

Sulla conservabilità delle uova microtipiche di  
*Gonia cinerascens* Rond. (Dipt. Tachinidae).

(Ricerche eseguite col contributo del C.N.R.)

GENERALITÀ

Ogni specie può svolgere normalmente le proprie funzioni solo nell'ambito di un certo intervallo di temperatura al di sotto e al di sopra del quale aumenta il livello di mortalità. Presso i valori estremi di tale intervallo si notano talora irregolarità nello sviluppo, nella riproduzione, nella sex ratio, nelle percentuali di parassitizzazione ecc. Inoltre va ricordato che ogni specie, per quanto riguarda la sua biologia, presenta un livello ottimale di temperatura che non è facile stabilire. Si può avere un'idea precisa di questo punto quando si considera la durata dello sviluppo pupale e dell'embrionogenesi; ad esempio per quest'ultima, a +30 °C, occorrono 30 ore per *Culex* L. (Dipt. Culicidae), 82 ore per *Ostrinia* Hübner (Lep. Pyralidae), 5 giorni per *Oncopeltus* (Hem. Lygaeidae), 15 giorni per *Schistocerca* Stal. (Orth. Acrididae), 43 giorni per *Ornithacris turbida* Walker (Orth. Acrididae) (Chapman, 1975).

La temperatura oltre ad influenzare vari processi vitali, è un fattore determinante per la conservabilità di stadi quiescenti quali le pupe e le uova.

Al contrario di quanto succede nella generalità delle forme ovi-pare, in cui lo sviluppo embrionale ha luogo solo dopo che le uova sono state deposte dalla madre, nelle uova microtipiche di *Gonia cinerascens* Rond., come accade in molte altre specie di Goniini, lo sviluppo embrionale è già completato al momento della deposizione. La larva inoltre può mantenersi in vita all'interno degli involucri dell'uovo anche per tempi lunghissimi. Queste caratteristiche sono molto importanti perché consentono una sicura e rapida parassitizzazione dell'ospite nel quale, una volta che siano state ingerite, le uova ricevono quelle stimolazioni atte a determinare lo sgusciamiento.

Biliotti e Desmier (1971) constatarono una sopravvivenza fino a tre mesi per le uova microtipiche di *Pales pavidus* Meig. (Dipt. Tachinidae), deposte sulle foglie di Bosso e conservate a +8 °C e 60% di U.R..



Callejas e Azyiazu (1980) per l'allevamento del parassita *Trichogramma* Westw. (Hym. Chalcididae) utilizzarono uova di *Corcyra cephalonica* (Stnt.) (Lep. Galleriidae) che, immagazzinate a +5 °C, si conservarono vitali per una dozzina di giorni, mentre a -10 °C rimanevano vitali solo per due ore. Johnson (1940) esponendo le uova di *Cimex lectularius* (L.) Hem. Cimicidae) alle temperature di +4 °C, +9,8 °C, +11,2 °C, per 40 giorni notò in tutti i casi una elevata mortalità; la stessa cosa fu osservata da Kitlaus (1961) per le uova di *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col. Crysomelidae), quando queste venivano esposte a temperature comprese fra i +4 °C e +7 °C; mentre una esposizione prolungata a +10 e +13 °C era letale nella totalità dei casi. Ankersmit et alii (1976) sottoponendo le uova di *Adoxophyes orana* Fischer von Roslerstamm (Lep. Tortricidae) ad una temperatura di +5 °C per 6 ore verificarono una totale mortalità; Lindsay (1954) esponendo uova fresche di *Agrotis orthogonia* Morrison (Lep. Noctuidae) a +5 °C per due giorni constatò altissime percentuali di mortalità. Nagel e Shepard (1934) sottoponendo uova di *Tribolium confusum* Duval (Col. Tenebrionidae) a +7 °C per 25 giorni ne verificarono una mortalità pari al 100%. Kishaba e Henneberry (1966) invece, esponendo uova di *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lep. Noctuidae) vecchie di 1-3 giorni alla temperatura di +5 °C non verificarono alcuna alterazione della loro vitalità. Gennadiev e Khlistavski (1980) riuscirono a mantenere vitali le uova di *Graphosoma lineatum* (L.) (Hem. Pentatomidae) per l'allevamento di *Trissolcus simoni* (Mayr) (Hym. Proctotrupidae) per un periodo di 5 anni sottoponendole a una temperatura di -196 °C. Così pure le percentuali di sfarfallamento e la fecondità del *Trichogramma evanescens* Westw. (Hym. Chalcididae), allevato per 20 generazioni su uova di *Sitotroga* Heinem (Lep. Gelechidae) conservate a -196 °C, non subirono alterazioni.

George e Ortman (1965) nonché Branson et alii (1975) affermano che le uova di *Dyabrotica virgifera* LeConte (Col. Chrysomelidae) tenute alla temperatura di +22 °C e +25 °C rimangono vitali solo per due settimane, mentre poste a +5 °C sopravvivono per 120 giorni (17 settimane). Branson (1976 b) dichiara che tali uova immagazzinate a +5 °C per 16 settimane, presentano una diminuzione nella percentuale di schiusa pari, dopo un anno, al 20%. Chiang (1974), sottoponendo le uova della stessa specie alla temperatura di +7,5 °C non trovò nessuna diminuzione della loro vitalità fino a un periodo di 24 settimane; egli conclude che per mantenere più a lungo queste uova, è meglio utilizzare una temperatura di +10 °C piuttosto che +7,5 °C e +5 °C. Branson et alii (1975) osservarono che l'immagazzinamento delle uova del suddetto crisomelide a +5 °C per 34 settimane riduceva la loro vitalità; essa diminuiva pure in modo significativo quando erano sottoposte a una temperatura di +7,5 °C per un anno.



Va ricordato che la vitalità delle uova a temperature inferiori allo zero dipende tra l'altro da fattori chimici. Infatti nelle uova di *Hyalopterus pruni* (Geoff.) (Hem. Aphididae) il mannitolo e il glicerolo sono presenti in alta concentrazione, e probabilmente contribuiscono ad aumentare la resistenza al freddo (Somme, 1969). Pure nelle uova di *Malacosoma disstria* Hübner (Lep. Lasiocampidae) si è notato che il glicerolo raggiunge una concentrazione pari al 35,2% del peso secco in gennaio (periodo più freddo), paragonato all'1% che si riscontra prima della schiusa (Hanec, 1966).

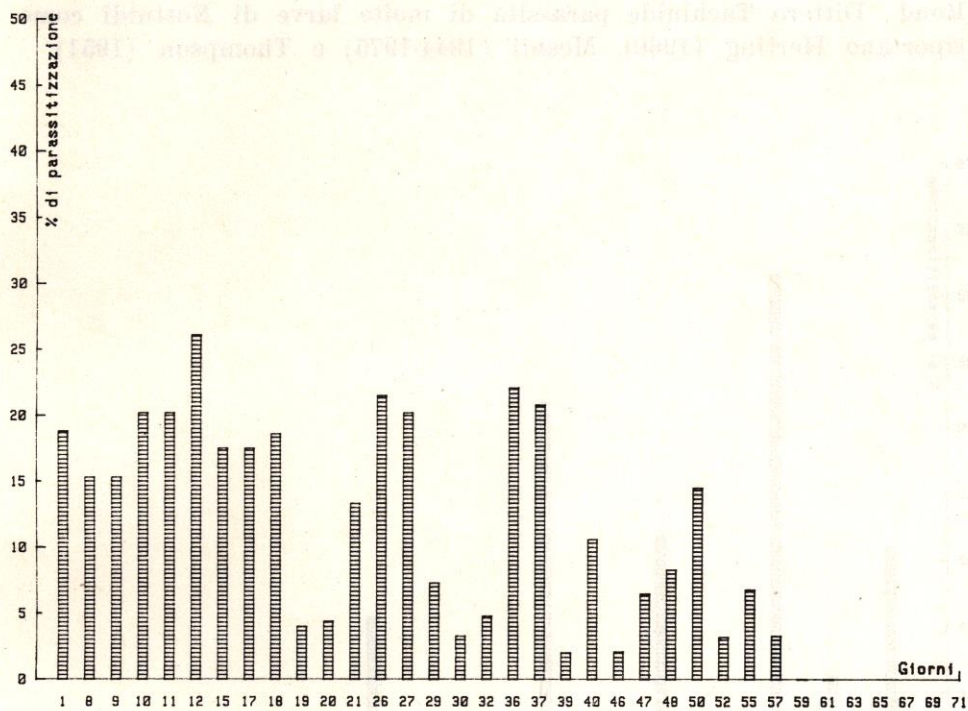


FIG. I

*Gonia cinerascens* Rond. Andamento delle percentuali di parassitizzazione (calcolate in base al rapporto fra il numero di adulti e quello delle crisalidi dell'ospite) in relazione all'età delle uova microtipiche conservate a +4°C. Nel periodo compreso tra il 59° e il 71° giorno, come mostra il grafico, non si sono verificati sfarfallamenti di *Gonia*.

L'analisi di questi dati si è rivelata utile allo scopo di conservare le uova del parassita *Gonia cinerascens* Rond., che da vari anni stiamo allevando sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L.. Poiché quotidianamente si ha una notevole produzione di uova, largamente eccedente alle necessità giornaliere, si presenta il problema della loro conservazione in stocks destinati a vari scopi tra cui l'uso in casi di emergenza, quali malattie dell'ospite di sostituzione, del parassita stesso

ecc., fattori che nel giro di poco tempo potrebbero decimare l'intero allevamento. Le uova di *Gonia* che vogliamo conservare si trovano deposte su laminette di cera simili a foglioline che vengono somministrate alle larve dell'ospite per facilitarne la parassitizzazione (Mellini et alii, 1980). Questo materiale ceroso rappresenta infatti un elemento importante sia nella dieta naturale che di quella semiartificiale.

#### MATERIALE E METODO

La ricerca è stata dunque condotta sulle uova di *Gonia cinerascens* Rond., Dittero Tachinide parassita di molte larve di Nottuidi come riportano Herting (1960), Mesnil (1944-1975) e Thompson (1951).

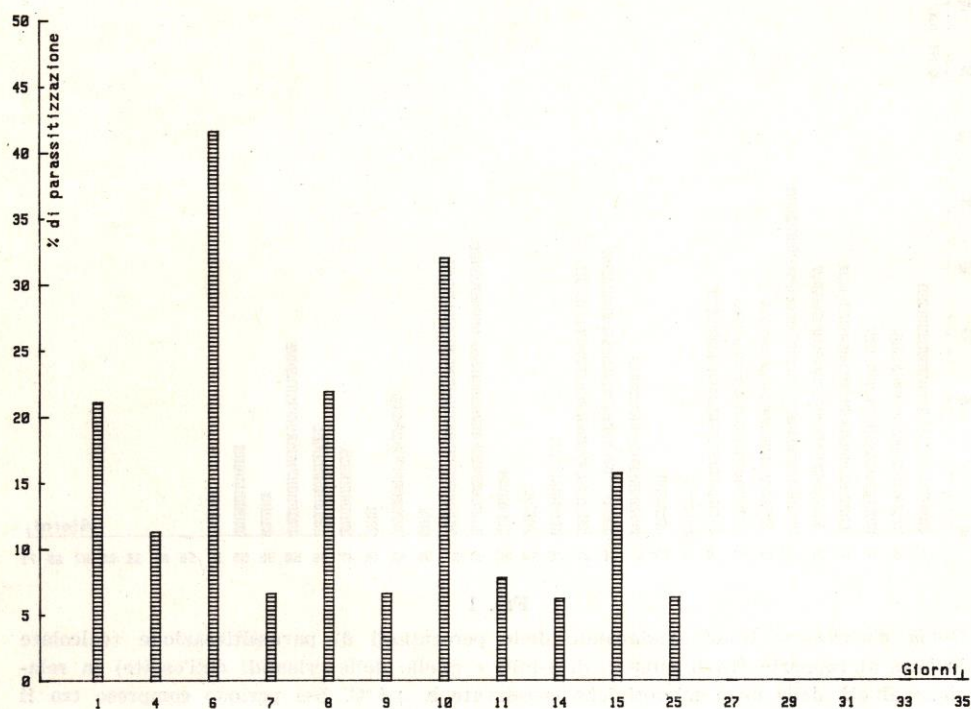


FIG. II

*Gonia Cinerascens*. Rond. Percentuali di parassitizzazione in funzione dell'età delle uova mantenute a + 24°C. Nel periodo compreso tra il 27° e 35° giorno, come mostra il grafico, non si sono verificati sfarfallamenti di *Gonia*.

Il nostro Dittero viene allevato in cella climatica nelle seguenti condizioni: 70% di U.R., 27°C di temperatura, 16 ore di fotofase e 8 ore di scotofase. L'alimentazione è rappresentata da una soluzione di



acqua distillata con miele e vitamina C somministrata mediante batuffoli di cotone idrofilo. Ogni batuffolo viene posto su un vetrino da orologio che successivamente viene collocato all'interno della gabbia. L'aggiunta di acido ascorbico ha lo scopo di aumentare la resistenza degli adulti alle malattie, come riporta Navon (1978).

Le foglioline di cera, sorrette all'apice di fili di zinco, infissi su un substrato di legno, vengono raccolte quotidianamente dopo l'ovideposizione e poste all'interno di piccole sfere di plastica: una parte di queste, dopo avervi annotato la data di raccolta, viene posta alla temperatura di +4°C mentre l'altra parte viene conservata a +24°C. Le larve dell'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L., sul quale alleviamo questo parassita, vengono scelte alla penultima età e poste in gruppi di 50 individui per capsula Petri (diametro 18 cm). Successivamente all'interno di ogni capsula vengono introdotte 4 foglioline sopportanti complessivamente 400 uova. Il giorno successivo, quando tutto il materiale è stato divorato dalle larve, viene aggiunto pabulum normale in quantità sufficiente per il loro normale sviluppo.

Per questa prova sono stati utilizzati numerosi gruppi di uova di età progressivamente crescente con intervalli di 10 giorni. Per motivi di ordine pratico non sempre si è potuto rispettare rigorosamente tale intervallo nell'impiego delle uova, anche se si è cercato di mantenersi il più possibile attorno a questo valore.

Per questa prova sono state effettuate 9 ripetizioni sia per quanto riguarda le uova poste a +4°C che per quelle mantenute a +24°C. Non sono stati presi in considerazione né i pesi dei pupari né altri elementi, tranne la data di sfarfallamento del Dittero e le percentuali di parassitizzazione, calcolate in base al numero degli adulti del parassita rispetto a quello delle crisalidi dell'ospite (vedi istogramma n. 1 e n. 2).

Contemporaneamente alla somministrazione delle uova alle larve di *Galleria* dell'ultimo stadio, per verificarne la schiudibilità è stata condotta una prova trattando le uova con pepsina, sciolta in una soluzione a pH 2 (Mellini e Campadelli, 1978). Con un pennellino umido sono state prelevate da foglie di cera circa 50 uova che poi sono state deposte nell'incavo di una saliera. Successivamente sono state aggiunte circa 20 gocce della soluzione contenente pepsina diluita in ragione dello 0,016%. L'incavo è stato ricoperto mediante un coprioggetto per impedire una eccessiva evaporazione. La prova è stata condotta tanto su uova conservate a +4°C quanto su uova mantenute a +24°C. Lo sgusciamiento delle larvette è stato controllato al binoculare 2 giorni dopo. I dati relativi a questa prova sono riportati negli istogrammi n. 3 e n. 4. Sono state effettuate 6 ripetizioni sia per le uova conservate al freddo +4°C sia per quelle poste a +24°C.



## RISULTATI

Conservabilità delle uova microtipiche di *Gonia* a +4°C.

È opportuno ricordare, come del resto è stato riferito nel paragrafo precedente, che in realtà, si tratta di uova che già all'atto della deposizione da parte della femmina contengono la larvetta completamente formata, la quale non fuoriesce fino a quando non intervengono appropriati stimoli da parte dell'ospite.

Come mostra l'istogramma della fig. I, tali uova conservate alla temperatura di +4°C si mantengono vitali per un periodo di 57 giorni, dopo il quale non si sono verificati ulteriori sfarfallamenti (l'esame, a giorni alterni, è proseguito fino al 70° giorno).

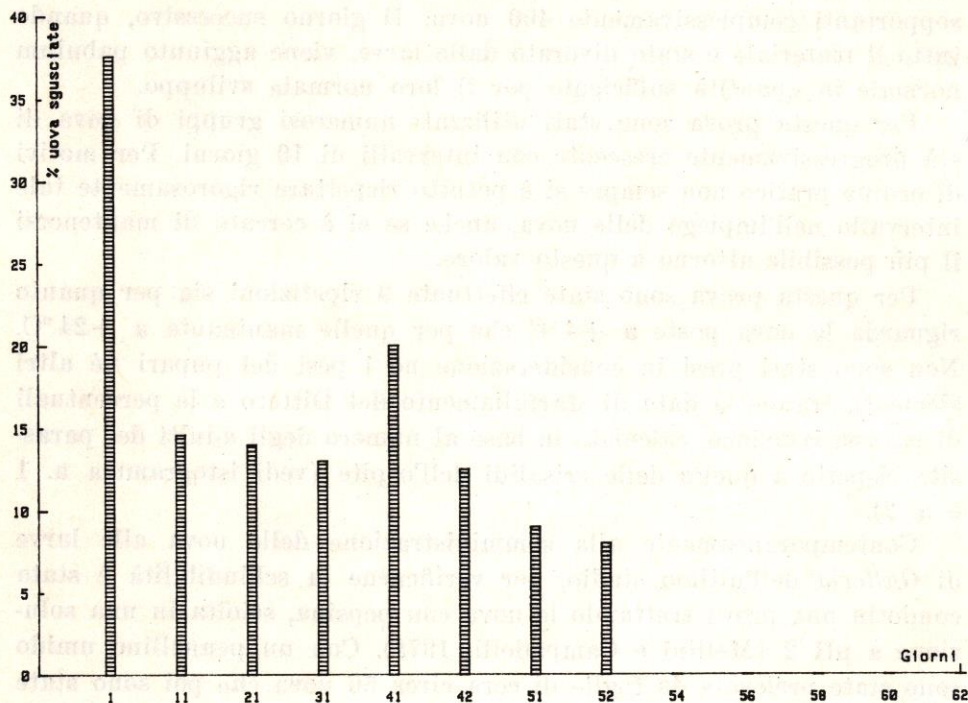


FIG. III

*Gonia cinerascens* Rond. Andamento delle percentuali di schiusa (in liquido enzimatico) delle uova microtipiche conservate a +24°C in rapporto alla loro età. Nel periodo compreso tra il 54° e 62° giorno, come mostra il grafico, non si sono avuti sgusciamenti di uova di *Gonia*.

Dall'analisi dei risultati di questa prova si può osservare che il massimo sfarfallamento di adulti si è verificato partendo da uova di 12 e 36 giorni; le percentuali di parassitizzazione raggiungono infatti,



rispettivamente, il 26,1% e il 22,09%, corrispondenti a 11 e 19 *Gonia* su un totale di 42 e 86 crisalidi di *Galleria*. Nel complesso però gli istogrammi tendono a mantenersi sullo stesso livello fin verso il 40° giorno; la caduta comincia a manifestarsi dopo il 45° giorno.

**Conservabilità delle uova microtipiche di *Gonia* a +24°C.**

Nell'istogramma di fig. II si può osservare che la massima percentuale di parassitizzazione (41,6%) si è ottenuta con uova vecchie di 6 giorni, con lo sfarfallamento di 20 adulti di *Gonia* su un totale di 48 crisalidi di *Galleria*. Le uova a tale temperatura si conservano molto meno a lungo rispetto a quelle sottoposte a +4°C, e precisamente per un periodo che non va oltre al 25° giorno.

**Prove di sgusciamento in liquido enzimatico di uova di *Gonia* conservate a +4°C.**

L'istogramma della fig. III conferma che le uova rimangono vitali per un periodo di circa due mesi e certamente fino al 52° giorno.

Il massimo sgusciamento, sotto l'azione della pepsina in ambiente acido (pH 2), si è verificato per uova di 1 giorno con una percentuale pari al 37,6% (113 uova su 300).

**Prove di sgusciamento in liquido enzimatico di uova di *Gonia* a +24°C.**

Dall'istogramma della fig. IV si deduce che la temperatura «alta» finisce con l'influire negativamente sulla vitalità delle uova, abbreviandone il periodo di conservazione. Lo sgusciamento può effettuarsi fino al 21° giorno di conservazione, oltre il quale le uova non presentano segni di vitalità. La massima percentuale di sgusciamento si è verificata al 1° giorno con una percentuale pari al 23% (70 uova su 300 sottoposte all'azione della pepsina con pH acido (pH 2).

## CONCLUSIONI

Gli istogrammi delle figg. I, II, III e IV indicano, in modo sufficiente, i limiti di conservabilità delle uova di *Gonia*. Fino a 57 giorni dopo la deposizione una modesta percentuale di uova microtipiche di questo parassita, se conservate alla temperatura di +4°C, è in grado di evolversi qualora somministrate a larve di *Galleria* (inizio dell'ultima età) fino a dare adulti di *Gonia* biologicamente perfetti.

Le prove di sgusciamento in liquido contenente pepsina hanno confermato le notevoli possibilità di conservazione delle uova alla suddetta temperatura almeno fino a 52 giorni.



Applicando gli stessi procedimenti su uova conservate a +24°C si è assistito, in entrambe le serie di prove, ad una notevole diminuzione dei tempi di conservazione. I limiti infatti sono scesi per le uova ingerite dalle larve di *Galleria* a 25 giorni e per quelle trattate con pepsina a 21.

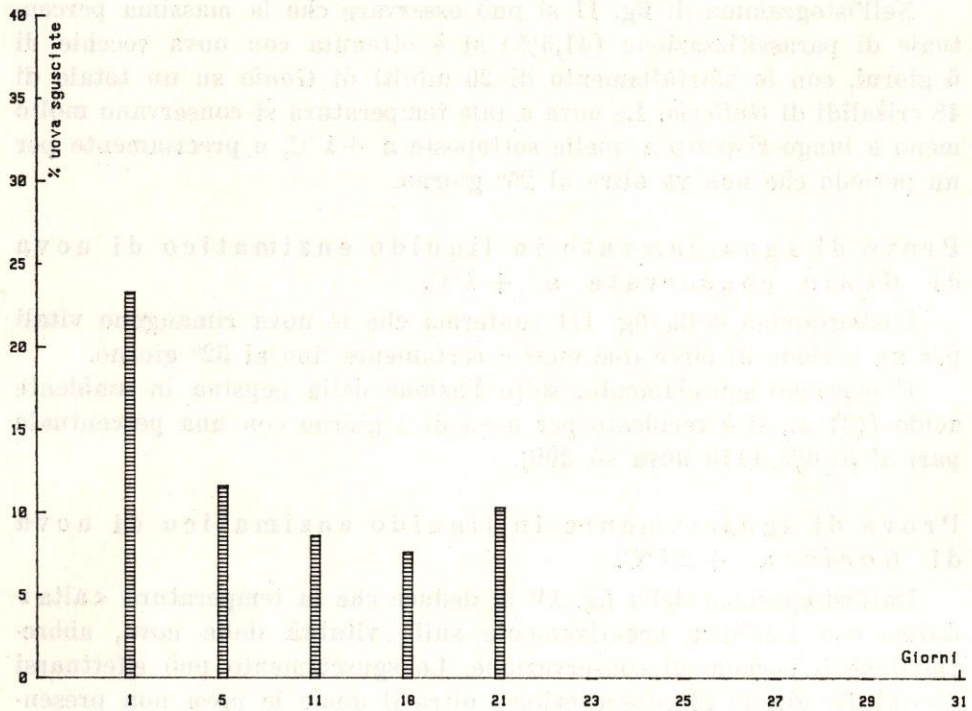


FIG. IV

*Gonia cinerascens* Rond. Percentuali di schiusa delle uova microtipiche, conservate a +24°C, in relazione alla loro età. Nel periodo compreso tra il 23° e 31° giorno, come mostra il grafico, non si sono avuti sgucciamenti di uova di *Gonia*.

In tutte le prove si è notato che le possibilità di schiusa in liquido enzimatico si esauriscono qualche giorno prima rispetto ai casi di somministrazione diretta delle uova all'ospite. Si ritiene che la larvetta si mantenga viva entro gli involucri dell'uovo per tempi più lunghi di quelli misurati in base alle schiuse, ma che diminuisca progressivamente, col tempo, la sua risposta agli stimoli esterni; così essa è ancora in grado di rispondere alle stimolazioni, certamente più adeguate, provenienti dall'ospite, quando oramai è insensibile a quelle artificiali e semplici del liquido enzimatico e base di sola pepsina.



### RIASSUNTO

Mediante prove di semplice sgusciamento in liquido enzimatico (pepsina pH 2) e mediante somministrazione a larve dell'ospite e successivo rilievo del numero di adulti del parassita sfarfallati, sono stati misurati i limiti di conservabilità delle uova microtipiche (contenenti le larve pronte a sgusciare) del Dittero Tachinide *Gonia cinerascens* Rond., allevato in permanenza nei nostri laboratori sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L.

Si è così stabilito che alla temperatura di +4°C tali uova, deposte direttamente dalle femmine su foglioline di cera, si conservano vitali per circa due mesi, con una sensibile flessione nelle schiuse solo negli ultimi giorni, mentre a +24°C i limiti di conservabilità si dimezzano.

Questi dati sono estremamente utili nell'economia dell'allevamento di questa coppia ospite-parassita perché consentono di mantenere una scorta di uova valide dell'entomofago pronte per essere utilizzate in ogni evenienza.

### On the preservability of the microtypical eggs of *Gonia cinerascens* Rond. (Dipt. Tachinidae)

#### SUMMARY

Through simple tests of hatching in enzymatic liquid (pepsin pH 2) and through administration to the larvae of the host, with subsequent counting of the number of adults of the parasite emerged from the cocoon, we measured the limits of preservability of the microtypical eggs (containing the larvae about to hatch) of the Tachinid Dipterans *Gonia cinerascens* Rond., reared permanently in our laboratories on the substitution host *Galleria mellonella* L.

We have found that, at the temperature of +4°C, the eggs, laid directly by the females on small wax leaves, remain vital for about two months, with a noticeable decrease in the hatching only on the last few days, whereas at +24°C the limits of preservability are reduced by half.

The results are extremely useful in the rearing of this host-parasite couple, because they enable us to keep a supply of vital eggs of the entomophagan ready for use on any occasion.

#### BIBLIOGRAFIA CITATA

- ANKERMIST G. W., VAN DER POL B. C., WATER J. K., 1976. — Temperature and mortality in the eggs of *Adoxophyes orana* (Lepidoptera, Tortricidae). - *Neth. J. Plant Pathol.*, 82: 173-180.
- BILIOTTI E., DESMIER DE CHENON R., 1971. — Le parasitisme de *Pales pavida* Meig. (Dipt. Tachinidae) sur *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleriidae). Mise au point d'un élevage permanent en laboratoire. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 3: 361-371.
- BRANSON T. F., GUSS P. L., KRYSAN J. L., SUTTER G. R., 1975. — Corn rootworm: laboratory rearing and manipulation. - USDA, ARS-NC-23, 18 pp.
- BRANSON T. F., 1976b. — Viability and hatching pattern of eggs of the western corn rootworm exposed to chill periods of different durations. - *Ent. exp. appl.*, 19: 77-81.



- CALLEJAS T., DE LA S. L., AZPIAZU D. M., 1980. — New observations on the fertility of refrigerated eggs of *Corcyra cephalonica* (Stainton). — *Cien. Agric.*, 5: 169-172.
- CHAPMAN R. F., 1975. — The insects: structure and function. - The English University Press Ltd, London, 819 pp, 509 figg., (cfr. p. 367).
- CHIANG N. C., 1974. — Temperature effects on hatching of eggs of the western corn rootworm, *Diabrotica virgifera*: factual and theoretical interpretations. - *Ent. exp. appl.*, 17: 149-156.
- GENNADIEV V. G., KHLISTOVSKII E. D., 1980. — Long-term cold storage of host eggs and reproduction in them of egg-parasites of insect pests. - *Z. Obsh. Biol.*, 41: 314-319.
- GEORGE R. W., ORTMAN E. E., 1965. — Rearing the western corn rootworm in the laboratory. - *J. Econ. Entom.*, 58: 375-377.
- HANEC W., 1966. — Cold-hardiness in the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* Hübner (Lepidoptera, Lasiocampidae). - *J. Insect Physiol.*, 12: 1443-1449.
- HERTING B., 1960. — Biologie der westpaläarktischen Raupenfliegen, Dipt., Tachinidae. - *Monog. angew. Entom.*, 16: 1-188, 12 figg.
- KISHABA A. N., HENNEBERRY T. J., 1966. — Effects of cold storage on egg viability of the cabbage looper and some aspects of the biology of the progeny survivors. - *J. Econ. Entom.*, 59: 1169-1171.
- KITLAUS E., 1961. — Die embryonalen Entwicklung von *Leptinotarsa decemlineata* Say, *Epilachna sparsen* Herbst und *Epilachna vigintioctomaculata* Motsch. var. *niponica* Lewis in Abhängigkeit von der Temperatur. - *Deut. ent. Z.*, N.F., 8: 41-62.
- JOHNSON C. G., 1940. — Development, hatching and mortality of the eggs of *Cimex lectularius* in relation to climate, with observations on the effects of pre-conditioning to temperature. - *Parasitology*, 32: 127-173.
- LINDSAY I. S., 1954. — Influence of temperature on embryonic development of the pale western cutworm, *Agrotis orthogonia* Morr. (Lepidoptera: Phalaenidae). - *Can. Ent.*, 86: 557-561.
- MELLINI E., CAMPADELLI G., 1978. — Sulla schiusura delle uova microtipiche di *Gonia cinerascens* Rond. in condizioni sperimentali. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 34: 153-189.
- MELLINI E., GALASSI L., BRIOLINI G., 1979. — Effetti della temperatura sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 35: 13-28.
- MELLINI E., MALAGOLI M., RUGGERI L., 1980. — Substrati artificiali per la ovideposizione dell'entomoparassita *Gonia cinerascens* Rond. (Dip. Larvaevoridae) in cattività. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 35: 127-156.
- MESNIL L. P., 1944-1975. — Larvaevorinae (Tachinidae). In Lindner E., Die Fliegen der paläarktischen Region. - Teil 64 g, 1435 pp.
- NAGEL R. H., SHEPARD H. H., 1934. — The lethal effect of low temperatures on the various stages of the confused flour beetle. - *J. Agric. Res.*, 48: 1009-1016.
- NAVON A., 1978. — Effects of dietary ascorbic acid on larvae of the egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. - *J. Insect Physiol.*, 24: 39-44.
- SOMME L., 1969. — Mannitol and glycerol in overwintering Aphid eggs. - *Norsk ent. Tidsskr.*, 16: 107-111.
- THOMPSON W. R., 1951. — A catalogue of the parasites and predators of insect pests. Sect. 2. Host parasites catalogue. Part. I. Host of Coleoptera and Diptera, Ottawa, 146 pp.