

Effetti delle deiezioni e della manipolazione sullo sviluppo
di *Galleria mellonella* L. e ripercussioni sul parassita
Gonia cinerascens Rond. (*)

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

I. INTRODUZIONE

Galleria mellonella L. è un lepidottero largamente impiegato nei laboratori di tutto il mondo per studi sulla fisiologia degli insetti. Esso è anche sovente utilizzato come ospite di sostituzione per l'allevamento massale di parassiti, sia Imenotteri che Ditteri (Campadelli, 1975), a scopo di lotta biologica. In relazione a quest'ultimo punto emerge l'importanza di migliorare, sotto ogni aspetto, la sua produzione, perché, come si è visto nel corso delle nostre numerose esperienze utilizzando la coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond., ogni miglioramento apportato all'ospite si traduce in un parallelo beneficio per il suo parassita.

In questo contesto, col presente lavoro si sono voluti indagare, in primo luogo, gli effetti determinati dal progressivo accumulo degli escrementi larvali nel pabulum dell'ospite sul suo ritmo di sviluppo e le conseguenze che ne derivano al parassita, siano esse negative o positive. Infatti se da un lato l'inquinamento del cibo, tramite le feci, può portare con la sua carica di cataboliti ad un rallentamento o magari ad un arresto dello sviluppo larvale, dall'altro, grazie alla presenza di ormoni ed in particolare di quello giovanile (che, come si è visto con gli iuvenoidi, oltre ad essere metabolizzato viene eliminato per via escretiva⁽¹⁾), può indurre un prolungamento nella durata della vita larvale con conseguente probabile aumento del peso medio.

In secondo luogo si è voluto verificare l'importanza di un fattore meccanico, che spesso interviene negli allevamenti a carico delle larve dell'ospite, e cioè la loro manipolazione, e misurare le eventuali ripercussioni sul suo parassita.

(*) Studi sui Ditteri Larvevoridi. XL contributo.

(1) Significative in proposito sono le ricerche effettuate da NEMEC e JAROLIM (1980) su *Locusta migratoria migratorioides* (R.-L.).

Per quanto concerne gli effetti delle deiezioni sullo sviluppo degli insetti in generale, i dati bibliografici sono relativamente numerosi. Ci limiteremo a citarne solo alcuni fra i più recenti, che peraltro sono sufficienti ad illustrare le varie possibilità di interferenza. Hagstrum e Silhacek (1980), tra gli altri, hanno trovato che le sostanze emesse dalle larve di *Ephestia cautella* (Walk.) (Lep. Pyralidae) sulle derrate immagazzinate, a spese delle quali si nutrono, inducono, in condizioni di affollamento, la diapausa.

In generale va sottolineato, poi, che dall'apertura anale, assieme agli escrementi, fuoriescono anche vari secreti elaborati a livello del proctodeo i quali hanno una grande importanza, positiva, nella vita degli insetti e che quindi complicano il quadro degli effetti scatenati dalle semplici feci e dalla commista orina. Prokopy et alii (1982), ad esempio, hanno identificato nella metà posteriore del canale alimentare degli adulti di *Rhagoletis pomonella* Walsh. (Dipt. Trypetidae) il principale luogo di produzione del più importante componente del feromone inibitore della ovideposizione. Ed ancora Levinson et alii (1980), nelle feci di *Dermestes maculatus* De Geer (Col. Dermestidae), hanno scoperto delle sostanze di natura lipidica che favoriscono l'aggregazione degli adulti. Chauvin (1967), poi, riferisce che se al cibo di *Blattella germanica* L. (Blatt. Blattellidae) si aggiungono escrementi disseccati e polverizzati, provenienti da individui di questa stessa specie, si osserva una netta accelerazione della crescita già a cominciare da una concentrazione dell'1% per giungere al massimo col 5%.

Per quanto riguarda le conseguenze della manipolazione degli Insetti, gli stadi più sensibili sono, a quanto pare, quelli pupali, specialmente durante il primo periodo quando all'interno si sta organizzando l'adulto. Indicative al riguardo sono, ad esempio, le ricerche di Ozaki e Kobayashi (1981) su alcuni Ditteri Tripetidi carpo-fagi, tra cui la *Ceratitis capitata* (Wied.); basta infatti semplicemente rimuovere i pupari dal substrato in cui si sono formati per riscontrare alte percentuali di adulti incapaci di volare. Analogamente nel nostro ospite sperimentale sono particolarmente sensibili le eopupe che soccombono con relativa facilità se manipolate. Precisiamo peraltro che la nostra sperimentazione ha coinvolto soltanto le larve di penultima ed ultima età, cioè stadi che necessariamente debbono essere maneggiati se non altro per procedere al loro prelievo e alla successiva parassitizzazione e per i quali, in realtà, poco sappiamo al riguardo.

II. MATERIALE E METODO

La sperimentazione è stata impostata su larve di *Galleria mellonella* L. nelle fasi intermedie della penultima età. Esclusa la I prova, esse so-

no state subito sottoposte a parassitizzazione con dosi di 8 uova microtipiche di *Gonia cinerascens* Rond. pro capite, disperse su foglioline di cera in ragione di 1 uovo/mm² 5,46. Con tale dose e a tale livello di dispersione, si ottengono infatti buone percentuali di parassitizzazione e nel contempo un moderato tasso di mortalità prematura dell'ospite (Melini e Braga, 1982).

Sono state condotte 5 prove, costituite da un numero di tesi variante da 3 a 6; ogni tesi era formata da 100 individui, così che l'esperienza ha coinvolto complessivamente 2400 larve di *Galleria*.

Nelle prime 3 prove sono stati studiati gli effetti degli escrementi, arricchendo la dieta di feci in ragione del 25% del suo peso, non macinate ovvero macinate finemente e incorporate nel pabulum. Tali escrementi erano ottenuti mediante setacciamento di pabulum residuo da altri allevamenti della medesima *Galleria*.

Nella IV prova si è saggiato l'effetto conseguente alla manipolazione delle larve, procedendo a giorni alterni al loro prelievo e quindi alla loro reintroduzione, in tempi brevi, negli stessi contenitori di provenienza.

Nell'ultima si è indagato sulle possibili influenze derivanti dalla quantità di dieta e dalle modalità di somministrazione (cumulativa o frazionata), rifornendo le 100 larve costituenti ogni tesi di quantitativi variabili da 400 g (largamente sufficienti per portarle a maturità) a 1000 g, con intervalli di 200 g. Questa prova, sotto certi aspetti, può essere considerata come integrativa delle prime tre, in quanto il materiale fecale normale risulta progressivamente diluito. Si è ripiegato su questa impostazione sperimentale anche perché vari accorgimenti tecnici⁽²⁾, impiegati per ottenere la separazione automatica degli escrementi dalla massa trofica in allevamenti in atto, sono risultati deludenti.

I parametri presi in considerazione, in riguardo all'ospite, sono stati: percentuali di impupamento, peso delle crisalidi e tempi impiegati per giungere alla ninfosi. Quelli relativi al parassita hanno interessato: percentuali di parassitizzazione (rapporto tra numero dei pupari e quello delle crisalidi), peso dei « pupari » e indice di trasferimento (rapporto ponderale tra pupario e crisalide in cui esso si è formato) il quale, a parità di peso della vittima, ci fornisce, entro certi limiti, una misura della sua idoneità nelle varie tesi.

(2) Ispirati al metodo dei contenitori intercomunicanti sovrapposti descritti da HANSCHKE e GROTH (1979).

III. RISULTATI

A. Effetti degli escrementi presenti nel pabulum sulle larve di *Galleria mellonella* L.

I Prova

Sono state messe a confronto 3 tesi. In una tesi le larve sono state allevate su pabulum normale fino al loro imbozzolamento; essa pertanto funge da testimonio. Nella II tesi il pabulum è stato rinnovato ogni 2 giorni per limitare la quantità degli escrementi. Nella III tesi, infine, al pabulum sono stati addizionati escrementi, nei quantitativi già indicati, al fine di esaltare gli eventuali effetti provocati dalle feci. Queste sono rappresentate da cilindretti compatti e perfettamente secchi⁽³⁾, e quindi in apparenza facilmente eliminabili; tuttavia essi restano imbrigliati da fitte trame di fili sericei nell'ammasso trofico da cui pertanto è assai difficile separarli, volendo, per converso, eliminarli almeno in parte.

Poiché da prove preliminari era emerso che la manipolazione delle larve tende a interferire negativamente sia sui pesi che sui tempi di sviluppo, abbassando i primi ed allungando i secondi, si è provveduto, ogni qualvolta veniva cambiato il pabulum nella tesi in cui era previsto il suo rinnovo, a prelevare anche le larve delle altre due tesi per rimetterle poi nei rispettivi contenitori; ciò allo scopo di rendere uguali tutti e tre i gruppi sperimentali nei riguardi del fattore « manipolazione ».

Si precisa infine che nel corso di questa prima prova non si è proceduto alla parassitizzazione preliminare delle larve.

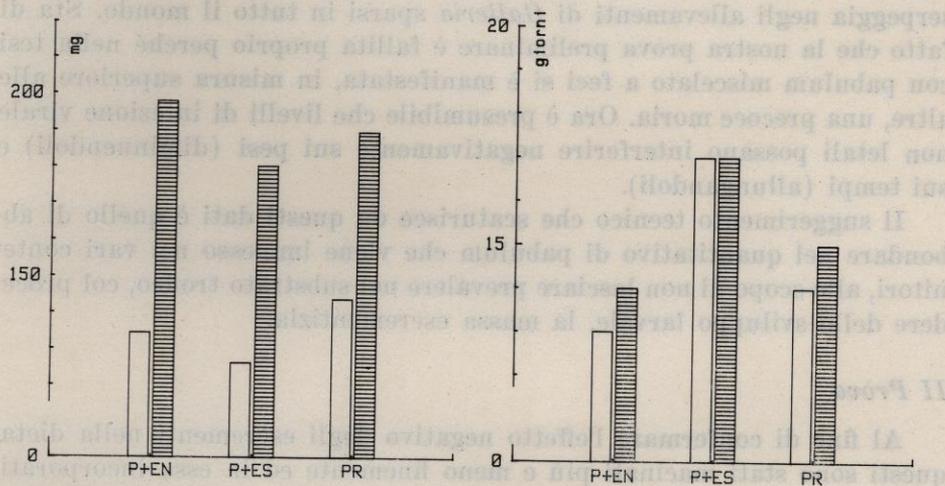
Percentuali di incrisalidamento. Si mantengono sullo stesso livello (75%) in tutte e tre le tesi. Peraltro si ritiene necessario sottolineare, una volta per tutte, l'importanza di questo dato agli effetti della produzione dei pupari, visto che il parassita può terminare lo sviluppo larvale soltanto dopo che l'ospite si è incrisalidato.

P e s i. Sono minori nella tesi con pabulum arricchito di escrementi, sono maggiori in quella con pabulum rinnovato per la serie maschile e in quella con pabulum standard per la serie femminile (fig. I).

Poiché la variabilità ponderale nell'ambito di ogni singola tesi è enorme, ed i valori estremi turbano sensibilmente le medie, si è tentata una valutazione esaminando la frequenza nelle varie classi ponderali (cadenzate da intervalli di 20 mg) in cui è stato suddiviso tutto il campo

(3) Facciamo notare che essendo privi di acqua non possono fungere da substrato per lo sviluppo di muffe o altri microrganismi che potrebbero, direttamente o indirettamente, influire sulla vita delle nostre larve.

megetico. Al solito, considerato il notevole dimegetismo sessuale, è stata mantenuta la distinzione tra i due sessi. In questo modo emerge più nettamente la differenza tra la tesi con maggiori quantitativi di escrementi, da un lato (ove i maschi prevalgono nella classe comprendente pesi varianti tra 101 e 120 mg e le femmine nella classe 161-180 mg) e le restanti due tesi, dall'altro, ove le classi più rappresentate sono, rispettivamente, quella di 121-140 mg e di 181-220 mg.



FIGG. I-II

Effetti degli escrementi nel pabulum di *Galleria mellonella* L. sui livelli ponderali delle crisalidi. P + EN: pabulum con feci normali; P + ES: con feci aggiuntive; PR: rinnovato ogni 2 giorni (le colonne bianche si riferiscono ai maschi, quelle tratteggiate alle femmine). (Dati ottenuti da 225 crisalidi).

Effetti degli escrementi sui tempi impiegati da *G. mellonella* L. per giungere all'incrisalidamento, partendo da fasi intermedie della penultima età larvale. Simboli come nella figura precedente.

T e m p i. Per quanto riguarda il tempo impiegato per giungere dalle fasi intermedie della penultima età all'incrisalidamento, si nota rispetto al testimonio, tanto per i maschi quanto per le femmine, un deciso incremento nella tesi con escrementi addizionali ed uno modesto in quella con pabulum rinnovato (fig. II). Il fenomeno emerge con particolare evidenza dal confronto tra le curve che esprimono i tempi in funzione delle classi ponderali (grafico non riportato).

Si nota inoltre che i tempi relativi alle femmine tendono, nella media, ad essere alquanto superiori a quelli dei maschi; il maggior peso esibito dalle prime è dunque realizzato anche attraverso un leggero prolungamento della loro attività trofica.

In conclusione la presenza di deiezioni nel pabulum rappresenta un fattore negativo sia per quanto riguarda i pesi (che sono minori) che i tempi dello sviluppo (che sono più lunghi). È necessario però aggiungere che il fenomeno diviene evidente solo a concentrazioni fecali piuttosto elevate.

Su quale sia il meccanismo d'azione degli escrementi non abbiamo fatto indagini. La supposizione più ovvia è che esso risieda nella eccezionale presenza di cataboliti. Tuttavia non si può escludere che essi agiscano anche favorendo la diffusione della nucleopoliedrosi⁽⁴⁾ che serpeggia negli allevamenti di *Galleria* sparsi in tutto il mondo. Sta di fatto che la nostra prova preliminare è fallita proprio perché nella tesi con pabulum miscelato a feci si è manifestata, in misura superiore alle altre, una precoce moria. Ora è presumibile che livelli di infezione virale non letali possano interferire negativamente sui pesi (diminuendoli) e sui tempi (allungandoli).

Il suggerimento tecnico che scaturisce da questi dati è quello di abbondare nel quantitativo di pabulum che viene immesso nei vari contenitori, allo scopo di non lasciare prevalere nel substrato trofico, col procedere dello sviluppo larvale, la massa escrementizia.

II Prova

Al fine di confermare l'effetto negativo degli escrementi nella dieta, questi sono stati macinati più e meno finemente ed in essa incorporati. In tale modo le larve sono costrette ad ingerire il materiale fecale, che nella prova precedente potevano invece scartare data la sua struttura di piccoli e solidi cilindretti completamente secchi. Per verificare eventuali ripercussioni delle feci sull'entomofago, si è proceduto a parassitizzare le larve in penultima età.

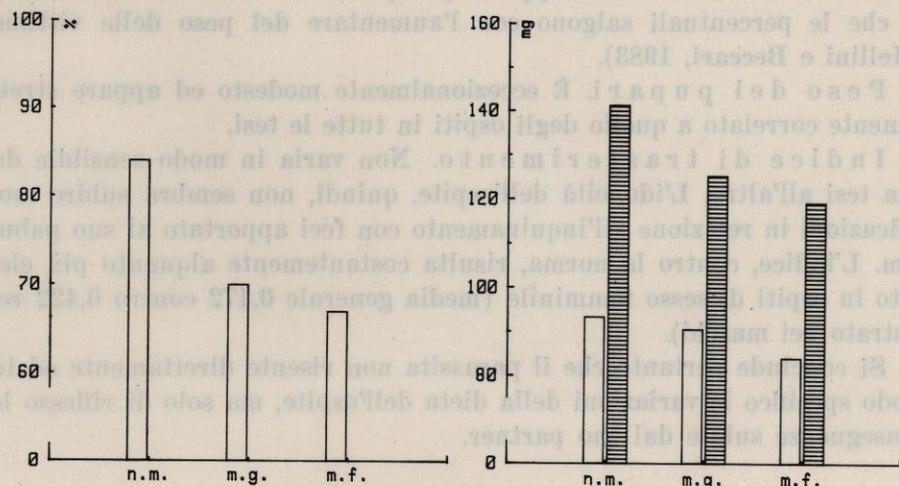
Sono state confrontate, a parte il testimonio non parassitizzato e su dieta standard, 4 tesi: una con escrementi normali e le altre 3 con una aggiunta, pari al 25% del peso del pabulum, di escrementi rispettivamente a) non macinati, b) macinati grossolanamente, c) macinati finemente.

Effetti sull'ospite.

Percentuali di incrisalidamento. Tendono a diminuire nelle tesi con escrementi addizionali macinati più o meno finemente (fig. III).

(4) BEEKMAN (1980), ad esempio, ha dimostrato che i corpi di inclusione del virus della nucleopoliedrosi del lepidottero *Heliothis punctigera* Wallen. non perdono il loro potere infettivo dopo avere attraversato il canale alimentare del rincote predatore *Nabis tasmanicus* Rem.

Pesi. Si ha un progressivo decremento incorporando alla dieta escrementi vieppiù frantumati. I pesi delle crisalidi scendono infatti del 10% per i maschi e del 15,5% per le femmine, passando dall'aggiunta di escrementi integri a quella di escrementi polverulenti (fig. IV).



FIGG. III-IV

Effetti degli escrementi macinati sulle percentuali di incrisalidamento di *G. mellonella* L. Feci aggiuntive nel pabulum: non macinate (n.m.), macinate grossolanamente (m.g.), macinate finemente (m.f.). (Dati ottenuti da 221 crisalidi di entrambi i sessi).

Effetti degli escrementi macinati sui pesi delle crisalidi di *G. mellonella* L. Simboli come nella figura precedente.

Tempi. Si è verificata, contro ogni aspettativa e sia nella serie maschile che in quella femminile, una sensibile diminuzione procedendo verso la tesi con feci più finemente suddivise. C'è peraltro da osservare che nel corso di questa prova si è verificato, in tutto l'allevamento di *Galleria*, un eccezionale nanismo a carico delle crisalidi, in relazione a modifiche apportate nella preparazione del pabulum larvale (i pesi medi più bassi, registrati nella tesi con escrementi aggiuntivi polverizzati, sono infatti pari a mg 84,05 per i maschi e 119,32 per le femmine). C'è infine da rilevare, in accordo con la prova precedente, che i tempi di sviluppo delle femmine superano, in tutte le tesi, di 2 giorni quelli dei maschi.

Effetti sul parassita.

Percentuali di parassitizzazione. Non subiscono variazioni apprezzabili in relazione alla presenza di escrementi aggiuntivi ed alla loro granulometria. L'insolito basso livello di parassitizzazione riscontrato in tutte le tesi, nonostante l'adozione di dosi di uova nonché di livelli di dispersione standard, è con tutta probabilità da attribuire al parimenti insolito basso peso medio delle crisalidi di entrambi i sessi. Altre ricerche sulla stessa coppia ospite-parassita hanno infatti indicato che le percentuali salgono con l'aumentare del peso delle vittime (Mellini e Beccari, 1983).

Peso dei pupari. È eccezionalmente modesto ed appare strettamente correlato a quello degli ospiti in tutte le tesi.

Indice di trasferimento. Non varia in modo sensibile da una tesi all'altra. L'idoneità dell'ospite, quindi, non sembra subire modificazioni in relazione all'inquinamento con feci apportato al suo pabulum. L'indice, contro la norma, risulta costantemente alquanto più elevato in ospiti di sesso femminile (media generale 0,472 contro 0,422 registrato nei maschi).

Si conclude pertanto che il parassita non risente direttamente ed in modo specifico le variazioni della dieta dell'ospite, ma solo di riflesso le conseguenze subite dal suo partner.

III Prova

È in pratica una ripetizione della seconda, anche se oltre a macinare gli escrementi, in alcune tesi si è macinata più finemente, per quanto possibile, pure la dieta. È costituita anch'essa da 5 tesi: I con pabulum macinato grossolanamente, II con pabulum macinato finemente, III-IV-V con escrementi aggiuntivi (+ 25%) rispettivamente non macinati, macinati finemente, macinati finemente e con dieta pure finemente macinata.

Effetti sull'ospite.

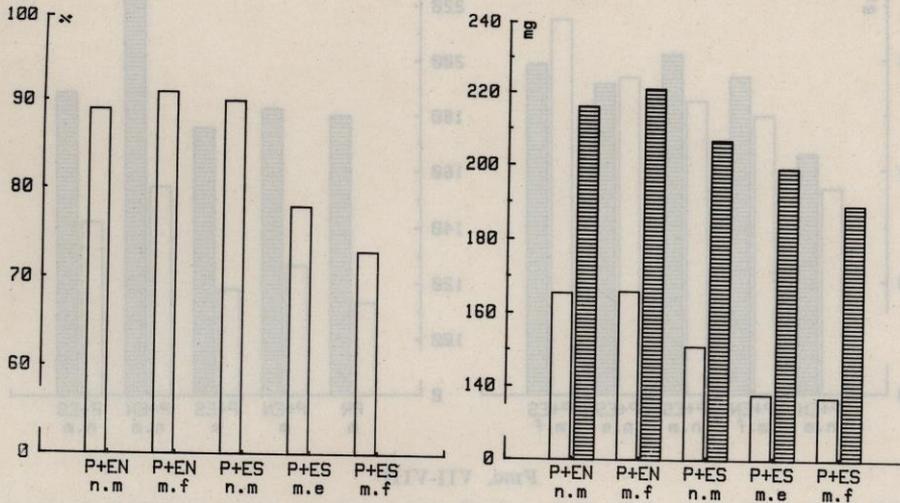
Percentuali di incrisalidamento. Presentano una decisa flessione nelle due tesi in cui sono stati propinati escrementi finemente macinati (fig. V).

Pesi. L'ulteriore macinazione del solo pabulum non porta a variazioni ponderali nè tra le crisalidi maschili nè tra quelle femminili.

L'aggiunta degli escrementi invece conduce ad un abbassamento dei pesi, che diviene alquanto più accentuato se le feci sono ridotte in polvere.

Rispetto alle tesi senza escrementi addizionati, il peso medio delle crisalidi in quella con escrementi finemente macinati diminuisce infatti del 17% per i maschi e del 15% per le femmine (fig. VI).

Tempi. La macinazione più fine del pabulum porta ad un leggero incremento del tempo per giungere all'incrisalidamento (circa il 10%) in entrambi i sessi.



FIGG. V-VI

Effetti della macinazione della dieta e degli escrementi sulle percentuali di incrisalidamento di *G. mellonella* L. Simboli come nelle figure precedenti; inoltre P + ES (m.e.): macinate solo le feci; P + ES (m.f.) macinati feci e pabulum. (Dati ottenuti da 421 crisalidi di entrambi i sessi).

Effetti della macinazione della dieta e degli escrementi sui pesi delle crisalidi di *G. mellonella* L. Simboli come nella fig. V.

La macinazione degli escrementi si accompagna ad un leggero aumento dei tempi nella serie maschile e in pratica a nessuna variazione in quella femminile. In ogni caso, però, le feci addizionali non macinate provocano, rispetto al testimone, un incremento attorno al 15% in entrambi i sessi (fig. VII).

Effetti sul parassita.

Percentuali di parassitizzazione. I valori più alti si riscontrano nella I tesi e quelli più bassi nella IV, mentre le altre tre tesi si pongono su uno stesso piano intermedio. Poiché i dati aberranti

appaiono contraddittori si ritiene che in realtà non vi siano differenze imputabili alle caratteristiche del pabulum dell'ospite.

Pesi dei pupari. In tutte le tesi mantengono grosso modo la stessa proporzione rispetto a quelli delle crisalidi in cui si sono formati.

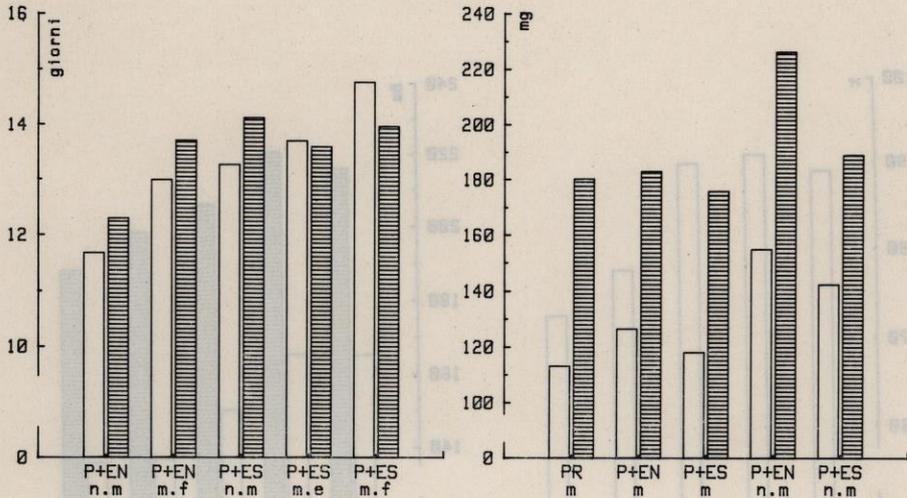


Fig. VII-VIII

Effetti della macinazione della dieta e degli escrementi sui tempi impiegati da *G. mellonella* L. per giungere all'incrisalidamento. Simboli come nella figura V.

Effetti della manipolazione larvale sui pesi delle crisalidi di *G. mellonella* L. Simboli come nelle figure precedenti; inoltre: m = manipolato, n.m. = non manipolato. (Dati ottenuti da 336 crisalidi).

Indice di trasferimento. Concordemente con quanto sopra, l'indice oscilla debolmente con la tendenza, particolarmente netta negli ospiti femminili (che sono più corpulenti), ad aumentare nelle tesi con crisalidi di peso minore.

B. Effetti della manipolazione dell'ospite.

Nella precedente serie di prove, nella presunzione, peraltro almeno in parte giustificata, che la manipolazione delle larve ne disturbi in qualche modo lo sviluppo, si sono manipolate le larve anche nelle tesi in cui tale operazione non era necessaria. Nella presente prova si è voluto espressamente verificare se, e in quale misura, il maneggio possa interferire sull'ontogenesi di *Galleria*.

A tale scopo, partendo dalla penultima età larvale, si sono messe a confronto 2 tesi con pabulum standard, di cui una manipolata, 2 tesi con pabulum arricchito in escrementi, di cui una manipolata, ed infine una sola tesi con pabulum rinnovato ogni due giorni, accanto alla quale ovviamente non era possibile porre la corrispondente non manipolata. Precisiamo che la manipolazione è consistita semplicemente nell'estrarre dai vari contenitori, ogni due giorni, le larve ad una ad una, e appena terminata l'operazione nel rimettere, tutte in una volta, le larve nei contenitori di partenza. Come si vede non si tratta di una pratica lunga nè apparentemente traumatica.

Ogni tesi è composta, al solito, da 100 larve della penultima età, sottoposte a parassitizzazione. La « contaminazione » delle 500 larve, con uova microtipiche di *Gonia*, è stata effettuata, come del resto in precedenza, in 5 contenitori separati al fine di garantire una migliore distribuzione delle uova tra le singole larve, ma dopo 24 ore queste sono state riunite in un recipiente unico per rendere più omogeneo, dal punto di vista parassitario, il materiale sperimentale, e di qui nuovamente distribuite in gruppi di 100 a costituire le varie tesi.

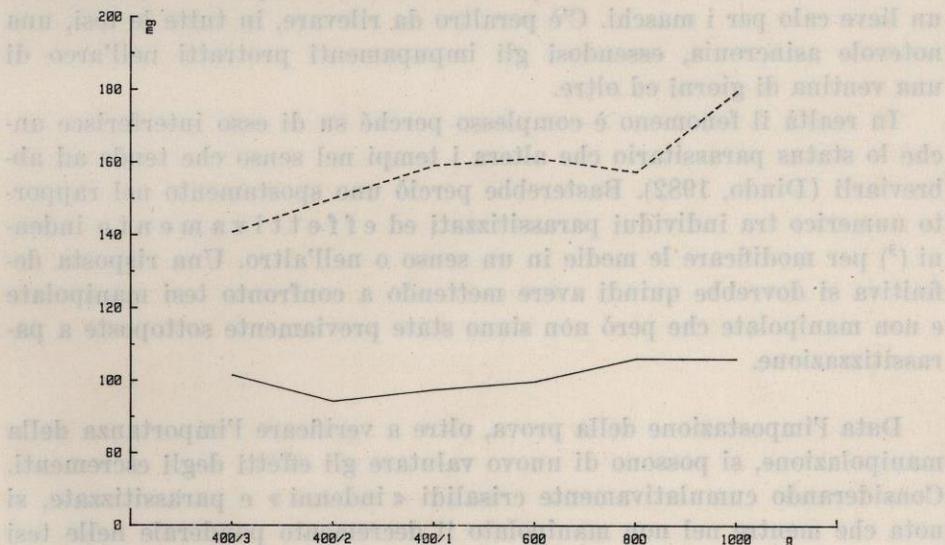


FIG. IX

Effetti della quantità di pabulum sui pesi delle crisalidi di *G. mellonella* L. In ascissa : peso del pabulum ; in ordinata : peso delle crisalidi. (Dati ottenuti da 414 crisalidi).

I risultati di questa complessa prova che, in realtà, oltre ad indagare sugli effetti della manipolazione, costituisce una replica delle prove precedenti sugli effetti degli escrementi, sono sintetizzati nel grafico di fig. VIII. Da esso emerge con tutta evidenza come la manipolazione,

nel senso e nella misura sopraindicata, costituisca un fattore fortemente negativo per l'accrescimento delle larve.

Effetti sull'ospite.

Percentuali d'inerisolidamento. Risultano notevolmente più basse in due delle tre tesi in cui le larve sono state sottoposte a periodiche manipolazioni.

Pesi. Le medie ponderali di tutte le crisalidi (indenni + parassitizzate), sia per la serie maschile che femminile, sono notevolmente inferiori nelle tesi manipolate, con scarti che, nei casi del pabulum normale, arrivano a sfiorare il 20%.

Tempi. A riguardo di questo parametro si rileva invece una situazione piuttosto contraddittoria. Valutando congiuntamente le crisalidi indenni e quelle parassitizzate, si nota un deciso aumento con la manipolazione nelle tesi con dieta normale, limitatamente però alla serie maschile. Nelle tesi con escrementi addizionali la situazione appare invertita registrandosi un aumento per le femmine manipolate e addirittura un lieve calo per i maschi. C'è peraltro da rilevare, in tutte le tesi, una notevole asincronia, essendosi gli impupamenti protratti nell'arco di una ventina di giorni ed oltre.

In realtà il fenomeno è complesso perché su di esso interferisce anche lo status parassitario che altera i tempi nel senso che tende ad abbreviarli (Dindo, 1982). Basterebbe perciò uno spostamento nel rapporto numerico tra individui parassitizzati ed effettivamente indenni⁽⁵⁾ per modificare le medie in un senso o nell'altro. Una risposta definitiva si dovrebbe quindi avere mettendo a confronto tesi manipolate e non manipolate che però non siano state previamente sottoposte a parassitizzazione.

Data l'impostazione della prova, oltre a verificare l'importanza della manipolazione, si possono di nuovo valutare gli effetti degli escrementi. Considerando cumulativamente crisalidi « indenni » e parassitizzate, si nota che mentre nel non manipolato il decremento ponderale nelle tesi

(5) Poiché tutte le larve impiegate nelle varie prove, esclusa la prima, sono state sottoposte a parassitizzazione, intendiamo col termine « indenni » le crisalidi nelle quali non si è formato il pupario dell'entomofago. Ciò dipende o dalla mancata parassitizzazione oppure dal fatto che, al momento di impuparsi, l'ospite si è liberato della o delle larvette di II età che lo infestavano. Siccome eventuali influenze sia di ordine temporale che ponderale possono essere indotte dal parassita soltanto prima della ninfosi della vittima, è chiaro che gli individui indenni autodisinfestatisi, che non possiamo identificare, si trovano, in realtà, sullo stesso piano di quelli in cui si sono formati i pupari.

con feci aggiuntive è notevole, specialmente nella serie femminile, nel manipolato è molto modesto per entrambi i sessi. Evidentemente gli effetti negativi degli escrementi e della manipolazione non si sommano, prevalendo quelli del secondo fattore.

Per quanto riguarda i tempi di incrisalidamento, o per meglio dire il tempo intercorrente tra l'inizio della prova (fasi intermedie della penultima età) fino alla formazione della crisalide, si notano sensibili incrementi nelle tesi con deiezioni aggiuntive, siano state o meno sottoposte a manipolazione.

Si conclude pertanto che la presente prova conferma in gran parte i risultati delle precedenti in riguardo al potere inibente delle feci presenti nel pabulum, ma pone anche in evidenza gli effetti della manipolazione che possono mascherare, almeno in parte, quelli degli escrementi.

Effetti sul parassita.

Premesso che i dati sull'entomofago sono più che dimezzati rispetto a quelli dell'ospite, si nota quanto segue.

Percentuali di parassitizzazione. In tutte le tesi, esclusa una, quelle a carico delle crisalidi femminili sono superiori a quelle relative ai maschi, mediamente di una decina di punti (rispettivamente 40,74 e 31,29% su tutta la prova). Probabilmente ciò dipende, almeno in parte, dalle maggiori dimensioni delle femmine, dato che le percentuali aumentano col crescere della mole della vittima (Mellini e Beccari, 1983).

Calcolando le percentuali globali di parassitizzazione, senza cioè tenere conto del sesso degli ospiti, si nota che le differenze tra le varie tesi sono assai modeste, per cui si deduce che il diverso trattamento applicato alle larve ospiti non influisce sulle percentuali di parassitizzazione.

Indice di trasferimento. È più alto negli ospiti maschili e più basso in quelli femminili. Ciò molto probabilmente è da porsi in relazione col minore peso dei primi i quali, pertanto, vengono sfruttati più a fondo dalla larva endofaga (Mellini e Campadelli, 1982). Le differenze, tutto sommato modeste, che si riscontrano tra una tesi e l'altra, non sembra si possano ascrivere al diverso trattamento subito dagli ospiti, visto che sono del tutto sfasate nelle due serie, maschile e femminile.

Peso dei pupari. Sono grosso modo proporzionali a quelli delle crisalidi in cui si sono formati. Così i pesi maggiori si riscontrano nelle tesi non manipolate e i minori in quelle manipolate, secondo una graduatoria che rispecchia abbastanza fedelmente quella degli ospiti, sia maschili che femminili. Da tutto ciò si evince che il peso dei pupari, come del resto si è veduto nel corso di tutta la sperimentazione finora condotta su questa coppia ospite-parassita, dipende da quello della vittima

e che fattori positivi e negativi agenti su questa ultima non interferiscono direttamente sul parassita. Tale rilievo non è scontato poiché in vari casi, specie in riguardo ad Imenotteri Terebranti, si è visto che il substrato di sviluppo dell'ospite può interferire sul suo parassita, non solo in riguardo ai pesi ed alle percentuali di parassitizzazione ma addirittura nei confronti della sua stessa sopravvivenza (Mellini, 1960). Ora è evidente che, nel nostro caso, una eccessiva presenza di feci cambia la qualità del pabulum della vittima, ma, a quanto pare, non cambia la qualità della vittima stessa, o quanto meno la sua sfruttabilità da parte del parassita, visto che in pratica non vi sono differenze significative negli indici di trasferimento.

C. Effetti della quantità di pabulum.

Precisiamo che anche nella tesi coi livelli più bassi (400 g), la dieta somministrata alle larve (100) era largamente eccedente rispetto alle loro necessità. Al solito si è partiti da fasi intermedie della penultima età sulle quali è stata effettuata la parassitizzazione. Nelle prime due tesi il rifornimento della dieta è stato frazionato, nelle quattro successive cumulativo, con progressivi incrementi di 200 g fino a raggiungere la dose massima di 1 Kg.

Per consentire l'introduzione di quest'ultima, senza colmare il contenitore, e per mantenerne costanti le dimensioni in tutte le tesi, sono stati impiegati recipienti di plastica da 3,5 litri.

C'è infine da rilevare che la presente prova sulla quantità di pabulum può essere considerata, sotto certi aspetti, una prosecuzione di quella impostata sulle quantità di escrementi, nel senso che mentre in essa la presenza delle feci veniva artificialmente incrementata, nella presente prova viene, se non diminuita per lo meno diluita, dato il progressivo aumento della massa trofica (6).

Effetti sull'ospite.

Percentuali di incrisalidamento. Si discostano dalla media generale (attorno al 70%) le tesi in cui si è proceduto ad una somministrazione frazionata del pabulum. Nella tesi in cui essa è avvenuta in 3 tempi (200 + 100 + 100 g) si registrano valori eccezionalmente bassi (38%) (forse in seguito a fenomeni di affamamento) mentre nella

(6) Non ci nascondiamo che tale diluizione è tutt'altro che uniforme perché, come si è altrove rilevato, le larve in ciascun contenitore, specie se non numerose, come nel presente caso, tendono a stare riunite in un glomere ove imbrigliano con fili di seta pabulum ed escrementi.

tesi con rifornimento in 2 tempi (200 + 200 g) si sono ottenuti valori molto elevati (86%) (forse la concentrazione iniziale delle larve in una massa trofica sufficiente ma modesta le ha favorite).

Peso delle crisalidi. Per la serie maschile, sia nel parassitizzato che nell'indenne, non si notano sensibili variazioni nelle medie ponderali delle varie tesi. Nella serie femminile, specialmente nell'indenne ma anche nel parassitizzato, si manifesta invece un sensibile incremento passando dal rifornimento più frazionato a quello cumulativo, nonché salendo da 400-800 g di dieta a 1 Kg; le medie generali salgono infatti da 140,80 mg, della tesi con minore quantità di pabulum, a 179,38 in quella con quantità maggiore (fig. IX).

Le differenze tra le risposte dei maschi e quelle delle femmine sono nette, per cui bisogna dedurre una differente sensibilità dei due sessi di fronte al variare della quantità (oltre il necessario) di cibo disponibile, peraltro legata al differente potenziale megetico dei 2 sessi.

In ogni caso si rileva che i pesi delle crisalidi in questa prova sono notevolmente minori di quelli registrati nelle prove precedenti, e per di più insolitamente bassi rispetto alla media generale di tutti i nostri allevamenti.

Tempi di incrisalidamento. Con questa dizione intendiamo il tempo intercorrente dalle fasi intermedie della penultima età alla formazione delle pupe. Sommando i dati dell'indenne e del parassitizzato, si nota che le differenze tra le varie tesi sono modeste ed alquanto irregolari. Poiché nelle femmine vi è, d'altro canto, un sensibile aumento nei pesi, se ne ricava che il maggiore incremento ponderale non è realizzato attraverso un prolungamento dell'attività trofica, bensì mediante la sua intensificazione.

Si conferma invece la netta differenza tra i tempi dei maschi e quelli delle femmine che in tutte le tesi sono superiori di 1,5-2 giorni.

Facciamo da ultimo rilevare che i « tempi di incrisalidamento » degli individui parassitizzati sono più brevi, ed in misura nettissima nella serie femminile, rispetto a quelli degli individui indenni. Ciò a conferma di quanto indicato nella prova precedente ed a supporto di una sperimentazione condotta espressamente per verificare gli effetti fisiologici determinati dal parassita sull'ospite (Dindo, 1982).

Effetti sul parassita.

Percentuali di parassitizzazione. In entrambi i sessi dell'ospite si mantengono su livelli costanti in tutte le tesi esclusa l'ultima dove, nei maschi, si balza ad un tratto da una media attorno al 45%, delle prime 5 tesi, ad una di ben il 67,85%, e viceversa nelle femmine ove da una media di circa il 53,5% si scende ad una del 40,47. Se consideriamo aberranti i dati di quest'ultima tesi, visto che non si intravede

nessuna spiegazione plausibile, si giunge alla conclusione che in pratica non vi sono, per entrambi i sessi dell'ospite, differenze nelle percentuali di parassitizzazione imputabili al diverso quantitativo di pabulum propinato all'ospite, ed inoltre, a totale conferma di quanto rilevato nella prova precedente, che le crisalidi femminili raggiungono, nella media generale delle prime 5 tesi, percentuali di parassitizzazione superiori di circa 8 punti rispetto a quelle maschili. Resta quindi ulteriormente comprovato quanto si era asserito al riguardo in uno dei primi lavori di questa serie (Mellini et alii, 1978).

Indice di trasferimento. Varia da un minimo di 0,462 a un massimo di 0,501 per i parassiti sviluppatasi in ospiti maschili e da 0,473 a 0,515 per quelli evolutisi in crisalidi femminili. Le differenze nello sfruttamento delle vittime dei due sessi sono dunque minime anche se l'indice è leggermente superiore in quelle femminili.

In generale poi gli indici di trasferimento in questa prova sono più alti che nella precedente. Con molta probabilità ciò dipende semplicemente dal minore peso delle crisalidi che pertanto vengono sfruttate più a fondo.

Non pare infine che vi siano relazioni tra le oscillazioni dell'indice e le varie condizioni sperimentali per quanto riguarda gli ospiti maschili. Per la serie femminile, invece, si nota una decisa tendenza dell'indice a flettersi procedendo verso le tesi con maggiore quantità di pabulum. Si ritiene che ciò possa dipendere dal progressivo incremento ponderale che parallelamente si verifica nelle crisalidi.

Peso dei pupari. Negli ospiti maschili si mantiene all'incirca sullo stesso livello in tutte le tesi; nelle crisalidi femminili mostra un leggero rialzo nelle tesi con maggiore quantità di pabulum. Come testimoniano del resto anche gli indici di trasferimento, i pesi dei pupari si mantengono, entro limiti abbastanza stretti, proporzionali ai pesi delle crisalidi in cui si sono formati.

RIASSUNTO

Nostre precedenti ricerche hanno dimostrato che ogni fattore applicato sull'ospite, e tale da modificarne la fisiologia, finisce poi col ripercuotersi sul suo parassita. Nell'intento di migliorare la qualità del primo simbionte allo scopo di avvantaggiare il secondo, si è voluto verificare se le deiezioni dell'ospite e la sua manipolazione allo stato larvale possano interferire sul suo sviluppo. Nella normale gestione dell'allevamento questi « fattori » sono sempre operanti e perciò conoscere la loro incidenza è di notevole importanza. La sperimentazione è stata impostata partendo da larve nelle fasi intermedie della penultima età.

Effetti della presenza di deiezioni nel pabulum. Per quanto riguarda i pesi delle crisalidi, sia parassitizzate che indenni, la presenza di escrementi diviene chiaramente negativa solo a forti concentrazioni, quali si possono ottenere

addizionando alla dieta quantitativi supplementari di feci ovvero fornendo alle larve quantità di pabulum appena sufficienti.

Per quanto concerne i tempi occorrenti per giungere all'incrisalidamento, si osserva un notevole allungamento nelle tesi con pabulum arricchito con escrementi addizionali.

La macinazione degli escrementi, che ne favorisce l'ingestione da parte delle larve, ne incrementa sensibilmente gli effetti nocivi a livello ponderale ma non altrettanto a quello temporale; inoltre essa provoca una sensibile flessione nelle percentuali di incrisalidamento.

Viceversa un forte aumento della massa trofica, ben oltre le reali necessità, diluendo in certo qual modo le feci, favorisce l'incremento dei pesi nelle femmine mentre non interferisce sui tempi impiegati per giungere all'impupamento.

In conclusione dunque le deiezioni, per quanto solide, anidre e imbrigliate con fili di seta, che in certa misura le isolano dal pabulum, sono tendenzialmente negative, anche se operanti in modo evidente solo a forti concentrazioni. Esse infatti determinano minori pesi all'impupamento e nel contempo una dilatazione dei tempi dello sviluppo, per cui la biomassa prodotta nell'unità di tempo subisce un cospicuo decremento.

Effetti della manipolazione larvale. Sono anch'essi rilevanti; bastano infatti semplici trasferimenti da un contenitore all'altro, effettuati a giorni alterni, nel corso dell'ultima età larvale, per determinare un forte calo nelle medie ponderali delle crisalidi sia maschili che femminili, sia indenni che parassitizzate. Contemporaneamente le percentuali di incrisalidamento tendono a diminuire ed il tempo impiegato per giungere all'incrisalidamento ad aumentare.

Gli effetti negativi delle feci e della manipolazione sull'ospite si trasferiscono poi, indirettamente, sul parassita con un calo nella produzione e nel peso dei pupari. Pertanto è consigliabile, nella pratica dell'allevamento, di abbondare nella quantità di pabulum somministrato a *Galleria*, al fine di «diluire» la massa fecale che si va accumulando, ed inoltre di evitare, per quanto possibile, la manipolazione delle larve.

Effects of dejections and manipulation on the growth of *Galleria mellonella* L. and repercussions on the parasite *Gonia cinerascens* Rond.

SUMMARY

Our previous researches proved that every factor applied to the host, such as to modify its physiology, finally affects its parasite. In order to improve the quality of the first symbiont for advantaging the second one, we wanted to check whether the dejections of the host and its manipulation at the larval stage can affect its growth. In the usual rearing management, these «factors» are always present; therefore, it is very important to know their effects. Our tests were set up starting from larvae at the intermediate stage of the last instar.

Effects produced by dejections in the pabulum. As to the weight of chrysalids, whether parasitized or undamaged, the presence of dejections becomes clearly negative only in the case of high concentrations, as it is possible to obtain by adding further amounts of feces to the diet or giving the larvae hardly sufficient amounts of food.

As to the time required to reach the chrysalid stage, a considerable lengthening was observed in the tests where the pabulum had been enriched with additional feces.

The feces grinding, that facilitates the ingestion by the larvae, remarkably increases the feces noxious effects as to weight, but not as much as to growth time; in addition it causes a considerable reduction in the chrysalids number.

On the contrary, a great increase of the trophic mass, beyond the actual requirements, somehow dilutes the feces and consequently causes the weight increase in females, whereas it does not affect the time required for reaching pupation.

In conclusion, the effects of dejections, even if solid, anhydrous and bridled with silk threads — that to some extent isolate them from the pabulum — tend to be negative, even if clearly noxious only at high concentrations. In fact they cause minor chrysalid weights and, at the same time, an extension of the growth time. Therefore, the biomass produced in the unit of time considerably decreased.

Effects of larvae manipulation. They are considerable, too; in fact just simple transfers from a container to another, performed every other day during the last stage, are enough for determining a remarkable decrease in the weight average of both male and female chrysalids, whether undamaged or parasitized. At the same time the chrysalids number tend to decrease, whereas the time required for reaching the chrysalid stage tends to increase.

Then the negative effects of feces and host manipulation indirectly affect the parasite, for which a decrease in puparium production and weight can be observed. Therefore, in rearing, it is advisable to give *Galleria* larger quantities of pabulum, so as to « dilute » the fecal mass building up, and also to avoid the larvae manipulation as much as possible.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- BEEKMAN A. G. B., 1980. — The infectivity of polyhedra of nuclear polyhedrosis virus (N.P.V.) after passage through gut of an insect-predator. - *Experientia*, 36: 858-859.
- CAMPADELLI G., 1975. — *Galleria mellonella* L. quale ospite di sostituzione per i Ditteri Larvevoridi. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 203-213.
- CHAUVIN R., 1967. — Il mondo dell'insetto. - Il Saggiatore, Milano, 255 pp.; cfr. p. 113.
- DINDO M. L., 1982. — Effetti indotti dai Ditteri Tachinidi nei loro ospiti. Il caso della coppia *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 37: 137-156.
- HAGSTRUM D. W., SILHACEK D. L., 1980. — Diapause induction in *Ephestia cautella*: an interaction between genotype and crowding. - *Ent. exp. & appl.*, 28: 29-37.
- HANSCHKE R., GROTH U., 1979. — Verbesserte Methode zur Massenzucht von Larven der Großen Wachsmotte (*Galleria mellonella* L.). - *Z. Versuchstierk.*, 21: 205-208.
- LEVINSON H. Z., LEVINSON A. R., FRANCKE W., 1980. — Feeding aggregants in the faeces of *Dermestes maculatus* De Geer. - *Naturwissenschaften*, 67: 463-464.
- MELLINI E., 1960. — Orientamenti e progressi negli studi sul parassitismo degli insetti entomofagi. - *Atti Acc. Naz. Ital. Entomol., Rendiconti*, 8: 62-85.
- MELLINI E., TESTA I., CAMPADELLI G., CAVICCHI S., 1978. — Influenze del sesso dell'ospite sullo sviluppo del parassita nella coppia *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 34: 111-123.
- 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., CAMPADELLI G., 1982. — Potenziale megetico del parassitoide *Gonia cinerascens* Rond. misurato sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L. - *Mem. Soc. Entomol. Ital.*, 60: 239-252.
- 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. Univ. Bologna*, 38: 75-92.
- NEMEC V., JAROLIM V., 1980. — Excretion of some juvenoids by *Locusta migratoria* larvae. - *Acta entomol. bohém.*, 77: 76-81.
- OZAKI E. T., KOBAYASHI R. M., 1981. — Effects of pupal handling during laboratory rearing on adult eclosion and flight capability in three tephritid species. - *J. Econ. Entomol.*, 74: 520-525.
- PROKOPY R. J., AVERILL A. L., BARDINELLI C. M., BOWDAN E. S., COOLEY S. S., CRNJAR R. M., DUNDULIS E. A., ROITBERG C. A., SPATCER P. J., TUMLINSON J. H., WEEKS B. L., 1982. — Site of production of an oviposition-detering pheromone component in *Rhagoletis pomonella* flies. - *J. Insect Phys.*, 28: 1-10.