

Indagine sulla capacità di sviluppo in laboratorio di un gruppo
di Ditteri Tachinidi sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella*
L. (Lep., Galleriidae).

(Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.)

INTRODUZIONE

Per affrontare e cercare di risolvere i molti interrogativi che popolano le conoscenze dei rapporti tra Insetti entomofagi e le loro vittime, è necessario, ovviamente, disporre di un allevamento permanente in laboratorio di almeno una coppia di tali simbionti, su cui indagare come la vita parassitaria dell'entomofago si leghi alla vittima. Questo, si può ottenere tracciando la mappa comportamentale del parassita, posto a vivere in ospiti in cui, sperimentalmente, sono state alterate determinate prerogative vitali.

Quanto si può arguire operando in questo modo, oltre ad arricchire le conoscenze biologiche in questo campo, fornisce elementi utili per la programmazione dell'allevamento in vitro dei parassitoidi che dovranno costituire uno dei mezzi alternativi non inquinanti per la difesa delle nostre colture.

In particolare, il gruppo di cui noi facciamo parte, guidato dal Prof. E. Mellini, si pone il problema a livello dei Ditteri Tachinidi, la famiglia di parassiti più diffusa, dopo la grande massa degli Imenotteri Terebranti, ed in cui è facile trovare specie efficaci nel limitare le popolazioni di fitofagi dannosi.

La scelta di *Galleria mellonella* L. quale comodo ospite di sostituzione è stata dettata da diverse constatazioni positive fatte in tal senso, sia direttamente con tentativi preliminari di allevamento condotti con *Nemorea pelucida* (Meig.) e *Sturmia bella* Meig. (Campadelli, 1975), come indirettamente, attraverso i successi ottenuti da diversi AA. con altri Tachinidi. Inoltre ha inciso in modo determinante il fatto che sulla fisiologia e il biochimismo di questo lepidottero si abbiano profonde conoscenze.

Quando iniziammo questo « screening » nell'estate-autunno del 1975 ci proponemmo di trovare e quindi di allevare un tachinide che ci permettesse una contaminazione manuale, perchè così ci era offerta la possibilità di controllare anche tale fase.

Inoltre non ci siamo avvalsi di tali ditteri già in allevamento presso altri

laboratori sul medesimo ospite (cfr. Campadelli, 1975) per avere la possibilità di constatare la idoneità di questo galleride ad altre specie, ed in particolare, di collaborare, evidenziando le peculiarità biologiche di un'altra specie non ancora impiegata, alla soluzione delle conoscenze sui rapporti ospite-parassita nell'ambito degli Insetti entomofagi.

MATERIALE E METODO

Ospite.

Le larve di VI e VII età di *Galleria mellonella* L. che noi abbiamo contaminato con i «germi» dei tachinidi catturati in campagna, provengono da un allevamento massivo condotto su dieta meridica⁽¹⁾ messa a punto nel Dipartimento di Fisiologia degli Insetti dell'Istituto di Entomologia dell'Accademia delle Scienze Cecoslovacca di Praga, da cui invero provengono anche i capostipiti della nostra coltura di questo lepidottero.

Parassitoidi.

Di tutti i tachinidi⁽²⁾ catturati in ambiente naturale solo quelli raggruppati nella tabella I sono stati oggetto di verifica sperimentale nella loro adattabilità alla *Galleria*. Infatti, come già implicitamente detto, abbiamo trascurato tutte le forme a uova macrotipiche che incollano direttamente i loro «germi» sul corpo della vittima.

Di solito i ditteri, traumatizzati dalla cattura e dal successivo temporaneo imprigionamento in altrettante provette, dove per altro si poneva una fogliolina per assicurare l'umidità, non sopravvivevano a lungo anche se posti successivamente, al rientro in laboratorio, in condizioni ottimali (23-24 °C, U.R. 70%, fotofase di 16 ore, in presenza di cibo e di acqua distillata per bere). Infatti morivano in genere nel giro di un giorno o due, per cui abbiamo sempre aspettato di prelevare i germi solo dopo la loro morte.

⁽¹⁾ I componenti, riferiti a 1 kg di dieta, sono: 100 gr di farina integrale di grano, 100 gr di farina integrale di mais, 200 gr di farina bianca di grano, 100 gr di latte in polvere, 50 gr di lievito di birra secco in polvere, 100 gr di glicerina pura, 200 gr di miele e 150 gr di cera d'api. Per il suo confezionamento si procede prima alla sterilizzazione ad 80 °C per un'ora dei prodotti solidi e liquidi separatamente, quindi si mescolano e si unisce la cera sciolta a calore vivo. Il tutto dev'essere rimestato energicamente per ottenere un prodotto uniforme e di consistenza grumosa; cosa che noi oggi facciamo con una impastatrice meccanica.

⁽²⁾ Cogliamo qui l'occasione per ringraziare il Dr. Benno Herting del Museo di Stoccarda per le cortesi determinazioni.

TABELLA I. — Ditteri Tachinidi utilizzati per le prove di parassitizzazione su *Galleria*.

	Modalità di proliferazione	Ospiti naturali (*)
GONIINI		
<i>Catagonia aberrans</i> Rond.	ovovivipara	Lepidotteri (Tortricidi)
<i>Thecocarcelia acutangulata</i> Macq.	»	» (Esperidi)
<i>Ceromasia rubrifrons</i> Macq.	uova microtipiche	» (Zigenidi, Arctidi)
<i>Masicera silvatica</i> Fall.	»	» (Nottuidi, Sfingidi, Lasiocampidi, Pieridi, Limantridi, Saturnidi)
<i>Prosopaea nigricans</i> Egg.	»	» (Nottuidi, Arctidi)
<i>Gonia cinerascens</i> Rond.	»	» (Nottuidi)
ECHINOMYIINI		
<i>Echinomyia grossa</i> L.	ovovivipara	» (Lasiocampidi)
» <i>fera</i> L.	»	» (Nottuidi, Arctidi, Limantridi)
» <i>magnicornis</i> Zett.	»	» (Limantridi, Nottuidi)
<i>Peletieria rubescens</i> Rob.-Desv.	»	» (Nottuidi)
» <i>pyrrhogaster</i> Rond.	»	» (Nottuidi)
<i>Linnaemyia vulpina</i> Fall.	»	» (Nottuidi)
<i>Nemoraea pellucida</i> Meig.	»	» (Nottuidi, Limantridi, Arctidi, Geometridi)
<i>Macquartia praefica</i> Meig.	»	Coleotteri (Crisomelidi)
VORIINI		
<i>Thelaira nigripes</i> F.	»	Lepidotteri (Nottuidi, Arctidi, Limantridi, Lasiocampidi, Sfingidi)

(*) Desunti dalle opere di Thompson (1951), Herting (1960) e Mesnil (1944-1975).

Tecniche di parassitizzazione.

Naturalmente queste sono state variate in funzione delle modalità di riproduzione dei vari tachinidi, e cioè le metodiche sono completamente diverse per le forme ovovivipare rispetto a quelle a uova microtipiche. Inizialmente, però, si è operato allo stesso modo per liberare l'« utero » dall'addome materno. Per fare ciò, senza danneggiare eccessivamente le femmine che dovevano essere mantenute integre il più possibile per la determinazione, abbiamo operato l'estrazione del gonodotto impari sfilandolo dall'apertura ottenuta strappando l'ovopositore di sostituzione con l'aiuto di pinzette molto fini. Una volta prelevato, l'« utero » viene posto su di un pezzetto di carta bibula, inumidita con acqua distillata, messo al centro di un vetrino da orologio. Dopo di ciò le tecniche si differenziano decisamente per cui le esamineremo separatamente.

Contaminazione con uova microtipiche. I « germi », liberati dal gonodotto impari entro cui sono stipati, vengono sparpagliati sulla carta bibula con l'aiuto di un pennellino, e ciò per facilitarne la successiva raccolta in piccoli gruppi, con cui si riempiono le minute anfrattuosità del pezzetto di pabulum che, poi, verrà offerto alla vittima alterna-

tiva. La dieta così preparata viene somministrata a gruppi di circa una cinquantina di larve di VI o di VII età contenute in capsule Petri di 18 cm di diametro. Queste sono mantenute per le prime 24 ore al buio nella stanza climatizzata in cui è coltivata la *Galleria* e successivamente, dopo l'aggiunta del pabulum necessario per il completo sviluppo delle larve ospiti, vengono poste nelle condizioni già illustrate per l'allevamento dei ditteri adulti, al fine di offrire agli stadi preimmaginali del parassita la situazione migliore per il loro accrescimento.

C o n t a m i n a z i o n e c o n p l a n i d i o l a r v e t t e t a c h i n i f o r m i. Una volta che si dispone dell'« utero » sulla carta bibula inumidita, si deve agire con oculatezza perchè le operazioni di parassitizzazione con questi « germi » sono complesse e delicate. In particolare per avere a disposizione, sempre, forme attive bisogna prima di tutto mantenere bene inumidito il gonodotto impari, aggiungendo di tanto in tanto gocce di acqua distillata, ma soprattutto si deve aprire quest'ultimo gradatamente, onde evitare la contemporanea schiusa di tutte le uova membranacee, perchè in tal caso le larvette o i planidi contenutivi andrebbero persi nella maggior parte. Infatti quelli delle specie che depongono direttamente sopra l'ospite devono essere collocati sulla vittima il prima possibile altrimenti perdono l'« aggressività » che li induce a penetrare. In ogni caso durante queste operazioni bisogna mantenere i « germi » in condizioni di elevata umidità altrimenti muoiono rapidamente per disseccamento.

Le operazioni dirette di contaminazione si fanno con l'aiuto di un ago manicato che, manovrato opportunamente, permette la « raccolta » dei planidi o delle larvette ed il loro successivo trasferimento sul corpo dell'ospite. In particolare, per evitare che le vittime toccandosi possano liberarsi del parassita, si evita di riunirle in un'unica capsula, dopo la contaminazione, mantenendole per un certo tempo isolate tra due vetrini da orologio. Così dopo circa un'ora tutte le larve « trattate » vengono raggruppate in un'unica capsula Petri, alimentate e poste nelle stesse condizioni di allevamento dette per quelle parassitizzate con uova microtipiche.

Un modo ancora più « diretto » per parassitizzare le vittime è quello di introdurre le larvette o i planidi neogusciati entro il loro corpo, metodo per altro già sperimentato con successo da Hsiao et Al. (1966). La metodica da noi adottata consiste prima di tutto nella anestetizzazione delle larve di *Galleria*, cosa che si ottiene immergendo in acqua i soggetti per circa 30 min. (tecnica già adottata al Dipartimento di Fisiologia degli Insetti, di Praga). Gli individui così trattati sono pronti, dopo asciugatura con carta bibula, per essere incisi ed indi parassitizzati. Operando senza questo accorgimento si avrebbe, prima di tutto, un dissanguamento della larva e poi la pressione emolinfatica, che si determina in corrispondenza della ferita, impedirebbe l'introduzione o l'entrata dell'endofago nel corpo dell'ospite. Sulle Gallerie così anestetizzate noi pratichiamo una incisione ad angolo, con l'aiuto di forbici istologiche, in corrispondenza della metà posteriore dell'addome,

quindi, sollevato il lembo di tegumento, introduciamo, con l'aiuto di un pennellino, il « germe » del parassita. Questi, poi, il più delle volte, posti in corrispondenza della ferita tendono a penetrarvi spontaneamente; nei casi invece in cui ciò non succede favoriamo l'entrata con l'aiuto di uno spillo manicato. In particolare, questa ultima tecnica è stata adottata, per constatare se la cuticola dell'ospite di sostituzione potesse o meno essere l'unico ostacolo, impedendo l'entrata, all'attività parassitaria del tachinide.

Infine c'è da aggiungere che tutte le operazioni di contaminazione, date

TABELLA II. - Capacità di parassitizzazione di 15 diverse specie di ditteri tachinidi su *G. mellonella* L.

Parassiti	Tecnica di parassitizzazione														
	« Germi » sul corpo dell'ospite o sul pabulum						« Germi » entro il corpo dell'ospite								
	Larve ospiti VI		Pupe		Adulti		Larve ospiti VII		Pupe		Adulti				
	età N°	N°	%	N°	%	età N°	N°	%	N°	%	età N°	N°	%	N°	%
<i>C. aberrans</i> Rond.						157	—				37	3	8,10	—	
<i>T. acutangulata</i> Macq.						10	—								
<i>C. rubrifrons</i> Macq.						21	—								
<i>M. silvatica</i> Fall.	37	—				22	3	13,63	1	4,54					
<i>P. nigricans</i> Egg.	294	3	1,02	2	0,68	542	—								
<i>G. cinerascens</i> Rond.	60	13	21,66	13	21,66	21	8	38,09	8	38,09					
<i>E. grossa</i> L.	25	—				150	—				23	—			
<i>E. fera</i> L.	101	—				134	—				11	—			
<i>E. magnicornis</i> Zett.	78	2	2,56	2	2,56	369	8	2,16	6	1,62	10	—			
<i>P. rubescens</i> Rob.-Desv.						12	—				10	—			
<i>P. pyrrhogaster</i> Rond.	199	—				453	—								
<i>L. vulpina</i> Fall.	23	—				307	1	0,32	1	0,32					
<i>N. pellucida</i> Meig.	50	1	2,00	1	2,00	196	24	12,24	17	8,67	36	8	22,22	6	16,66
<i>M. praefica</i> Meig.						64	—								
<i>T. nigripes</i> F.						61	—								

le limitate dimensioni dei « germi », sono state condotte con l'ausilio dello stereomicroscopio.

RISULTATI E CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Le capacità di sviluppo delle diverse specie di ditteri tachinidi da noi sperimentati nei riguardi di *G. mellonella* L. sono riportati nella tabella II, dove è possibile individuare oltre alla influenza dell'età dell'ospite, anche la validità o meno della contaminazione per introduzione diretta, attraverso una piccola incisione addominale, del planidio o della larveta entro il corpo della vittima.

Da quanto più sopra riportato, appare evidente che solo 7 specie, sulle 15 saggiate nella presente prova, hanno, in modo più o meno evidente, attecchito nelle larve di *Galleria*. Del tutto trascurabili sono le percentuali di parassitizzazione ottenute con *M. silvatica* Fall., *P. nigricans* Egg., *E. magnicornis* Zett., *L. vulpina* Fall. e *C. aberrans* Rond. In particolare, c'è da sottolineare che i germi di quest'ultima specie hanno dato un qualche risultato solo quando sono stati introdotti entro il corpo dell'ospite, dimostrando in tal modo che la cuticola può costituire per questo tachinide la barriera al suo insediamento in questa vittima.

N. pellucida Meig., invece, come già constatato da Campadelli (1975), ha dato una parassitizzazione soddisfacente, soprattutto con la metodica dell'incisione addominale, il che richiama, anche se non nello stesso modo tassativo, il concetto indicato per la specie precedente. Pure in questa sperimentazione c'è stata, come nella precedente (Campadelli, 1975), una diluizione nello sfarfallamento, accompagnata da una predominanza del sesso femminile, che ha impedito, pur avvenendo la regolare maturazione delle gonadi, gli accoppiamenti. Quindi, tutto sommato, questa specie non sembra adattarsi convenientemente alla *Galleria*.

G. cinerascens Rond. è stato l'unico tachinide ad accettare in modo deciso il nostro ospite di sostituzione; infatti si è sviluppato bene sia contaminando larve di VI che di VII età raggiungendo percentuali di parassitizzazione nelle crisalidi pari, rispettivamente, al 21,60 e al 38,09%. Inoltre anche lo sfarfallamento delle immagini è normale come pure la maturazione delle gonadi.

Tali risultati, insieme alla facilità di contaminazione delle vittime, trattandosi di una specie a uova microtipiche, hanno fatto cadere la scelta su questo dittero per il nostro allevamento ospite-parassita in laboratorio.

RIASSUNTO

È stata saggiata l'idoneità di *Galleria mellonella* L., tipico insetto da laboratorio, a fungere quale ospite di sostituzione per 15 specie di tachinidi a femmine ovovivipare ed ovipare ovvero deponenti uova microtipiche. Ciò allo scopo d'impiantare un allevamento permanente di una coppia ospite-parassita, tale da potere essere facilmente manipolata per indagini sperimentali sul parassitismo degli insetti entomofagi. La specie che ha dato risultati davvero soddisfacenti è il Goniino *Gonia cinerascens* Rond. a uova microtipiche che pertanto viene prescelta.

Studies on the development capacity in the laboratory of a group of tachinid diptera on the substitute host *Galleria mellonella* L. (Lep., Galle-riidae).

SUMMARY

In the present paper the authors tested the suitability of *Galleria mellonella* L. as a substitute host for 15 tachinid species with ovoviviparus and oviparus (microtype) females.

This was done with the purpose of setting up permanent rearing of the host-parasite couple, easy to be managed for experimental investigations on the parasitism of entomophagous insects. The parasite which really gave satisfactory results is *Gonia cinerascens* Rond. which produce microtype eggs and thus it has been chosen.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- CAMPADELLI G., 1975. — *Galleria mellonella* L. quale ospite di sostituzione per Ditteri Larvevoridi. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 203-213.
- HERTING B., 1960. — Biologie der westpaläarktischen Raupenfliegen, Dipt., Tachinidae. - *Monog. angew. Ent.*, 16: 1-188, 12 figg.
- HSIAO T. H., HOLDAWAY F. G., CHIANG H. C., 1966. — Ecological and physiological adaptations in insect parasitism. - *Ent. exp. & appl.*, 9: 113-123.
- MESNIL L. P., 1944-1975. — Larvaevorinae (Tachinidae). In LINDNER E., Die Fliegen der paläarktischen Region. Teil 64 g., 1435 pp.
- THOMPSON W. R., 1951. — A catalogue of the parasites and predators of insect pest. Sect. 2 Host parasites catalogue. Part 1 Host of Coleoptera and Diptera, Ottawa, 146 pp.