

PAOLO FANTI, MARCO TURCHETTI, AMADOU KONOTIÈ COULIBALY  
Istituto di Entomologia «G. Grandi» dell'Università degli Studi di Bologna

Attecchimento e sviluppo delle larvette del parassitoide larva-pupale *Pseudogonia rufifrons* Wied. nello stadio larvale di *Galleria mellonella* L. in relazione all'età dell'ospite alla contaminazione<sup>(1)</sup>.

(Ricerche eseguite con contributo M.U.R.S.T. 40%)

INTRODUZIONE

In più di un decennio di ricerca sul sistema ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. sono stati studiati numerosi parametri, biotici ed abiotici, in grado di interferire, in senso positivo o negativo, sul fenomeno parassitario (Mellini e Coulibaly, 1991). Una delle caratteristiche riscontrate nel corso delle sperimentazioni è legata al fatto che le percentuali di parassitizzazione raggiungono raramente valori superiori al 50-60% e ciò nonostante il fatto che *G. mellonella* sia un ospite pienamente idoneo.

Nel corso di questa sperimentazione è stato studiato il destino delle larvette di *P. rufifrons* nel corso della vita larvale dell'ospite, contaminato in diversi momenti degli ultimi due stadi larvali, dissezionando ad intervalli di tempo successivi gli individui parassitizzati e verificando sia il numero di tachinidi presenti sia il loro accrescimento, in funzione di diversi parametri (tempo, dimensioni e stato fisiologico dell'ospite al momento della contaminazione e della dissezione, ecc.).

Precedenti lavori avevano considerato e discusso le variazioni nelle percentuali di parassitizzazione nel sistema *P. rufifrons* - *G. mellonella*, effettuando la contaminazione in diverse età larvali<sup>(2)</sup> (Baronio *et al.*, 1981; Campadelli e Fanti, 1987; Turchetti, 1987) o in vari momenti nel corso dell'ultima età larvale (Mellini *et al.*, 1986). Tali percentuali venivano esaminate calcolando il rapporto in base ai pupari formati nell'ospite, considerando cioè l'effetto finale del mo-

---

<sup>(1)</sup> Lavoro accettato il 15 giugno 1992.

<sup>(2)</sup> L'influenza dello stadio di contaminazione dell'ospite per la biologia dei Ditteri Tachinidi è stato esaminato in un'approfondita revisione da Mellini (1986).

mento di contaminazione dell'ospite sulla riuscita della simbiosi parassitaria. Le osservazioni svolte nella presente sperimentazione ci permettono invece di distinguere l'influenza di tale fattore in varie fasi dello sviluppo del parassitoide, integrando così i dati precedenti.

#### MATERIALI E METODI

La sperimentazione è stata condotta sul sistema ospite- parassita *G. mellonella* - *P. rufifrons*, mantenuto in allevamento secondo le tecniche illustrate da Baronio e Campadelli (1978).

Le larve dell'ospite impiegate nella sperimentazione venivano inizialmente isolate nel corso della 5<sup>a</sup> età larvale, determinata in base alle dimensioni della capsula cefalica (Sehnal, 1966) ed erano esaminate giornalmente. A partire dalla 6<sup>a</sup> età larvale venivano quindi isolate in gruppi di 30-40, che erano sottoposti a parassitizzazione in momenti diversi.

Si è seguita la tecnica della contaminazione individuale, isolando cioè ogni larva in una piccola capsula Petri (r=3 cm) contenente una lamina di cera con 10 uova microtipiche del tachinide. Dopo circa 12-24 h., verificata l'ingestione delle uova, le larve di *G. mellonella* venivano pesate singolarmente e quindi nuovamente riposte nelle piastre, in cui veniva aggiunta dieta in quantitativo sufficiente al raggiungimento della maturità.

A seconda dell'età in cui l'ospite veniva messo a contatto con le uova del tachinide, si ottenevano sei differenti tesi, corrispondenti ai seguenti momenti di contaminazione: 1° e 3° giorno della 6<sup>a</sup> età; 1°, 3°, 5° e 7° giorno della 7<sup>a</sup> (ultima) età.

In ognuno dei sei gruppi così formati alcune larve ospiti venivano dissezionate 40-60 ore dopo la contaminazione, mentre per le rimanenti si attendeva l'incrisalidamento, avendo cura di registrare il tempo effettivamente trascorso dal parassitoide nella fase larvale della vittima. Per ogni individuo dissezionato veniva osservato il numero di larvette vive del parassitoide (ed eventuali larve morte o incapsulate), le loro dimensioni, lo stadio raggiunto, nonché il peso dell'ospite alla dissezione. Inoltre, all'atto della dissezione delle pupe neoformate di *G. mellonella*, si procedeva anche all'esame delle esuvie per accertare la presenza di larvette di seconda età del tachinide rigettate all'ecdisi. Per ogni larva ospite è stato osservato il peso al momento della dissezione, nonché il sesso in quelle per cui si è attesa la metamorfosi. Sono state effettuate tre repliche della sperimentazione.

L'età larvale di *P. rufifrons* è facilmente determinabile in base all'esame degli spiracoli tracheali posteriori ed alla morfologia dell'apparato boccale. Il peso delle larvette del tachinide è stato determinato usando una bilancia di precisione Mettler.

Durante tutto il corso della prova, il materiale biologico era mantenuto in armadio climatizzato a  $35 \pm 1^\circ\text{C}$ , temperatura più elevata di quella abituale per l'allevamento della coppia di simbionti. Questo in seguito alle osservazioni di

Bratti (1985) che ha rilevato come le larve di *G. mellonella* aumentino, con la loro attività motoria e respiratoria, la temperatura della massa trofica in cui vivono di diversi gradi rispetto alla temperatura dell'ambiente circostante. Mantenere gli individui isolati significa sottoporli praticamente ad una temperatura più bassa rispetto alla condizione gregaria ed allungarne notevolmente i tempi di sviluppo, con l'insorgere di fenomeni di quiescenza. L'utilizzo di una temperatura più elevata non elimina completamente tali problemi, ma comunque li riduce.

L'analisi statistica dei parametri considerati è stata effettuata, quando non altrimenti indicato, tramite analisi della varianza a più criteri di classificazione, oppure con analisi della covarianza. Il test di separazione delle medie utilizzato è quello della differenza minima significativa di Fischer (Lsd test). Per i valori percentuali è stata effettuata la trasformazione angolare dei dati (Snedecor e Cochran, 1980).

## RISULTATI

Inizialmente sono state esaminate le **percentuali di parassitizzazione** degli ospiti<sup>(3)</sup>, distinguendo quelli esaminati nello stadio larvale 40 e 60 ore dopo la contaminazione da quelli dissezionati subito dopo la formazione della crisalide.

I valori medi, riportati nella tabella 1, sono sostanzialmente simili: in ognuno dei tre momenti esaminati si verifica una flessione dei valori per contaminazioni svolte nella fase finale di entrambi gli stadi larvali dell'ospite presi in esame, anche se l'effetto del trattamento non è risultato significativo per le larve dissezionate 40 ore dopo la parassitizzazione.

Le percentuali di parassitizzazione riscontrate nelle larve dissezionate 40 e 60 ore dopo la contaminazione non differiscono significativamente (coupled t test;  $t=0.56$ ,  $p=0.58$ ), mentre lo sono tra gli ospiti esaminati dopo l'impupamento e le larve 60 ore dopo la parassitizzazione ( $t=2.43$ ,  $p=0.03$ ).

In relazione al parametro **numero di larve di prima età ( $L_1$ ) del parassitoide** rinvenute nelle larve ospiti dissezionate sono stati presi in esame il momento di contaminazione ed il momento in cui è stata effettuata la dissezione (40 e 60 ore).

L'effetto del momento di parassitizzazione è risultato altamente significativo ( $F=3.45$ , g.l. 5, 176,  $p=0.005$ ). Il momento di dissezione e l'interazione fra i due fattori non sono invece risultati significativi, per cui il numero medio per tesi di  $L_1$  rinvenute è presentato in tab. 2 senza distinzione fra 40 e 60 ore. Fra le tre repliche non sono state riscontrate differenze significative.

L'andamento dei valori è tendenzialmente simile a quello riscontrato a proposito delle percentuali di parassitizzazione. È inoltre importante sottolineare

---

<sup>(3)</sup> Il valore è stato calcolato tenendo conto degli ospiti dissezionati in cui è stata rinvenuta almeno una larva viva del parassitoide.

Tab. 1 - Percentuali medie di parassitizzazione  $\pm$  e.s. negli ospiti dissezionati dopo 40 ore (F=0.68; g.l. 5, 10; n.s.), dopo 60 ore (F=3.87; g.l. 5, 10; p=0.033), subito dopo l'incrisalidamento (F=4.25; g.l. 5, 10; p=0.025). Nella stessa colonna medie seguite dalla stessa lettera non differiscono statisticamente tra loro (Lsd test,  $\alpha=0.05$ ).

Tesi	40 ore	60 ore	crisalide
6età 1°g	86.7 $\pm$ 13.3 a	93.3 $\pm$ 6.7 ab	62.0 $\pm$ 10.3 ab
6età 3°g	80.0 $\pm$ 20.0 a	86.7 $\pm$ 6.7 ab	50.4 $\pm$ 7.3 a
7età 1°g	88.9 $\pm$ 5.5 a	100.0 $\pm$ 0.0 a	81.4 $\pm$ 8.7 bc
7età 3°g	100.0 $\pm$ 0.0 a	86.7 $\pm$ 6.7 ab	90.2 $\pm$ 6.1 c
7età 5°g	80.0 $\pm$ 11.5 a	80.0 $\pm$ 0.0 bc	84.5 $\pm$ 4.6 bc
7età 7°g	86.7 $\pm$ 6.7 a	71.7 $\pm$ 6.0 c	70.7 $\pm$ 8.5 ab

che, nonostante la singola somministrazione ad ogni ospite di 10 uova microtipiche e la verifica della loro ingestione, circa il 70-80% dei parassitoidi viene a perdersi nelle fasi di presa di possesso dell'ospite e durante l'iniziale accrescimento.

Un'analisi della covarianza è stata eseguita sui **pesi medi delle L<sub>1</sub>**, esaminando l'influenza della variabile concomitante «numero di larve di prima età rinvenute in ciascun ospite», che risulta altamente significativa (F=14.25, p<0.001). Poichè è risultata tale anche l'interazione fra il momento di contaminazione e il momento in cui è stata effettuata la dissezione degli ospiti (F=3.32, p<0.01), l'analisi è stata ripetuta tenendo distinti i dati delle osservazioni a 40 e 60 ore. Nel primo caso solo l'effetto della replica è risultato significativo, anche se il livello di probabilità della covariata è molto vicino alla soglia dello 0.05 (P=0.058). A 60 ore dalla parassitizzazione, invece, l'andamento dei pesi delle larve del parassitoide è risultato influenzato significativamente sia dal momento in cui era stata effettuata la contaminazione (F=6.85; g.l. 1, 68; p=0.011) sia dal numero di larve presenti in ogni ospite (coeff. di regressione della covariata = 1.18). Anche in questo caso la differenza fra i valori delle tre repliche è significativa.

Tab. 2 - Valori medi  $\pm$  e.s. relativi al numero medio di parassitoidi rinvenuti nelle larve ospiti e pesi medi degli stessi, in  $\mu$ g, 40 e 60 ore dopo la contaminazione. Nella stessa colonna medie seguite dalla stessa lettera non differiscono statisticamente tra loro (Lsd test;  $\alpha=0.05$ ).

Tesi	n L <sub>1</sub>	peso L <sub>1</sub> 40 ore	peso L <sub>1</sub> 60 ore
6età 1°gg	3.3 $\pm$ 0.3 ab	25.2 $\pm$ 3.1 a	57.9 $\pm$ 5.2 a
6età 3°gg	2.6 $\pm$ 0.4 bc	37.9 $\pm$ 7.1 a	36.1 $\pm$ 3.5 bc
7età 1°gg	3.6 $\pm$ 0.4 a	26.0 $\pm$ 3.1 a	40.1 $\pm$ 4.2 bc
7età 3°gg	3.3 $\pm$ 0.4 ab	26.9 $\pm$ 2.8 a	43.5 $\pm$ 4.0 b
7età 5°gg	2.4 $\pm$ 0.3 bc	20.3 $\pm$ 2.5 a	34.7 $\pm$ 4.1 bc
7età 7°gg	2.0 $\pm$ 0.3 c	24.0 $\pm$ 3.6 a	30.2 $\pm$ 2.8 c

Nella presente sperimentazione non è stata quasi mai riscontrata, nel corso delle dissezioni delle larve ospite, la presenza di  $L_1$  morte od incapsulate o di larve precocemente mutate in seconda età, fenomeno osservato e discusso da Fanti e Bratti (1988). I valori medi del numero di larve di prima età e dei loro pesi sono quindi relativi a parassitoidi vivi al momento dell'osservazione.

Negli ospiti dissezionati subito dopo l'incrisalidamento è stato analizzato il **numero di larve di seconda età ( $L_2$ )** ripenstrate nella pupa e il **numero di  $L_2$  vive**. Essendo infatti *P. rufifrons* un parassitoide solitario, già al momento della ripenetrazione nella crisalide si verifica una competizione fra le larvette parassite, per soffocamento o per attacco diretto (Baronio e Campadelli, 1978; Mellini e Gironi, 1981).

È stata eseguita un'analisi preliminare dei dati per verificare eventuali differenze nei due sessi dell'ospite, ma né tale fattore, né l'interazione di questo con il momento di contaminazione sono risultati significativi, per cui l'analisi successiva è stata condotta senza distinguere fra parassitoidi in pupe ospiti maschili e femminili.

Per entrambi i parametri analizzati, esiste una differenza significativa fra le medie relative al momento di contaminazione ( $F=7.77$ , g.l. 5, 368;  $p<0.001$ ;  $F=4.62$ , g.l. 5, 368;  $p<0.001$ ) e l'andamento dei valori non si discosta da quanto osservato nelle larve dissezionate (tab. 3).

Sotto la voce **altri parassiti** sono invece state considerate le larve di seconda età che non sono riuscite a ripenestrare nella crisalide e sono state rinvenute nell'esuvia dell'ospite e le occasionali larve di prima età osservate nella crisalide<sup>(4)</sup>. Si tratta di casi non rilevanti numericamente (tab. 3) e che non appaiono influenzati dal momento di contaminazione, mentre risulta significativo l'effetto del numero totale di parassitoidi presenti nell'ospite.

Gli ultimi tre parametri menzionati sono stati calcolati sul totale delle crisalidi esaminate, parassitizzate o meno, e ci forniscono una valutazione sul numero di larve del tachinide ancora presenti rispetto al numero iniziale di uova microtipiche somministrate. Il **numero di  $L_2$  vive in rapporto alle crisalidi parassitizzate** è stato invece analizzato per valutare l'effettiva distribuzione delle larvette di *P. rufifrons* negli ospiti. In questo caso, pur mantenendosi la stessa tendenza dei valori medi osservata in altri parametri, il momento di contaminazione non è risultato significativo ( $F=0.95$ , g.l. 5, 275).

Il **peso medio delle  $L_2$** , valutato dopo l'incrisalidamento di *G. mellonella* è stato calcolato tenendo conto delle larvette vive osservate nella crisalide. La raccolta delle pupe neofornate avveniva con un intervallo variabile fra le 3 e le 10 ore. In questa fase l'incremento ponderale dei parassitoidi aumenta in misura

---

<sup>(4)</sup> Tali larvette non mutate sono state ritrovate solo in crisalidi in cui erano già presenti una o più larve vive di seconda età. È quindi presumibile che, anche qualora riuscissero a mutare e stabilissero un imbutto respiratorio, esse finirebbero col soccombere alla competizione esercitata dalla larva conspecifica di maggiori dimensioni.

Tab. 3 - Valori medi  $\pm$  e.s. relativi al numero medio di parassitoidi rinvenuti nelle pupae ospite o nelle esuvie, calcolati sul totale degli ospiti, parassitizzati o meno (per ulteriori spiegazioni vedi testo). Nella stessa colonna medie seguite dalla stessa lettera non differiscono statisticamente tra loro (Lsd test,  $\alpha=0.05$ ).

Tesi	n°L <sub>2</sub> vive e non	n°L <sub>2</sub> vive	altri parassiti
6età 1°gg	2.0 $\pm$ 0.2 b	1.3 $\pm$ 0.2 ab	0.35 $\pm$ 0.10 a
6età 3°gg	1.3 $\pm$ 0.2 a	0.9 $\pm$ 0.1 a	0.31 $\pm$ 0.09 a
7età 1°gg	2.6 $\pm$ 0.2 bc	1.6 $\pm$ 0.2 bc	0.42 $\pm$ 0.09 a
7età 3°gg	2.7 $\pm$ 0.2 c	1.9 $\pm$ 0.1 c	0.32 $\pm$ 0.07 a
7età 5°gg	2.1 $\pm$ 0.2 b	1.6 $\pm$ 0.2 bc	0.29 $\pm$ 0.08 a
7età 7°gg	2.3 $\pm$ 0.3 bc	1.6 $\pm$ 0.2 bc	0.26 $\pm$ 0.09 a

notevole e, di conseguenza, la variabilità riscontrata fra le singole misurazioni può risentire del fatto che non era possibile effettuare la dissezione dell'ospite senza incorrere in qualche ora di ritardo. I valori medi sono presentati nella tab. 4. Il momento di contaminazione ha influenzato significativamente ( $F=2.3$ , g.l. 5, 273;  $p=0.046$ ) i pesi medi dei parassitoidi in seconda età, che presentano i valori più elevati per parassitizzazioni effettuate al 3° ed al 1° giorno dell'ultima età larvale, mentre a contaminazioni precedenti ovvero posteriori corrispondono valori decrescenti. Tale andamento va analizzato esaminando le covariate che si sono rivelate significative e cioè il numero di larve di seconda età rinvenute nell'ospite ( $F=5.8$ , g.l. 1, 273;  $p=0.02$ ) ed il peso dello stesso ( $F=7.5$ , g.l. 1, 273;  $p=0.07$ ). La relazione fra queste variabili e il peso medio delle L<sub>2</sub> è piuttosto evidente, mentre non è facile stabilire una connessione causa-effetto, tenuto conto che le influenze ospite-parassita sono spesso reciproche, piuttosto che univoche (Mellini, 1990; Mellini e Coulibaly, 1991). Il significato della relazione fra numero di larve del parassita e il loro peso medio appare però abbastanza chiaro: un maggior numero di parassitoidi compresenti nello stesso ospite comporta, almeno in questa fase, una forte flessione nelle loro dimensioni (coeff. di regressione della covariata = -42.90). Il coefficiente di regressione della covariata «peso della pupa ospite» è invece pari a -0.58.

Poichè il parassitoide è in grado di influenzare il ritmo di sviluppo del suo ospite, alcuni parametri relativi a quest'ultimo (peso delle crisalidi neoformate e periodo larvale di sviluppo dopo la contaminazione) sono stati esaminati in relazione alla presenza e/o alle dimensioni delle larve del tachinide, anche per facilitare la lettura complessiva dei risultati.

L'effetto del momento di contaminazione sui **pesi delle crisalidi** di *G. mellonella* è stato analizzato considerando separatamente gli ospiti maschili e femminili, per via del dimegetismo sessuale di *G. mellonella*. In entrambi i casi risultano significativi l'effetto della covariata «peso medio delle L<sub>2</sub>», (rispettivamente  $F=4.8$ , g.l. 1, 138;  $p=0.03$ ; e  $F=4.8$ , g.l. 1, 108;  $p=0.03$ ) e del momento di contaminazione (rispettivamente  $F=2.3$ , g.l. 5, 138;  $p=0.05$ ; e  $F=8.1$ , g.l. 5, 108;  $p<0.001$ ). In entrambi i sessi dell'ospite l'andamento dei

Tab. 4 - Valori medi  $\pm$  e.s. relativi al numero di L<sub>2</sub> rinvenute nelle pupe ospite (calcolati sugli ospiti parassitizzati) e loro pesi medi, in  $\mu$ g. Nella stessa colonna medie seguite dalla stessa lettera non differiscono statisticamente tra loro (Lsd test,  $\alpha=0.05$ ).

Tesi	n°L <sub>2</sub> vive	peso L <sub>2</sub> vive
6età 1°gg	2.0 $\pm$ 0.2 a	402.9 $\pm$ 35.7 a
6età 3°gg	1.7 $\pm$ 0.1 a	474.4 $\pm$ 30.8 ab
7età 1°gg	1.9 $\pm$ 0.2 a	537.4 $\pm$ 66.9 ab
7età 3°gg	2.0 $\pm$ 0.1 a	577.0 $\pm$ 61.3 b
7età 5°gg	1.9 $\pm$ 0.3 a	478.6 $\pm$ 44.6 ab
7età 7°gg	2.3 $\pm$ 0.2 a	425.8 $\pm$ 47.4 a

valori medi individua due fasi, alla seconda delle quali corrispondono valori minori (tab. 5). Mentre nelle pupe maschili tale fase comprende tutti i momenti di contaminazione operati nell'ultima età, negli ospiti femminili essa ha luogo a partire dalla parassitizzazione effettuata al terzo giorno dell'ultima età larvale.

In merito alle **ore tra momento di contaminazione ed incrisolidamento dell'ospite**, tale valore dipende ovviamente dal trattamento eseguito, mentre la non significatività della covariata «num. di parassiti rinvenuti nella crisalide» indicherebbe che il ritmo di sviluppo non è stato influenzato dalla presenza o meno di larve del tachinide.

#### DISCUSSIONE

Le osservazioni svolte in questa sperimentazione permettono di svolgere delle considerazioni su alcuni fattori che entrano in gioco nell'ambito della simbiosi parassitaria nella coppia *P. rufifrons* - *G. mellonella*.

Nonostante il numero relativamente elevato di uova microtipiche effettivamente ingerite dalle larve ospiti, parte di esse riesce comunque ad evitare l'insediamento da parte del parassitoide o, in misura minore, a sbarazzarsene nel corso del suo sviluppo larvale. Già dopo 40-60 ore dalla contaminazione, circa il

Tab. 5. Valori medi  $\pm$  e.s. relativi al peso delle pupe ospite, maschili e femminili, in mg. Nella stessa colonna medie seguite dalla stessa lettera non differiscono statisticamente tra loro (Lsd test,  $\alpha=0.05$ ).

Tesi	peso pupe maschili	peso pupe femminili
6età 1°gg	143.4 $\pm$ 4.5 abc	178.7 $\pm$ 8.2 b
6età 3°gg	151.3 $\pm$ 9.8 a	166.5 $\pm$ 6.3 bc
7età 1°gg	124.1 $\pm$ 6.2 cd	210.9 $\pm$ 9.3 a
7età 3°gg	120.8 $\pm$ 5.5 d	154.4 $\pm$ 5.6 c
7età 5°gg	129.0 $\pm$ 4.9 bcd	151.2 $\pm$ 7.5 c
7età 7°gg	123.4 $\pm$ 10.2 cd	157.9 $\pm$ 11.6 bc

70% delle larvette del tachinide potenzialmente in grado di attaccare la vittima, è andata persa. Fra i fattori che possono concorrere a questa falcidia del parassitoide vanno ricordati la parziale schiusura delle uova microtipiche (Coulibaly e Fanti, 1992), l'eventuale difficoltà da parte di alcuni individui a perforare il canale alimentare per penetrare nel lacunoma e l'incapsulamento delle larvette neoschiuse ad opera del sistema immunitario dell'ospite, prima che queste riescano ad allogarsi nei tessuti muscolari<sup>(5)</sup>. Il rispettivo ruolo di tali fattori non è però stato esaminato nel corso della presente sperimentazione.

Nel corso della successiva fase larvale di *G. mellonella* è possibile che un'altra quota di parassitoidi possa perire in seguito al verificarsi di mute precoci, fenomeno che comporta la conseguente morte delle larvette neomutate e fuoriuscite dai muscoli somatici, per l'incapacità di formare un imbuto respiratorio nella cuticola della larva, ed il loro successivo incapsulamento od espulsione nel corso di una muta larvale del lepidottero. Questa possibilità è suggerita dalle differenze nel numero di larve parassite rinvenute negli ospiti dissezionati come larva e come pupa (tab. 2 e 3), differenze che diminuiscono man mano che il momento di contaminazione è prossimo all'incrisalidamento del lepidottero e non permette quindi il raggiungimento delle dimensioni minime per il verificarsi di una muta precoce (Fanti e Bratti, 1988). Tale fenomeno è stato osservato per parassitizzazioni effettuate in età precedenti a quelle della presente sperimentazione, ma occorre notare che, nonostante la temperatura più elevata utilizzata, mantenere le larve di *G. mellonella* isolate ha comportato tempi di sviluppo maggiori. È quindi plausibile che, in condizioni normali di allevamento, questa possibile flessione nel numero di parassitoidi, nel periodo seguente al loro insediamento nei muscoli dell'ospite, non avvenga.

Percentualmente minore è risultata la quota di larvette parassite che non riescono a ripenetrare nella crisalide neoformata della vittima.

Analizzando i valori di parassitizzazione calcolati al momento dell'incrisalidamento dell'ospite, occorre poi ricordare che una ulteriore quota di mortalità a carico di *P. rufifrons* avviene nello stadio pupale di *G. mellonella* nei casi di superparassitizzazione, qualora uno dei tachinidi non riesca, in tempi brevi, a sopprimere gli altri conspecifici presenti (Mellini e Gironi, 1981; Mellini e Braga, 1982; Mellini e Beccari, 1983; Mellini *et al.*, 1985; Turchetti, 1987).

Il momento di contaminazione è risultato un fattore in grado di influenzare diverse variabili nella relazione ospite-parassita qui considerata. Già dopo 60 ore dall'ingestione delle uova microtipiche emergono differenze significative fra le varie tesi in relazione alle percentuali di parassitizzazione, al numero di larve di prima età insediate negli ospiti ed al loro peso, a dimostrazione che la diversa condizione fisiologica dell'ospite all'interno di una stessa età larvale si ripercuo-

---

<sup>(5)</sup> Occorre peraltro ricordare che le reazioni emocitarie di difesa esibite da *G. mellonella* non sono particolarmente vistose (Biliotti *et al.*, 1968; Grenier, 1986).



te sulla capacità del tachinide di accrescersi e portare avanti il suo sviluppo, sin dalle prime fasi. Ramadhane *et al.* (1987), studiando le relazioni tra il tachinide *Pseudopericheta nigrolineata* ed il suo ospite *Ostrinia nubilalis* hanno indicato che l'inizio della crescita da parte della larveta parassita è parimenti condizionato da stimoli provenienti dall'ospite, in particolare dai livelli di ecdisione.

I valori medi dei parametri di sviluppo del tachinide hanno mantenuto in seguito la stessa tendenza e si accordano con quanto osservato da Mellini *et al.* (1985) in merito alle percentuali di parassitizzazione corrispondenti a diversi momenti di contaminazione nell'ambito dell'ultima età larvale dell'ospite.

In relazione al ritmo di accrescimento delle  $L_1$  del parassita, Mellini *et al.* (1986) hanno indicato come questo sia influenzato dal tenore ormonale della vittima ed, in particolare, dal titolo di ecdisione, che svolge un'azione di attivazione della crescita. Un'osservazione simile è stata fatta da Plantevin *et al.* (1986), i quali hanno accertato che il tachinide *Pseudopericheta nigrolineata* allevato su *G. mellonella* subisce un arresto della crescita con basse concentrazioni di ecdisteroidi nel lepidottero e la riprende quando il titolo ritorna alto. Fanti e Bratti (1986) hanno osservato un incremento del tasso di crescita delle  $L_1$  di *P. rufifrons* in occasione dell'ultima muta larvale dell'ospite. Nella presente sperimentazione i valori ponderali più elevati registrati in seguito alla dissezione delle larve ospiti dopo 40 e 60 ore risultano rispettivamente a carico delle larve contaminate il terzo ed il primo giorno della sesta età larvale, quando esse hanno ricevuto la scarica ormonale dell'ospite. È probabile che tale attivazione della crescita abbia comportato in queste due tesi alcune mute precoci. La tesi contaminata il terzo giorno della sesta età è l'unica infatti a mostrare un'apparente arresto dello sviluppo tra 40 e 60 ore, che potrebbe essere spiegato con l'eliminazione delle larve di dimensioni più elevate, mutate precocemente, in occasione dell'apolisi larvale. Il confronto fra i valori ponderali dopo 60 ore ed all'incrisalidamento dell'ospite indica un medesimo andamento, in relazione alle tesi, fatta eccezione per quella parassitizzata all'inizio della sesta età. Anche in questo caso sembra plausibile che alcune  $L_1$  siano andate incontro ad una muta precoce.

Per quanto riguarda gli effetti sull'ospite in relazione al momento di contaminazione, nella presente ricerca non si sono registrati effetti significativi sui tempi di sviluppo. I pesi delle crisalidi neoformate sono invece significativamente inferiori per parassitizzazioni in età avanzata, fenomeno già osservato da Mellini *et al.* (1985). Turchetti (1987) ha verificato che tale variazione nei pesi non è dovuta ad un'influenza del parassitoide, ma è conseguente all'operazione stessa di contaminazione, che sottopone le larve del lepidottero per 24 ore ad una alimentazione di sola cera, substrato energeticamente assai povero. Lo stress conseguente può essere più facilmente recuperato dagli ospiti contaminati in sesta età nel periodo di sviluppo larvale successivo. È interessante notare come la flessione dei pesi delle crisalidi femminili abbia inizio in un momento di contaminazione successivo a quello degli individui maschili e, alla luce di quanto sopra esposto, appare immediato il collegamento con la diversa durata del periodo larvale nei due sessi di *G. mellonella*.

In conclusione, sulla base delle percentuali di parassitizzazione, dei pesi dei parassitoidi e dei loro ospiti e ricordando che a questi ultimi è direttamente collegato il peso finale raggiunto dai tachinidi, il momento di contaminazione che consente di ottenere i migliori risultati nella moltiplicazione di *P. rufifrons* è rappresentato dall'inizio dell'ultima età larvale.

#### RIASSUNTO

Nel corso di questa sperimentazione è stato studiato il destino delle larvette di *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Diptera Tachinidae) nel corso della vita larvale dell'ospite, contaminato in diversi momenti degli ultimi due stadi larvali, sezionando ad intervalli di tempo successivi gli individui parassitizzati, verificando sia il numero di tachinidi presenti sia il loro accrescimento, in funzione di diversi parametri (tempo, dimensioni e stato fisiologico dell'ospite al momento della contaminazione e della dissezione, ecc.).

Le osservazioni indicano che, nonostante il numero relativamente elevato (dieci) di uova microtipiche effettivamente ingerite dalle larve ospiti, parte di esse riesce comunque ad evitare l'insediamento da parte del parassitoide o, in misura minore, a sbarazzarsene nel corso del suo sviluppo larvale. Già dopo 40-60 ore dalla contaminazione, circa il 70% delle larvette del tachinide potenzialmente in grado di prendere possesso della vittima, è andata persa.

L'età dell'ospite alla contaminazione è risultato un fattore in grado di influenzare diverse variabili nella relazione ospite-parassita qui considerata. Già dopo 60 ore dall'ingestione delle uova microtipiche, emergono differenze significative fra le varie tesi in relazione alle percentuali di parassitizzazione, al numero di larve di prima età insediate negli ospiti ed al loro peso.

Establishment and growth of the maggots of the larval-pupal parasitoid *Pseudogonia rufifrons* Wied. during the larval stage of *Galleria mellonella* L. as related to host age at contamination.

#### SUMMARY

The present study reports on the survival and growth of the maggots of *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Diptera Tachinidae), during the larval stage of its host as parasitized at different moments of the last two instars, have been studied. The host larvae were dissected periodically after parasitization to check the number of maggots successfully established and their growth in relation to such parameters as host size and age at contamination and at dissection, and time from contamination to dissection.

It was found that some host larvae, even when each was fed ten microtype eggs, are able to prevent the establishment of the maggots or may get rid of them during their subsequent development. Almost 70% of those maggots potentially able to hatch and parasitize were lost 40-60 hours after host contamination. The host age at contamination influenced several parameters in the host-parasitoid relationship: significant differences were already detected after 60 hours in the percentages of parasitization, the number of maggots per host and their weight.

#### BIBLIOGRAFIA CITATA

- 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. Galleriidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 34: 35-54.

- BARONIO P., VANCINI D., CAMPADELLI G., CAVICCHI S., 1981. - Variabilità megetica intraspecifica di *Gonia cinerascens* Rond. (Diptera Tachinidae) in relazione allo stadio di contaminazione dell'ospite *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleriidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 36: 27-35.
- BILIOTTI E., DAUMAL J., HAM R., 1968. - Le parasitisme de *Galleria mellonella* L. (Lep. Pyralidae) par *Phanerotoma flavitestacea* F.I. (Hym. Braconidae) et *Phryxe caudata* Rond. (Dipt. Tachinidae). - *XIII Congresso Internazionale di Entomologia*, Mosca: 1-3.
- BRATTI A., 1985. - Relazioni tra densità di popolazione dell'ospite e percentuali di parassitizzazione nella coppia ospite - parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 39: 127-139.
- CAMPADELLI G., FANTI P., 1987. - Livelli di parassitizzazione in relazione allo stadio di contaminazione della vittima nella coppia ospite - parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 42: 67-74.
- COULIBALY A.K., FANTI P., 1992. - Influence de l'âge des oeufs microtypiques suivant les premiers jours de la ponte sur les pourcentages de parasitisme dans le système *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 46: 239-149.
- FANTI P., BRATTI A., 1988. - Sulla possibilità di mute precoci di *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Diptera Tachinidae) in larve immature di *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera Galleriidae). - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 43: 127-137.
- GRENIER S., 1986. - Biologie et physiologie des relations hôtes- parasitoides chez 3 tachinaires (Diptera: Tachinidae) d'intérêt agronomique, développement en milieux artificiels, lutte biologique. - *Thèse doctorat*, Lyon.
- MELLINI E., 1986. - Importanza dello stadio dell'ospite, al momento della parassitizzazione, per la biologia dei Ditteri Larvevoridi. - *Frustula Ent.*, 7-8: 395-419.
- MELLINI E., 1990. - Sinossi di biologia dei Ditteri Larvevoridi. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 45: 1-38.
- MELLINI E., BECCARI G., 1983. - Relazioni tra dimensioni degli ospiti e percentuali di parassitizzazione nella coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 38: 71-88.
- MELLINI E., BRAGA C., 1982. - Importanza del livello di dispersione delle uova microtipiche per la moltiplicazione del parassita *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 37: 75-90.
- MELLINI E., COULIBALY A.K., 1991. - Un decennio di sperimentazione sul sistema ospite - parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied.: sintesi dei risultati. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 45: 191-249.
- 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.
- MELLINI E., BORGATTI M., BRATTI A., 1985. - Sulla idoneità di *Galleria mellonella* L. nei confronti del parassitoide *Pseudogonia rufifrons* Wied., penetrato durante le ultime fasi della vita larvale dell'ospite. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 39: 161-186.
- MELLINI E., CAMPADELLI G., DINDO M.L., 1986. - Ritmo di accrescimento delle larve di I età del parassita in relazione allo stadio dell'ospite al momento della contaminazione nel sistema *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 40: 221-237.
- PLANTEVIN G., GRENIER S., RICHARD G., NARDON C., 1986. - Larval development arrest and hormonal levels in the couple *Galleria mellonella* (Lepidoptera, Pyralidae)- *Pseudoperichaeta nigrolineata* (Diptera, Tachinidae). - *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, 3: 457-469.
- RAMADHANE A., GRENIER S., PLANTEVIN G., 1987. - Physiological interactions and development synchronisations between non diapausing *Ostrinia nubilalis* larvae and the tachinid parasitoid *Pseudoperichaeta nigrolineata*. - *Entomol. Exp. Appl.* 45: 157-165.
- SEHNAL F., 1966. - Kritisches Studium der Bionomie und Biometrik in der verschiedenen Lebensbedingungen gezüchteten Wachsmotte, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera). - *Z. Wiss. Zool.*, 174: 53-82.
- SNEDECOR G.W., COCHRAN W.G., 1980. - *Statistical Methods*. - Iowa State University Press, Ames.
- TURCHETTI M., 1987. - Importanza dell'età dell'ospite al momento della contaminazione nella coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 42: 231-240.