythroneurae* Triapitsyn & Chiappini (1994), ritenuta una dei più comuni ooparassitoidi delle due maggiori cicaline della vite, *Erythroneura elegantula* Osborn e *E. variabilis* Beamer, in California ed in Messico (Triapitsyn, 1998), nello stato di New York (Williams e Martinson, 2000) e in Colorado (Zimmerman *et al.*, 1996), nonché sulle cicaline della vite, rovo, rosa selvatica, *E. elegantula* e *E. ziczac* Walsh nello Stato di Washington (Prischmann *et al.*, 2007). *A. erythroneurae* inoltre è stato

segnalato anche come ooparassitoide di diverse specie del genere *Dikrella* Osborn su rovo e *Typhlocyba pomaria* McAtee su melo (Triapitsyn 1998).

Tuttavia i dati molecolari, specialmente quelli relativi all'indagine sul gene parziale della Citocromo Ossidasi I, sembrerebbero riscontrare qualche differenza genetica tra *A. ustulatus* e *A. erythroneurae*, anche se è da notare che l'intervallo di divergenza percentuale intraspecifica delle due specie non si discosta molto da quello interspecifico. Questo potrebbe tutt'al più far considerare queste due entità come specie criptiche. Sempre dalle indagini molecolari è risultato che l'*A. ustulatus* neozelandese sia molto più affine all'*A. erythroneurae* americano, che non l'*A. ustulatus* europeo.

L'enorme difficoltà nel discriminare su base morfologica soprattutto i maschi di queste popolazioni del gruppo *atomus* è testimoniato dal fatto che nuove tecniche vengano applicate al loro studio. Attualmente, al fine di identificare correttamente le specie del gruppo *atomus*, sono in corso studi sull'analisi degli idrocarburi cuticolari (Floreani *et al.*, 2006) e sui profili enzimatici elettroforetici (Cargnus & Pavan, 2007).

Le differenze molecolari e morfometriche riscontrate tra *A. atomus* e *A. ustulatus* confermano la possibile discriminazione tradizionale, ma non chiariscono definitivamente se quest'ultime distinguano due entità specifiche.

Il confronto tra *A. ustulatus* e *A. erythroneurae* ha messo in evidenza l'impossibilità della discriminazione tassonomica tradizionale tra queste entità, sebbene si siano riscontrate lievi differenze a livello molecolare. Ciò porta attualmente a considerare l'*A. ustulatus* e l'*A. erythroneurae* eventuali specie criptiche.

Il definitivo *status* delle "specie" precedentemente indicate potrà essere definito solo dopo saggi biologici (accoppiamento incrociato - riproduzione su vari ospiti) abbinato agli studi morfologici e molecolari.

Per ciò che concerne lo svernamento delle popolazioni di *Anagrus*, vari autori hanno segnalato che questi ooparassitoidi svernano allo stato giovanile nelle uova degli ospiti (Cerutti *et al.*, 1989; Bosco & Arzone, 1991; Boivin, 1994; Doult & Nakata, 1965; Prischmann *et al.*, 2007; Williams & Martinson, 2000). Tuttavia le ricerche condotte in questo triennio, in accordo con quanto già riscontrato da Viggiani *et al.* (2003) nel Meridione d'Italia, hanno mostrato che *A. atomus* e *A. ustulatus* sono specie omodiname, essendo presenti sia allo stadio d'adulto che nelle forme preimmaginali, su varie uova di cicaline e diverse essenze vegetali, lungo l'intero arco dell'anno con solo qualche rallentamento della riproduzione nei periodi climatici più rigidi.

In conclusione è emerso che gli *Anagrus* del gruppo *atomus* (Linnaeus), ottenuti nelle aree indagate, sono risultati presenti lungo tutto l'arco dell'anno su diversi ospiti ed essenze vegetali e che il rapporto tra le popolazioni di *A. atomus* e di *A. ustulatus* varia notevolmente in relazione alla pianta ed agli ospiti parassitizzati. Questa situazione potrebbe spiegare la quasi generale mancanza di infestazioni di cicaline nei vigneti del sud Italia.

Riferimenti bibliografici

- AGBOKA K., TOUNOU A. K., AL-MOAALEM R., POEHLING H. M., RAUPACH K., BORGEMEISTER C. – 2004 – Life-table study of *Anagrus atomus*, an egg parasitoid of the green leafhopper *Empoasca decipiens*, at four different temperatures. *BioControl* 49: 261-275.
- AGBOKA K., TOUNOU A. K., POEHLING H. M., RAUPACH K., BORGEMEISTER C. – 2003 – Searching and Oviposition Behavior of *Anagrus atomus* L. (Hymenoptera: Mymaridae) on Four Host Plants of Its Host, the Green Leafhopper *Empoasca decipiens* Paoli (Homoptera: Cicadellidae). *Journal of Insects Behavior*, 16(5): 667-678.
- ALTIERI M. A. – 2004 – Biodiversity and Pest Management in Agroecosystem. *Haworth press*, New York, 185 pp.
- ALTIERI M. A., PONTI L., NICHOLLS C. I. – 2006 – Optimising key ecological processes in California vineyards through plant diversification. *Leisa* 22: 9-11.
- AL-WAHAIBI A. K., WALKER G. P. – 2000a – Searching and oviposition behavior of a mymarid egg parasitoid, *Anagrus nigriventris* on five host plant species of its leafhopper host, *Circulifer tenellus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96: 9-25.
- AL-WAHAIBI A. K., WALKER G. P. – 2000b – Oviposition behavior of *Anagrus nigriventris*, an egg parasitoid of beet leafhopper, *Circulifer tenellus*. *BioControl* 45:139-153.
- ANTOLIN M. F., STRONG D. R. – 1987 – Long distance dispersal by a parasitoids (*Anagrus delicatus*, Mymaridae) and its host. *Oecologia* 73: 288-292.
- ARNÒ C., ALMA A., ARZONE A. – 1987 – *Anagrus atomus* as egg parasite of Typhlocybinae (Rhynchota: Auchenorrhyncha). In: *Proceedings of the 6th Auchenorrhyncha Meeting*; 7–11 September 1987; Turin, Italy; 611-615.
- BAAYEN R. P., BONANTS P. J. M., VERKLEY G., CARROLL G. C., VAN DER AA H. A., DE WEERDT M., VAN BROUWERSHAVEN I. R., SCHUTTE G. C., MACCHERONI W., GLIENKE DE BLANCO C., AZEVEDO J. L. – 2002 – Nonpathogenic isolates of the citrus black spot fungus, *Guignardia citricarpa*, identified as a cosmopolitan endophyte of woody plants, *G. mangiferae* (*Phyllosticta capitalensis*) – *Phytopath.* 92: 464-477.
- BAKKENDORF O. – 1926 – Recherches sur la Biologie de l'*Anagrus Incarnatus* Haliday, *Annales de Biologie Lacustre*, 14, 249-270.
- BAKKENDORF O. – 1933 – Biological investigations on some Danish hymenopterous egg-parasitoids, especially in homopterous eggs, with taxonomic remarks and descriptions of new species. *Entomologische Mededlingen* 19, 1– 134.
- BAKKENDORF O. – 1962 – Descriptions of a new subterranean genus of Mymaridae (Hymen.), *Schweizerische Entomologische Gesellschaft, Mitteilungen*, 34 (4), 372-376.
- BÖLL S., HERRMANN J. V. – 2004 – A long-term study on the population dynamics of the grape leafhopper (*Empoasca vitis*) and antagonistic mymarid species. *Journal of Pest Science*, 77(1): 33-42.
- BORGHUIS A., PINTO J. D., PLATNER G. R., STOUTHAMER R. – 2004 – Partial cytochrome oxidase II sequences distinguish the sibling species *Trichogramma minutum* Riley and *Trichogramma platneri* Nagarkatti. *Biol. Control* 30: 90-94.
- BOIVIN G. – 1994 – Overwintering strategies of eggs parasitoids. In: E. Wajmberg and S. A. Hassan (eds.). Biological control with eggs parasitoids. *CAB International*, Wallingford, England: 219-244.
- BOSCO D., ARZONE A. – 1991 – Indagini sui parassitoidi oofagi di *Lindbergina*

- aurovittata* (Douglas) e *L. spoliata* (Horv rth) (Homoptera: Auchenorrhyncha). *Redia*, 74 (1) : 147-162.
- B NGER I., LIEBIG H.-P., ZEBITZ C. P. W. – 2002 – The biological control of the cotton leafhopper *Empoasca decipiens* Paoli (Homoptera: Cicadellidae) in greenhouse grown cucumbers (*Cucumis sativus* L.). *Gesunde Pflanzen* 54: 105-110.
- CARNIUS E., PAVAN F. – 2007 – Potenzialit  dell’elettroforesi enzimatica nello studio tassonomico di *Anagrus* gruppo *atomus* (Hymenoptera: Mymaridae) in agroecosistemi campani. *XXI CNIE*, Campobasso, 11-16 Giugno 2007.
- CATE J. R. – 1975 – Ecology of *Erythroneura elegantula* Osborn (Homoptera: Cicadellidae) in grape ecosystems in California. *Ph.D. dissertation*, University of California, Berkeley, CA..
- CERUTTI F., BAUMG RTNER J., DELUCCHI V. – 1991 – The dynamics of grape leafhopper *Empoasca vitis* G ethe populations in southern Switzerland and the implications for habitat management. *Biocontrol Sci. Techn.* 1: 177–194.
- CERUTTI F., DELUCCHI V., BAUMG RTNER J., RUBLI D. – 1989 – Research of the grapevine ecosystem in Ticino: II Colonisation of grapevines by the cicadellid *E. vitis* G ethe and of its parasitoid *A. atomus* Haliday and the importance of the surrounding flora. 2 *Mitteilungen der Schw. Entom. Gesellschaft* 62 (324): 2532267.
- CHIAPPINI E. – 1987 – Ricerche sulla variabilit  di *Anagrus atomus* (L.) (Hymenoptera Mymaridae) e di una specie affine presente sul rovo. *Boll. Zool. Agr. Bachic., Ser. II* (1986-1987), 19: 71-97.
- CHIAPPINI E. – 1989 – Review of the European species of the genus *Anagrus* Haliday (Hymenoptera Chalcidoidea), *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, Serie II, 21, 85-119.
- CHIAPPINI E., CURTO O. – 1988 – Biosystematics and morphometry of some Italian species of *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae). *In: Advances in parasitic Hymenoptera research: Proceedings of the II Conference on the Taxonomy and Biology of Parasitic Hymenoptera*, held at the University of Florida, Gainesville, Florida, 19-21 November 1987. *E. J. Brill, Leiden, New York*: 65-77.
- CHIAPPINI E., MAZZONI E. – 2000 – Differing morphology and ultrastructure of the male copulatory apparatus in species-groups of *Anagrus* Haliday (Hymenoptera: Mymaridae). *J. Nat. Hist.* 34: 1661–1676.
- CHIAPPINI E., TRIAPITSYN, S. V. – 2007 – Neotype designation for *Anagrus atomus* (Linnaeus) (Hymenoptera: Mymaridae) – *J. Hym. Res.* 16 (1): 1-6.
- CHIAPPINI E., TRIAPITSYN, S. V., DONEV, A. – 1996 – Key to the Holarctic species of *Anagrus* Haliday (Hymenoptera: Mymaridae) with a review of the Nearctic and Palaearctic (other than European) species and descriptions of new taxa. – *J. Nat. Hist.* 30 (4): 551-595.
- CLAUSEN C. P. – 1940 – *Entomophagous Insect*. McGraw-Hill Book Co, New York.
- CONE W. W., WRIGHT L. C., CONANT M. M. – 1990 – Management of insect pest populations in a developing, cool-climate grape industry, pp. 27-43. *In* Bostanian N. J., Wilson L. T., Dennehy T. J. [eds.], *Monitoring and integrated management of arthropod pests of small fruit crops*. Intercept, Andover, United Kingdom.
- CORBETT A., ROSENHEIM J. A. – 1996 – Quantifying movement of a minute parasitoid, *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), using fluorescent dust marking and recapture. *Biol. Control*, 6: 35-44.
- CHOUDHURY D. A. M., COPLAND M. J. W. – 2003 – Influence of Plant Structural Complexity on the Searching Behaviour of the Egg Parasitoid *Anagrus atomus* (Linnaeus) (Hymenoptera: Mymaridae). *Pakistan Journal of Biological Sciences* 6 (5): 455-460.

- CRONIN J. T., STRONG D. R. – 1990 – Biology of *Anagrus delicatus* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Prokelisia marginata* (Homoptera: Delphacidae). *Annals of the Entomological Society of America* 83, 846–854.
- DEBAUCHE H. R. – 1948 – Étude sur les Mymarommidae et les Mymaridae de la Belgique (Hymenoptera-Chalcidoidea). *Mem. Mus. His. Nat. Belg.* 108: 1-248.
- DE COURCY WILLIAMS M., GILL G. – 1996 – Evaluation of pesticides for side effects on the leafhopper parasitoid *Anagrus atomus* with particular reference to protected crops. *Tests Agrochemicals Cultivars* 17: 98-99. Supplement to *Ann. Appl. Biol.* 128.
- DE LEÓN J. H., FOURNIER V., HAGLER J. R., DAANE K. M. – 2006a – Development of molecular diagnostic markers for sharpshooters *Homalodisca coagulata* and *H. liturata* for use in predator gut content examinations. *Entomol. Experim. Appl.* 119: 109-119.
- DE LEÓN J. H., JONES W. A. – 2004 – Detection of DNA polymorphisms in *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae) by Polymerase Chain Reaction-based DNA fingerprinting methods. – *Ann. Entomol. Soc. America* 97 (3): 574-585.
- DE LEÓN J. H., JONES W. A. – 2005 – Genetic differentiation among geographic populations of *Gonatocerus ashmeadi* (Hymenoptera: Mymaridae), the predominant egg parasitoid of *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). – *J. Insect Sci.* 5:2: 9 pp.
- DE LEÓN J. H., MORGAN D. J. W. – 2007 – Evaluation of molecular markers for discriminating *Gonatocerus morrilli* (Hymenoptera: Mymaridae): A biological control agent for *Homalodisca vitripennis*. – *Ann. Entomol. Soc. America* 100 (5): 749-757.
- DE LEÓN J. H., JONES W. A., MORGAN D. J. W. – 2004 – Molecular distinction between populations of *Gonatocerus morrilli*, egg parasitoids of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata*, from Texas and California: Do cryptic species exist? – *J. Insect Sci.* 4:39: 7 pp.
- DE LEÓN J. H., LOGARZO G. A., TRIAPITSYN S. V. – 2007 – Molecular characterization of *Gonatocerus tuberculifemur* (Ogloblin) (Hymenoptera: Mymaridae), a prospective *Homalodisca vitripennis* (Germar) (Homoptera: Cicadellidae) biological control candidate agent from South America: Divergent clades. *Bull. Entomol. Res.*
- DE LEÓN J. H., JONES W. A., SÉTAMOU M., MORGAN D. J. W. – 2006b – Genetic and hybridization evidence confirms that a geographic population of *Gonatocerus morrilli* (Hymenoptera: Mymaridae) from California is a new species: Egg parasitoids of the glassy-winged sharpshooter *Homalodisca coagulata* (Homoptera: Cicadellidae). *Biol. Control* 38 (2): 282-293.
- ENGLISH-LOEB G., RHAINDS M., MARTINSON T., UGINE T. – 2003 – Influence of flowering cover crops on *Anagrus* parasitoids (Hymenoptera: Mymaridae) and *Erythroneura* leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) in New York vineyards. *Agric. For. Entomol.* 5: 173-181.
- DOVER G. – 1982 – Molecular drive: a cohesive mode of species evolution. – *Nature* 299: 111-117.
- DOUTT R. L., NAKATA J. – 1973 – The *Rubus* leafhopper and its egg parasitoid: an endemic biotic system useful in grapepest management. *Environmental Entomology*, 2: 381-386.
- DOUTT R. L., NAKATA J. – 1965 – Parasites for control of grape leafhoppers. *California Agriculture* 19(4):3.
- DOUTT R. L., NAKATA J., SKINNER F. E. – 1966 – Dispersal of grape leafhopper parasites from a Uackberry refuge. *California Agriculture* 20(10): 1-15.

- DUMBLETON L. J. – 1937 – The apple leaf-hopper (*Typhlocyba australis*). *The New Zealand Journal of Science and Technology, Section A* July, 30-38.
- FELSENSTEIN J. – 1985 – Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. – *Evolution* 39: 783-791.
- FLOREANI C., PAVAN F., NAZZI F. – 2006 – Analysis of cuticular hydrocarbons in two *Anagrus* species (Hymenoptera: Mymaridae) as a tool to improve their correct identification. *The Canadian Entomologist*, 138(3): 348-356.
- GANIN M. – 1869 – Beiträge zur Erkenntniss der Entwicklungsgeschichte bei den Insecten. *Z.wiss.Zool.* 19: 381-451.
- GENINI M. – 2000 – Entomofaune auxiliaire de la vigne et des milieux environnants. *IOBC/WPRS, BULL.* 23(4): 181-183.
- GIBSON G. A. P. – 1997 – Chapter 2. Morphology and terminology – In: Annotated keys to the genera of Nearctic Chalcidoidea (Hymenoptera). (G.A.P. Gibson, J.T. Huber & J.B. Woolley eds). *NRC Research Press*, Ottawa, Ontario, Canada: 16-44.
- GRAHAM M. W. R. DE V. – 1982 – The Haliday collection of Mymaridae (Insecta, Hymenoptera, Chalcidoidea) with taxonomic notes on some material in other collections, *Proceedings of the Royal Irish Academy, B* 82 (12), 189-243.
- HALIDAY A. H. – 1833 – An essay of the classification of the parasitic Hymenoptera of Britain, which correspond with the *Ichneumon*es *minuti* of Linnaeus, *Entomological Magazine*, London, 1: 333-350.
- HERRMANN J. V., EICHLER P. – 2000 – Epidemiological studies of the Grape Leafhopper *Empoasca vitis* Goethe and its antagonistic egg parasitoids in the Franconian wine growing region (Germany). *IOBC/wrsp, Bull.* 23(4): 115-121.
- HESAMI S., SEYEDOLESLAMI H., EBADI R. – 2004 – Biology of *Anagrus atomus* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the grape leafhopper *Arboridia kernanshah* (Homoptera: Cicadellidae) *Entomological Science* 7, 271–276.
- HUBER J. T. – 1986 – Systematics, biology, and hosts of the Mymaridae and Mymarommatidae (Insecta: Hymenoptera): 1758-1984. *Entomography* 4, 185–243.
- I.C.N.Z. (International Commission on Zoological Nomenclature) – 1999 – *International Code of Zoological Nomenclature*. Fourth edition. International Trust for Zoological Nomenclature. Natural History Museum, London, pp 306.
- JACKSON D. J. – 1961 – Observation on the biology of *Craphractus cinctus* Walker (Hymenoptera: Mymaridae), a parasitoid of eggs of Dytiscidae (Coleoptera). *Parasitology*, 51, 269-294.
- JESU R. - 2001 – Definition preimaginal stages of *Anagrus brocheri* Schulz (Hymenoptera: Chalcidoidea: Mymaridae). *Boll. Lab. Ent. Agr. Filippo Silvestri* 57: 75-80
- KIDO H., FLAHERTY D. L., BOSCH D. F., VALERO K. A. – 1984 – French prune trees as overwintering sites for the grape leafhopper egg parasite. *American Journal of Enology and Viticulture* 35: 156–160.
- KRUGNER R., MARSHALL W. J., RUSSELL L. G., MORSE J. G. – 1984 – Host specificity of *Anagrus epos* : a potential biological control agent of *Homalodisca vitripennis*. *BioControl*, March 2007.
- LINNAEUS C. – 1767 – *Systema Naturae, Editio duodecima reformata*, 1 (2). Holmiae, 940-941.
- MATTEUCIG G., VIGGIANI G. – 2007 – Dati preliminari su *Anagrus* gruppo *atomus* (Linnaeus) (Hymenoptera: Mymaridae) in agroecosistemi campani. *XXI CNIE*, Campobasso, 11-16 Giugno 2007.
- MEYERDIRK D. E., MORATORIO M. S. – 1987a – Biology of *Anagrus giraulti* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of the beet leafhopper, *Circulifer*

- tenellus* (Homoptera: Cicadellidae). *Annals of the Entomological Society of America* 80, 272–277.
- MEYERDIRK D. E., MORATORIO M. S. – 1987b – Morphometric study of *Anagrus giraulti* (Hymenoptera: Mymaridae) reared from eggs of three different cicadellid hosts. *Canadian Entomologist* 119, 909–912.
- MORATORIO M. S. – 1977 – Aspects of the biology of *Anagrus* spp. (Hymenoptera: Mymaridae), with special reference to host-parasitoid relationships – *Ph.D., diss.*, Univ. London.
- MORATORIO M. S., CHIAPPINI E. – 1995 – Biology of *Anagrus incarnatomilis* and *Anagrus breviphragma* (Hymenoptera: Mymaridae). *Bolletino Zoologica Agraria Bachicoltura, Serie II* 27, 143–162.
- MURPHY B. C., ROSENHEIM J. A., DOWELL R. V., GRANETT J. – 1998 – Habitat diversification tactic for improving biological control: parasitism of the western grape leafhopper. *Entomol. Exp. Appl.* 87: 225-235.
- MURPHY B. C., ROSENHEIM J. A., GRANETT J. – 1996 – Habitat diversification for improving biological control: abundance of *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae) in grape vineyards. *Environmental Entomology* 25: 495-504.
- NAVAJAS M., LAGNEL J., GUTIERREZ J., BOURSOT P. – 1998 – Species-wide homogeneity of nuclear ribosomal *ITS2* sequences in the spider mite *Tetranychus urticae* contrasts with extensive mitochondrial *COI* polymorphism. *Heredity* 80: 742-752.
- NICHOLLS C. I., PARRELLA M. P., ALTIERI M. A. – 2001 – The effects of a vegetational corridor on the abundance and dispersal of insect biodiversity within a northern California organic vineyard. *Landscape Ecology*, 16: 133-146.
- PAVAN F. – 2000 – The role of *Rubus* bushes in the life cycle of two Typhlocybae infesting vineyards. *Redia*, 83: 47-70.
- PAVAN F., PICOTTI P., GIROLAMI V. – 1992 – Strategie per il controllo di *Empoasca vitis* Goethe su vite. *Informatore Agrario*, 24: 65-72
- PERKINS R. C. L. – 1905 – Leafhoppers and their natural enemies. VI. (Mymaridae, Platygasteridae) *Bulletin of the Experiment Station of the Hawaiian Sugar Planters' Association, Entomol. Series 1* (6), 187-205.
- PICOTTI P., PAVAN F. – 1991 – Studi su *Anagrus atomus* (Linnaeus) (Hymenoptera, Mymaridae) parassitoide oofago di *Empoasca vitis* (Goethe) (Homoptera Cicadellidae) su vite. 1. Dinamica di popolazione in assenza di trattamenti insetticidi.- *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria "Filippo Silvestri"*, 48: 105-115.
- PHILLIPS P., TRIAPITSYN S., HODDLE M. S. – 2001 – Survey for egg parasitoids of glassy-winged sharpshooter in California – In: Proceedings of the Pierce's Disease Research Symposium, December 5-7, 2001, Coronado Island Marriott Resort, San Diego, California (Organized by the California Department of Food and Agriculture). (M.A. Tariq, S. Oswalt, P. Blincoe & T. Esser eds). – *Copeland Printing*, Sacramento, California: 95.
- PONTI L., RICCI C., TORRICELLI R. – 2003 – The ecological role of hedges on population dynamics of *Anagrus* spp. (Hymenoptera: Mymaridae) in vineyards of Central Italy. *IOBC/wprs Bulletin*. Vol. 26, 117-122.
- PONTI L., RICCI C., VERONESI F., TORRICELLI R. – 2005 – Natural hedges as an element of functional biodiversity in agroecosystems: the case of a Central Italy vineyard. *Bulletin of Insectology*, 58: 19-23.
- PORTER C. H., COLLINS F. H. – 1991 – Species-diagnostic difference in a ribosomal DNA internal transcribed spacer from the sibling species *Anopheles freeborni* and *Anopheles hermsi* (Diptera: Culicidae). *American J. Trop. Med. Hyg.* 45: 271-279.
- PRISCHMANN D. A., JAMES D. G., STORM C. P., WRIGHT L. C., SNYDER W. E. – 2007 –

- Identity, abundance, and phenology of *Anagrus* spp. (Hymenoptera: Mymaridae) and leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) associated with grape, blackberry, and wild rose in Washington State. *Ann. Entomol. Soc. America* 100 (1): 41-52.
- SAHAD K. A. – 1984 – Biology of *Anagrus optabilis* (Hymenoptera: Mymaridae) an egg parasitoid of delphacid planthoppers. *Esakia* 22, 129-144.
- SAITOU N., NEI M. – 1987 – The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4 (4): 406-425.
- SAMBROOK J., RUSSELL D. W. – 2001 – Molecular cloning: A Laboratory Manual, 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y..
- SETTLE W. H., WILSON L. T. – 1990 – Invasion by the variegated leafhopper and biotic interactions: parasitism, competition, and apparent competition *Ecology* 71: 1461-1470.
- SETTLE W. H., WILSON L. T. – 1990 – Behavioral factors affecting differential parasitism by *Anagrus epos* (Hymenoptera: Mymaridae), of two species of erythroneuran leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae). *J. Animal Ecology* 59(3): 877-891.
- SEYEDOLESLAMI H., CROFT B. A. – 1980 – Spatial distribution of overwintering eggs of the white apple leafhopper, *Typhlocyba pomaria*, and parasitism by *Anagrus epos*. *Environ. Entomol.* 9: 624-628.
- SIMON C., FRATI F., BECHENBACH A., CRESPI B., LIU H., FLOOK P. – 1994 – Evolution, weighting, and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. – *Ann. Entomol. Soc. America* 87 (6): 651-701.
- STOUTHAMER R., GAI Y., KOOPMANSCHAP A. B., PLATNER G. R., PINTO J. D. – 2000 – ITS-2 sequences do not differ for the closely related species *Trichogramma minutum* and *T. platneri*. *Entomol. Exp. Appl.* 95: 105-111.
- SWOFFORD D. L. – 2002 – PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods). Version 4. – Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.
- THOMPSON J. D., GIBSON T. J., PLEWNIAC F., JEANMOUGIN F., HIGGINS D. G. – 1997 – The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuclear Acids Res.* 25 (24): 4876-4882.
- THOMPSON J. D., HIGGINS D. G., GIBSON T. J. – 1994 – CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nuclear Acids Res.* 22 (22): 4673-4680.
- TRIAPITSYN S. V. – 2006 – A key to the Mymaridae (Hymenoptera) egg parasitoids of proconiine sharpshooters (Hemiptera: Cicadellidae) in the Nearctic region, with description of two new species of *Gonatocerus*. – *Zootaxa* 1203: 1-38.
- TRIAPITSYN S. V. – 2001 – Review of the Australasian species of *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae). *Belgian Journal of Entomology* 3: 267-289
- TRIAPITSYN S. V. – 1998 – *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae) egg parasitoids of *Erythroneura* spp. and other leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) in North American vineyards and orchards: a taxonomic review. *Trans. American Entomol. Soc.* 124 (2): 77-112.
- TRIAPITSYN S. V. – 1995 – Taxonomic notes on the Australian species of *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae). *Russian Entomological Journal* 4 (1-4): 105-108.
- TRIAPITSYN S. V., BEREZOVSKIY V. V. – 2004 – Review of the genus *Anagrus* Haliday, 1833 (Hymenoptera: Mymaridae) in Russia, with notes on some extralimital species. *Far Eastern Entomol.* 139: 1-36.
- TRIAPITSYN S. V., TEULON D. A. J. – 2002 – On the identity of *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae) egg parasitoids of Froggatt's apple leafhopper, *Edwardsiana crataegi* (Douglas) (Homoptera: Cicadellidae), in Christchurch, New Zealand. *New Zealand*

- Entomol.* 25: 91-92.
- TRIAPITSYN S. V. – 1998 – *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae) egg parasitoids of *Erythroneura* spp. and other leafhoppers (Homoptera: Cicadellidae) in North American vineyards and orchards: a taxonomic review. *Transactions of the American Entomological Society* 124 (2): 77-112.
- TRIAPITSYN S. V., CHIAPPINI E. – 1994 – A new *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae), an egg parasitoid of *Erythroneura* spp. (Homoptera: Cicadellidae). *Entomol. News* 105 (3): 137-140.
- VAN HELDEN M., DECANTE D. – 2001 – The possibilities for conservation biocontrol as a management strategy against *Empoasca vitis*. *IOBC/WPRS Bulletin* 24(7): 291-297.
- VIDANO C. – 1960 – Dioecia obbligatoria in *Typhlocyba* (*Ficocyba* n. subg.) *ficaria* Horváth (Hemiptera: Typhlocyidae). *Bolletino dell'Istituto di Entomologia della Università di Bologna* 24: 121-145.
- VIDANO C., ARZONE A. – 1987 – Natural enemies of *Zyginidia pullula* (Rhynchota, Auchenorrhyncha). In: *Proceedings of the 6th Auchenorrhyncha Meeting*; 7-11 Sept. 1987; Turin, Italy; pp 58-590.
- VIDANO C., ARNO C., ALMA A. – 1988 – On the *Empoasca vitis* intervention threshold on vine (Rhynchota: Auchenorrhyncha). *Proc. 6th Auchen. Meet.* Turin, Italy, September 7-11.
- VIGGIANI G. – 2003 – Functional biodiversity for the vineyard agroecosystem: aspects of the farm and landscape management in of Southern Italy. *IOBC/WPRS Bull.*, 26 (4): 197-202.
- VIGGIANI G. – 1970 – Sul valore tassonomico dell'organo copulatore nei Mymaridi del genere *Anagrus* Hal. Ricerche sugli Hymenoptera Chalcidoidea. XXIV.- *Boll. Lab. Ent. agr. Filippo Silvestri*, 28: 10-18.
- VIGGIANI G., DI LUCA A., MATTEUCIG G. – 2006 – The egg parasitoids of the genus *Anagrus* (Hymenoptera: Mymaridae) as functional biodiversity of the vineyard agroecosystem. – *IOBC/WPRS Working Group «Landscape Management for Functional Biodiversity»*, Proceedings of a meeting at Zürich-Reckenholz, Switzerland, 16-19 May 2006, *IOBC/WPRS Bull.* 29, (6): 157-160.
- VIGGIANI G., JESU R. – 2003 – Preliminary notes on the biodiversity off egg parasitoids (Hymenoptera: Mymaridae & Trichogrammatidae) in vineyards of Southern Italy. *IOBC/WPRS Working Group «Integrated Control in Viticulture»*, Proceedings of a meeting at Volos, Hellas, March 18-22, 2003, *IOBC/WPRS Bull.*, 26 (8): 217-220.
- VIGGIANI G., JESU R., SASSO R. – 2004 – Cicaline della vite e loro ooparassitoidi in vigneti del Sud Italia. *Boll. Lab. Entomol. agr. Filippo Silvestri*, 59 (2003): 3-31.
- VIGGIANI G., SASSO R., BERNARDO U. – 2003 – Notizie preliminari sullo svernamento di *Anagrus ustulatus* Haliday (Hymenoptera: Mymaridae), ooparassitoide di cicaline (Homoptera: Cicadellidae) nel Sud Italia. *Boll. Lab. Entomol. agr. Filippo Silvestri*, 58 (2002): 127-136.
- VIGGIANI G., SASSO R., DI LUCA A. – 2004 – Notizie preliminari sulle cicaline del rovo (Homoptera: Cicadellidae: Typhlocybiniae) e sui loro ooparassitoidi nell'Italia Meridionale. *Boll. Lab. Entomol. agr. Filippo Silvestri*, 59 (2003): 33-47.
- WERREN J. H., WINDSOR D., GUO L. – 1995 – Distribution of *Wolbachia* among Neotropical arthropods. – *Proc. Royal Soc. London, Series B*, 262 (1364): 197-204
- WELLS J. D., CONE W. W. – 1989 – Biology of *Erythroneura elegantula* and *E. ziczac* (Homoptera: Cicadellidae) on *Vitis vinifera* in southcentral Washington. *J. Entomol. Soc. Br. Columbia*, 86: 26 - 33.
- WILLIAMS D. W. – 1984 – Ecology of the blackberry-leafhopper-parasite system and its relevance to California grape agroecosystems. *Hilgardia* 52: 1-33.

- WILLIAMS L. III, MARTINSON T. E. – 2000 – Colonization of New York vineyards by *Anagrus* spp. (Hymenoptera: Mymaridae): overwintering biology, within-vineyard distribution of wasps, and parasitism of grape leafhopper, *Erythroneura* spp. (Homoptera: Cicadellidae), eggs. *Biological Control*, 18: 136-146.
- WILSON L. T., PICKETT C. H., FLAHERTY D. L., BATES T. A. – 1989 – French prune trees: refuge for grape leafhopper parasite. *California Agriculture* 43(2): 7-8.
- ZIETKIEWICZ E., RAFALSKI A., LABUDA D. – 1994 – Genomic fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. – *Genomics* 20 (2): 176-183.
- ZIMMERMAN R., KONDRATIEFF B., NELSON E., SCLAR C. – 1996 – The life history of two species of grape leafhoppers on wine grapes in western Colorado. *J. Kans. Entomol. Soc.*, 69: 337-345.