

Effetti dello iuvenoide ZR 515 4E (Methoprene) sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond.

(Ricerche eseguite col contributo del Ministero della Pubblica Istruzione)

GENERALITÀ

Sulla scia delle precedenti sperimentazioni volte a saggiare gli effetti del Triprene (Mellini e Gironi, 1980) e dell'Idroprene (Mellini e Cesari, 1982; Mellini e Boninsegni, 1982), è stato opportuno continuare le indagini sugli effetti degli iuvenoidi di sintesi sulla coppia ospite-parassita, *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleriidae)- *Gonia cinerascens* Rond. (Dipt. Larvaevoridae), con un altro prodotto iuvenilizzante assai noto: il Methoprene (ZR 515 4E), sintetizzato dalla Zoecon di Palo Alto (California) (1).

Nonostante la copiosa bibliografia sui vari aspetti dell'azione degli iuvenoidi sia già stata esaminata nei precedenti lavori, ci sembra opportuno focalizzare brevemente le caratteristiche del prodotto esaminato in base ai dati presenti in letteratura.

Il Methoprene ZR 515 4E (Altosid, isopropil-11-metossi-3,7,11-trimetil-2,4-dodecadienoato) mimetico usato per questo lavoro, si è rivelato come uno degli omologhi dell'ormone giovanile con il più ampio spettro di azione.

In campo, sotto forma di concentrato emulsionabile, ha causato una mortalità, in popolazioni di *Aedes nigromaculis* Ludlow (Dipt. Culicidae), del 90% (Schaefer e Wilder, 1972) e contro *Aedes communis* De Geer, *A. intrudens* Dyor, *A. trichurus* Dyor, *A. punctator* Kirby, *A. stimulans* Walker con un'efficacia del 98% (Baldwin e Chant, 1976). Inoltre ha dato buoni risultati nell'impedire lo sfarfallamento degli adulti di Chironomidi dei generi *Chironomus*, *Procladius* e *Tanytarsus* (Mulla et al., 1974).

Distribuito direttamente, addizionato agli alimenti e all'acqua da bere, al bestiame e ai polli, impedisce che nei loro escrementi si sviluppino i Muscidi *Haematobia irritans* L., *Musca autumnalis* De Geer,

(1) Messo a nostra disposizione dalla cortesia del Dr. A. Formigoni che vivamente ringraziamo.

Stomoxys calcitrans L. e *M. domestica* L. (Breedon et al., 1975). L'Alto-sid si dimostra efficace anche nei riguardi di *Oestrus ovis* L. (Dipt. Oestridae) somministrato attraverso le vie nasali degli agnelli infestati (Prasert et al., 1976) e si è pure dimostrato un valido strumento per sradicare da ambienti antropici il *Monomorium pharaonis* L. (Hym. Formicidae) (Edwards, 1975).

Buone anche le sue possibilità aficide, avendo dato risultati positivi contro *Aphis gossypii* G. e *A. citricidus* Kirk (Anonimi, 1976).

Questo prodotto è stato provato anche in un'ottica di salvaguardia degli insetti parassiti; così, Fashing e Sagan (1979), ce lo indicano come un ideale regolatore dello sviluppo se impiegato, in programmi di controllo integrato, contro i Ditteri che si riproducono nel letame; infatti se i trattamenti sono effettuati per os (alla concentrazione dello 0.001%) sull'ospite *Sarcophaga bullata* Parker, non si notano effetti nocivi sull'Imenottero parassita *Nasonia vitripennis* Walker.

De Loof et al. (1979) segnalano, sempre a riguardo di *N. vitripennis*, l'effetto ovicida che avrebbe il Methoprene ed inoltre individuano il periodo sensibile per il prolungamento della vita larvale che sarebbe localizzabile tra le 72 e le 80 ore dalla nascita. Radicalmente diverso è il risultato che si ottiene se, durante il trattamento, il parassitoide è all'interno del pupario dell'ospite *Sarcophaga bullata*; in questo caso le pupe di *Nasonia* tollerano dosi dalle 80 alle 500 volte più alte che non quando sono estratte dal pupario della mosca; effetto questo dovuto alla protezione offerta dalla cuticola del pupario del Dittero.

Peleg e Gothilf (1980) rilevano che trattamenti effettuati su *Saissetia oleae* Oliver (Coccidae), parassitizzati da uova e larve di *Coccophagus pulvinariae* Comp. (Hym. Aphelinidae), non hanno arrestato lo sviluppo del parassita alle concentrazioni di 0.03% e 0.05%, mentre allo 0.1% hanno portato ad una certa percentuale di mortalità.

Beckage e Riddford (1982) osservano che trattamenti con Methoprene su larve di *Manduca sexta* (L.) (Lep. Sphingidae) parassitizzate, inibiscono la successiva fuoriuscita dell'endoparassita *Apanteles congregatus* Say (Hym. Braconidae) e questi effetti sarebbero direttamente legati alla dose di prodotto somministrata. Il mimetico dell'ormone giovanile inibisce tale emergenza causando un ritardo o la totale inibizione allo sfarfallamento. Questi risultati sarebbero legati ad un effetto inibitorio sull'ecdisi della seconda età larvale che impedirebbe il passaggio alla terza.

Dai lavori fin qui esaminati appare chiaro che, nella maggioranza dei casi, gli effetti più squisitamente fisiologici dei trattamenti, quelli coinvolgenti cioè il rapporto endocrino ospite-parassita, sono largamente trascurati.

Ora, con questo lavoro, se da una parte ci si prefigge di illustrare in termini di mortalità, l'impatto che il Methoprene può avere nei riguar-

di dei parassiti, dall'altra si tenta di chiarire in che maniera le modificazioni apportate alla fisiologia dell'ospite dallo iuvenoido si ripercuotono sul parassita, tenendo conto del concetto di idoneità ormonale (Mellini, 1975) degli ospiti nei riguardi dei parassiti.

MATERIALE E METODO

Le ricerche sono state eseguite sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond., allevata permanentemente nei nostri laboratori (per le tecniche di allevamento e la biologia vedi: Campadelli, 1973; Baronio e Campadelli, 1978).

L'allevamento dell'ospite avviene in cella climatizzata, in scotofase continua, ad una temperatura di 27.5 ± 1 °C e con U.R. del $65 \pm 5\%$; il parassitoide è allevato in cella climatizzata con temperatura variante dai 24 °C, durante la fotofase di 16 ore (4000 lux), ai 23 °C nella scotofase di 8 ore, e con U.R. del 65-70%.

Questo lavoro ha contemplato l'uso del Methoprene (ZR 515 4E); con tale prodotto sono state eseguite delle sperimentazioni trattando, sia per os, sia per contatto, gruppi di larve di *Galleria mellonella*.

Tutti i trattamenti hanno coinvolto gruppi di 30 larve, previamente parassitizzate, per ogni tesi, e sono stati ripetuti 4 volte per un totale di 2160 larve.

Prima di analizzare lo svolgimento delle prove, dobbiamo premettere che abbiamo trattato gruppi di larve che erano state parassitizzate in VI età iniziale e gruppi che lo erano state in ultima età iniziale. Nel fare ciò ci eravamo proposti di vedere se vi era qualche differenza nei risultati, soprattutto a riguardo della variabilità megetica del parassita (Mellini e Baronio, 1971; Mellini e Baronio, 1972) e dell'ospite (Mellini e Campadelli, 1980).

A) Trattamento per os: lo iuvenoido è stato somministrato, per un periodo variabile (1-4-8 giorni), all'ospite a cominciare dall'ultima età larvale.

La quantità standard di pabulum, somministrata ai gruppi di 30 larve, era pari a 50 gr. (più che sufficienti per consentire il prosieguo dell'attività trofica larvale e per riprodurre adeguatamente un habitat congeniale alle larve) a cui è stato addizionato il principio attivo in ragione dello 0,1% in peso.

L'incorporamento dello iuvenoido è stato fatto durante la preparazione del pabulum e, per facilitarne una più omogenea distribuzione, è stato diluito in acqua e la soluzione sciolta nei componenti liquidi della dieta stessa.

La prova ha coinvolto gruppi di larve che erano state parassitizzate in VI età, e quindi al momento del trattamento il parassita si trovava in I età larvale annidato nella muscolatura somatica, e gruppi di larve la cui parassitizzazione è stata compiuta dopo il trattamento (quindi in ultima età larvale) o durante il trattamento.

La parassitizzazione è stata compiuta dopo il trattamento, nel caso di esposizione con lo iuvenoide per 1-4 giorni, e durante nel caso di 8 giorni.

Per il periodo più lungo si è proceduto nella maniera seguente: le larve di *Galleria* in ultima età iniziale sono state poste nel pabulum trattato con lo iuvenoide. Quindi nel quarto giorno le larve sono state isolate e poste per un giorno in capsule Petri contenenti i soli zimbelli di cera portanti le uova del parassita; dopo un giorno, avvenuta la parassitizzazione, sono state nuovamente messe nei contenitori contenenti il pabulum trattato e lì lasciate fino al termine degli otto giorni.

In tutti i casi, terminato il periodo di trattamento, le larve sono state tolte dal pabulum contaminato e messe in altri contenitori con pabulum standard fino al loro incrisalidamento.

La differenza maggiore del trattamento per os rispetto a quello per contatto sta nel fatto che in quest'ultimo la dose di ormone viene somministrata « una tantum », mentre nei trattamenti per os l'applicazione del mimetico dell'ormone giovanile avviene in maniera continua e costante anche per lunghi periodi di tempo; quindi il parassita è interessato, non da un brusco impatto con lo iuvenoide, ma da effetti indiretti attraverso le modificazioni indotte dal mimetico sugli ospiti.

B) Trattamento per contatto: le larve sono state trattate topicamente con dosi progressivamente raddoppiate di principio attivo diluito in acetone. L'acetone, essendo un potente solvente dei grassi, favorisce il passaggio dello iuvenoide oltre la barriera rappresentata dal tegumento larvale senza intaccarne le caratteristiche chimiche.

Le dosi somministrate sono state pari a 0,1 - 0,2 - 0,4 - 0,8 µl/larva di principio attivo e, per mitigare gli effetti dannosi dell'acetone (evidenziatisi in prove preliminari) se somministrato in forti dosaggi alle larve, si è pensato di variare la concentrazione di principio attivo in modo da contenere la somministrazione massima di acetone a 4 µl. Per l'esattezza le dosi somministrate sono state di: 2-4 µl/larva di soluzione al 5% di iuvenoide in acetone (pari a 0,1-0,2 µl/larva di principio attivo) e 2-4 µl/larva di soluzione al 20% di iuvenoide in acetone (pari a 0,4-0,8 µl/larva di principio attivo).

La soluzione è stata deposta sulla zona dorsale delle larve mediante una microsiringa di grande precisione con sensibilità pari a 0,2 microlitri; quindi ogni gruppo di larve trattate (rappresentato da 30 individui) è stato posto in capsule Petri vuote per un tempo ritenuto suffi-

ciente all'assorbimento del farmaco (circa un'ora), ed infine trasferito dentro i soliti contenitori di plastica per alimenti (cm. 22 x 10 x 8) con pabulum standard in sufficiente quantità (50 gr.) per raggiungere l'impupamento.

Come nel caso dei trattamenti per os si è provveduto a parassitizzare gruppi di larve in VI età al quale è seguito poi il trattamento appena raggiunta l'ultima età (in genere dopo un paio di giorni). In altri casi la parassitizzazione ha seguito il trattamento (eseguito in ultima età iniziale) di circa un giorno.

Nel primo caso, quindi, il trattamento ha trovato la larvettina del parassita annidata nella muscolatura somatica mentre, nel secondo caso, la larvettina dell'entomofago rimane esclusa da un brusco impatto con lo iuvenoide (come nel caso precedente) risentendo esclusivamente degli effetti indiretti rappresentati dalle modificazioni indotte dal farmaco sull'ospite.

C) **Predisposizione dei testimoni:** sono stati tenuti due tipi di testimoni e cioè un testimone non trattato, a cui si è fatto riferimento nella elaborazione dei dati ottenuti dai trattamenti per os; ed un testimone a cui sono stati somministrati 4 μ l/larva di acetone a cui si è fatto riferimento per quanto riguarda la discussione dei dati ottenuti dalle somministrazioni topiche, considerandolo come dose O.

Anche nel caso dei testimoni abbiamo larve parassitizzate in VI età e larve parassitizzate in ultima età iniziale e le modalità di trattamento con l'acetone seguono quelle già viste per i trattamenti topici di iuvenoidi.

RISULTATI

A. - Effetti sull'ospite.

1. - *Percentuali di incrisalidamento.*

Riferite al numero di larve di partenza, ci indicano se, e in qual misura, il prodotto ha avuto effetti deleteri sulla vitalità delle larve ospiti.

Abbiamo una risposta nettamente diversa dell'ospite ai due tipi di trattamenti con il mimetico. Come ben si vede dalla fig. I, nel caso di trattamento per os, assistiamo ad una crescita regolare della percentuale d'incrisalidamento in funzione del prolungamento della somministrazione di pabulum contaminato; nei trattamenti topici, invece, si ottengono i valori minimi in corrispondenza delle dosi più elevate di principio attivo.

Come si nota, i valori raggiunti nel testimonio non trattato (97.05% per i ♂ e 92.4% per le ♀) sono molto vicini ai valori che troviamo per le larve che hanno ingerito per 8 giorni il principio attivo addizionato al pabulum (90.36% per i ♂ e 91.89% per le ♀) e alle percentuali presentate dalle tesi in cui i trattamenti topici hanno riguardato la somministrazione di solo Acetone (91.39% per i ♂ e 95.58% per le ♀).

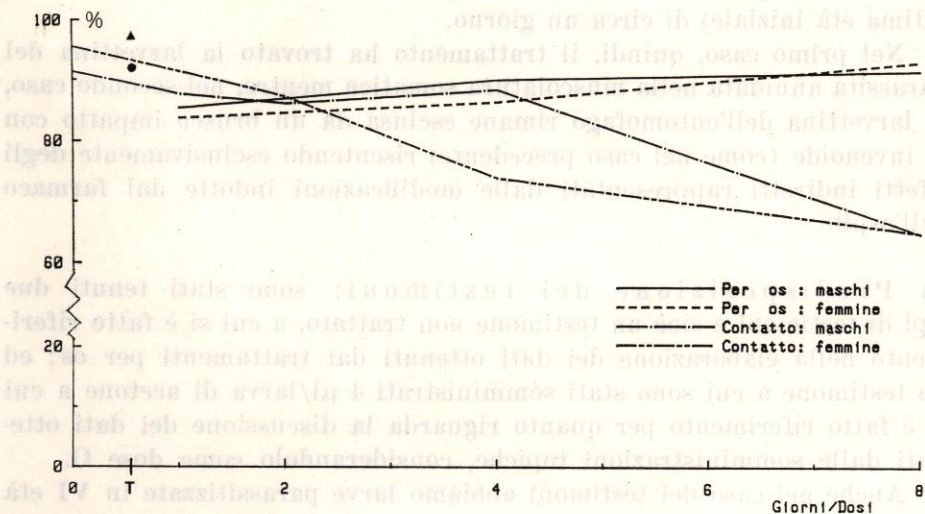


FIG. I

Effetti delle varie dosi di Methoprene, somministrato per os e topicamente, sull'incrisalidamento di *Galleria mellonella* L. In ascissa i valori da 1 ad 8 si riferiscono ai giorni di somministrazione di pabulum contenente lo iuvenoide; facendo riferimento alle dosi di somministrazione topica, si avrà cura di dividerle per 10 (.2; .4; .8) e considerare la dose 0 quella corrispondente al trattamento con solo Acetone (ciò è valido anche per gli altri grafici presentanti simili caratteristiche. T = testimonio non trattato (▲ = maschi; ● = femmine).

Possiamo ritenere, quindi, che il Methoprene non abbia effetti negativi se ingerito, anche per lunghi periodi di tempo, mentre una azione tossica la si potrebbe attribuire alla dose più alta usata per le prove di contatto (mortalità larvale nei ♂ del 36.51% e per le ♀ del 36.43%).

2. - Percentuali di sfarfallamento.

Ci danno la misura delle ripercussioni dello iuvenoide (somministrato alle larve) sulla vita pupale e sono riferite ai totali delle crisalidi formate non parassitizzate e divise per sesso.

Anche in questo caso si nota un'evidente differenza di risposta ai trattamenti per os e topici dato che, nel primo caso, l'incremento della

percentuale di sfarfallamento si accompagna al prolungamento del trattamento, mentre nel secondo assistiamo, con l'aumento della dose, ad un rapido decremento di tali valori. Infatti, nel primo caso, ad un minimo del 61.29% per le crisalidi maschili e di 65.71% per quelle femminili, in corrispondenza della somministrazione protratta per un giorno, abbiamo un massimo di 85.0% per i maschi e 85.19% per le femmine, valori questi molto simili a quelli del testimone non trattato (94.12% per i ♂; 82.93% per le ♀).

Nel caso dei trattamenti per contatto, assistiamo ad un calo regolare degli sfarfallamenti di *Galleria* da un massimo, corrispondente alla dose 0 (trattamento con il solo Acetone), con valori (85.71% per i ♂; 90.91% per le ♀) simili, se non superiori, al testimone non trattato, fino ai valori del trattamento con 0.4 µl (41.18% per i ♂; 43.75% per le ♀) per, infine, avere letteralmente un crollo negli sfarfallamenti alla dose superiore (8,3% per i ♂; 17,65% per le ♀).

Abbiamo quindi un effetto pesantemente nocivo sull'ospite solo a dosi elevate, come confermato anche dall'analisi della varianza tra blocchi, con un F molto significativo (6.25) a riguardo della probabilità a meno dell'1%.

3. - Mortalità crisalidi (2).

È stata rilevata all'atto dello sfarfallamento e, come ben si vede dalla fig. II, è ancora una volta massima nel caso di trattamento topico alla dose maggiore (36.51% per i ♂; 36.42% per le ♀) che, se comparata con i valori della dose 0 (8.61% per i ♂; 4.42% per le ♀), risulta per le crisalidi maschili di oltre 4 volte superiore e per quelle femminili di ben 8 volte maggiore.

Possiamo inoltre notare, ancora una volta, il diverso andamento delle curve per quanto riguarda i trattamenti per os (con massimo della mortalità alla dose minore) e per contatto (con massimo della mortalità alla dose maggiore).

Si rileva dai dati così ottenuti una certa incidenza nei trattamenti topici, alla dose di 0.8 µl/larva di principio attivo, nel causare la morte nelle crisalidi di *Galleria*; infatti, i dati del testimone non trattato (2.95% per i ♂; 7.60% per le ♀) sono molto minori di quelli riscontrati per le crisalidi che derivano da larve trattate topicamente.

(2) È da notare che i dati riguardanti le percentuali di sfarfallamento e le percentuali di mortalità nelle crisalidi, sono complementari. Nella trattazione sono stati esaminati separatamente per meglio analizzare questi due fenomeni.

Modesta è invece l'incidenza della dose O (solo Acetone), che quindi convaliderebbe la scelta di questa sostanza come solvente per lo ijuvenoido.

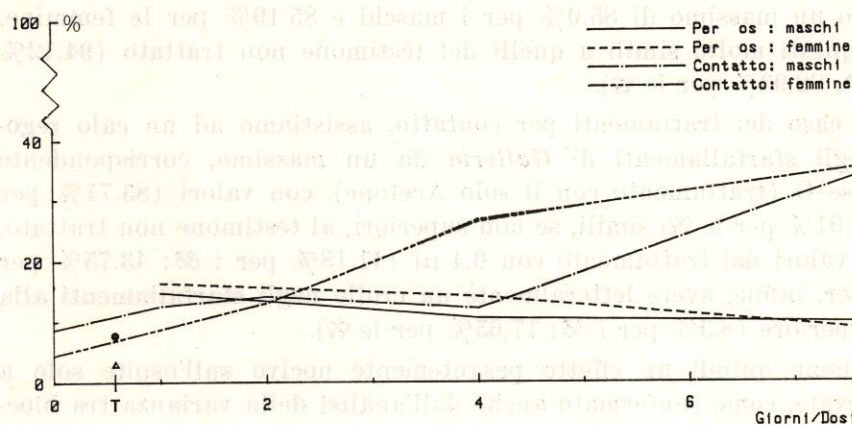


FIG. II

Effetto dei trattamenti, per os e per contatto, sulla mortalità delle crisalidi di *Galleria mellonella* L. T = testimone non trattato (\blacktriangle = maschi; \bullet = femmine).

4. - Peso crisalidi.

L'ospite trattato per os mostra incrementi ponderali assai superiori a quelli ottenuti mediante applicazione topica dello stesso principio attivo. Infatti, come mostrano le figg. III-IV, si passa da un valore medio minimo di mg. 169.79 (corrispondenti a crisalidi $\sigma\sigma$ indenni trattate per un giorno) ad un massimo di mg. 338.24 (per femmine trattate per 8 giorni e ospitanti parassiti).

Nel caso di larve trattate topicamente, figg. V-VI, passiamo da un minimo di mg. 153.84 (per la serie maschile indenne trattata con dose O) ad un massimo di mg. 283.10 (per la serie femminile trattata con 0.8 μg di principio attivo).

I pesi medi nel testimone non trattato vanno da un minimo di mg 152.24 (per la serie maschile indenne) ad un massimo di mg. 202.78 (per la serie femminile ospitante parassiti); l'incremento dovuto all'azione topica dell'Acetone (dose O nei trattamenti per contatto) è estremamente modesto, passando da un valore minimo di mg. 153.84 (per la serie maschile indenne) ad un massimo di mg. 207.74 (per la serie femminile ospitanti parassiti).

L'azione iuvenilizzante dell'Acetone, se è presente, è estremamente modesta e tale da non sovrapporsi ai quantitativi di ormone solubilizzato in esso.

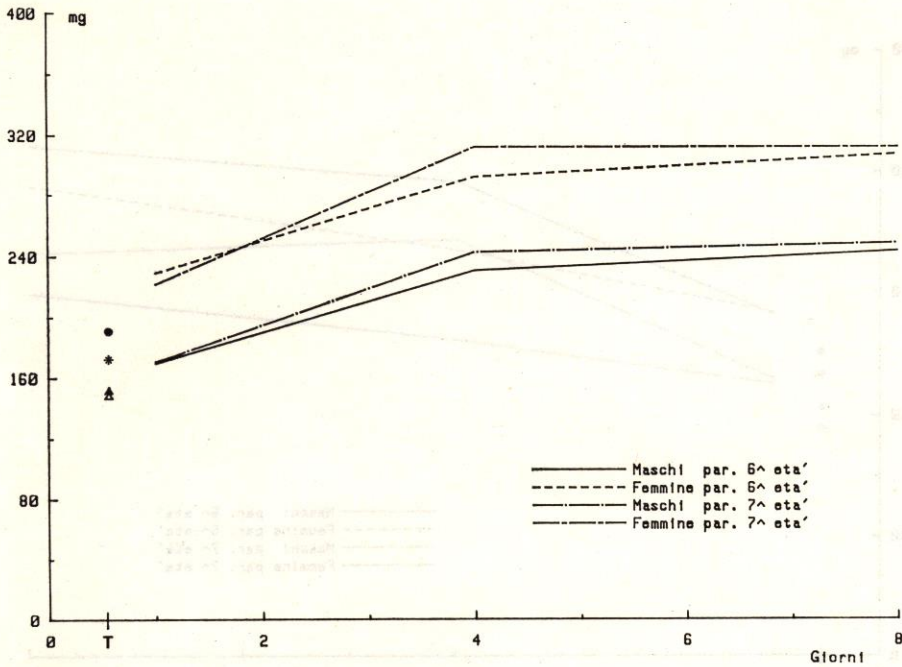


FIG. III

Peso delle crisalidi maschili e femminili indenni, formatesi da larve di *Galleria mellonella* L. trattate per os. T = testimone non trattato (▲ = maschi par. in 6^a età; △ = maschi par. in 7^a età; ● = femmine par. in 6^a età; * = femmine par. in 7^a età). N. B.: dove è indicato « par. 6^a » è da intendersi parassitizzate in penultima età; mentre per « par. 7^a » si è indicata la parassitizzazione in ultima età.

L'incremento ponderale nei trattamenti per os, se comparato con gli incrementi derivanti dai trattamenti topici, è molto regolare; infatti ad un brusco aumento del peso medio delle crisalidi passando da 1 a 4 giorni di trattamento, segue un incremento costante, seppur meno spettacolare, nel caso di trattamenti prolungati per 8 giorni.

B. - Effetti sul parassita.

1. - Percentuali di parassitizzazione.

Questo parametro, calcolato sul rapporto crisalidi totali formate e pupari ottenuti, ci dà un'indicazione dell'incisività dei trattamenti sui

parassiti; passiamo così da valori pari al 59.90%, nel testimone non trattato, al 64.29% nel trattamento per os protrato per un giorno e all'87.08% nel caso di somministrazione topica con la dose più elevata

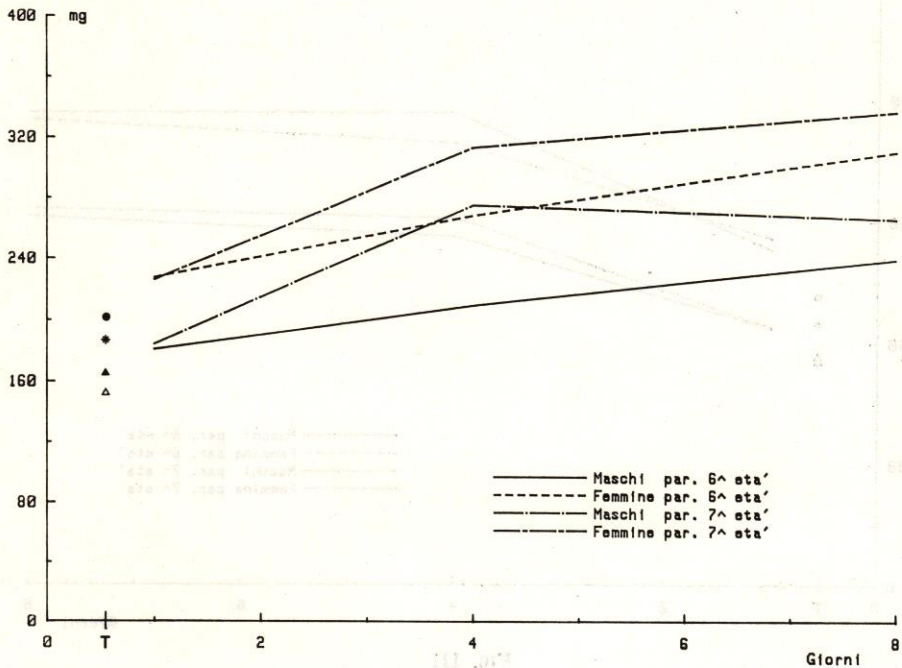


FIG. IV

Peso delle crisalidi maschili e femminili parassitizzate, formatesi da larve di *Galleria mellonella* L. trattate per os. T = testimone non trattato (\blacktriangle = maschi par. in 6^a età; \triangle = maschi par. in 7^a età; \bullet = femmine par. in 6^a età; \ast = femmine par. in 7^a età).

(figg. VII-VIII); valori questi molto alti e discostantesi dalla media dei valori presenti in analoghi lavori riguardanti mimetici dell'ormone giovanile.

L'andamento zigzagante delle curve non è facilmente analizzabile e non sembrerebbe esserci una corrispondenza diretta tra dosi, modalità di somministrazioni dello iuvenoide e percentuali di parassitizzazione. L'analisi tra blocchi, della varianza, confermerebbe ciò; infatti non mostra, nei due tipi di trattamenti, significatività e, significatività, vi è solo nell'analisi tra tesi, nei confronti dei trattamenti topici, a meno dell'1%.

2. - Percentuali di sfarfallamento.

Le percentuali di sfarfallamento del dittero sono buone nella quasi totalità delle tesi, avvicinandosi e spesso superando, i valori del testi-

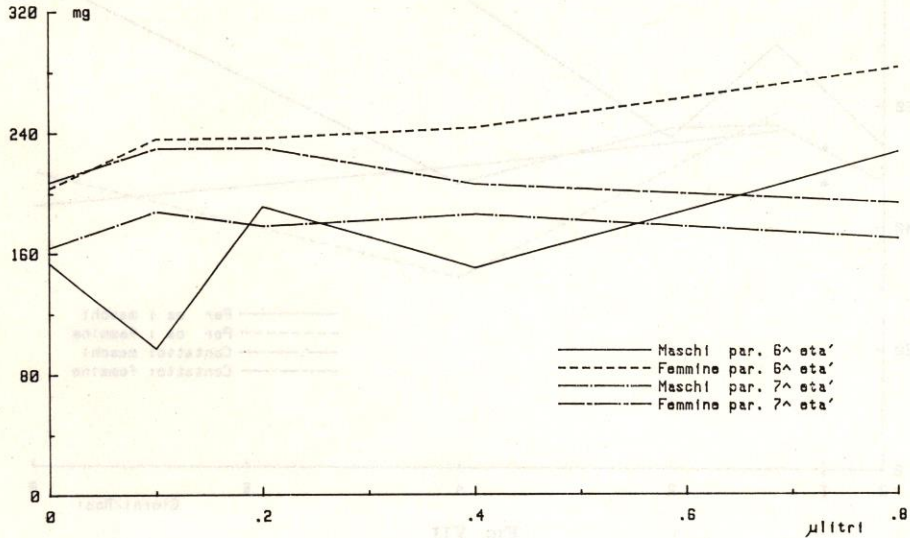


FIG. V

Peso delle crisalidi maschili e femminili indenni, formatesi da larve di *Galleria mellonella* L. trattate topicamente.

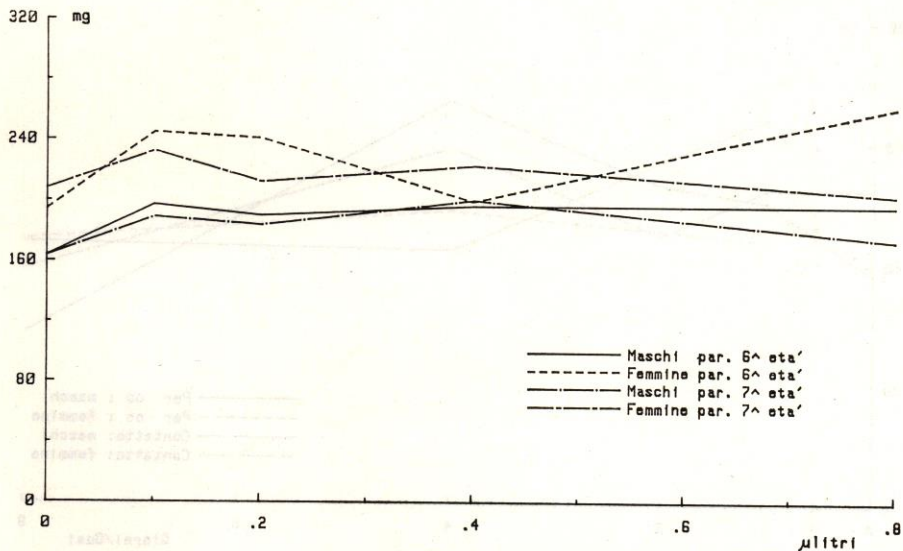


FIG. VI

Peso delle crisalidi maschili e femminili parassitizzate, formatesi da larve di *Galleria mellonella* L. trattate topicamente e nelle quali la parassitizzazione era avvenuta in 6° o 7° età.

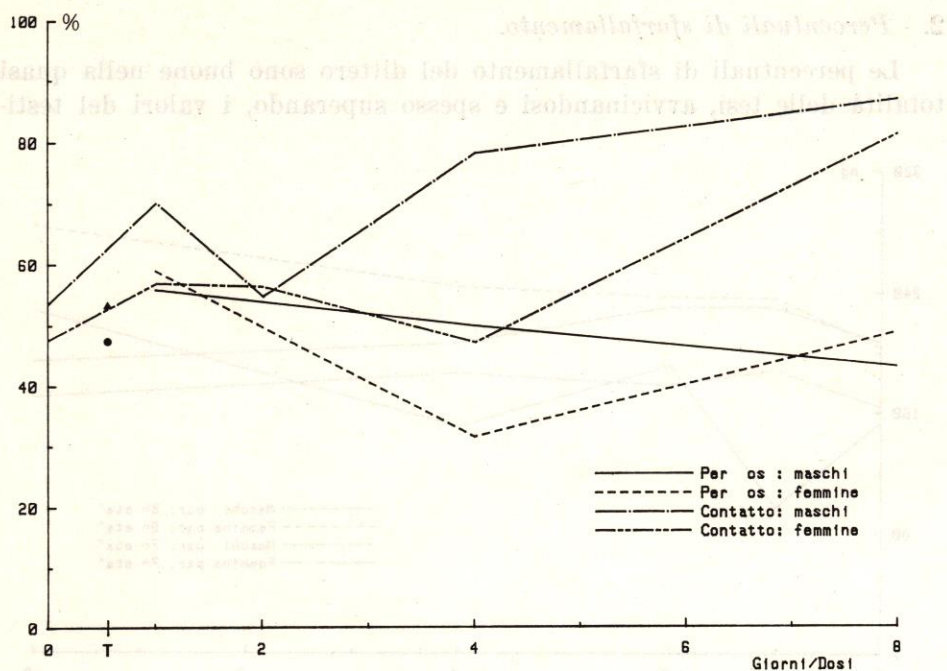


FIG. VII

Andamento delle percentuali di parassitizzazione ad opera di *Gonia cinerascens* Rond.; divise per sesso dell'ospite di origine, *G. mellonella* L., parassitizzato in 6^a età.
T = testimone non trattato (▲ = da cris. ♂♂; ● = da cris. ♀♀).

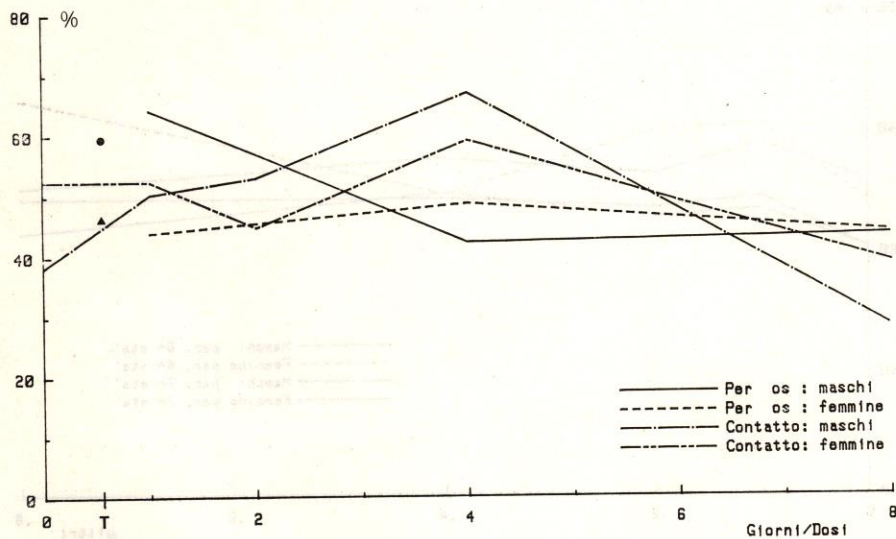


FIG. VIII

Andamento delle percentuali di parassitizzazione ad opera di *Gonia cinerascens* Rond.; divise per sesso dell'ospite di origine, *G. Mellonella* L., parassitizzato in 7^a età.
T = testimone non trattato (▲ = da cris. ♂♂; ● = da cris. ♀♀).

mone non trattato (95.0% da cris. ♂♂; 93.75% da cris. ♀♀) (fig. IX).

Non sembrerebbe esserci, quindi, un diretto effetto negativo del prodotto sul parassita, il quale si limiterebbe a seguire le sorti dell'ospite.

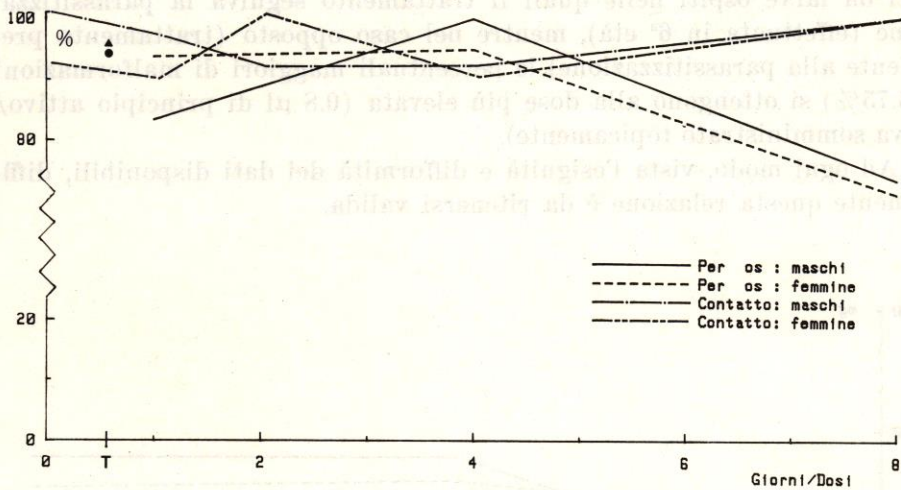


FIG. IX

Andamento delle percentuali di sfarfallamento di *Gonia cinerascens* Rond.; divise per sesso dell'ospite di origine, *G. mellonella* L., parassitizzato in 7^a età. T = testimone non trattato (▲ = da cris. ♂♂; ● = da cris. ♀♀).

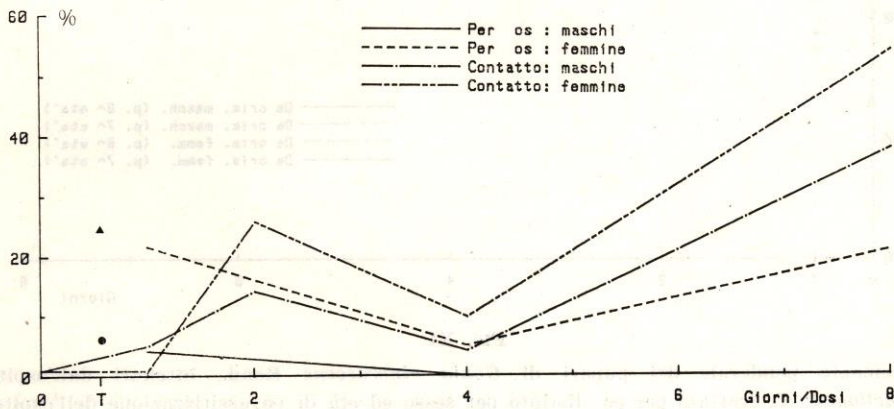


FIG. X

Percentuali di individui malformati di *Gonia cinerascens* Rond.; divise per sesso dell'ospite di origine, *G. mellonella* L., parassitizzato in 7^a età. T = testimone non trattato (▲ = da cris. ♂♂; ● = da cris. ♀♀).

3. - Percentuali di malformazione.

La percentuale degli adulti di *Gonia* malformati (fig. X), caratterizzati dalla mancata introflessione dello ptilinum e dalla mancata disten-

sione, parziale o totale, delle ali, ha un andamento estremamente irregolare, fatto questo da imputare alla scarsità di dati in nostro possesso.

Possiamo notare dai grafici che i valori di malformazione sembrano più elevati alle dosi basse (50.83%), per quanto riguarda ditteri ottenuti da larve ospiti nelle quali il trattamento seguiva la parassitizzazione (effettuata in 6^a età), mentre nel caso opposto (trattamento precedente alla parassitizzazione) le percentuali maggiori di malformazioni (53.75%) si ottengono alla dose più elevata (0.8 µl di principio attivo/larva somministrato topicamente).

Ad ogni modo, vista l'esiguità e difformità dei dati disponibili, difficilmente questa relazione è da ritenersi valida.

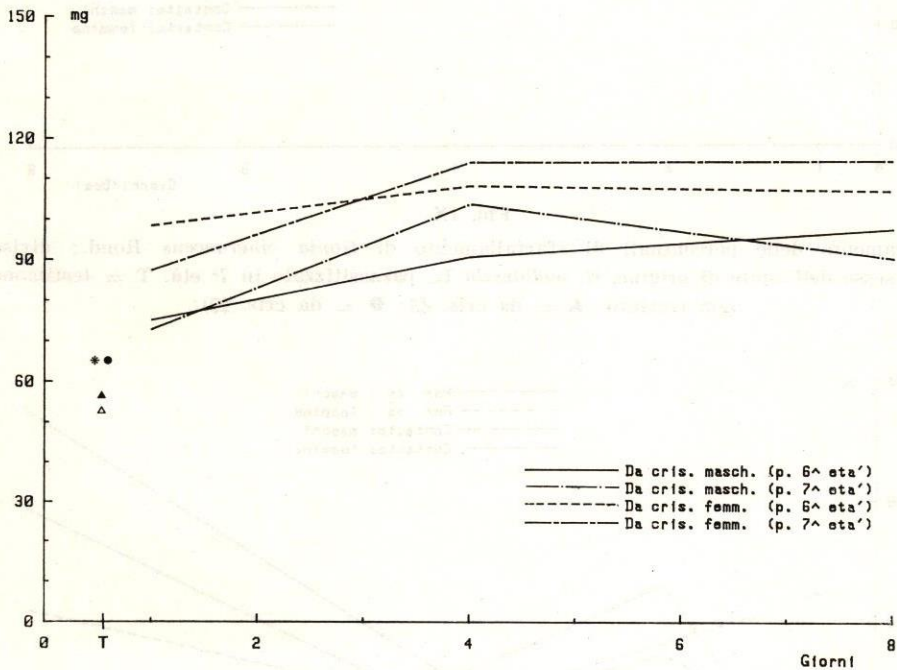


FIG. XI

Incremento ponderale dei pupari di *Gonia cinerascens* Rond., ottenuti dall'ospite *G. mellonella* L. trattato per os, distinto per sesso ed età di parassitizzazione dell'ospite. T = testimone non trattato (▲ = da cris. ♂♂ par. in 6^a età; △ = da cris. ♂♂ par. in 7^a età; ● = da cris. ♀♀ par. in 6^a età; * = da cris. ♀♀ par. in 7^a età).

4. - Peso pupari.

I pesi dei pupari tendono ad aumentare, anche se non in maniera nettissima, con l'aumentare della dose di iuvenoide propinata all'ospite. Le rispettive curve (figg. XI-XII) sono grossomodo sovrapponibili a quelle

riguardanti i pesi delle crisalidi ospiti; così abbiamo un incremento regolare nel caso dei trattamenti per os (fig. XI), mentre un andamento più sinuoso lo notiamo nel caso dei trattamenti topici (fig. XII).

Questo parallelismo tra le curve riguardanti gli incrementi ponderali degli ospiti e quelle dei parassitoidi, ci induce a ritenere che non vi sia una diretta azione dello iuvenoido sulla larvettina del parassita ma che, semplicemente, ciò sia la conseguenza della maggior mole raggiunta dalla vittima.

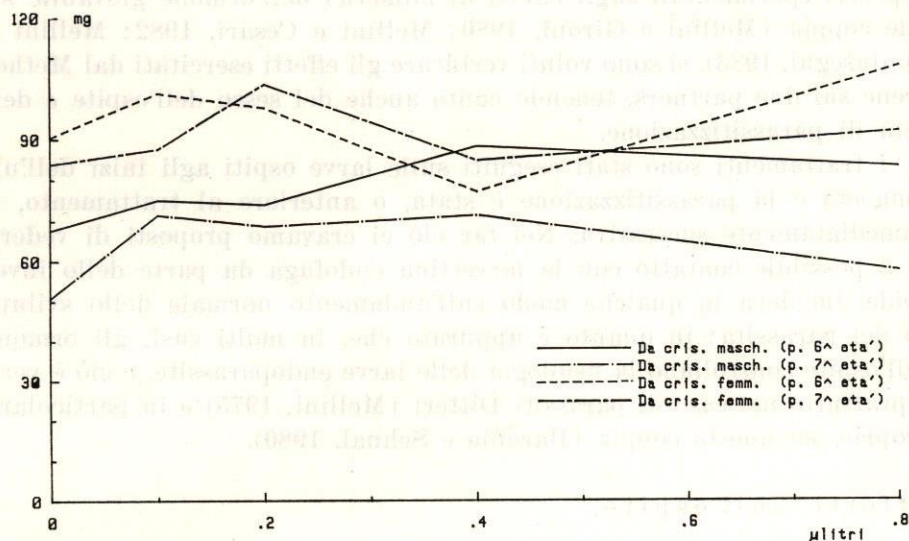


FIG. XII

Incremento ponderale dei pupari di *Gonia cinerascens* Rond., ottenuti dall'ospite *G. mellonella* L. trattato topicamente, distinto per sesso ed età di parassitizzazione dell'ospite.

L'incremento dei pesi dei pupari, ottenuto nelle varie tesi, è significativo a meno dell'1%.

Il peso medio dei pupari, che nel testimone non trattato va da un minimo di mg. 53.58, per quelli derivati da ospiti maschili parassitizzati in ultima età, ad un massimo di mg. 76.12, per quelli provenienti da ospiti femminili pure parassitizzati in ultima età; sale rispettivamente a mg. 97.85 (da cris. ♂ par. in 6^a età) e mg. 114.91 (da cris. ♀ par. in ultima età) per il trattamento per os protratto per 8 giorni.

Per quanto riguarda il trattamento per contatto, abbiamo il valore massimo assoluto, pari a mg. 118.19, per pupari provenienti da crisalidi femminili in cui la parassitizzazione era stata eseguita in 6^a età lar-

vale e trattate con 0.8 μ l di principio attivo/larva, mentre il valore massimo per i pupari provenienti da ospiti maschili, si ottiene con trattamento di 0.4 μ l/larva ed è pari a mg. 88.35.

CONCLUSIONI

Nel proseguire le ricerche sulla fisiologia della coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* - *Gonia cinerascens*, e sulla scia dei precedenti approcci sperimentali sugli effetti di mimetici dell'ormone giovanile su tale coppia (Mellini e Gironi, 1980; Mellini e Cesari, 1982; Mellini e Boninsegni, 1983), si sono voluti verificare gli effetti esercitati dal Methoprene sui due partners, tenendo conto anche del sesso dell'ospite e dell'età di parassitizzazione.

I trattamenti sono stati eseguiti sulle larve ospiti agli inizi dell'ultima età e la parassitizzazione è stata, o anteriore al trattamento, o immediatamente successiva. Nel far ciò ci eravamo proposti di vedere se il possibile contatto con la larvettina endofaga da parte dello iuvenoido, incideva in qualche modo sull'andamento normale dello sviluppo del parassita; in quanto è appurato che, in molti casi, gli ormoni dell'ospite controllano la fisiologia delle larve endoparassite, e ciò è vero soprattutto nel caso di parassiti Ditteri (Mellini, 1975) e in particolare proprio per questa coppia (Baronio e Sehnal, 1980).

Effetti sull'ospite.

La somministrazione di ZR 515 4E a larve di *Galleria*, nelle fasi iniziali dell'ultima età, determina un sensibile aumento ponderale, legato ad una maggiore assunzione di cibo derivante dall'allungamento della loro vita. Possiamo supporre che, nel caso di trattamenti topici, mentre dosi basse incidono solamente sul prolungamento della fase trofica dell'ultimo stadio larvale, quelle alte comportino mute soprannumerarie e la formazione di « superlarve »; nel caso di trattamento per os, essendo meno traumatico e più prolungato nel tempo, si hanno incrementi ponderali maggiori raggiungendo pesi medi dell'ordine di \approx 350 mg., con punte individuali di 450-500 mg.

Ad un incremento brusco di peso, nei trattamenti per os, segue un aumento meno appariscente alle dosi più elevate, e ciò è dovuto, probabilmente, alla necessità di un minimo efficace, al di sopra del quale un'ulteriore somministrazione dello iuvenoido produce un effetto poco vistoso seppur continuo.

A questo proposito dobbiamo aggiungere che, in prove preliminari effettuate per mettere a punto dosaggi e modalità sperimentali, larve lasciate per 12 giorni, ed oltre, a contatto con pabulum addizionato con

il prodotto mimetico, crescevano fino a raggiungere pesi dell'ordine di 500-600 mg., finché non cadevano in diapausa ed infine morivano.

Ciò probabilmente era causato da uno scompenso fisiologico tale che non concedeva chance di ripresa alla larva ospite.

Le percentuali di incrisalidamento si mantengono su valori più che buoni, non discostandosi troppo dai valori dei testimoni, e raggiungendo un livello negativo (mortalità larvale di $\approx 36\%$) solo per il trattamento topico a dose maggiore. È da rilevare una mortalità larvale maggiore (14.76% per i ♂♂; 16.42% per le ♀♀) nel caso del trattamento per os protratto per un giorno, rispetto agli altri periodi di somministrazione di pabulum trattato, e ciò è forse da mettere in relazione con un maggior stress da manipolazione subito dalle larve di *Galleria* ⁽³⁾.

Situazione analoga anche per le percentuali di sfarfallamento che calano progressivamente, in funzione della dose, nei trattamenti topici, per raggiungere livelli bassissimi (8.3% per i ♂♂; 17.65% per le ♀♀) nel caso della dose di 0.8 µl/larva; il curioso andamento inverso rispetto alla dose, nei trattamenti per os, si ripete anche in questo caso. Nei trattamenti per os le percentuali di sfarfallamento sono, comunque, più elevate che in quelli topici e ciò, probabilmente, è legato alla diluizione nel tempo della somministrazione del farmaco (e forse alla minore quantità totale) che si rivela, quindi, meno traumatica di un forte apporto « una tantum » di iuvenoide.

Gli adulti giganti che riescono a sfarfallare, generalmente si riproducono deponendo uova fertili dalle quali schiudono larvette vitali che danno origine ad una nuova generazione del lepidottero.

Valori simili alla mortalità larvale si riscontrano anche per la mortalità delle crisalidi all'atto di sfarfallamento; questi dati ci indicano che gli effetti dei trattamenti subiti dalle larve si concreterebbero anche, sebbene in misura più blanda, nelle crisalidi; valgono ancora le osservazioni sulla dipendenza dalla dose per i trattamenti topici, e il comportamento inverso nei riguardi dei trattamenti per os.

L'Acetone, usato come solvente, per favorire il superamento della barriera rappresentata dalla cuticola, dello iuvenoide, ha un comportamento scarsamente iuvenilizzante e, tutto sommato, non incide sui parametri vitali presi in esame, dando sempre valori medi estremamente simili a quelli riscontrabili nel testimone non trattato.

In conclusione, l'esposizione delle larve di *Galleria* allo iuvenoide, determina effetti positivi e negativi, infatti, se da un lato porta ad un

(3) Tale maggiore stress da manipolazione appare evidente se si pensa che le larve trattate per os per un giorno, vengono isolate dal pabulum due volte nel giro di 24 ore, quando sono ancora piccole e relativamente fragili. Tale stress potrebbe influire negativamente sulle condizioni fisiche generali ed in particolare sulla resistenza al trattamento (cfr. anche Mellini e Bratti, 1983).

incremento ponderale che può essere notevole, dall'altro può, a dosi elevate, portare ad un aumento della mortalità larvale e pupale.

Effetti sul parassita.

Le percentuali di parassitizzazione oscillano, per quanto riguarda i trattamenti per os, attorno ai valori del testimone non trattato e non sembrerebbe esserci, quindi, un'interferenza diretta negativa del Methoprene sul parassitoide, convincimento questo rafforzato dalle percentuali di sfarfallamento, sempre molto alte e spesso con valori superanti quelle dei testimoni. Solamente, per quanto riguarda i trattamenti topici, vi sarebbe una significatività nell'analisi tra tesi, a riguardo delle percentuali di parassitizzazione, a meno dell'1%.

Ricordiamo che il parassita può essere condotto a morte dalla morte dell'ospite, quando si trova come larveta di I età confinata nei muscoli della larva vittima, ed anche come larva di III età nella vittima che ha raggiunto lo stadio di crisalide, come abbiamo riscontrato dissezionando queste ultime in putrefazione.

L'analisi statistica ha evidenziato che i tassi di malformazione, consistente nella mancata introflessione dello ptilinum e distensione alare, non sono significativi e gli apparenti alti valori ottenuti, anche nel testimone non trattato, sono imputabili alla scarsità e difformità dei dati in nostro possesso.

L'effetto maggiore dello iuvenoide, peraltro indiretto, lo si ha nell'incremento dei pesi dei pupari. Le curve relative agli aumenti ponderali degli ospiti e dei parassiti, grossomodo sovrapponibili, ci indicano che l'aumento medio nel peso dei pupari è conseguenza della maggior mole raggiunta dalla vittima.

A questo proposito vi sono dei dati estremamente interessanti che provano la possibilità di sviluppo di più di un parassita in ospiti di adatte dimensioni; in tre casi, due durante i trattamenti per os ed uno durante trattamenti topici, sono stati riscontrati due pupari in una unica crisalide, crisalidi di peso molto alto compreso tra i 450 e 480 mg., ed in un caso da entrambi i pupari sono sfarfallati individui normali di *Gonia*.

In conclusione, dall'esame totale dei dati raccolti è evidente che lo iuvenoide non ha effetti negativi diretti sul parassita, e il prodotto è dannoso per *Gonia* nella misura in cui esso uccide l'ospite stesso e, dato che è poco nocivo per quest'ultimo, salvo che a dosaggi molto elevati, non reca danni sensibili all'antagonista; nel contempo presenta anche aspetti positivi legati alla formazione di crisalidi più grosse che si traducono nella formazione di pupari più pesanti.

Difficilmente quantificabili sono gli effetti sulle diverse età di parassitizzazione, probabilmente la larveta di I età, annidata nella musco-

latura dell'ospite, è sufficientemente protetta dall'impatto diretto con lo iuvenoide, risentendone solo attraverso le modificazioni che questo apporta alla fisiologia dell'ospite, ingigantendosi con esso o con esso morendo.

RIASSUNTO

Sono state compiute sperimentazioni somministrando alle larve ospiti, all'inizio dell'ultima età larvale, dosi varianti da 0.1 a 0.8 μ l di Methoprene (ZR 515 4E), mediante applicazioni topiche prima o dopo la parassitizzazione, nonché per via orale, aggiungendo il principio attivo alla dieta artificiale in ragione dello 0.1% per un periodo variabile da 1 a 8 giorni.

Lo iuvenoide ha provocato nell'ospite i seguenti effetti: a) progressivo incremento ponderale delle crisalidi, b) modesti effetti sulla mortalità larvale e, c) sulla mortalità delle crisalidi, che risultano elevate solo alle dosi più elevate dei trattamenti topici.

Mentre l'assunzione per os, se prolungata nel tempo, determina un progressivo ingigantimento, l'applicazione per contatto, effettuata «una tantum», dà, al di sopra di una dose minima efficace, risposte simili per quantitativi diversi.

Gli effetti provocati sul parassita sono indiretti, in quanto rappresentati da un semplice trasferimento di quelli indotti nell'ospite; così il peso dei pupari aumenta con quello delle crisalidi, anche se non in misura strettamente proporzionale a quello del partner. Modeste le variazioni nelle percentuali di mortalità pupale, sempre assai basse.

Effects of the juvenoid ZR 515 4E (Methoprene) on the host-parasite couple *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond.

SUMMARY

Experiments have been performed, by administering the host larvae, at the beginning of the last stage, Methoprene (ZR 515 4E) doses ranging from 0.1 μ l through 0.8 μ l, by means of topical application before or after the parasitization, as well as orally, by adding the juvenoid at the rate of 0.1% to the artificial diet, for a period covering 1 through 8 days.

This juvenoid caused the following effects on the host: a) progressive weight increase of the pupae, b) moderate effects over the larval and, c) pupal mortality, which was high only when the highest dose had been given by topical application.

While the ingestion, if continued for a long period, determines a progressive gigantism, the «una tantum» application by contact offers, above a minimum efficacious dose, similar results with different quantities.

The effects induced on the parasite are indirect, because they are only a simple reflection of those caused to the host. Their weight increases with that of the chrysalis, even though the increase rate is not strictly proportional to that of the partner. The variations are moderate, constantly very low, in the percentage of pupal mortality.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ANONIMI, 1976. — Preliminary experiments of the application of juvenoids in the control of agricultural insect pest. - *Acta ent. Sinica*, 19; 263-281.
- BALDWIN W. F., CHANT G. D., 1976. — Tests of a growth regulator on mosquitoes (Dipt. Culicidae) at Clark River. - *Can. Ent.*, 108: 1153-1154.
- BARONIO P., SEHNAL F., 1980. — Dependence of the parasitoid *Gonia cinerascens* on the hormones of its lepidopterous hosts. - *J. Insect Physiol.*, 26: 619-626.
- BARONIO P., CAMPADELLI G., 1978. — Ciclo biologico di *Gonia cinerascens* Rond. (Dipt. Tachinidae) allevata in ambiente condizionato sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleridae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 34: 35-54.
- BECKAGE E. N., RIDDIFORD L. M., 1982. - Effects of methoprene and juvenile hormone on larval ecdysis, emergence, and metamorphosis of the endoparasitic wasp, *Apanteles congregatus*. - *J. Insect Physiol.*, 28: 329-334.
- BREEDEN G. C., TURNER E. C., Jr., BEANE W. L., 1975. - Methoprene as a feed additive for control of the house fly breeding in chicken manure. - *J. econ. Ent.*, 68: 451-452.
- CAMPADELLI G., 1973. - Allevamento di *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Galleriidae) con dieta semiartificiale. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 22: 11-25.
- DE LOOF A., VAN LOON J. and HADERMANN T., 1979. — Effects of juvenile hormone I, methoprene and kinoprene on development of the hymenopteran parasitoid *Nasonia vitripennis*. - *Entomol. exp. & appl.*, 26: 301-313.
- EDWARDS J. P., 1975. — The effects of a juvenile hormone analogue on laboratory colonies of pharaon's ant, *Monomorium pharaonis* L. (Hym. Formicidae). - *Bull. ent. Res.*, 65: 75-80.
- FASHING N. J., SAGAN H., 1979. — Effect of the juvenile hormone analog methoprene on *Nasonia vitripennis* when administered via a host, *Sarcophaga bullata*. - *Environ. Entomol.*, 8: 816-818.
- MELLINI E., 1975. — Studi sui Ditteri Larvevoridi. XXV. Sul determinismo ormonale delle influenze esercitate dagli ospiti sui loro parassiti. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 31: 165-203.
- MELLINI E., BARONIO P., 1971. — Ricerche sulla variabilità megetica del parassita in relazione allo stadio in cui l'ospite viene contaminato. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 30: 189-204.
- MELLINI E., BONINSEGGNI G., 1983. — Ripercussioni sul parassita *Gonia cinerascens* Rond. di trattamenti con idroprene effettuati su ospiti nelle fasi finali dello sviluppo preimmaginale. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 37: 171-191.
- MELLINI E., BRATTI A., 1983. — Effetti delle deiezioni e della manipolazione sullo sviluppo di *Galleria mellonella* L. e ripercussioni sul parassita *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 38: 55-73.
- MELLINI E., CAMPADELLI G., 1980. — Confronto ponderale tra individui parassitizzati e indenni nella coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 35: 109-125.
- MELLINI E., CESARI R., 1982. — Effetti dello iuvenoide ZR 512 4E (Idroprene) sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 36: 141-158.

- MELLINI E., GIRONI R., 1980. — Effetti di uno iuvenoide sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 35: 189-213.
- MULLA M. S., NORLAND R. L., IKESHOJI T., KRAMER W. L., 1974. — Insect growth regulators for the control of aquatic midges. - *J. econ. Ent.*, 67: 165-170.
- PELEG B. A., GOTHILF S., 1980. — Effect of the juvenoid Altosid on the development of three hymenopterous parasites. - *Entomophaga*, 25: 323-327.
- PRASERT V., KNAPP F. W., LYONS E. T., DRUDGE J. H., 1976. — Biological effects of methoprene on the skeep hot fly. - *J. econ. Ent.*, 68: 639-640.
- SCHAEFER C. H., WILDER W. H., 1972. — Insect developmental inhibitors: a practical evaluation as mosquito control agents. - *J. econ. Ent.*, 63: 1066-1071.