

GUIDO CAMPADELLI e MARCO ZANOTTI

Istituto di Entomologia «Guido Grandi» dell'Università degli Studi di Bologna.

Effetti delle tecniche di parassitizzazione  
collettiva e individuale nel sistema  
*Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied.

(Lavoro eseguito con il contributo del C.N.R.)

INTRODUZIONE.

Lo scopo di questa ricerca è stato quello di mettere in evidenza gli effetti che tecniche diverse di parassitizzazione (individuale e collettiva) possono indurre nel sistema ospite-parassita *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleriidae) - *Pseudogonia rufifrons* Wied. (Dipt. Tachinidae). L'obiettivo principale è stato soprattutto quello di cogliere eventuali differenze nei tassi di parassitizzazione dell'ospite in rapporto all'applicazione separata delle due diverse metodiche.

A questo proposito le ipotesi che possono essere formulate conducono a conclusioni opposte. Infatti, partendo dal presupposto che nell'ambito dello schema di contaminazione collegiale una parte degli individui dell'ospite non divori le porzioni di foglioline di cera sopportanti le uova dell'entomofago, sarebbe logico attendersi un grado di parassitizzazione minore rispetto alla tesi con individui contaminati singolarmente; viceversa presupponendo una forte reazione emocitaria da parte dell'ospite per cui solo nelle larve superparassitizzate l'entomofago riesca ad insediarsi stabilmente, la percentuale di parassitizzazione dovrebbe essere maggiore nella tesi a contaminazione collettiva, almeno per carichi di uova relativamente bassi.

MATERIALE E METODO.

Il piano di sperimentazione ha previsto lo svolgimento di due prove, ciascuna ripetuta cinque volte. Ogni prova è stata articolata in due tesi comprendenti 50 larve ognuna. In totale quindi la sperimentazione ha interessato 1000 larve di *Galleria*.

*I prova.*

Nella tesi A la parassitizzazione è stata individuale, nella tesi B collettiva. In entrambe le tesi lo stadio di contaminazione è stato il medesimo: penultima

età larvale.<sup>(1)</sup>

Tesi A: parassitizzazione individuale. Su ogni frammento di zimbello, fatto di cera, di forma subquadrata, con una superficie pari a 25 mm<sup>2</sup> si sono isolate 4 uova.<sup>(2)</sup>

I vari frammenti sono stati collocati singolarmente nei 15 settori in cui sono suddivise apposite scatole in plastica atossica (cm 21 × 15 × 4). Nei vari loculi (cm 3 × 4 × 3) che, ovviamente, non sono comunicanti fra loro, sono state isolate, una ad una, larve di 6° età. Le suddette scatole, una volta richiuse con l'apposito coperchio, sono state poste in cella climatizzata (+ 30°C e 70% di U.R.). Trascorse 24 ore, le larve, che nel frattempo avevano divorato la loro porzione di zimbello con relative uova, sono state tolte dall'isolamento e riunite con un congruo quantitativo di dieta, in un contenitore da allevamento dove sono rimaste fino all'incrisalidamento.

Tesi B: parassitizzazione collettiva. Si è differenziata dalla tesi precedente esclusivamente per le modalità di esecuzione della fase di parassitizzazione. In questo caso infatti, per contaminare collegialmente le larve di 6° età, queste, in numero di 50, sono state introdotte in un apposito contenitore in plastica atossica assieme a frammenti di foglie di cera sopportanti un carico complessivo di 200 uova corrispondente, quindi, a una dose di 4 uova per ospite.

### II prova.

Tesi A e B. Lo schema di lavoro adottato in questa prova per le due tesi ha ricalcato sostanzialmente quello precedente, differenziandosi soltanto per il carico di uova del parassita che, infatti, è stato raddoppiato: 8 uova per larva nella tesi a contaminazione individuale, 400 uova per gruppo di 50 larve in quella collettiva.

Per quanto concerne l'analisi statistica dei dati, i vari parametri presi in considerazione sono stati esaminati utilizzando il test di «t di student» per dati a coppie (Snedecor e Cochran, 1980). Per eliminare eventuali scostamenti dalla distribuzione normale ed eterogenità delle varianze, i valori percentuali sono stati sottoposti a trasformazione angolare prima dell'analisi, impiegando i valori tabulati da Mosteller e Youtz (1961) per campioni inferiori alle cinquanta unità.

## RISULTATI.

### I prova.

La parassitizzazione è stata realizzata somministrando dosi di 4 uova pro capite a larve di 6° età. Nella tesi A la parassitizzazione è stata individuale e nella tesi B collettiva.

---

<sup>(1)</sup> Il riconoscimento dell'età larvale è stato realizzato mediante l'osservazione della capsula cefalica.

<sup>(2)</sup> Tale grado di dispersione appare idoneo ad ottenere un buon livello di parassitizzazione almeno con le tecniche di contaminazione collettiva (Mellini e Braga, 1982).

Effetti sul parassita.

Le percentuali di parassitizzazione ottenute nelle due tesi sono state calcolate in modi diversi. Dapprima si è preso in esame il parametro più ovvio, vale a dire il rapporto tra il numero di pupari di *P. rufifrons* e il numero totale di crisalidi di *G. mellonella* (sia parassitizzate sia indenni); poi si è determinato il rapporto tra il numero di pupari e il numero delle sole crisalidi contaminate. Per entrambi i parametri le differenze tra le due tesi sono risultate significative ( $P < 0.05$ ).

Nel primo caso si è evidenziato una differenza media percentuale dell'11.87% (40.26% nella tesi A e 28.39 nella tesi B). Si può immediatamente notare come tali percentuali (sia valori assoluti di parassitizzazione sia la differenza media tra le due tesi) siano piuttosto basse. Questi valori, inoltre, scaturiscono dal computo globale delle 5 ripetizioni effettuate, i cui risultati indicano un discreto campo di variabilità (tabella 1).

Nel secondo caso la differenza media riscontrata è stata del 4.33% (86.95% nella tesi A e 82.62% nella tesi B).

Il dato emerso inizialmente ha poi trovato conferma nella determinazione di un indice ausiliario, e cioè il rapporto tra il numero di crisalidi parassitizzate e il numero di crisalidi totale. Anche in questo caso l'analisi della varianza ha rivelato l'esistenza di una differenza significativa ( $P < 0.05$ ) che è risultata del 13.11% (46.07% nella tesi A e 32.96% nella tesi B).

La previsione di un simile esito era altresì scaturito dal rilievo del livello di contaminazione delle eopupe di *Galleria* in base alla presenza di  $L_{11}$  nello spazio

Tabella 1. - Percentuali di parassitizzazione calcolate in base al rapporto tra il numero dei pupari di *Pseudogonia rufifrons* e quello delle crisalidi di *Galleria mellonella* (I prova: 4 uova microtipiche / larva).

| Ripetizioni       | % di parassitizzazione |            |
|-------------------|------------------------|------------|
|                   | Individuale            | Collettiva |
| I                 | 29.03                  | 12.82      |
| II                | 25.80                  | 19.23      |
| III               | 38.63                  | 32.55      |
| IV                | 61.36                  | 60.00      |
| V                 | 46.51                  | 17.39      |
| Media percentuale | 40.26                  | 28.39      |

Differenza media percentuale 11.87  
 $t$  2.52                       $P < 0.04$                       Significativa

esuviale; essa infatti era risultata pari al 50.15% negli individui parassitizzati singolarmente e al 38.39% in quelli contaminati collegialmente o con una differenza media dell'11.76%. Tale valore non è però apparso statisticamente significativo. Va tuttavia considerato che la comparsa delle  $L_{II}$  tra le due cuticole non è simultaneo ma graduale, per cui i valori ricavati dal conteggio variano secondo il momento in cui vengono effettuate le osservazioni (Mellini e Campadelli, 1986).

Oltre alla frequenza percentuale delle  $L_{II}$  del parassita, presenti sotto la cuticola delle eoupe dell'ospite, sono stati presi in considerazione altri parametri quali il numero totale di  $L_{II}$  nelle sole eoupe parassitizzate e la percentuale di  $L_{II}$  formate in rapporto al numero di uova somministrate. Di questi però solamente l'ultimo ha evidenziato significatività ( $< 0.05$ ); infatti mentre nella tesi a parassitizzazione individuale il valore medio è stato del 17.18%, nella tesi a parassitizzazione collettiva esso ha raggiunto solo il 13.41%, con uno scarto, quindi, del 3.77%.

Dagli altri parametri considerati, che come premesso non hanno posto in evidenza differenze significative fra le due tesi, si possono comunque estrapolare interessanti indicazioni.

Il numero medio di  $L_{II}$  di *P. rufifrons* presenti tra le due cuticole delle sole eoupe parassitizzate è stato circa 1.5 (1.45 per le eoupe contaminate individualmente e 1.39 per quelle contaminate collegialmente) con osservazioni singole che, sia nell'una sia nell'altra tesi, non hanno superato le 4  $L_{II}$  per individuo.

Infine il numero di  $L_{II}$  notate tra le cuticole dell'ospite, con riferimento al totale di eoupe osservate, è risultato intorno alla mezza unità (rispettivamente 0,68 e 0,53). Tutto ciò sembra indicare, almeno in riferimento alla parassitizzazione individuale, che vi sono larve di *Galleria* poco suscettibili ad essere parassitizzate.

Altri parametri presi in considerazione sono stati il peso dei pupari distinti secondo la provenienza (da ospiti maschili o femminili) e la percentuale di sfarfallamento di *P. rufifrons*.

L'analisi della varianza sui dati ottenuti non ha però messo in risalto differenze significative a questo riguardo. Non sembra, cioè, che il peso dei pupari e la percentuale di sfarfallamento del Dittero siano influenzati dalla tecnica di contaminazione.

#### Effetti sull'ospite.

I dati rilevati a questo riguardo hanno indicato che non esistono differenze significative fra le due tesi; tuttavia alcuni di essi permettono di convalidare le conclusioni cui era giunto Turchetti (1987). Egli, infatti, studiando in questo sistema le percentuali di parassitizzazione in funzione dello stadio sottoposto a contaminazione e del sesso dell'ospite, ha messo in evidenza come la maggiore suscettibilità delle femmine di *Galleria* si manifesti per contaminazioni in 7° età, mentre la loro idoneità è minore rispetto a quella dei maschi per contaminazioni in 6° età.

Orbene questa conclusione viene confermata in parte dai risultati emersi nella presente ricerca, nel senso che si è potuto provare la minore suscettibilità delle femmine nei confronti dei maschi alla parassitizzazione in 6° età. Infatti ad una distribuzione pressoché normale degli individui fra i due sessi è corrisposta una maggiore resa in pupari tra le crisalidi maschili rispetto alle femminili (58.82% contro 41.18%). Tale divario è più contenuto nell'ambito della parassitizzazione massimale (55.36% e 44.64%) mentre è più marcato nell'ambito della parassitizzazione individuale (61.25% contro 38.75%)<sup>(3)</sup>. Questo risultato induce quindi a ritenere che non solo le femmine sono meno idonee dei maschi ad essere contaminate in 6° età, ma che lo sono ancora meno, in tale studio, per una contaminazione individuale.

Gli altri indici analizzati al termine di questa prima parte della sperimentazione sono stati le percentuali d'impupamento e di sfarfallamento, la percentuale di crisalidi farate ed il peso delle crisalide di *G. mellonella*. In particolare, per ciò che concerne il peso delle pupe, il calcolo è stato effettuato distinguendo i dati in funzione del sesso e facendo riferimento dapprima a tutte le crisalidi e poi solamente a quelle parassitizzate.

L'analisi statistica sui valori ottenuti non ha però palesato la presenza di variazioni significative tra le due tesi; ciò significa che, sui suddetti parametri, non sembra abbia influito l'applicazione di tecniche di parassitizzazione differenti.

## II prova.

Ha sostanzialmente ricalcato nel suo svolgimento la prima, differenziandosi soltanto per il carico unitario di uova del parassita. Si sono infatti somministrate 8 uova per larve.

### Effetti sulla coppia ospite-parassita.

Tra i vari parametri calcolati (e cioè percentuale di pupari formati rispetto al totale delle crisalidi di *G. mellonella* ottenute, sia parassitizzate che indenni; percentuale di crisalidi parassitizzate rispetto al numero totale di crisalidi formate; percentuale di sfarfallamento di *G. mellonella* e percentuale di pupari di *P. rufifrons* formati con riferimento alle sole crisalidi parassitizzate) solo uno si presta a particolari spunti di riflessione e precisamente quello relativo al livello di parassitizzazione dell'ospite, inteso come rapporto tra numero di pupari di *P. rufifrons* formati e numero di crisalidi di *G. mellonella* ottenute. Lo studio della varianza, sui dati trasformati nei corrispondenti valori angolari, ha permesso di evidenziare, relativamente a questo parametro, l'esistenza di differenze altamente significative ( $P < 0.01$ ) tra le due tesi. Nella tesi a contaminazione individuale la percentuale di parassitizzazione è risultata del 72.63%, mentre nella tesi a

---

<sup>(3)</sup> I valori percentuali, stante la grande variabilità nella resa in pupari riscontrata durante lo svolgimento della prova, sono stati determinati con riferimento alla intera produzione di pupari nelle cinque ripetizioni.

contaminazione collegiale solo del 46.13%; ne è così derivata una differenza media percentuale del 26.50% (tabella 2).

Da ciò si può dedurre che con l'aumentare del carico di uova per larva non solo aumentano sensibilmente le percentuali di parassitizzazione, ma cresce altresì il divario tra i livelli di parassitizzazione registrati nelle due tesi a favore di quella individuale. Infatti col raddoppiamento della dose unitaria di uova del parassita (da 4 a 8) si assiste in pratica al corrispondente raddoppiamento del divario tra le percentuali di contaminazione delle tesi stesse (dall'11.87% della 1° prova al 26.50% della 2° prova) (fig.1). Tale variazione è diretta conseguenza del fatto che, nell'ambito degli individui contaminati singolarmente, l'aumento del carico unitario di uova ha prodotto un incremento più che proporzionale nel grado di parassitizzazione rispetto a quello indotto tra gli individui contaminati collegialmente.

#### CONCLUSIONI.

Tra gli individui contaminati singolarmente e collettivamente esiste, a parità di uova propinate, una differenza nel livello di parassitizzazione e tale differenza è significativa anche se in realtà è piuttosto contenuta (11.87%) a bassi carichi di uova del parassita (4 uova/larva).

Nella prima prova si sono determinati anche altri indici riguardanti la coppia

Tabella 2. - Percentuali di parassitizzazione calcolate in base al rapporto tra il numero dei pupari di *Pseudogonia rufifrons* e quello delle crisalidi di *Galleria mellonella* (II prova: 8 uova microtipiche / larva).

| Ripetizioni                  | % di parassitizzazione |                         |
|------------------------------|------------------------|-------------------------|
|                              | Individuale            | Collettiva              |
| I                            | 80.00                  | 60.00                   |
| II                           | 70.58                  | 53.19                   |
| III                          | 73.07                  | 46.93                   |
| IV                           | 72.22                  | 35.84                   |
| V                            | 67.30                  | 34.69                   |
| Media percentuale            | 72.63                  | 46.13                   |
| Differenza media percentuale | 26.50                  |                         |
| t 7.78                       | P < 0.01               | Altamente significativa |

ospite-parassita quali il peso, il sesso, le percentuali di impupamento, di sfarfallamento, la percentuale di crisalidi farate, ecc. Tuttavia l'analisi statistica, sulla base della non significatività delle differenze emerse, ha permesso di escludere che i suddetti parametri possano essere influenzati dalle tecniche di parassitizzazione. In particolare si può affermare che la quota di uova adoperate (4 per larva) è insufficiente ad indurre tra gli individui massalmente contaminati fenomeni di superparassitizzazione di tale intensità o frequenza da modificare il ciclo di sviluppo dei due simbionti. A tali conclusioni erano giunti anche Mellini e Gironi, 1981.

Nella seconda prova si è somministrata una dose doppia di uova microtipiche (8 per larva ospite). Tale carico parassitario è senza dubbio più idoneo del precedente a giustificare l'adozione di una tecnica di contaminazione individuale. Duplicando il numero di uova infatti non solo aumentano le percentuali assolute di contaminazione, ma parallelamente si incrementa in maniera più che proporzionale il divario tra i livelli di parassitizzazione riportati nelle due tesi (dall'11.87% della prima prova al 26.50% della seconda prova).

In conclusione, quindi, la tecnica di parassitizzazione individuale appare più idonea ad essere adottata dagli operatori del settore, in special modo per quelle sperimentazioni in cui necessiti il conseguimento di elevate rese in pupari dell'entomofago. È da escludere invece la sua adozione nelle operazioni di allevamento massale del parassita, dato il notevole dispendio di tempo che essa comporta.

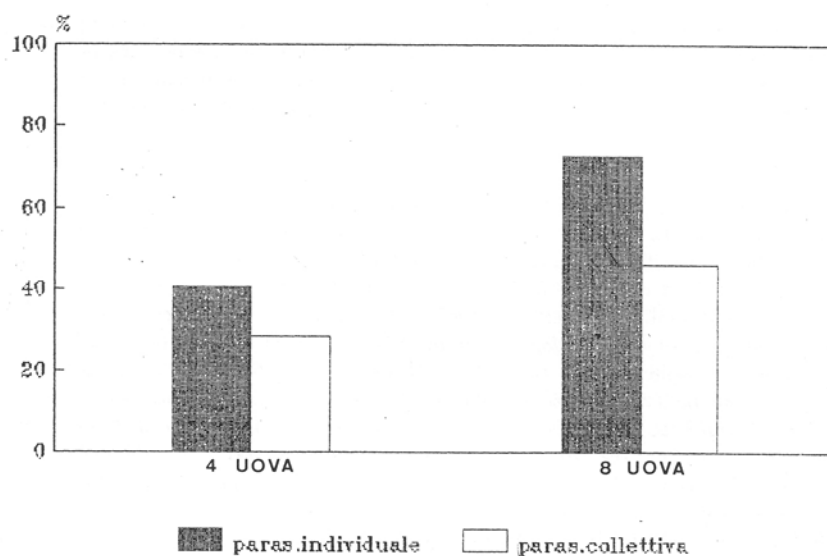


Fig. 1 - Confronto tra le percentuali di parassitizzazione (calcolate in base al rapporto tra il numero di pupari di *P. rufifrons* e quello delle crisalidi di *G. mellonella*) ottenute con due tecniche diverse di contaminazione e con due diversi carichi di uova microtipiche.

Il motivo per cui con la tecnica di parassitizzazione individuale si ottengono percentuali di parassitizzazione sensibilmente o notevolmente più elevate (secondo il carico unitario di uova somministrato) risiede certamente nella più regolare distribuzione delle uova del parassita tra le larve dell'ospite realizzata con tale metodo.

#### RIASSUNTO

Lo scopo di questa ricerca è stato quello di studiare gli effetti che tecniche di parassitizzazione diverse (individuale e collettiva) possono produrre sulla coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* - *Pseudogonia rufifrons*.

Le due tecniche di parassitizzazione, alle dosi di 4 e 8 uova microtipiche/larva, non hanno influenzato in maniera significativa i cicli evolutivi e le caratteristiche biologiche dei simbionti.

Differenze statisticamente significative non sono invece emerse in riguardo alle percentuali di parassitizzazione che sono risultate più alte nelle tesi a parassitizzazione individuale, sia col carico minore di uova che, ed in misura ben più accentuata, col carico maggiore. Tuttavia data la notevole mole di lavoro che la parassitizzazione individuale richiede, tale tecnica è consigliabile solo nel corso di ricerche sperimentali, riservando invece quella collettiva per gli allevamenti massali.

Effects of collective and individual parasitization techniques in the system *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied.

#### SUMMARY

The effects of different parasitization techniques (individual and collective) in the host-parasite system *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. were studied.

The life cycle and the biological characteristics of the two partners were not significantly affected by the different parasitization techniques, both at the dose of 4 and 8 microtype eggs per larva.

On the contrary, parasitization percentages were significantly higher in the groups parasitized individually, both at the dose of 4 ( $P < 0.04$ ) and 8 ( $P < 0.01$ ) microtype eggs per larva.

Anyway as individual parasitization requires a lot of work, it is recommended only for experimental research. For mass-rearing, the collective parasitization is more proper.

#### BIBLIOGRAFIA CITATA

- MELLINI E. e GIRONI R., 1981. - Effetti della superparassitizzazione nella coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Gonia cinerascens* Rond. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 36: 49-68.
- MELLINI E. e BRAGA C., 1982. - Importanza del livello di dispersione delle uova microtiche per la moltiplicazione del parassita. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 37: 75-90.
- MELLINI E., BORGATTI M. e BRATTI A., 1985. - Sulla idoneità di *Galleria mellonella* L. nei confronti del parassitoide *Pseudogonia rufifrons* Wied., penetrato durante le ultime fasi della vita larvale dell'ospite. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 39: 161-186.
- MELLINI E. e CAMPADELLI G., 1986. - Sulla distribuzione delle larve di prima e seconda età di *Pseudogonia rufifrons* Wied., rispettivamente nelle larve e nelle eopupe di *Galleria mellonella* L. - *Boll. Ist. Ent. «G. Grandi» Univ. Bologna*, 40: 151-166.
- MOSTELLER F. e YOUTZ C., 1961. - Tables of the Freeman-Tukey transformations for the binomial and Poisson distributions. - *Biometrika*, 48 (3-4), 433-440.
- SNEDECOR G.W. e COCHRAN W.G., 1980. - *Statistical Methods*. - Iowa State University Press, Ames.
- TURCHETTI M., 1987. - Importanza dell'età dell'ospite al momento della contaminazione nella coppia ospite-parassita *Galleria mellonella* L. - *Pseudogonia rufifrons* Wied. - *Boll. Ist. «G. Grandi» Ent. Univ. Bologna*, 42: 231-240.