

CONTROLLO DEL PUNTERUOLO ROSSO MEDIANTE LA TECNICA DEL MASCHIO STERILE (SIT): UTOPIA O REALTÀ?

SERGIO MUSMECI (*) - MASSIMO CRISTOFARO (*) - SILVIA ARNONE (*) - RAFFAELE SASSO (*)
STEFANIA BACCARO (**) - ANGELO PASQUALI (**) - SILVIA CATARCI (***)

(*) ENEA UTAGRI-ECO, CR Casaccia, Via Anguillarese 301, 00123 Roma; sergio.musmeci@enea.it

(**) ENEA, UTTMAT, CR Casaccia, Via Anguillarese 301, 00123 Roma.

(***) BBICA-onlus, Via del Bosco 10, Sacrofano (RM).

Lettura tenuta durante la Tavola Rotonda "Il punteruolo rosso delle palme: nuove acquisizioni e possibilità di controllo demografico".
Seduta pubblica dell'Accademia - Firenze, 15 novembre 2013.

Control of red palm weevil by sterile insect technique (SIT): feasible or impossible?

The red palm weevil (RPW), *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) (Coleoptera: Dryophthoridae), a weevil native to South-eastern Asia and Melanesia where it is a serious pest of coconuts, is considered the most dangerous pest of Canarian palm trees and date palm trees in Southern Europe, Northern Africa and Middle Asia.

Aim of this work was to evaluate the feasibility to control the weevil pest by implementation of sterile insect technique (SIT), particularly useful in area-wide IPM programs. Bioassays carried out at the ENEA C. R. Casaccia facilities were addressed to test the effects of different doses of γ rays on the weevil reproductive physiology and mating behavior. In spite of the apparent drawbacks in reproductive behavior of females observed in field (polyandry and high levels of fertility), laboratory experiments satisfy some important requisites for the application of this technique (last male sperm precedence, high vitality and ability of mating of irradiated males) and suggest the possibility to use SIT in particular geographical contexts. Results and perspectives are discussed.

KEY WORDS: *Rhynchophorus ferrugineus*, Sterile Insect Technique, red palm weevil, integrated pest management.

INTRODUZIONE

Rhynchophorus ferrugineus Olivier (Coleoptera: Dryophthoridae), fitofago nativo del sud est asiatico, originariamente infeudato sulle palme orientali (palma da sago, palma da cocco) si è adattato a molte specie di palma, sia coltivate che ornamentali (FALEIRO, 2006) e, a causa del commercio di palme e della scarsità di controlli fitosanitari si è diffuso nei paesi arabi ed in quelli del bacino del Mediterraneo, causando seri problemi di gestione delle infestazioni a danno della palma delle Canarie, *Phoenix canariensis* Hort. ex Chabaud. In Italia è presente dal 2004 (SACCHETTI *et al.*, 2006) e, in pochi anni, è diventato endemico nelle regioni rivierasche e a clima mediterraneo, dove i principali danni sono arrecati all'attività florovivaistica, al paesaggio e, indirettamente, al turismo nelle località di mare. Il danno economico e sociale tuttavia è senz'altro maggiore in quei paesi dove la palma costituisce un'importante fonte di reddito, come la palma da dattero *Phoenix dactylifera* L. per il Medio Oriente (BOKHARI & ABUZUHARI, 1992; CHAO & KRUEGER, 2007) e la palma da cocco *Cocos nucifera* L. (SADAKATHULLA, 1991) nel sud-est asiati-

co. Nonostante i numerosi studi, l'unico metodo di lotta utilizzato continua ad essere ad oggi l'impiego di grosse quantità di insetticidi a cadenze ravvicinate che, malgrado i miglioramenti nelle metodologie di applicazione, rendono poco sostenibile nel lungo termine questo tipo di controllo, sia da un punto di vista economico che ambientale, in particolare se applicato in aree antropizzate (LLÁCER *et al.*, 2009, 2010, 2012b; DEMBILIO *et al.*, 2010). Tra le strategie alternative, la tecnica dell'insetto sterile (SIT) potrebbe rappresentare un sistema di controllo a basso impatto ambientale da inserire in programmi di difesa applicati su ampi spazi del territorio. L'applicazione del SIT, ovvero la distribuzione nell'ambiente di un gran numero di maschi sterili capaci di accoppiarsi con femmine selvatiche mediante una successione di lanci protratti nel tempo, si prefigge come obiettivo il contenimento della diffusione di focolai di infestazione del fitofago nelle zone non ancora interessate, fino alla sua possibile eradicazione nelle aree infestate (KLASSEN, 2005). Nata negli anni '50 per il controllo e la eradicazione della *Cochliomyia hominivorax* (mosca assassina) la strategia SIT è stata applicata per numerosi insetti nocivi, come ad

esempio per la *Ceratitits capitata*, *Pectinophora gossypiella* e *Cydia pomonella* (BLOEM *et al.*, 2005; KLASSEN *et al.*, 1994; HENDRICHES *et al.*, 2002; VARGAS-TERAN *et al.*, 2005). In Italia tale tecnica è stata applicata con successo nell'isola di Procida per l'eradicazione della mosca della frutta (CIRIO, 1975; BACCARO *et al.*, 2005) e, più recentemente, per il controllo della zanzara tigre (*Aedes albopictus*) (BELLINI *et al.*, 2013). Primi studi sulla strategia SIT per il controllo di *R. ferrugineus* sono stati condotti mediante la chemio-sterilizzazione (RAHALKAR *et al.*, 1975) e l'uso di raggi X (RAHALKAR *et al.*, 1973; RAMACHANDRAN, 1991). Ulteriori osservazioni sulla biologia di base utilizzando i raggi γ come fonte di radiazione, hanno dimostrato l'induzione di sterilità permanente e l'assenza di evidenti differenze nel comportamento di accoppiamento del maschio (GOTHI *et al.*, 2007; AL-AYEDH & RASOOL, 2009; PRABHU *et al.*, 2010), requisiti fondamentali per l'applicazione di tale tecnica (LANCE & MCINNIS, 2005). Nonostante preliminari sperimentazioni di campo abbiano fornito risultati potenzialmente positivi (RAHALKAR *et al.*, 1977; KRISHNAKUMAR & MAHESWARI, 2007), l'utilizzo della strategia SIT per questa specie è stata considerata finora inappropriata a causa del comportamento polandrino delle femmine e per il comportamento gregario e criptico dell'insetto (WHITTEN & MAHON, 2005). Uno studio preliminare di fattibilità (CRISTOFARO *et al.*, 2011) avviato presso l'ENEA nel 2010, in collaborazione con l'*International Atomic Energy Agency* (IAEA) di Vienna, ha posto le basi per verificare con maggior dettaglio la possibilità di applicazione della strategia SIT nell'ambito di un programma *area wide* per il controllo del punteruolo. La messa a punto di un efficiente sistema di allevamento su substrato di sostituzione realizzato presso i nostri laboratori ha consentito di ottenere centinaia di adulti con caratteristiche fisiologiche prossime (dimensioni, fertilità e longevità) a quelle di individui appartenenti a popolazioni selvatiche. Ciò ha permesso di pianificare e programmare le sperimentazioni presso l'ENEA e al contempo di fornire individui di rinfocoro utili allo svolgimento delle attività di ricerca presso le altre Unità Operative (cfr. i lavori riportati in questo stesso volume: DE BIASE *et al.*, 2013; FRANCARDI *et al.*, 2013; INGHILESI *et al.*, 2013). Di seguito si riportano i risultati degli studi su alcuni aspetti della biologia ed ecologia del punteruolo rosso e di quelli relativi a biosaggi di laboratorio riguardanti l'effetto dei raggi γ sulla *performance* riproduttiva delle femmine e sulla longevità dei maschi.

MONITORAGGIO E RACCOLTA DEL PUNTERUOLO ROSSO DELLE PALME

Dal 2010 ad oggi, è stato condotto un monitoraggio della popolazione di *R. ferrugineus* in 6 aree della Provincia di Roma. In particolare sono state scelte 2 aree abitate del litorale (Santa Severa e Santa Marinella) e 4 aree dell'entroterra con densità di palme via via decrescenti, di cui 2 urbanizzate [C.R. ENEA della Casaccia e il Centro di Ricerca per la valorizzazione qualitativa dei cereali di Roma (CRA-QCE)] e 2 rurali situate più a nord (Fig. 1). Sono state utilizzate le trappole RhynchoTrap della Intrachem, innescate con Rhypher 220, dispenser contenente il feromone sessuale e di aggregazione, e con acetato di etile, composto volatile con funzione attrattiva emesso dalla pianta ospite.

L'osservazione dei dati raccolti (Fig. 2) evidenzia la drammatica situazione in cui versa oggi il litorale laziale così come le zone pianeggianti e collinari dell'entroterra. In generale, l'uniformità della distribuzione nei voli è evidenziata dalla buona correlazione riscontrata tra l'andamento delle catture in siti anche molto distanti tra loro, risentendo in prima istanza dell'andamento climatico e, in particolare, della temperatura. Mentre non sorprende il dato numerico di catture in zone ad alta densità di palme come quelle del litorale, va evidenziata l'elevata presenza del punteruolo anche in zone dell'entroterra, non solo urbane ma anche rurali a densità di palme molto bassa. Nelle aree lontane da palme infestate si nota inoltre un progressivo incremento delle catture dal 2010 ad oggi. In particolare, nell'area rurale di Settevene (Fig. 1), registrati valori tra i più elevati con catture di oltre 20 individui/trappola. Viceversa, è interessante notare come nell'area fortemente infestata presso il castello di Santa Severa si sia osservato un progressivo declino delle catture, nonostante la presenza di alcune palme tuttora apparentemente integre (Fig. 2). La sex ratio degli individui catturati è sempre stata in favore delle femmine con una media di 2:1, in accordo con altri dati riportati in letteratura (PERI *et al.*, 2013). È stata tuttavia osservata una notevole variabilità della sex ratio in dipendenza del decorso stagionale e dell'area esaminata.

VALUTAZIONE DELLA FECONDITÀ E FERTILITÀ IN FEMMINE SELVATICHE

Tali sperimentazioni, propedeutiche per l'applicazione SIT, sono state condotte con lo scopo di



Fig. 1

Principali siti di monitoraggio del punteruolo rosso delle palme negli anni 2010-2012 (da image © 2014 Google Earth).

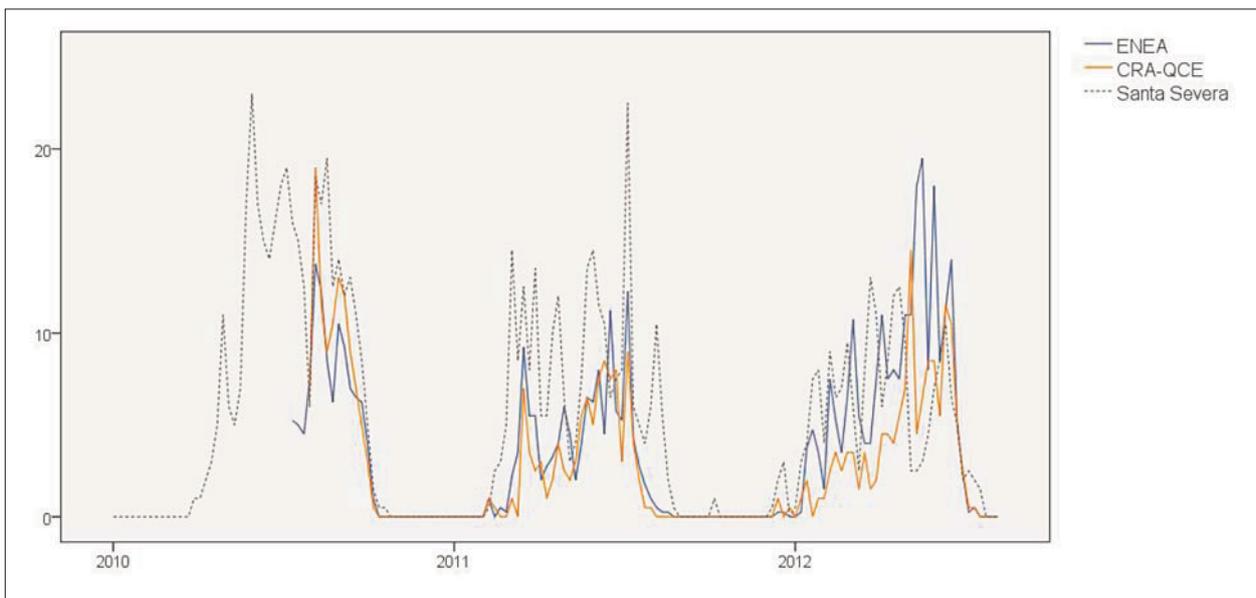


Fig. 2

Tre siti a confronto: ENEA, CRA-QCE e Santa Severa: sono riportati gli andamenti del numero medio di catture per trappola.

verificare i livelli di fertilità delle femmine catturate in campo.

Sono state dunque utilizzate femmine provenienti da:

- palme attaccate ed in fase di abbattimento nel periodo autunnale e primaverile;
- trappole allestite durante la stagione favorevole (in questo caso sono state prelevate solamente femmine trovate senza maschi, dal momento

che sono stati osservati accoppiamenti frequenti anche all'interno delle trappole);

- femmine vergini ottenute da pupari provenienti da palme abbattute, al fine di quantificare il numero di uova deposte da femmine non fecondate da utilizzare come testimone per la verifica dell'avvenuta stimolazione e/o fecondazione da parte del maschio.

Ogni femmina è stata isolata e posta in camera

climatica ($29^{\circ}\text{C} \pm 1$) in condizioni di umidità prossime alla saturazione, fornendo a ciascuna mezza mela come alimento (SALAMA *et al.*, 2009) e substrato per l'ovideposizione. I rilievi sono stati condotti con cadenze bisettimanali, misurando il tasso di deposizione delle uova e la percentuale di schiusa.

Sono stati riscontrati elevati livelli di fertilità in campo, sia in femmine raccolte da palme infestate sia in quelle catturate dalle trappole, così come anche in quelle posizionate in zone distanti dalle palme. Per queste ultime, la percentuale di femmine fertili tende ad aumentare con il progredire della stagione andando dal 67,4% nella primavera al fino al 90,2% in autunno. Relativamente costante è stata invece la fertilità delle femmine all'interno delle palme compresa tra il 73,5 e l'79,3%.

IRRAGGIAMENTO MEDIANTE RAGGI GAMMA PER L'INDUZIONE DI STERILITÀ NEI MASCHI

L'irraggiamento è stato effettuato presso l'impianto Calliope dell'ENEA [sorgente di Cobalto 60 (BACCARO e CEMMI, 2011)] su maschi neofarfallati ottenuti da allevamento in laboratorio. Sono state saggiate 6 dosi comprese tra 15 e 100 Gray (Gy) con un tasso di 0,33 Gy/sec (Fig. 3). Successivamente ogni singolo maschio è stato accoppiato con una femmina vergine, verificando l'avvenuta copula e offrendo ad ogni coppia alimento e substrato per l'ovideposizione. Sono stati

quindi rilevati con cadenze bisettimanali la sopravvivenza di entrambi gli individui, la fecondità e la fertilità delle femmine. I rilievi si sono protratti fino a 60 gg dall'accoppiamento, mentre la longevità è stata rilevata anche successivamente con cadenza settimanale.

I maschi irraggiati sono risultati molto attivi e in grado di accoppiarsi con le femmine altrettanto bene quanto i maschi non irraggiati a tutte le dosi saggiate di raggi γ . La sopravvivenza degli adulti è stata paragonabile ai maschi non irraggiati alla dose più bassa di 15 Gy (oltre 120 gg), ma questa si riduceva a poco più di 3 settimane già a partire da 30 Gy, rimanendo stabile fino ad 80 Gy. Come mostra il grafico della Fig. 3 relativo agli andamenti di fecondità e fertilità, non sono state rilevate differenze significative nel numero di uova prodotte rispetto al controllo non irraggiato, almeno fino alla dose di 60 Gy, mentre un leggero decremento è stato osservato a dosi più alte. La fecondità è stata in ogni caso di gran lunga più elevata rispetto a quella delle femmine vergini anche a 100 Gy (totale delle uova 147,6 rispetto a 60,2), evidenziando quindi una copula completa ed un conseguente stimolo all'ovideposizione. Il dato riguardante la fertilità delle femmine mostra una sterilità pressoché totale con una percentuale di uova schiuse inferiore all'1% a partire da 40 Gy. Viceversa la fertilità è risultata solo parziale alle dosi di 30 e 15 Gy (20,6% di uova schiuse a 15 Gy contro il 77,3% del controllo). Val la pena ricordare che la dose di 15 Gy è stata riportata come ottimale in altri lavori (KRISHNAKUMAR & MA-

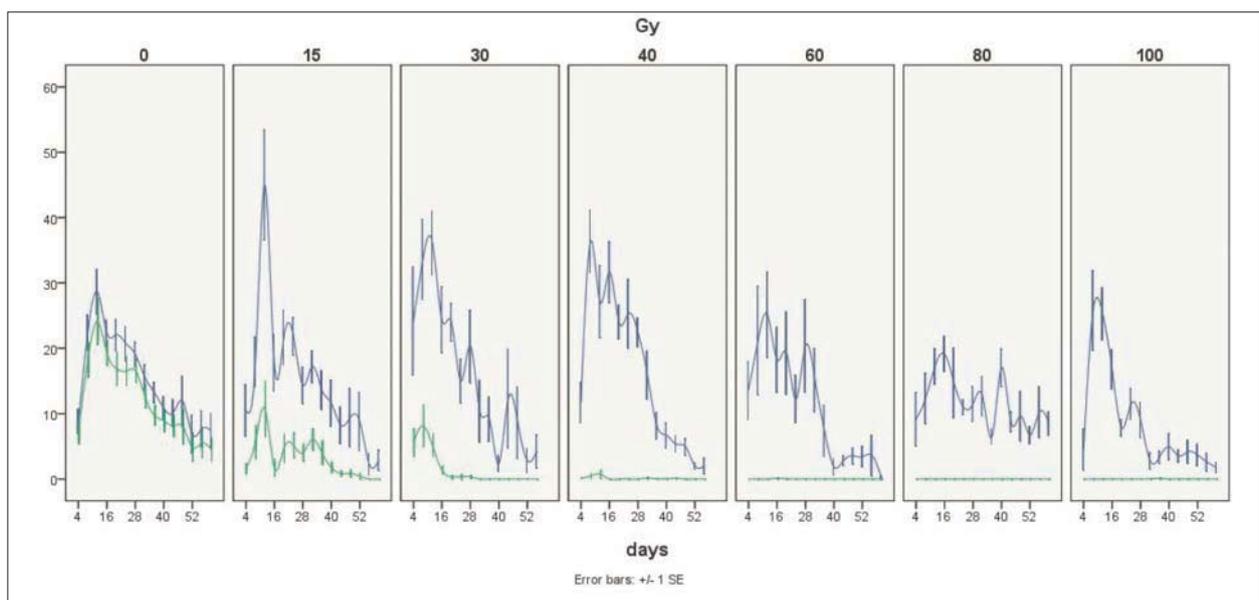


Fig. 3

Andamento della fecondità (linea blu, numero di uova per rilievo) e fertilità (linea verde, numero di larve per rilievo) delle femmine accoppiate con maschi esposti a varie dosi di irraggiamento. Le barre di errore rappresentano l'errore standard.

HESWARI, 2007). A tutte le dosi saggiate non sono comunque stati osservati recuperi nella fertilità anche dopo molte settimane, fino ad esaurimento nella produzione di uova.

ACCOPPIAMENTI IN SEQUENZA PER LA VERIFICA DELL'INDUZIONE DI STERILITÀ IN CONDIZIONI DI CAMPO

Nel 2012 sono stati condotti esperimenti di laboratorio per verificare la presenza di una eventuale scelta criptica da parte delle femmine o di competizione spermatica da parte dei maschi. A tal fine sono state simulate le condizioni presenti in campo dal momento che verosimilmente, durante il rilascio, le femmine saranno vergini o già accoppiate e si troveranno inoltre (almeno in una fase iniziale) in presenza sia di maschi sterili che di maschi "wild". Sono stati quindi effettuati accoppiamenti di femmine vergini con maschi sterilizzati e "wild" secondo 2 schemi sperimentali a sequenza inversa. Ogni femmina è stata accoppiata singolarmente con un maschio e questo è stato successivamente tolto e sostituito con un altro maschio.

Schema 1: primo accoppiamento con maschio fertile per 10 gg, quindi sostituzione e accoppiamento con maschio sterile.

Schema 2 (eseguito su un altro gruppo di individui): primo accoppiamento con maschio sterile per 10 gg, quindi sostituzione con maschio fertile.

Come si evince dal grafico della Fig. 4, i maschi irraggiati hanno indotto una immediata sterilità

riscontrabile già nel rilievo successivo al cambio del maschio, in femmine fertili accoppiate precedentemente con maschi "wild", con una media di 0,5% uova fertili nel secondo accoppiamento rispetto al 93,6% ottenuto nel primo accoppiamento. Comportamento analogo è stato registrato per le femmine accoppiate inizialmente con i maschi irraggiati, con la fertilità della femmina che è stata ripristinata quasi completamente già dal rilievo successivo. La sterilità così come la fertilità verificate nel secondo accoppiamento, sono risultate stabili e durature.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

In conclusione, malgrado l'ecologia e l'etologia dell'insetto mostrino delle criticità circa l'applicazione della metodologia SIT, gli esperimenti effettuati in laboratorio hanno fornito risultati positivi e suggeriscono un approfondimento degli studi, soprattutto per casi particolari, ove l'applicazione di questa tecnica, in combinazione con altre strategie di controllo, potrebbe risultare vantaggiosa (SUPERQUARK, 2011). Infatti l'inequivocabile osservazione dell'utilizzo da parte della femmina dello sperma dell'ultimo maschio con cui si è accoppiata, fa supporre che il rilascio di un adeguato numero di maschi sterili possa consentire la sterilizzazione di femmine, anche nel caso in cui queste si siano precedentemente accoppiate con maschi selvatici (CRISTOFARO *et al.*, 2012). Questi risultati saranno oggetto di approfondimento mediante studi citologici, istologici, biomolecolari e comportamentali già in parte intrapresi in collaborazione con altri Centri di Ricerca italiani (DE

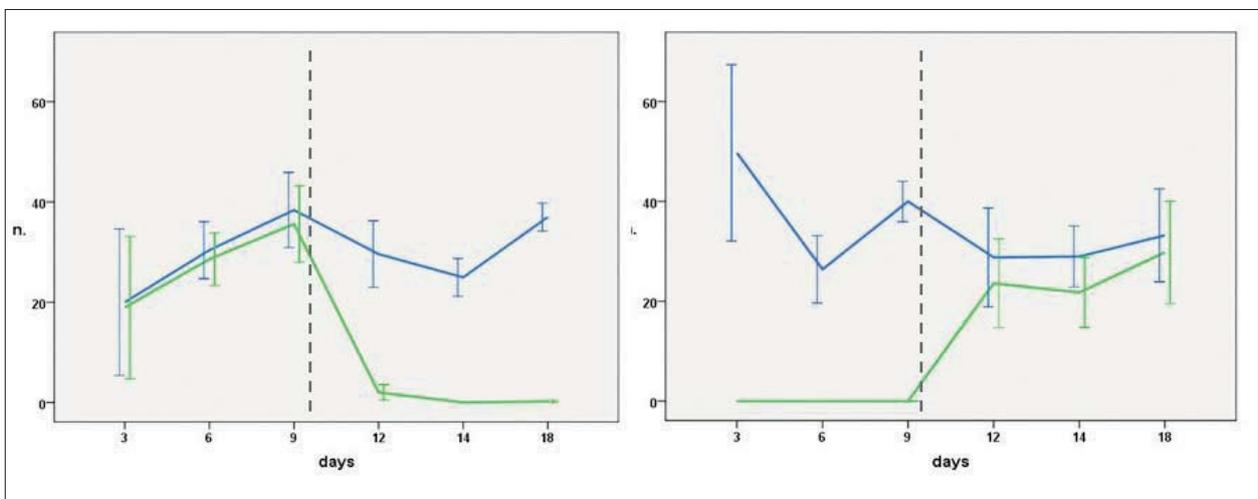


Fig. 4

Accoppiamento in sequenza. La linea tratteggiata indica la sostituzione con il maschio: sterile nella figura a sinistra, non irraggiato (wild) in quella a destra. In blu il numero di uova e in verde il numero di larve prodotte.

BIASE *et al.*, 2013; PAOLI *et al.*, in press; INGHIRESI *et al.*, 2013), per la comprensione del meccanismo di selezione post-copulatoria dello sperma riscontrato già in molte altre specie (PARKER, 1970) e attribuibile probabilmente ad un meccanismo di *last male sperm precedence* riconducibile al sistema della scelta criptica o a competizione spermatica (BIRKHEAD & MØLLER, 1998; EBERHARD, 1996; SANTOLAMAZZA e RIVERA, 1998). Un utilizzo di tale tecnica dovrebbe essere maggiormente valido nel caso della palma da cocco e da dattero, sia per aspetti legati al contesto socio-economico e sia per la peculiarità del territorio e della distribuzione: le palme coltivate hanno una distribuzione spaziale regolare secondo un sesto d'impianto che tiene conto delle esigenze colturali e, soprattutto, la loro dislocazione nelle oasi le presenta come aree perfettamente isolate e quindi gestibili in un programma che preveda addirittura l'eradicazione del fitofago. Sebbene più problematica l'applicazione in Italia, la strategia SIT potrebbe essere adottata a scopo preventivo in zone "buffer" o di confine per quelle aree ancora isolate a causa di barriere fisiche o ecologiche. Si osservano infatti notevoli discontinuità nella distribuzione anche in alcune aree costiere Italiane. Di particolare interesse infine, è la possibilità di utilizzare il maschio sterile come vettore di funghi entomopatogeni, metodo innovativo che si potrebbe rivelare efficace grazie al comportamento gregario della specie. A tale riguardo, sono attualmente in corso sperimentazioni di laboratorio per verificare la trasmissibilità del fungo tra individui (BARZANTI *et al.*, 2010; FRANCARDI *et al.*, 2013), e di campo (LLÁCER *et al.*, 2012).

RINGRAZIAMENTI

Questo lavoro è stato realizzato con il supporto finanziario dell'IAEA e della Convenzione tra ENEA e Consiglio per la Ricerca e la Sperimentazione in Agricoltura, Centro di Ricerca per l'Agrobiologia e la Pedologia di Firenze (CRA-ABP) nell'ambito del Progetto MiPAAF - PRO-PALMA.

RIASSUNTO

Il punteruolo rosso delle palme, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliver) (Coleoptera: Dryophthoridae), originario del sud-est asiatico e della Melanesia, è considerato il fitofago più dannoso per la palma delle Canarie e la palma da dattero nel sud Europa, Nord Africa e Medio Oriente. Scopo del lavoro è stato quello di valutare l'applicabilità della tecnica dell'insetto sterile per il controllo del punteruolo rosso delle palme.

Presso il Centro Ricerca dell'ENEA (Casaccia) sono stati allestiti biosaggi mirati a testare gli effetti di differenti dosi di raggi γ sulla fisiologia e il comportamento riproduttivo del rincoforo. Malgrado le apparenti difficoltà emerse dal comportamento riproduttivo delle femmine osservato in campo (poliandria ed elevata fertilità), gli esperimenti di laboratorio hanno soddisfatto alcuni importanti requisiti per l'applicazione di questa tecnica (*last male sperm precedence*, elevata vitalità dei maschi e buona capacità di accoppiamento), suggerendo la possibilità dell'utilizzazione del SIT in particolari contesti geografici. Verranno qui discussi i risultati e le prospettive future.

BIBLIOGRAFIA

- AL-AYEDH H.Y., RASOOL K.G., 2009 – *Sex ratio and the role of mild relative humidity in mating behaviour of red date palm weevil Rhynchophorus ferrugineus Oliv.* (Coleoptera: Curculionidae) *gamma-irradiated adults.* - J. Appl. Entom., 134: 157-162.
- BACCARO S., CECILIA A., PASQUALI A., 2005 – *Irradiation Facility at ENEA-CASACCIA Centre (Rome).* - ENEA, ENEA Report RT/2005/28/FIS, 29 pp.
- BACCARO S., CEMMI A., 2011 – *Radiation Damage Studies Performed at the Calliope Gamma Irradiation Plant at ENEA Italy.* In: SPIE Optical Engineering and Applications Conference Proceedings, San Diego: August 19-24 2011, N. 8144-27
- BARZANTI G.P., RUMINE P., BENVENUTI C., FRANCARDI V., 2010 – *Microbiological control of the red palm weevil Rhynchophorus ferrugineus with Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae.* 43th Annual Meeting Society for Invertebrate Pathology, 11-15 July 2010 Trabzon, Turkey, Karadeniz Technical University, Trabzon-Turkey, p. 51.
- BELLINI R., MEDICI A., PUGGIOLI A., BALESTRINO F., CARRIERI M., 2013 – *Pilot field trials with Aedes albopictus irradiated sterile males in Italian urban areas.* - J. Med. Entomol., 50 (2): 317-325.
- BIRKHEAD T.R., MØLLER A.P., 1998 – *Sperm competition and sexual selection.* Academic Press, London.
- BLOEM K.A., BLOEM S., CARPENTER J.E., 2005 – *Impact of Moth Suppression/Eradication Programmes using the Sterile Insect Technique or Inherited Sterility.* In: *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck V.A., Hendrichs J. & Robinson A.S. (Eds); Dordrech, The Netherlands, Springer; pp. 677-700.
- BOKHARI U.G., ABUZUHARI R., 1992 – *Diagnostic tests for redpalm weevil, Rhynchophorus ferrugineus infested datepalm trees.* - Arab Gulf J. Sci. Res., 10: 93-104.
- CHAO C.C. T., KRUEGER R.R., 2007 – *The Date Palm (Phoenix dactylifera L.): Overview of Biology, Uses, and Cultivation.* - Hortscience, 42: 1077-1082.
- CIRIO U., 1975 – *The Prociada Medfly pilot experiment. Status of The Medfly control after two years of the Sterile Insect release.* - IAEA, Panel Proc. Series, STI/PUB/392, pp. 39-49.
- CRISTOFARO M., SASSO R., MUSMECI S., ARNONE S., DI ILIO V., DE BIASE A., BELVEDERE S., 2011 – *Primi risultati relativi ad uno studio di fattibilità della tecnica dell'insetto sterile per il controllo di Rhynchophorus ferrugineus Olivier.* Atti XXIII Congresso Naz. Italiano di Entomologia, Genova, 13-16 giugno 2011, p. 292.
- CRISTOFARO M., ARNONE S., MUSMECI S., SASSO R., LAI

- A., DE BIASE A., LA MARCA A., BELVEDERE S., MARCARI V., SENIA G., CATARCI S., 2012 – *Feasibility of SIT to control red palm weevil* (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier): *An integrated physiological, ecological and genetic approach*. - ESA 60TH Annual Meeting, Nov. 11-14, Knoxville, Tennessee (USA).
- DE BIASE A., BELVEDERE S., SENIA G., LA MARCA A., VAN VU L., CRISTOFARO M., 2013 – *Preliminary analysis of genetic variability and differentiation of Asian and Mediterranean populations of Red Palm Weevil*. - *Atti Accademia Nazionale di Entomologia*, LXI, questo volume: 193-200.
- DEMBILIO Ó., LLÁCER E., MARTÍNEZ DE ALTUBE M.M., JACAS J.A., 2010 – *Field efficacy of Imidacloprid and Steinernema carpocapsae in a chitosan formulation against the Red Palm Weevil* *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) in Phoenix canariensis. - *Pest Manag. Sci.*, 66: 365-370.
- EBERHARD W.G., 1996 – *Females control: sexual selection by cryptic female choice*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- FALEIRO J.R., 2006 – *A review of the issues and management of the red palm weevil* *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Rhynchophoridae) in coconut and date palm during the last one hundred years. - *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 26: 135-154.
- FRANCARDI V., BENVENUTI C., BARZANTI G.P., ROVERSI P.F., 2013 – *Controllo microbiologico di Rhynchophorus ferrugineus (olivier) (Coleoptera Curculionidae) mediante impiego di una trappola "attract, infect and release"*. - *Atti Accademia Nazionale di Entomologia*, LXI, questo volume: 205-209.
- GOTHI K.K., HIRE R.S., VIJAYALAKSHIMI N., DONGRE T.K., 2007 – *Studies on mating behaviour of radio-sterilized males of red palm weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv). - *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*, 36: 65-72.
- HENDRICH S.J., ROBINSON A.S., CAYOL J.P., ENKERLIN W., 2002 – *Medfly Area-Wide Sterile Insect Technique programmes for prevention, suppression or eradication: the importance of mating behavior studies*. - *Fla. Entomol.*, 85: 1-13.
- KLASSEN W., LINDQUIST D.A., BUYCKX E.J., 1994 – *Overview of the Joint FAO/IAEA Division's involvement in fruit fly sterile insect technique programmes*. In: *Fruit flies and the sterile insect technique*; Calkins C.O., Klassern W., Liedo P. (Eds), CRC Press, Boca Raton, Florida, USA; pp. 3-26.
- KLASSEN W., 2005 – *Area-wide Integrated pest management and the Sterile Insect Technique*. In: *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S. (Eds); Dordrech, The Netherlands, Springer; pp. 39-68.
- KRISHNAKUMAR R., MAHESWARI P., 2007 – *Assessment of the Sterile Insect Technique to manage Red Palm Weevil* *Rhynchophorus ferrugineus* in coconut. In: *Area-Wide Control of Insect Pests*; Vreysen M.J.B., Robinson A.S., Hendrichs J. (Eds.), pp. 475-485.
- INGHILESI A., MAZZA G., CINI A., CERVO R., 2013 – *Comportamento sociale e riproduttivo del punteruolo rosso delle palme: approfondire le conoscenze per contrastare questo flagello*. *Atti Accademia Nazionale di Entomologia*, LXI, questo volume: 189-192.
- LANCE D.R., MCINNIS D.O., 2005 – *Biological Basis of the Sterile Insect Technique*. In: *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S. (Eds); Dordrech, The Netherlands, Springer; pp. 69-94.
- LLÁCER E., MARTÍNEZ DE ALTUBE M.M., JACAS J.A., 2009 – *Evaluation of the efficacy of Steinernema carpocapsae in a chitosan formulation against the Red Palm Weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus* in Phoenix canariensis. - *Biocontrol*, 54: 559-565.
- LLÁCER E., DEMBILIO O., JACAS J.A., 2010 – *Evaluation of the efficacy of an insecticidal paint based on chlorpyrifos and pyriproxyfen in a micro-encapsulated formulation against the Red Palm Weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus*. - *J. Econ. Entomol.*, 103: 402-408.
- LLÁCER E., SANTIAGO-ÁLVAREZ C., JACAS J.A., 2012 a – *Could sterile males be used to vector a microbiological control agent? The case of Rhynchophorus ferrugineus and Beauveria bassiana*. - *B. Entom. Res.*, 103 (2): 241 - 250.
- LLÁCER E., NEGRE M., JACAS J.A., 2012 b – *Evaluation of an oil dispersion formulation of Imidacloprid as a drench against Rhynchophorus ferrugineus (Coleoptera, Curculionidae) in young palm trees*. - *Pest Manag. Sci.*, 68: 878-882.
- PAOLI F., CRISTOFARO M., ARNONE S., FRANCARDI V., ROVERSI P.F., 2013 – *Ultrastruttura degli spermatozoi di Rhynchophorus ferrugineus*. - *Atti Accademia Nazionale di Entomologia*, LXI, questo volume: 247-250.
- PARKER G.A., 1970 – *Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects*. - *Biol. Rev.*, 45: 525-567.
- PERI E., COLAZZA S., GUARINO S., LO BUE P., SUMA P., LA PERGOLA A., LONGO S., 2013 – *The Red Palm Weevil in Sicily: the introduction and spread of an invasive alien species*. AFPP – Palm Pest Mediterranean Conf., Nice – 16, 17 and 18 January.
- PRA BHU S.T., DONGRE T.K., PATIL R.S., 2010 – *Effect of irradiation on the biological activities of red palm weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier. - *Karnataka J. of Agric. Sci.*, 23: 186-188.
- RAHALKAR G.W., HARWALKAR M.R., RANANAVARE H.D., SHANTARAM K., AYENGAR A.R.G., 1973 – *Laboratory studies on radiation sterilization of Rhynchophorus ferrugineus males*. - *J. Plantation Crops*, 1: 141-145.
- RAHALKAR G.W., HARWALKAR M.R., RANANAVARE H.D., 1975 – *Laboratory studies on sterilization of male Rhynchophorus ferrugineus*. In: *Sterility Principle for Insect Control 1974*; International Atomic Energy Agency (Ed.), Vienna, Austria; pp. 261-267.
- RAHALKAR G.W., HARWALKAR M.R., RANANAVARE H.D., KURGAN C., ABRHAM V.A., KOYA K.M.A., 1977 – *Preliminary field studies on the control of the red palm weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus* using radio sterilized males. - *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*, 6: 65-68.
- RAMACHANDRAN C.P., 1991 – *Effect of gamma radiation on various stages of red date palm weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus* Oliv. - *Journal of Nuclear Agriculture and Biology*, 3: 218-221.
- SACCHETTI P., CAMÈRA A., GRANCHIETTI A., ROSI M.C., MARZIALETTI P., 2006 – *Identificazione, biologia e diffusione del curculionide delle palme* *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier). - *Informatore Fitopatologico*, 20 (6): 35-40.
- SADAKATHULLA S., 1991 – *Management of red palm weevil*, *Rhynchophorus ferrugineus*, in coconut plantations. - *Planter*, 67: 415-419.

- SALAMA H.S., ZAKI F.N., ABDEL-RAZEK A.S., 2009 – *Ecological and biological studies on the red palm weevil Rhynchophorus ferrugineus (Olivier)*. - Archives of Phytopathology and Plant Protection, 42: 392-399.
- SANTOLAMAZZA S.C., RIVERA A.C., 1998 – *Sperm competition, cryptic female choice and prolonged mating in the Eucalyptus Snout-Beetle, Gonipterus scutellatus (Coleoptera, Curculionidae)*. - Etologia, 6: 33-40.
- SUPERQUARK, 2011 – <http://www.rai.tv/dl/RaiTV/programmi/media/ContentItem-274994e8-36ee-4754-b7e2-10e7d80e9f23.html>.
- VARGAS-TERÀN M., HOFMAN H.C., TWEDDLE N.E., 2005 – *Impact of Screwworm eradication programmes using the Sterile Insect Technique*. In: Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management; Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S. (Eds); Dordrech, The Netherlands, Springer; pp. 629-650.
- WHITTEN M., MAHON R., 2005 – *Misconception and constraints*. In: Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management; Dyck V.A., Hendrichs J., Robinson A.S. (Eds); Dordrech, The Netherlands, Springer; pp. 601-626.