

— 68 —
GUIDO CAMPADELLI

Istituto di Entomologia « Guido Grandi » dell'Università di Bologna

Effetti della bassa temperatura sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied.

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

GENERALITÀ.

Ogni specie può svolgere le proprie funzioni solo nell'ambito di un certo intervallo termico, 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 sex ratio, nella percentuale di parassitizzazione, ecc. Uno dei fattori climatici che maggiormente influenzano lo sviluppo e l'attività degli insetti è infatti la temperatura che perciò costituisce l'oggetto di studio in numerosissime ricerche. Non potendo, per ovvie ragioni, citare tutti i lavori su questo argomento, mi limiterò ad indicarne alcuni tra quelli più significativi.

Le basse temperature possono avere varie ripercussioni sugli insetti, non solo sulla loro vitalità, ma anche sulla pressione osmotica, sulla composizione della emolinfa, sulla respirazione, ecc. ed in modo differenziato secondo il loro stadio di sviluppo.

1) Effetti su insetti vari.

Relativamente allo stadio embrionale di *Anagasta kühniella* Zell. (Lep.: Phycitidae) Daumal et alii (1974), applicando temperature inferiori alla soglia di sviluppo ($+4,5^{\circ}\text{C}$ e $+1^{\circ}\text{C}$), ottennero effetti letali che non si manifestarono solo nell'uovo, ma che si prolungarono nel corso dell'accrescimento postembrionale. Per entrambi i valori termici impiegati il tempo di esposizione, per ottenere una mortalità pari al 50% al momento della schiusa, è di 1,5 giorni, per uova in fase di moltiplicazione nucleare; questo tempo aumenta in seguito rapidamente fino al termine della blastocinesi (96 ore), allorché raggiunge i 22 giorni; in seguito diminuisce fino a stabilizzarsi sugli 8 giorni al momento della schiusa. Cline (1970), sottoponendo uova di *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lep.: Phycitidae) ad una temperatura di $+2,4^{\circ}\text{C}$ per 192 ore,

potè constatare una completa mortalità larvale. D'altra parte vide che, esponendo le uova di *Plodia* alla temperatura di + 2,4 °C per un periodo massimo di 96 ore e portandole successivamente alla temperatura di + 27 °C, si verificava solo una parziale mortalità larvale.

Hanec (1966) sottoponendo larve appena schiuse di *Malacosoma disstria* Hübner (Lep.: Lasiocampidae) a basse temperature giunse alle seguenti conclusioni: l'80% delle larve sopravvive per 10 giorni con valori oscillanti da - 1 °C a + 16 °C e la longevità delle sopravvissute oscilla da 19 a 23 giorni. Sottoponendo le larvette a - 12 °C + 7 °C, il tempo di sopravvivenza massimo è stato di 8 giorni; mentre a - 18 °C e - 15 °C tutte le larvette morivano nel giro di 24 ore. Salt (1936) e Hodson (1941) osservarono che le stesse larve esposte per un breve periodo a - 18 °C morivano quasi subito.

Per quanto riguarda le variazioni biochimiche nelle larve di *Monema* sp. Walk. (Lep.: Limacodidae) Asahina (1966) ha accertato che la sintesi del glicerolo, partendo dal glucosio, dipende dalla temperatura che ha un valore ottimale sui + 10 °C. Anche Tsumuki e Kanehisa (1979) sottoposero al freddo larve di *Chilo suppressalis* Walker (Lep.: Pyralidae) per studiare le variazioni del glicerolo. Alle larve furono praticate delle legature fra il torace e l'addome, nonché fra il 7° e 8° urite, così che ogni larva restava divisa in tre parti; successivamente esse furono sottoposte a tre differenti temperature (+ 25 °C; + 15 °C e + 4° C) per 10 giorni. Col trattamento a + 15 °C e + 4 °C la concentrazione di glicerolo aumentò sia nel torace che nell'addome ed in misura diversa secondo il livello termico. Hanec (1966) studiò le variazioni nella concentrazione del glicerolo nelle uova di *Malacosoma disstria*. Alla fine dell'inverno essa raggiunge un valore pari al 35,2% (misurato sul peso secco) mentre prima della schiusa esso scende al disotto dell'1%.

Miller (1967) sottopose crisalidi di *Heliothis zea* (Boddie) (Lep.: Noctuidae), non in diapausa, a basse temperature per differenti periodi di tempo. A 0 °C e a - 5 °C erano richiesti 10,2 e 3,3 giorni rispettivamente per avere una mortalità pari al 50%, mentre le stesse crisalidi esposte a + 4,4 °C e + 10 °C erano in grado di sopravvivere per lunghi periodi (142 giorni).

Turnock et alii (1983) esposero crisalidi in diapausa di *Mamestra configurata* Wlk. (Lep.: Noctuidae) a temperature che variavano da - 5 °C a - 20 °C per un periodo di 140 giorni. Tale trattamento ridusse lo sfarfallamento di adulti normali.

Cohet (1972) studiò l'effetto della bassa temperatura sugli stadi preimmaginali di *Drosophila melanogaster* Meig. (Dipt.: Drosophilidae) e quindi le conseguenze che si registrano negli adulti. Allevando gli stadi giovanili a + 13 °C gli adulti presentano differenze nel compor-

tamento sessuale; lo sviluppo a bassa temperatura riduce il vigore dei maschi e al contrario accresce la recettività sessuale delle femmine.

Cohet (1973a, 1973b) sottoponendo uova di *D. melanogaster* a + 13 °C ridusse notevolmente le percentuali di schiusa e la fecondità delle femmine. Ciò deriva da una riduzione nel numero degli ovarioli, da una diminuzione della attività ovarica, da una minore fertilità delle uova e infine da una precoce mortalità delle femmine. Nelle stesse condizioni si manifestò sterilità nei maschi per il blocco della spermatogenesi. Il trasferimento dei maschi a + 25 °C permise il ripristino della fertilità dopo un intervallo minimo di 5 giorni. I risultati ottenuti sotto l'azione del freddo sono simili a quelli ottenuti sotto l'effetto di un'alta temperatura (+ 30 °C). L'Autore (Cohet, 1973c) poté inoltre stabilire che è possibile modificare l'aspetto fenotipico di uno stesso genotipo cambiando le condizioni termiche di sviluppo larvale e pupale. I cambiamenti riguardano non solo la morfologia, ma anche le caratteristiche fisiologiche in generale. La longevità dei maschi e delle femmine allevati a + 13 °C (dall'uovo fino all'immagine) è sempre notevolmente inferiore a quella degli individui allevati a + 25 °C.

Benschoter e Witherell (1984) esposero gli stadi immaturi di *Anastrepha suspensa* (Loew.) (Dipt.: Tephritidae), per periodi variabili, a temperature comprese fra + 1,5 °C e + 15,6 °C. Gli effetti letali furono inversamente proporzionali alla temperatura; meno del 50% delle larve mature morì in seguito all'esposizione a + 15,6 °C per 28 giorni, mentre a + 7,2 °C per 7 giorni si verificò una mortalità del 99,8%. L'esposizione a + 15,6 °C non aveva in pratica alcun effetto letale sulle pupe, mentre a + 12,8 °C per 28 giorni ne uccideva il 45,4%.

Benschoter (1984) sottopose una parte di larve di *A. suspensa* alla temperatura di + 10 °C e + 15 °C per 7 giorni e una parte a + 1,7 °C, per 7,9, 12,15 e 19 giorni. In tutte le tesi esposte a + 10 °C si sono ottenuti adulti, mentre a + 1,7 °C non si sono verificati sfarfallamenti.

Bucher et alii (1948) studiarono l'influenza delle basse temperature sulle pupe di mosca domestica: le pupe sottoposte a - 3 °C per 12 ore, a - 7 °C per tre ore e a - 11 per un'ora morirono in massa.

David e Cohet (1971) dimostrarono che negli adulti di *Drosophila*, la longevità è notevolmente più bassa allorché lo sviluppo ha avuto luogo a + 13 °C piuttosto che a + 25 °C. La temperatura di + 13 °C è stata scelta perché è prossima al limite inferiore compatibile con lo sviluppo delle specie, senza che tuttavia la mortalità sia troppo elevata.

2) Effetti su *Galleria mellonella* L.

Mansingh (1973), sottoponendo per tre settimane larve di 7^a età a + 4 °C, notò che esse, poste successivamente a + 25 °C, impiegavano circa 40 minuti per riprendere la loro attività normale, mentre il 65%

moriva. Un'applicazione di 2 μ di FME (farnesil metil etere) riduce in modo significativo il tempo di recupero e permette al 75% delle larve di sopravvivere all'esposizione al freddo.

Cymborowski e Bogus (1976), esponendo alla temperatura di 0 °C larve dell'ultimo stadio, notarono l'espletamento di ulteriori mute larvali, la perdita della capacità di tessere bozzoli e la formazione d'individui incapaci di continuare il normale sviluppo. Tali alterazioni dipendono dall'età delle larve raffreddate. Trattando larve entrate nell'ultimo stadio da 1-2 giorni, videro che esse compivano mute soprannumerarie; trattando invece larve passate in ultima età da 3-7 giorni constatarono che esse risultavano incapaci di completare il loro sviluppo.

Pipa (1976) sottoponendo a 0 °C e + 1 °C per 30 minuti larve all'inizio della 7ª età, notò che queste subivano mute soprannumerarie 3-6 giorni dopo il trattamento. Inoltre constatò che la capacità di rispondere al freddo veniva annullata in seguito all'estirpazione dei corpi cardiaci e dei corpi allati; ciò non si verificava invece con l'estirpazione unilaterale. A tale effetto si poneva rimedio applicando un analogo dell'ormone giovanile, l'Altosid.

Bogus e Cymborowski (1977) sottoponendo larve di 7ª età a 0 °C per tre ore poterono osservare che si verificava, oltre a mute soprannumerarie, una diminuzione di peso.

Marek (1978), esponendo prepupe e pupe a + 4 °C, indagò sulla formazione delle « proteine da freddo » (1), sulla pressione osmotica, sui contenuti ionici K⁺, Na⁺, Mg²⁺ e i cationi Ca²⁺ nonché sul numero di emociti nell'emolinfa. In tale prova furono utilizzate due diete per l'allevamento delle larve. Con una dieta, la pressione osmotica dell'emolinfa nelle prepupe scendeva da 628 mOsm a 479 mOsm (2), mentre con l'altra essa diminuiva da 396 mOsm a 190 mOsm. Dopo un raffreddamento per 17 giorni a + 4 °C essa si alzava a 416 mOsm. L'Autore poté determinare ancora che: il contenuto di ioni K⁺ nell'emolinfa delle prepupe e pupe sottoposte a + 4 °C, aumentava da 30,4 mM/l a 58,9 mM/l (3), quello degli ioni Na⁺ da 17,2 mM/l a 23,9 mM/l, quello degli ioni Ca²⁺, variante fra 11,4 mM/l e 0,7 mM/l, aumentava del 69,6%.

Plantevin (1978), studiando l'effetto del freddo sulle mute, sull'accrescimento e lo sviluppo delle larve, poté osservare che le larve all'inizio e alla fine della settima età, sottoposte ad una temperatura di 0 °C e + 4 °C, subivano, in un'alta percentuale, una muta soprannumeraria in dipendenza dell'età al momento del trattamento; questo fenomeno è

(1) Le « proteine da freddo » sono isoenzimi di una esterasi.

(2) mOsm: milli osmoli (unità di misura della pressione osmotica).

(3) mM: milli molare (concentrazione di una soluzione).

risultato evidente soprattutto nelle larve trattate nel periodo che va da 12 a 24 ore dopo l'ultima muta larvale.

Marek (1979a) esponendo crisalidi alla temperatura di + 4 °C registrò profondi cambiamenti nel metabolismo respiratorio e nella composizione dell'emolinfa.

Le crisalidi a + 30 °C consumano in media 649 mm³ O₂/g/h. Dopo una esposizione a + 4 °C per 26 giorni il consumo di ossigeno si riduce a 38,88 mm³ mentre il volume dell'emolinfa cala del 2% nei primi tre giorni e dell'8% dopo ulteriori 4 giorni. Il contenuto proteico durante i primi 7 giorni di raffreddamento (+ 4 °C) è pari circa a 63,5 mg/ml; inoltre tale trattamento determina un aumento delle proteine del 32,5% e, relativamente ai 12 aminoacidi liberi, un aumento del 76%. Il contenuto di carboidrati passa da 11,4 mg% a 1,73 mg%; pure il contenuto di acidi grassi diminuisce; il glicerolo nei primi tre giorni di raffreddamento aumenta dell'8,5% e nella seconda fase di raffreddamento aumenta ulteriormente passando a 21,5%. Così pure l'acido urico nei primi tre giorni di raffreddamento aumenta del 100% e nei successivi 4 giorni di raffreddamento del 24,5%.

Marek (1979b) esamina l'importanza del glicerolo per la formazione delle crioglobuline (4) ed in particolare quale concentrazione e ritmo di sintesi ne inibisce la formazione all'inizio del raffreddamento nelle larve dell'ultimo stadio.

Bogus (1979) conclude che l'incapacità da parte delle larve di tessere il bozzolo dipende probabilmente dalla mancata polimerizzazione del secreto delle ghiandole sericipare, dovuto al raffreddamento (+ 4 °C).

Marek (1980) trattando pupe alla temperatura di + 9 °C per 16 giorni poté osservare un aumento della pressione osmotica emolinfatica e del glicerolo. Nelle stesse pupe sottoposte a + 9 °C per 61 giorni tale pressione s'innalza ulteriormente raggiungendo un valore pari a 542 mOsm. Il contenuto di glicerolo aumenta da 64 mg a 175 mg nel primo gruppo e a 135 mg nel secondo gruppo. La concentrazione di glicerolo corrispondente a 175 mg sembra inibire l'aumento di globuline nel sangue indotto dal raffreddamento, come pure inibisce la comparsa delle « proteine da raffreddamento ».

Bogus e Cymborowski (1984) studiarono la sensibilità al freddo delle larve all'ultimo stadio sottoponendole a 0 °C per due ore e ne conteggiarono: 1) il numero delle mute supplementari, 2) il numero di larve capaci di emettere seta e quindi di tessere il bozzolo, 3) il numero di larve che arrestano il loro sviluppo. In base a tale prova poterono stabilire che le femmine mostravano una sensibilità più alta al freddo rispetto ai maschi circa il numero delle mute larvali in soprannumero.

(4) Crioglobuline: sono immunoglobuline che precipitano in seguito al raffreddamento del siero.

3) Effetti sui parassiti.

Circa l'azione del fattore temperatura sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied., Mellini et alii (1979) mettono in risalto che il peso delle crisalidi parassitizzate tende a crescere con l'innalzarsi della temperatura da + 20 °C a + 34 °C, in uguale misura nei maschi e nelle femmine; anche il peso delle crisalidi indenni aumenta, ma in misura diversa nei due sessi. Il peso dei « pupari » del parassita si alza gradualmente col salire della temperatura, come effetto dell'incremento ponderale subito dall'ospite.

Drooz e Solomon (1980) trovarono che le uova di *Clostera inclusa* (Hübner) (Lep.: Notodontidae), sottoposte a una temperatura di — 10 °C per un mese, potevano essere utilizzate per l'allevamento massivo di *Ooencyrtus ennomophagus* Yoshimoto (Hym.: Encyrtidae).

Drooz (1981), congelando le uova di *Lambdina pellucidaria* (Grote e Robinson) (Lep.: Geometridae) a — 10 °C per 4 settimane notò invece che pochissime erano idonee per lo sviluppo di *O. ennomophagus*.

Drooz e Weems (1982) riportano che il congelamento a — 10 °C delle uova di *Eutrapela clementaria* (J. E. Smith) (Lep.: Geometridae) addirittura le rendeva più idonee all'allevamento in massa del parassita *O. ennomophagus*.

Klunker (1982) dimostra che le pupe di mosca domestica congelate risultano attrattive, come quelle non trattate, per le femmine di *Muscidifurax raptor* Girault e Sanders (Hym.: Pteromalidae).

Betbeder-Matibet (1967) studiando il ciclo biologico di *Diatraeophaga striatalis* Towns. (Dipt.: Tachinidae) parassita di *Proceras sacchariphagus* Boj. (Lep.: Crambidae) ha veduto che a + 18 °C la durata della vita dell'endoparassita varia dai 20 ai 32 giorni, mentre a + 15 °C il suo sviluppo cessa ed esso muore all'interno dell'ospite. Anche la pupa non può tollerare quest'ultima temperatura per oltre 15 giorni.

Petersen e Matthews (1984), sottoponendo pupe di mosca domestica a congelamento per 24, 48, 72, 120 e 144 ore, constatarono che, nonostante la loro morte, esse rimanevano ugualmente idonee per lo sviluppo di *Muscidifurax zaraptor* Kogan e Legner (Hym.: Pteromalidae). I livelli di parassitizzazione tuttavia diminuivano nei pupari che erano stati sottoposti a congelamento oltre le 96 ore.

Similmente Pickens e Miller (1978) riportarono che *Pachycrepoides vindemiae* (Rondani) (Hym.: Pteromalidae) parassitizza facilmente le pupe di mosca domestica sottoposte a congelamento.

Legner (1976) espose a + 10 °C per 55 e 180 giorni le larve mature dei tre parassiti ectofagi *Spalangia endius* Walker, *Muscidifurax raptor* Girault e Sanders e *M. zaraptor* (Hym.: Pteromalidae). Portate successivamente a 25 °C esse si svilupparono regolarmente originando adulti

con capacità riproduttive e fecondità normali. Inoltre per *S. endius* si poté constatare un aumento della longevità e della fecondità.

Lopez e Morrison (1980) sottoposero larve di varie età di *Trichogramma pretiosum* Riley (Hym.: Trichogrammatidae), allevate a + 26 °C, alle seguenti temperature: 0, — 5, — 10, — 15, — 20 °C. I fenomeni osservati furono: le larve di 2-3 o 4 giorni mostrarono più o meno la stessa mortalità. Le larve di 1 giorno sopportavano meglio le temperature di — 5 e — 10 °C, quelle di 6-8 giorni erano più suscettibili alle temperature di — 10, — 15 e — 20 °C, infine quelle di 6 giorni erano più tolleranti a 0 °C.

Grosh et alii (1977), esponendo le larve della 4^a età di *Habrobracon juglandis* (Ashm.) (Hym.: Braconidae) a + 15 °C per 1-2 settimane, ottennero un sensibile incremento nel numero degli ovarioli, mentre Barbosa e Frongillo (1979) trovarono che le temperature inferiori a + 15,5 °C, da loro impiegate nella sperimentazione su *Brachymeria intermedia* (Nees) (Hym.: Chalcididae), provocavano il riassorbimento degli oociti.

Ho (1979) effettuò delle ricerche sulla conservazione a basse temperature di *Apanteles plutellae* Kurd. (Hym.: Braconidae), parassita larvale di *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae), giungendo alla conclusione che lo stadio più idoneo è quello di pupa, che la temperatura ottimale è compresa tra i + 7 °C e + 10 °C per un periodo di 5 giorni, e che le femmine hanno una sopravvivenza maggiore rispetto ai maschi alle basse temperature.

Archer e Eikenbary (1973) poterono osservare che adulti di *Aphelinus asychis* (Walker) (Hym.: Eulophidae) sottoposti per 120 giorni a temperature di + 1,7 °C e + 4,6 °C mantenevano la capacità di riprodursi.

Le ricerche di Archer et alii (1976) si proponevano d'individuare una bassa temperatura adatta per la conservazione degli adulti di *A. asychis*. I valori saggati furono: + 10 °C, + 7,2 °C, + 4,4 °C, + 1,7 °C per periodi di 15, 30, 60, 90, 105 e 120 giorni. Dalle indagini risultò che la temperatura ottimale era di + 4,4 °C. Sia i maschi che le femmine trattati si accoppiavano regolarmente; tuttavia l'attività riproduttiva diminuiva man mano che la durata di esposizione al freddo aumentava. Esmaili e Wilde (1972) osservarono che adulti di *Aphelinus asychis* potevano vivere per 7 giorni ad una temperatura di — 1 °C.

Blumberg (1976), sottoponendo *Saissetia coffeae* (Walker) e *Coccus hesperidum* L. (Hom.: Coccidae) a basse temperature (0 e + 4 °C) e ad alte temperature (+ 40 °C e + 48 °C), prima della parassitizzazione con *Metaphycus* aff. *stanleyi* (Compere) (Hym.: Encyrtidae), poté osservare una diminuzione nella reazione di difesa emocitaria contro

l'uovo del parassita; di conseguenza veniva favorito l'allevamento dell'entomofago.

Tyler e Jones (1974) studiarono l'azione e quindi le conseguenze delle basse temperature su *Lysiphlebus testaceipes* (Cresson) (Hym.: Braconidae), parassita di *Schizaphis graminum* (Rondani) (Hom.: Aphididae). L'Afide fu sottoposto a varie temperature ($-4,4$ °C, $-1,1$ °C e $+3,3$ °C) per 7 giorni. Successivamente tali Afidi furono portati a $+24$ °C e da questi sfarfallò l'Imenottero sopracitato.

Bloem e Yeargan (1982) determinarono l'effetto delle basse temperature sull'Imenottero *Patasson lameerei* Debauche (Hym.: Mymaridae). Non furono trovate differenze significative sull'abbondanza della prole prodotta per femmina a $+15$ °C e a $+10$ °C. A $+5$ °C soltanto il 4% delle uova si sviluppò fino a dare gli adulti e a 0 °C non sfarfallò nessun entomofago.

Kajita (1983) studiò l'influenza del freddo sulla biologia di *Encarsia formosa* Gahan (Hym.: Aphelinidae) parassita di *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Hom.: Aleyrodidae). In un primo tempo le femmine furono allevate a $+25$ °C per due giorni e successivamente poste alle seguenti temperature: $+5$ °C, $+10$ °C e $+15$ °C. Le femmine poste a $+5$ °C non ovideponevano durante i primi quattro giorni, in quanto non avveniva la maturazione delle uova, mentre a $+10$ °C e a $+15$ °C l'ovodeposizione veniva effettuata. Il tempo di maturazione dell'uovo fu più lungo e il numero delle uova deposte più basso a $+10$ °C che a $+15$ °C.

Ferran e Daumal (1973 a, 1973b), sottoponendo a $+5$ °C o $+12$ °C uova fecondate di *Anagasta kuhniella* (Lep.: Phycitidae) parassitizzate da *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (Hym.: Braconidae), osservarono che quest'ultimo muore, mentre le larve del lepidottero continuano a svilupparsi fino a formare il bozzolo, in cui soccombono. Fra le varie ipotesi formulate sembra che la morte dell'ospite sia dovuta ad uno squilibrio endocrino e precisamente alla secrezione dell'ormone giovanile. Gli AA. conclusero che, scegliendo opportunamente la temperatura e la durata del trattamento, si può interrompere l'associazione fra l'ospite e il parassita; ciò può costituire un metodo per studiare le relazioni fisiologiche che s'instaurano assai precocemente fra questi insetti.

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

Campadelli (1982) poté constatare che le uova di *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Dipt.: Tachinidae) alla temperatura di $+4$ °C rimanevano vitali per circa 60 giorni, mentre a $+24$ °C la vitalità diminuiva. Questi dati sono estremamente utili nell'economia di un allevamento, perché consentono di mantenere una scorta di uova o pupe valide, pronte

per essere utilizzate in ogni evenienza. Anche per questo argomento esiste un'ampia bibliografia, per cui si rimanda il lettore al lavoro sopracitato.

MATERIALE E METODO.

La ricerca è stata condotta sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied.

Le larve di *Galleria* sono state allevate mediante dieta semiartificiale ⁽⁵⁾ in cella climatica alla temperatura di + 30 °C, U.R. 60% e completamente al buio.

Il Dittero Tachinide *Pseudogonia rufifrons* Wied. viene allevato in cella climatica alla temperatura di + 27 °C, U.R. 70 ± 5% e fotoperiodo 16:8. L'alimentazione degli adulti consiste in una soluzione di acqua distillata nella quale viene sciolto miele e acido ascorbico, somministrata mediante batuffoli di cotone idrofilo.

La parassitizzazione è stata effettuata su larve della penultima età, mediante somministrazione di uova microtipiche alla dose di 8 uova/larva, distribuite su foglioline di cera con grado di dispersione pari a 1 uovo/3,64 mm² (Mellini e Braga, 1982).

Per la realizzazione di questa prova, che si è articolata in 5 ripetizioni, sono state utilizzate complessivamente 2200 larve di penultima età. Per ogni prova venivano parassitizzate circa 400 larve di penultima età. Nel giorno immediatamente seguente alla parassitizzazione, le larve sono state distribuite in due gruppi a seconda che si trovassero al loro ultimo stadio oppure nel penultimo.

Di ogni serie una parte è stata tenuta in qualità di testimonia, ed allevata alle condizioni climatiche di *Galleria* descritte in precedenza; le rimanenti vengono sottoposte all'azione del freddo (+ 4 °C) per 1-4 giorni e successivamente allevate in condizioni normali.

RISULTATI E DISCUSSIONE.

A) EFFETTI SULL'OSPITE.

1) Percentuali d'incrisalidamento. Sono date dal rapporto fra il numero totale di crisalidi formatesi e il numero delle larve impiegate nelle varie tesi. Tale parametro ha lo scopo d'evidenziare fattori di mortalità a carico delle larve di *Galleria*.

⁽⁵⁾ Essa è così composta: 100 gr di farina integrale di grano; 100 gr di farina integrale di mais; 200 gr di farina bianca di grano; 100 gr di latte in polvere; 50 gr di lievito di birra secco in polvere; 100 gr di glicerina pura; 200 gr di miele e 150 gr di cera d'api.

a) Crisalidi provenienti da larve trattate col freddo nel penultimo stadio. Da un valore massimo 55,7% che si riscontra nel testimonio, si arriva a un valore minimo di 26,1% al 4° giorno di trattamento col freddo. L'elaborazione statistica dei dati, tramite l'analisi della varianza con test di Duncan sulla differenza tra le medie, ha posto in evidenza differenze significative sia all'1% che al 5% come si può rilevare nella tabella 1.

TABELLA I

Tesi	Durata del trattamento	% incrisalidamento		
Testimonio	0	55,7	A	a
1	1 giorno	47,7	A	a b
2	2 giorni	45,3	A B	a b c
3	3 giorni	35,7	A B	b c
4	4 giorni	26,1	B	c

b) Crisalidi provenienti da larve trattate col freddo all'inizio dell'ultimo stadio. Il valore massimo si registra nel testimonio con 59,4%, mentre il valore minimo (23,1%) si è ottenuto con 4 giorni di esposizione al freddo. L'analisi della varianza con il test di Duncan sulle differenze tra le medie ha posto in evidenza una significatività pari al 5% (vedi tabella 2).

TABELLA II

Tesi	Durata del trattamento	% incrisalidamento	
Testimonio	0	59,4	a
1	1 giorno	32,2	b
2	2 giorni	29,8	b
3	3 giorni	33,9	b
4	4 giorni	23,1	b

Si può pertanto concludere che le larve del penultimo ed ultimo stadio risentano negativamente dell'azione del freddo: infatti quanto più a lungo rimangono esposte alla temperatura di + 4 °C tanto più decresce la percentuale d'incrisalidamento.

2) **Peso crisalidi.** Tale valore è stato calcolato cumulativamente per le crisalidi indenni e quelle parassitizzate. Si è però tenuto conto del loro sesso.

a) **Crisalidi maschili** provenienti da larve trattate nel penultimo stadio. Il valore medio più elevato pari a 170,15 mg, si riscontra nella tesi esposta al freddo per due giorni e quello più basso, 151,18 mg, dopo 4 giorni di trattamento. Il campo di variazione dei dati estremi è quindi di 18,97 mg, pari al 11,14% sul dato più elevato e al 12,54% sul dato più basso. L'elaborazione statistica effettuata tramite l'analisi della varianza con test di Duncan sulle differenze tra le medie non ha posto in evidenza differenze significative.

b) **Crisalidi femminili** provenienti da larve trattate nel penultimo stadio. Il valore più elevato, 222,41 mg, si riscontra dopo due giorni di trattamento, e quello più basso, 187,17 mg, nel testimonio. Il campo di variazione dei dati estremi è quindi di 34,24 mg, pari al 15,39% sul dato più elevato e 18,29% sul dato più basso. L'elaborazione statistica non ha posto in evidenza differenze significative.

c) **Crisalidi maschili** provenienti da larve trattate nell'ultimo stadio. Il valore più elevato si riscontra nel testimonio con 156,96 mg, mentre quello più basso al 2° giorno di trattamento con un valore pari a 118,66 mg. Il campo di variazione dei dati estremi è quindi di 38,3 mg, pari al 24,4% sul dato più elevato e 32,27% sul dato più basso. L'elaborazione statistica non ha posto in evidenza differenze significative.

d) **Crisalidi femminili** provenienti da larve trattate nell'ultimo stadio. Il valore più elevato si riscontra nel testimonio con 199,4 mg, mentre quello più basso, pari a 148,87 mg, al 4° giorno di trattamento con il freddo. Il campo di variazione fra i dati estremi è quindi di 50,53 mg corrispondente al 25,34% sul dato più elevato ed al 33,94% sul dato più basso. L'elaborazione statistica non ha posto in evidenza differenze significative.

Si conclude che il trattamento col freddo non incide in modo evidente sul peso degli individui sopravvissuti.

3) **Percentuali di sfarfallamento.** Questi valori sono stati calcolati in base al rapporto tra il numero di adulti di *Galleria* e quello delle crisalidi indenni, nelle quali non si è formato il pupario del parassita. Per gli individui trattati in penultima età il rapporto più elevato, pari a 81,38%, si riscontra dopo due giorni di esposizione al freddo e quello più basso, pari a 60,06%, dopo un giorno di trattamento. Per gli individui trattati in ultima età il valore più alto, pari al 79,20%, viene riscontrato al 2° giorno di trattamento, mentre quello più basso, pari al 24,16%, al 4° giorno di trattamento. L'elaborazione statistica ha posto in evidenza una differenza significativa al 5% (Tabella III).

TABELLA III

Tesi	Durata del trattamento	% sfarfallamento	
Testimonio	0	60,02	a
1	1 giorno	70,44	a
2	2 giorni	79,20	a
3	3 giorni	64,85	a
4	4 giorni	24,16	b

B) EFFETTI SUL PARASSITA *Pseudogonia rufifrons* Wied.

1) Percentuali di parassitizzazione riferite alle larve dell'ospite.

a) Larve trattate nel penultimo stadio. Il valore massimo si riscontra nel testimonio con 26,6% e il minimo al 4° giorno di trattamento col freddo (8,9%). L'analisi della varianza con test di Duncan sulle differenze tra le medie ha posto in evidenza una significatività al 5% (Tabella IV).

TABELLA IV

Tesi	Durata del trattamento	% di parassitizzazione	
Testimonio	0	26,6	a
1	1 giorno	21,4	a
2	2 giorni	17,9	a
3	3 giorni	15,1	a b
4	4 giorni	8,9	b

b) Larve trattate nell'ultimo stadio. Il valore massimo lo si riscontra nel testimonio (24,6%) e quello minimo (10,28%) al 4° giorno di trattamento con il freddo. L'analisi della varianza con test di Duncan sulle differenze tra le medie non ha messo in evidenza alcuna significatività.

2) Percentuali di parassitizzazione riferite alle crisalidi dell'ospite.

a) Crisalidi derivate da larve trattate in penultima età. La percentuale più elevata si presenta nel testimonio con un valore pari a 46,5%, mentre quello più basso, 26,4% al 4° giorno di trattamento con il freddo. L'elaborazione statistica dei dati ha messo in evidenza una significatività del 5% (Tabella V).

TABELLA V

Tesi	Durata del trattamento	% di parassitizzazione	
Testimonio	0	46,5	a
1	1 giorno	43,4	a
2	2 giorni	40,1	a b
3	3 giorni	37,1	a b
4	4 giorni	26,4	b

b) Crisalidi derivate da larve trattate in ultima età. Il valore massimo, pari a 43,88%, lo si riscontra al 4° giorno di trattamento con il freddo, mentre quello più basso (31,18%) al 2° giorno di trattamento. L'analisi statistica non ha evidenziato nessuna significatività.

3) P e s o p u p a r i .

Da ospiti trattati in penultima età:

a) Da crisalidi maschili. Anche per questo parametro l'elaborazione statistica non ha evidenziato differenze significative. Il peso maggiore (74,06 mg) si è registrato al 1° giorno di trattamento con il freddo, mentre il peso minore, 65,54 mg, al 2° giorno di trattamento. Il campo di variazione risulta perciò di 8,52 mg.

b) Da crisalidi femminili. Il valore massimo, 93,07 mg, si è registrato al 3° giorno di trattamento con il freddo, mentre quello minimo, 78,32 mg nel testimonio. Il campo di variazione è di 14,7 mg, pari a 15,7% sul dato massimo e 18,7% sul dato minimo. L'analisi della varianza non ha messo in evidenza nessuna significatività.

Da ospiti trattati nell'ultima età larvale:

a) Da crisalidi maschili. Il peso massimo 74,6 mg e quello minimo 47,9 mg si sono riscontrati rispettivamente nel testimonio e al 1° giorno di trattamento col freddo. L'analisi della varianza ha evidenziato una significatività al 5% (Tabella VI).

TABELLA VI

Tesi	Durata del trattamento	peso in mg	
Testimonio	0	74,6	a
1	1 giorno	47,9	b
2	2 giorni	54,3	b
3	3 giorni	54,8	b
4	4 giorni	55,2	b

b) Da crisalidi femminili. Il peso massimo, 86,7 mg, si registra nel testimonio, e quello minimo, 54,7 mg, nel 4° giorno di trattamento con il freddo. Il campo di variazione è di 32 mg pari al 36,9% sul dato massimo e al 58,5% sul dato più basso. L'analisi della varianza non ha evidenziato alcuna significatività.

4) Indice di trasferimento.

Questo parametro (inteso come rapporto fra il peso dei pupari e il peso delle crisalidi entro le quali si sono formati) indica il grado di sfruttamento dell'ospite operato dal parassita.

a) Crisalidi maschili (individui trattati nel penultimo stadio larvale). Il valore minimo pari a 0,398 si ha al 1° giorno di trattamento con il freddo, quello più elevato 0,478 nel testimonio, con un campo di variazione pari a 0,08. L'analisi della varianza non ha messo in evidenza nessuna significatività.

b) Crisalidi femminili (individui trattati nel penultimo stadio larvale). Il valore massimo pari a 0,464 si riscontra al 3° giorno di trattamento con il freddo, quello più basso pari a 0,358 al 4° giorno di trattamento, con un campo di variazione pari a 0,1. L'analisi della varianza non ha evidenziato alcuna significatività.

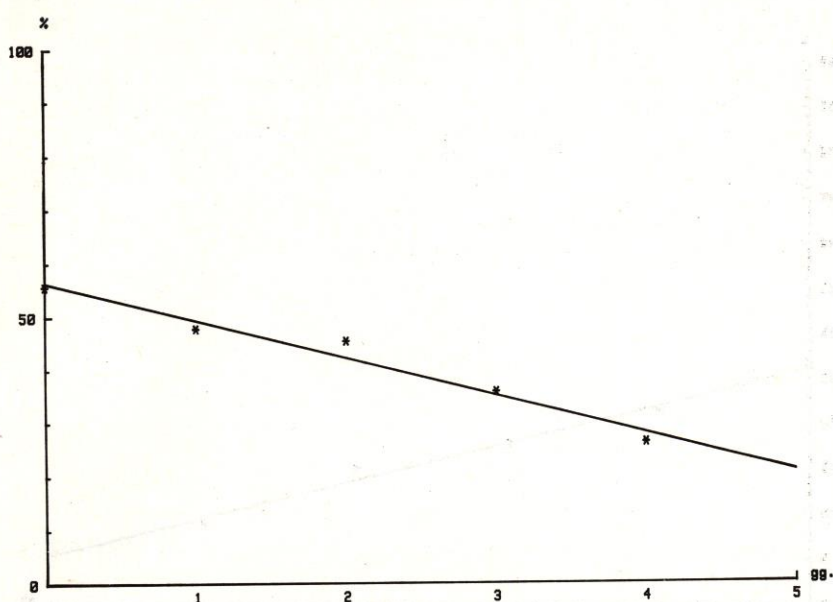


FIG. I

Retta di regressione delle percentuali di parassitizzazione riferite alle larve trattate col freddo nel penultimo stadio.

a') Crisalidi maschili (individui trattati nell'ultimo stadio larvale). Il valore massimo pari a 0,498 si ha al 4° giorno di trattamento con il freddo, mentre quello minimo pari a 0,383 al 2° giorno di trattamento, con un campo di variazione pari a 0,1. L'analisi della varianza non ha evidenziato alcuna significatività.

b') Crisalidi femminili (individui trattati nell'ultimo stadio larvale). Il valore massimo pari a 0,468 si registra nel 4° giorno di trattamento con il freddo, mentre quello più basso al 1° giorno (0,392) con un campo di variazione pari a 0,07. L'analisi della varianza non ha evidenziato alcuna significatività.

Tutto ciò indica che l'esposizione a basse temperature non modifica il livello di utilizzazione delle risorse trofiche dell'ospite da parte del parassita, e ciò nonostante le sensibili variazioni a livello biochimico indotte dal freddo nella vittima.

Con l'analisi del coefficiente di correlazione sono stati esaminati i seguenti parametri:

1) Percentuali d'incrisalidamento (fig. I) delle larve nel penultimo stadio. Il valore del coefficiente è risultato pari a $-0,984$. L'azione del freddo è evidente: a maggiore durata dell'esposizione corrispondono

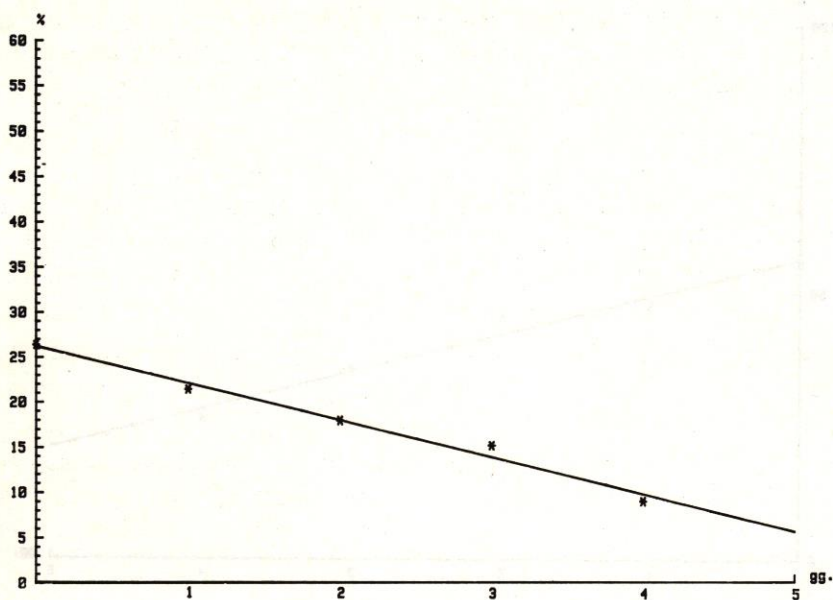


FIG. II
Retta di regressione delle percentuali d'incrisalidamento delle larve trattate nel penultimo stadio.

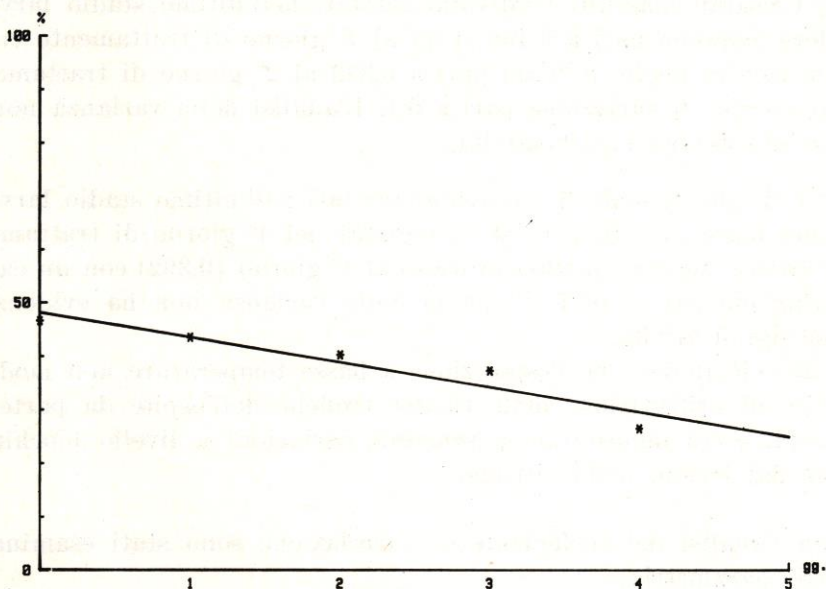


FIG. III
Retta di regressione delle percentuali di parassitizzazione delle crisalidi, provenienti da larve trattate in penultima età.

minori percentuali d'incrisalidamento. Relativamente alle crisalidi provenienti da larve esposte nell'ultimo stadio, tale coefficiente non è risultato significativo.

2) Percentuali di parassitizzazione riferite alle larve trattate nel penultimo stadio (fig. II). Il valore di tale coefficiente è risultato pari a $-0,992$; ciò indica che più le larve rimangono sottoposte all'azione del freddo, più la percentuale di parassitizzazione decresce. Nel caso delle larve trattate nell'ultimo stadio tale coefficiente non è risultato significativo.

3) Percentuale di parassitizzazione delle crisalidi. Crisalidi provenienti da larve trattate in penultima età (fig. III): il coefficiente di correlazione, risultato pari a $-0,951$, mette in evidenza l'azione del freddo su tale parametro. Più le larve rimangono sottoposte all'azione del freddo, minore è la percentuale di parassitizzazione delle crisalidi. Circa le crisalidi formatesi da larve esposte in ultima età, il coefficiente di correlazione non è risultato significativo.

4) Resa in adulti di *Pseudogonia* (fig. IV), per ospiti trattati nel penultimo stadio. Il coefficiente di correlazione è risultato pari a $-0,980$. Pertanto la produzione di adulti del parassita decresce con l'aumentare dei giorni in cui le larve rimangono sottoposte all'azione del freddo. Per le larve esposte nell'ultimo stadio, tale coefficiente non è risultato significativo.

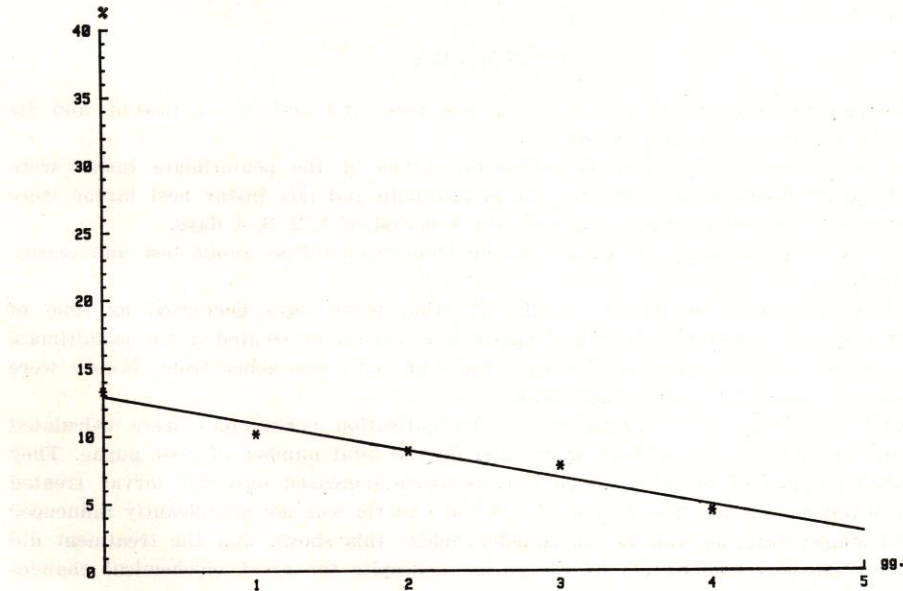


FIG. IV

Retta di regressione della resa in adulti di *Pseudogonia rufifrons* Wied., da ospiti trattati nel penultimo stadio.

RIASSUNTO

Uno dei fattori climatici che maggiormente influenzano lo sviluppo e l'attività degli insetti è senza dubbio la temperatura, ai cui effetti sono state dedicate numerose ricerche.

La presente prova è stata condotta su larve di *Galleria mellonella* L. parassitizzate durante la penultima età da *Pseudogonia rufifrons* Wied. Tali larve sono state esposte a $+4^{\circ}\text{C}$, per una durata variabile da 1 a 4 giorni, in penultima età ovvero nell'ultima.

I dati ricavati sono stati sottoposti all'elaborazione statistica tramite l'analisi della varianza con test di Duncan sulla differenza tra le medie e il coefficiente di correlazione.

Effetti sull'ospite. - Le percentuali d'incrisalidamento si flettono con la durata dell'esposizione al freddo quasi esclusivamente per trattamenti su larve di penultima età. Il peso delle crisalidi non subisce variazioni apprezzabili in relazione al trattamento subito dalle larve. Anche le percentuali di sfarfallamento non variano in seguito al trattamento.

Effetti sul parassita. - Le percentuali di parassitizzazione, riferite sia alle larve che alle crisalidi dell'ospite, diminuiscono col prolungarsi dell'esposizione al freddo solo per larve trattate in penultimo stadio. Il peso dei pupari non varia in seguito al trattamento dell'ospite con bassa temperatura. Pure l'indice di trasferimento non mostra variazioni di rilievo, indicando che il trattamento subito non modifica il livello di sfruttamento dell'ospite operato dal parassita, nonostante le profonde modificazioni biochimiche indotte dal freddo.

Effects of low temperature on the host-parasite couple *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Lep. Galleriidae - Dipt. Tachinidae).

SUMMARY

Temperature very much affects the development and activity of insects, and its effects have been widely researched.

In the present study, *Galleria mellonella* larvae of the penultimate instar were parasitized by *Pseudogonia rufifrons*. The penultimate and last instar host larvae were then exposed to a temperature of $+4^{\circ}\text{C}$, for a period of 1, 2, 3, 4 days.

Data were statistically processed through Duncan's multiple range test and regression analyses.

Effects on the host. - The pupation percentages decreased as time of exposure to cold temperature increased almost only for larvae treated in the penultimate stage. Neither pupal weight, nor the percentages of adult emergence from cocoons were significantly affected by cold temperature.

Effects on the parasite. - Parasitization percentages were calculated both on the total number of host larvae and on the total number of host pupae. They decreased as time of exposure to cold temperature increased only for larvae treated in the penultimate stage. The weight of tachinid puparia was not significantly influenced by cold temperature, as well as the transfer index: this shows that the treatment did not affect the host exploitation by the parasite, despite the great biochemical changes induced by cold.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ARCHER T. L. e EIKENBARY R. D., 1973. — Storage of *Aphelinus asychis*, a parasite of the green bug. - *Env. Ent.*, 2: 489-490.
- ARCHER T. L., BOGART R. K. e EIKENBARY R. D., 1976. — The influence of cold storage on the survival and reproduction by *Aphelinus asychis* adults. - *Env. Ent.*: 623-625.
- ASAHINA E., 1966. — Freezing and frost resistance in insects. - In Meryman H. T. (Ed.), *Cryobiology*. Academic Press, London.
- BARBOSA P. e FRONGILLO E. A. Jr., 1979. — Photoperiod and temperature influences on eggs number in *Brachymeria intermedia* (Hym.: Chalcididae), a pupal parasitoid of *Lymantria dispar* (Lep.: Lymantriidae). - *J. New York Ent. Soc.*, 87: 175-180.
- BENSCHOTER C. A. e WITHERELL P. C., 1984. — Lethal effects of suboptimal temperatures on immature stages of *Anastrepha suspensa*. - *The Florida Entomologist*, 67: 189-193.
- BENSCHOTER C. A., 1984. — Low-temperature storage as a quarantine treatment for the caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Florida citrus. - *J. Econ. Ent.*, 77: 1233-1235.
- BETBEDER-MATIBET M., 1967. — Note sur la biologie de *Diatracophaga striatalis* Townsend tachinaire parasite de *Proceras sacchariphagus* Boj. - *Entomophaga*, 12: 161-173.
- BLOEM K. A. e YEARGAN K. V., 1982. — Effects of extreme temperatures on *Patasson uameerei* survival and oviposition. - *J. Kansas Ent. Soc.*, 55: 38-45.
- BLUMBERG D., 1976. — Extreme temperatures reduce encapsulation of insect parasitoids in their insect hosts. - *Experientia*, 32: 1396-1397.
- BOGUS I. M. e CYMBOROWSKI B., 1977. — Effect of cooling stress on growth and developmental rhythms in *Galleria mellonella*. - *Bull. Acad. Polonaise Sciences*, 25: 257-260.
- BOGUS I. M., 1979. — Effect of cooling on the function of spinning glands in the larvae of *Galleria mellonella*. - *Zoologica Poloniae*, 27: 155-160.
- BOGUS I. M. e CYMBOROWSKI B., 1984. — Daily changes in the cold sensitivity of *Galleria mellonella* larvae. - *J. interdisciplin. Cycle Res.*, 15: 33-43.
- BUCHER G. E., MAC B., CAMERON J. W. e WILKES A., 1948. — Studies on the housefly (*Musca domestica* L.). II. The effects of low temperatures on laboratory-reared puparia. - *Can. J. Res.*, D, 26: 26-56.
- CAMPARELLI G., 1982. — Sulla conservabilità delle uova microtipiche di *Gonia cinerascens* Rond. (Dipt.: Tachinidae). - *Boll. Ist. Ent. «Guido Grandi» Univ. Bologna*, 37: 91-100.
- CLINE L. D., 1970. — Indian-meal moth egg hatch and subsequent larval survival after short exposures to low temperature. - *J. Econ. Ent.*, 63: 1081-1083.
- COHET M. Y., 1972. — Influence de l'environnement préimaginal sur l'activité sexuelle des adultes de *Drosophila melanogaster*: effets d'une basse température de développement. - *C.R. Acad. Sc. Paris, Serie D*, t. 274: 3102-3105.
- COHET M. Y., 1973 a. — Stérilité male provoquée par une basse température de développement chez *Drosophila melanogaster*. - *C.R. Acad. Sc. Paris, Serie D*, t. 276: 3343-3345.
- COHET M. Y., 1973 b. — Réduction de la fécondité et du potentiel reproducteur de la *Drosophile* adulte consécutive au développement larvaire à basse température. - *C.R. Acad. Sc. Paris, Serie D*, t. 277: 2227-2230.
- COHET M. Y., 1973 c. — Influence d'une basse température au cours du développement larvaire et nymphal sur la physiologie des adultes de *Drosophila melanogaster*. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 5: 197-199.
- CYMBOROWSKI B. e BOGUS J. M., 1976. — Juvenilizing effect of cooling on *Galleria mellonella*. - *J. Insect Physiol.*, 22: 669-672.

- DAUMAL J., JOURDHEUIL P. e TOMASSONE R., 1974. — Variabilité des effets letaux des basses températures en fonction du stade de développement embryonnaire auquel elles sont appliquées chez la pyrale de la farine (*Anagasta kühniella* Zell., Lep., Pyralidae). - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 6: 229-243.
- DAVID J. e COHET M. Y., 1971. — Réduction de la longévité de Drosophiles adultes par élevage à basse température. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, Serie D, t. 273: 1028-1031.
- DROOZ A. T. e SOLOMON J. D., 1980. — Rearing the egg parasite *Ooencyrtus ennophagus* (Hym.: Encyrtidae) on egg of *Clostera inclusa* (Lep.: Notodontidae) kept below freezing. - *Can. Ent.*, 112: 739-740.
- DROOZ A. T., 1981. — Subfreezing eggs of *Lambdina pellucidaria* (Lep.: Geometridae) alters status as factitious host *Ooencyrtus ennophagus* (Hym.: Encyrtidae). - *Can. Ent.*, 113: 775-776.
- DROOZ A. T. e WEEMS M. L., 1982. — Cooling eggs of *Eutrapela clemataria* (Lep.: Geometridae) to -10°C forestalls decline in parasite production with *Ooencyrtus ennophagus* (Hym.: Encyrtidae). - *Can. Ent.*, 114: 1195-1196.
- ESMAILI M. e WILDE G., 1972. — Behavior of the parasite *Aphelinus asychis* in relation to the greenbug and certain hosts. - *Env. Ent.*, 1: 266-268.
- FERRAN A. e DAUMAL J., 1973 a. — Mise en évidence d'une disparition progressive consécutive à un traitement par le froid, des stades précoces de *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (Hym.: Braconidae) à l'intérieur de l'oeuf hôte, *Anagasta kühniella* Zeller (Lep. Phycitidae). - *C. R. Acad. Sc. Paris*, Serie D, t. 276: 2465-2467.
- FERRAN A. e DAUMAL J., 1973 b. — Conséquences sur les larves d'*Anagasta kühniella* Zeller (Lep.: Phycitidae) de l'élimination précoce par le froid de son endoparasite *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (Hym.: Braconidae). - *C.R. Acad. Sc. Paris*, Serie D, t. 277: 869-871.
- GROSCHE D. S., KRATSAS R. G. e PETERS R. M., 1977. — Variation in *Habrobacon juglandis* ovariole number. I. Ovariole number increase induced by extended cold shock of fourth-instar larvae. - *J. Embriol. Exp. Morph.*, 40: 245-251.
- HANEC WM., 1966. — Cold-hardiness in the forest tent caterpillar, *Malacosoma disstria* Hübner (Lasiocampidae, Lepidoptera). - *J. Insect Physiol.*, 12: 1443-1449.
- HODSON A. C., 1941. — An ecological study of the forest caterpillar, *Malacosoma disstria* Hbn., in northern Minnesota. - *Tech. Bull. Minn. agric. Exp. Stn* 148.
- HO K. K., 1979. — Studies on the effect of low temperature storage of *Apanteles plutellae*. - *Phytopathologist and Entomologist*, 6: 16-22.
- LEGNER E. F., 1976. — Low storage temperature effects on the reproductive potential of three parasite of *Musca domestica*. - *Ann. Entom. Soc. Am.*, 69: 435-441.
- LOPEZ J. D. Jr. e MORRISON R. K., 1980. — Susceptibility of immature *Trichogramma pretiosum* to freezing and subfreezing temperatures. - *Env. Ent.*, 9: 697-700.
- KAJITA H., 1983. — Effect of low temperatures on egg maturation and oviposition of *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera, Aphelinidae) introduced from England into Japan. - *Zeit. ang. Ent.*, 95: 361-368.
- KLUNKER V. R., 1982. — Die wirtsergnung kaltekonservierter *Musca domestica*. Puparien für die massenzucht der schlupfwespe *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera, Pteromalidae). - *Angew. Parasitol.*, 23: 32-42.
- MANSINGH A., 1973. — Induction of cold-tolerance in *Galleria* larvae by farnesyl methyl ether. - *Can. J. Zool.*, 51: 61-63.
- MAREK M., 1978. — Effects of cooling on osmotic, pressure, cation contents, and protein synthesis in the blood of *Galleria mellonella* prepupae and pupae (Lepidoptera). - *Vest. cs. Spolec. zool.*, 42: 128-138.
- MAREK M., 1979 a. — The effect of cooling on the chemical blood composition of *Galleria mellonella* pupae (Lepidoptera). - *Vest. cs. Spolec. zool.*, 3: 165-173.

- MAREK M., 1979 b. — Influence of cooling and glycerol on metabolism of proteins and esterase isoenzymes in haemolymph of pupae (of) *Galleria mellonella* (L.) - *Comp. Biochem. Physiol.*, 63: 489-492.
- MAREK M., 1980. — The effects of cooling and glycerol on the profile of proteins and esterases in the haemolymph of *Galleria mellonella* (L.) Lepidoptera. - *Vest. cs. Spolec. zool.*, 44: 122-127.
- MELLINI E., GALASSI L. e BRIOLINI G., 1979. — Effetti della temperatura sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 35: 13-28, figg. I-IV.
- MELLINI E. 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.
- MILLER F. M., 1967. — Ecological factors affecting the type, rate of development, mortality, and eclosion of pupae of the bollworm, *Heliothis zea* (Boddie). - Master's Thesis, Texas A & M University, 76 pp.
- PETERSEN J. J. e MATTHEWS J. R., 1984. — Effects of freezing of host pupae on the production of progeny by the filth fly parasite *Muscidifurax zaraptor* (Hymenoptera: Pteromalidae). - *J. Kansas Ent. Soc.*, 57: 387-393.
- PICKENS L. G. e MILLER R. W., 1978. — Using frozen host pupae to increase the efficiency of a parasite-release program. - *Florida Entomol.*, 61: 153-158.
- PIPA R. L., 1976. — Supernumerary instars produced by chilled waxmoth larvae: endocrine mechanism. - *J. Insect Physiol.*, 22: 1641-1647.
- PLANTEVIN G., 1978. — Influence d'un refroidissement sur les mues, la croissance et le développement de *Galleria mellonella* L. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 10: 113-121.
- SALT R. W., 1936. — Studies on freezing process in insects. - *Tech. Bull. Minn. agric. Exp. Stn.*, 116.
- TSUMUKI H. e KANEHISA K., 1979. — Glycerol concentration in haemolymph of hibernating larvae of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* Walker: effects of ligation and cold tolerance. - *Appl. Ent. Zool.*, 14: 497-499.
- TURNOCK W. J., LAMB R. J. e BODNARYK R. P., 1983. — Effects of cold stress during pupal diapause on the survival and development of *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). - *Oecologica*, 56: 185-192.
- TYLER B. M. e JONES P. A., 1974. — Hibernation study with *Lysiphlebus testaceipes*, parasite of the greebug. - *Env. Ent.*, 3: 412-414.