

Simone Martini – Stefano Castellini (Istituto di entomologia Agraria dell'Università di Padova)

Influenza dei fattori climatici nella deposizione di uova diapausanti ¹in *Aedes albopictus* Skuse nel Veneto

Premessa

Aedes albopictus (Skuse), comunemente conosciuta come zanzara tigre, è presente in 10 regioni e 20 province del nostro paese, il Veneto è una delle regioni più interessate al fenomeno essendo già presente in 6 province su 7 (Venezia, Padova, Treviso, Vicenza, Verona e Rovigo)

L'obbiettivo di questo lavoro, previa approfondita ricerca bibliografica, è stato quello di verificare in laboratorio la capacità di schiusa di uova di *Aedes albopictus* (raccolte in campo) e alla determinazione del fotoperiodo critico per l'induzione alla deposizione di uova diapausanti.

Biologia delle uova

La mortalità delle uova in natura può essere causata da : disidratazione, predazione e abbassamenti termici. L'incidenza di ognuno di questi fattori dipende dall'area geografica in cui ci troviamo e dalla stagione considerata.

La mortalità naturale, se non intervengono fattori limitanti, è sempre molto bassa, qualsiasi sia il ceppo considerato (Hawley 1985).

Da dati riportati in bibliografia risulta che le uova che hanno terminato l'embriogenesi possono resistere per lunghi periodi in condizioni di bassa umidità relativa, è molto importante notare che esiste però una chiara differenza tra uova diapausanti e non diapausanti. Le uova non diapausanti, mantenute ad umidità variabile dal 73% al 90%, presentano una capacità di schiusa che decresce dal momento in cui vengono deposte, mentre le diapausanti manifestano il picco di schiusura dopo 4 mesi. Se l'UR viene portata a livelli di disidratamento (44%) le uova non diapausanti muoiono tutte dopo 2 mesi mentre le diapausanti dopo tale periodo presentano il loro picco di schiusura (muoiono solo dopo 4 mesi) (T.Sota e M.Mogi 1992). Queste caratteristiche possono essere dovute da un maggiore ispessimento del corion e da un rivestimento ceroso dell'uovo.

Nelle zone temperate è stata evidenziata la capacità delle uova di *Aedes albopictus* di sopravvivere molti mesi durante il periodo invernale (Wang 1962, Toma et al. 1982), non è stata però approfondita la mortalità estiva.

¹ Le uova diapausanti sono uova deposte nel periodo agosto -ottobre in grado di superare la stagione invernale.

La mortalità invernale in zone temperate è molto variabile potendo passare dal 100%, nel caso si usino ceppi tropicali, a percentuali molto basse se si usano ceppi provenienti dai limiti nord dell'areale di presenza di *Aedes albopictus* dell'Asia o dell'America. Questi ultimi ceppi dopo una esposizione per 24 ore a -10°C presentano ancora una capacità di schiusa che va dal 78 al 99% (Hawley et al.1987). Le uova non diapausanti aumentano la resistenza alle basse temperature dopo aver completata l'embriogenesi (alle nostre latitudini non sono ugualmente in grado di passare l'inverno).

L'embriogenesi viene considerata completa quando le uova sono in grado di schiudere, questo accade dopo 6-10 giorni a seconda della temperatura. Se si sommergono uova appena deposte, si assiste ad una percentuale di schiusa più bassa e scalare del normale .

L'interazione di molti fattori (età, disseccamento, cambi di temperatura, tensione dell'ossigeno, diapausa) determina la possibilità di schiusa alle uova di *Aedes albopictus*. La tensione dell'ossigeno sembra essere uno dei fattori più importanti, è stato osservato che uova embrionate, sommerse in acqua avente una concentrazione di ossigeno variabile tra 1.5 - 6.0 - 7.6 ppm presentano percentuali di schiusa molto diverse variabili rispettivamente tra 94 - 79 - 62% ; se le stesse uova vengono però esposte ad un disseccamento prima di essere sommerse la schiusa avviene solo se la concentrazione dell'ossigeno è molto bassa (Imai e Maeda 1976).

In alcuni casi le uova di *Aedes albopictus* richiedono ripetute sommersioni prima di schiudere tutte.

In laboratorio una femmina ha deposto più di 950 uova (Galliard 1962) durante l'intera vita, in media la fecondità si aggira sulle 300 - 350 uova/femmina. Il numero di uova deposte dopo un pasto di sangue dipende da molti fattori ma mediamente si aggira sulle 42 - 88 uova per il primo ciclo gonotrofico.

Influenza del fotoperiodo nella biologia delle uova

Come precedentemente accennato i ceppi di *Aedes albopictus* diffusi negli ambienti temperati sono in grado di deporre uova diapausanti in grado di passare l'inverno. Questa caratteristica dipende dalla sensibilità al fotoperiodo a cui vengono sottoposte gli adulti femmine, infatti se vengono esposte a giorni corti sono indotte a deporre uova diapausanti. Il fotoperiodo critico per molte "sottospecie" è compreso tra le 13 e le 14 ore. Se vengono sottoposte a condizioni di fotoperiodo corto popolazioni provenienti da zone tropicali, queste non manifestano nessuna sensibilità continuando a deporre uova non diapausanti (Hawley et al. 1988).

Il fotoperiodo non è però l'unico fattore che condiziona la diapausa, le femmine risultano infatti sensibili anche alla temperatura; i dati precedentemente riportati sono stati ottenuti alla

temperatura di 21°C, non vi sono differenze neanche se la temperatura sale a 26°C ; se però l'autunno si protrae particolarmente caldo (maggiore di 29°C) l'induzione viene ridotta o completamente inibita, al contrario le basse temperature incrementano l'effetto del fotoperiodo (Hawley W.A. 1988).

Anche la nutrizione larvale influisce sulla diapausa allungando il periodo critico a oltre le 14 ore di luce , tale comportamento garantirebbe la sopravvivenza della specie anche in carenza di cibo, impedendo a parte delle uova di schiudere; anche se gli adulti ottenuti da queste larve sono più piccoli non vi sono differenze significative sulle dimensioni delle uova .

Gli stadi fotosensibili sono rappresentati dalle pupe oltre che dagli adulti femmine.

I fattori responsabili dell'interruzione della diapausa non sono ancora conosciuti, comunque da dati di laboratorio sembra che le uova diapausanti siano in grado di schiudere dopo 3 mesi di conservazione a 25°C (Wang 1966) e apparentemente senza bisogno di subire un periodo freddo.

Biologia larvale

Lo stadio larvale dura mediamente dai 5 ai 10 giorni alla temperatura di 25° e in condizioni ottimali di nutrizione, le differenze possono essere dovute a diete diverse o a diversi ceppi di zanzare. Un abbassamento della temperatura comporta una riduzione della velocità di sviluppo, a 15-18°C impiegano circa 3 settimane per passare da uovo a pupa, a 11°C si ha arresto completo dell'accrescimento (Udaka 1959).

Se le larve vengono allevate in carenza di cibo il ciclo si allunga fino a 58 giorni per gli esemplari che daranno origine a femmine (Mori 1979). Nei maschi lo sviluppo risulta sempre più veloce, uno scostamento maggiore si verifica in carenza di cibo.

Da prove effettuate in laboratorio si è visto che a temperature medie dell'acqua di circa 27°C il periodo che intercorre tra lo stadio di uovo e quello di adulto è di 7-8 gg. (Martini dati non pubblicati).

Un aumento della densità larvale o un decremento dell'apporto di cibo causano un incremento della mortalità larvale e una diminuzione della taglia degli adulti (Mori 1979); sembra che le larve muoiano a causa di sostanze chimiche da loro stesse prodotte. Le pupe dimostrano solitamente una mortalità molto bassa.

Le dimensioni ridotte condizionano la fecondità sia dei maschi che delle femmine. Per le femmine le piccole dimensioni degli adulti comportano degli ovari con pochi ovaroli e quindi poche uova deposte. Nei maschi le ridotte dimensioni causano un ritardo nell'inizio della spermatogenesi oltre a dei testicoli di dimensioni ridotte. La densità larvale sembra non influire sulla determinazione del sesso degli adulti.

Le larve di terza e quarta età e le pupe sono in grado di sopravvivere per un giorno senza acqua purché l'umidità relativa rimanga ad almeno il 90%..

Materiali e metodi

La prova è stata condotta nelle annate 1997-98. Le uova utilizzate nelle prove sono state raccolte nel comune di Montegrotto utilizzando delle ovitrappole come precedentemente descritto. La raccolta delle stecche è avvenuta ogni 10-15 giorni. Nel 1997 la raccolta è iniziata a metà luglio, mentre l'anno successivo è stato monitorato l'intero periodo di ovideposizione che va da fine maggio ad ottobre.

Dal momento in cui avveniva la deposizione alla raccolta della stecca si sono verificate delle schiuse, dovute ad un innalzamento del livello dell'acqua nell'ovitrappola. Tali uova, facilmente distinguibili da quelle non ancora schiuse, sono state conteggiate a parte; ai fini della sperimentazione sono state considerate come schiuse durante la prova in laboratorio.

Le uova appena raccolte sono state poste in camera umida per 20 giorni ad una umidità relativa superiore al 90% ed una temperatura di circa 20°, per consentire il completamento dell'embriogenesi. Tale tecnica consente di avere schiuse più rapide e uniformi.

Completata l'embriogenesi le uova sono state trasferite in piccole vasche di plastica (30x15x5) riempite con 100 cc di acqua di rubinetto dechlorata, sufficiente a sommergere le stecche.

Nelle vasche di allevamento veniva immessa una piccola quantità di cibo costituita da mangime per gatti sciolto in acqua. Lo scopo era quello di fornire prontamente del cibo alle larve neonate e di creare un ambiente leggermente riducente a causa delle fermentazioni che si instauravano. Tale ambiente fornisce uno stimolo alla schiusa non solo per *Aedes albopictus* ma anche per molte altre specie (Charles L. Judson 1960).

Le vaschette erano immerse in una vasca più grande contenente dell'acqua mantenuta ad una temperatura costante di circa 24°C ($\pm 1^\circ\text{C}$) utilizzando dei riscaldatori termostatati per acquari.

Il fotoperiodo è stato mantenuto a 14 ore di luce.

Le larve neonate venivano trasferite (quindi conteggiate) in altre vasche di allevamento per evitare fenomeni di cannibalismo dovuti ad eccessive densità. L'elevata densità larvale è inoltre responsabile dell'effetto "massa": fenomeno inibitorio causato dalle larve presenti a carico delle uova non ancora schiuse (J.S. Edgerly e M.A. Marvier 1992).

Le stecche venivano mantenute nelle vasche di schiusa per una settimana, per poi essere poste in camera umida per altri sette giorni allo scopo di simulare un abbassamento del livello dell'acqua. Successivamente le stecche venivano nuovamente introdotte nelle vasche per altri cinque giorni (simulando un aumento del livello dell'acqua).

Terminata la prima fase di schiusa, le stecche sono state poste in camera umida per qualche giorno per poi essere trasferite in frigorifero a 4°-6° per 4 mesi, allo scopo di simulare il freddo invernale e superare la diapausa.

Prima di essere poste nuovamente in acqua, le stecche sono state acclimatate per una settimana a 20° in camera umida. Le successive fasi di schiusa si sono svolte con le stesse modalità descritte precedentemente.

Risultati

Da una prima analisi dei dati si può notare come la percentuale di schiusa si mantenga abbastanza costante durante tutta la stagione, iniziando a calare solo a metà settembre quando le femmine iniziano a deporre uova diapausanti (vedi grafici 1 e 2).

Dopo aver sottoposto le uova ad un periodo di freddo di circa quattro mesi si è osservato che al calo della percentuale di uova non diapausanti corrispondeva l'inizio della deposizione di uova svernanti che raggiungevano il loro massimo (percentualmente) a metà ottobre, periodo in cui le basse temperature interrompevano le deposizioni.

In letteratura sono riportate percentuali di schiusa di uova non diapausanti, prodotte e fatte schiudere in laboratorio, molto alte, spesso vicine al 100%.

Nei due anni di sperimentazione non si sono mai raggiunti valori simili. Durante il 1998 si sono ottenute percentuali di schiusa che andavano da un minimo del 58.8% a un massimo del 91.5%. Nel 1997 i valori sono stati più bassi variando da un minimo del 40.4% a un massimo del 77.5%. I dati riferiti al 1997 sono mediamente più bassi a causa di un breve periodo di disseccamento, a cui sono state sottoposte le uova prima della schiusa, che può aver ridotto la vitalità degli embrioni. Anche le uova diapausanti risultano essere percentualmente minori rispetto ai dati del 1998 poiché parte di queste, a causa del periodo a bassa umidità relativa a cui sono state sottoposte, sono schiuse assieme a quelle non diapausanti non essendo più necessario un periodo di freddo (T.Sota e M.Mogi 1992).

Le percentuali di schiusa ottenute in questa sperimentazione ben rappresentano la realtà in quanto le uova sono state deposte da femmine all'aperto sottoposte a molti stress che difficilmente sono ricreabili in laboratorio e che influiscono sulla loro fertilità.

In natura prima le uova e successivamente le larve, sono soggette a molte altre cause di morte, quali predazione e malattie che non è stato possibile valutare nel corso di questa sperimentazione.

Nel 1998 si possono notare in data 01/06 e 23/06 dei dati percentualmente più bassi della media del periodo imputabili forse ad un repentino abbassamento della temperatura (come mostra il grafico n° xxx).

Dati bibliografici riportano come il fotoperiodo critico per l'induzione alla deposizione di uova diapausanti sia di 13-14 ore di luce a 21°C.

Nel 1997 le prime uova diapausanti sono state deposte verso la metà di settembre per poi divenire numerose solo in ottobre. Alle nostre latitudini il fotoperiodo in questo periodo va da 12.3 a 11 ore di luce.

Anche nel 1998, i cui dati sono più attendibili, le prime uova svernanti sono state deposte verso la metà di settembre, fino a raggiungere quasi il 50% in ottobre quando il fotoperiodo si era ridotto a 11 ore di luce e le temperature medie si aggiravano sugli 15°C.

Questi dati indicano come nel nostro areale le femmine cominciano a deporre uova diapausanti molto più tardi di quanto ci si aspettava dai precedenti studi di laboratorio che del resto sono stati condotti su popolazioni di *Aedes albopictus* di altri paesi.

Possiamo indicare quindi come momento critico per l'induzione alla deposizione di uova diapausanti un fotoperiodo che varia tra le 11 e le 12.5 ore di luce a temperature medie comprese tra 14-18°C.

Analizzando le tabelle in cui vengono riportate le schiuse giorno per giorno (riportate in appendice) è possibile notare come le uova embrionate schiudano in gran parte nei primi giorni di sommersione e che solo una piccola percentuale nasca nei giorni successivi. Del resto bisogna notare che alcune uova non nascono neanche dopo una settimana di sommersione, ma solo se vengono sottoposte ad un breve periodo senz'acqua. Questo ad indicare che in natura una piccola aliquota schiude solo alla successiva precipitazione forse per garantire che qualche larva sopravviva nel caso in cui le larve della prima schiusa non fossero riuscite a portare a termine il ciclo.

Tabella 1 – Prova schiusa 1997

Data di raccolta *	N° di uova medio per stecca	N° di uova medio già schiuse	N° larve nate non diapausanti	%	N° larve nate diapausanti	%
20/07	52.2	3.0	29.4	62.1	0	0
03/08	85.1	12.1	30.6	50.2	0	0
13/08	65.6	8.2	20.1	43.1	0	0
20/08	80.6	0	32.6	40.4	0	0
27/08	72.8	8.1	38.7	64.3	0	0
05/09	230.5	22.3	104.2	54.9	0	0
12/09	91.9	15.2	56.0	77.5	0	0
19/09	138.2	12.9	74.7	63.4	2.9	2.1
29/09	235.7	6.3	61.6	28.8	13.9	5.9
06/10	96.2	0	11.6	12.1	10.2	10.6
13/10	170.1	0	9.0	5.3	43.7	25.7

*: ad ogni data corrispondono 10 stecche con uova

Prove di schiusa 1997

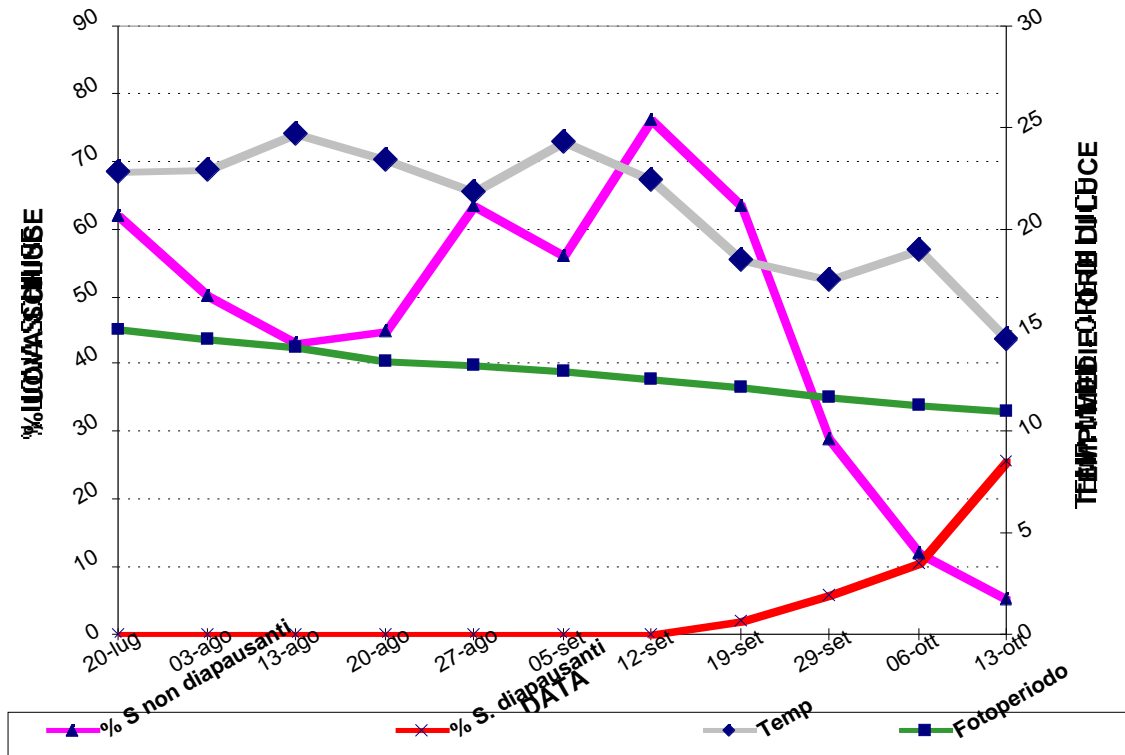


Grafico 1 percentuale di schiusa di uova non diapausanti, dopo immersione e percentuale delle rimanenti dopo averle sottoposte ad un periodo di freddo (uova diapausanti). Estate 1997.

Tabella 2 – Prove di schiusa 1998

Data di raccolta*	N° di uova medio per stecca	N° di uova medio già schiuse	N° larve nate non diapausanti	%	N° larve nate diapausanti	%
25/05	11.7	5.3	10.0	74.3	0	0
01/06	49.3	0	29.0	58.8	0	0
10/06	142.0	64.7	51.0	81.5	0	0
17/06	19.3	2.3	14.3	86.2	0	0
23/06	88.7	17.0	39.3	63.5	0	0
30/06	79.0	42.3	30.0	91.5	0	0
04/07	102.7	31.0	45.0	74.0	0	0
10/07	73.7	37.3	22.3	81.0	0	0
15/07	159.0	75.3	62.7	86.8	0	0
24/07	185.7	60.7	94.0	83.3	0	0
29/07	239.3	125.0	65.0	79.4	0	0
07/08	187.0	29.7	98.0	68.3	0	0
15/08	210.3	120.3	31.0	71.9	0	0
21/08	399.0	209.3	89.7	74.9	0	0
03/09	147.0	46.0	66.3	76.4	2	1.4
09/09	210.3	71.3	62.0	63.4	4	1.9
15/09	160.7	24.3	34.0	36.3	8.4	5.2
21/09	58.3	0	11.0	19.4	2.3	3.9
30/09	149.7	7.6	13.0	9.1	15.7	10.5
8/10	48.3	0	0	0	20.9	43.2
15/10	36.3	0	0	0	16.40	45.2

*: ad ogni data corrispondono 10 stecche con uova

Prove di schiusa 1998

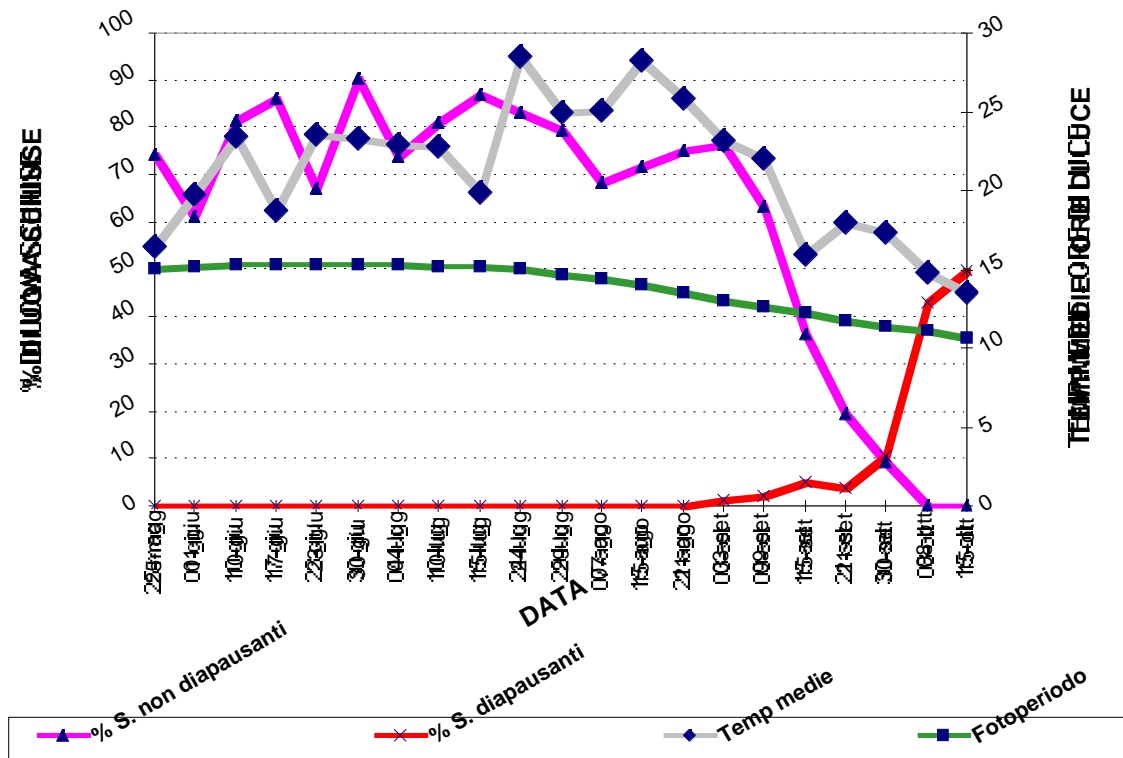


Grafico 2 Percentuale di schiusa di uova non diapausanti, dopo immersione e percentuale delle rimanenti dopo averle sottoposte ad un periodo di freddo (uova diapausanti). Estate 1998.

La deposizione delle uova diapausanti inizia verso la fine di settembre quando il fotoperiodo si aggira sulle dodici ore e temperature medie di circa 15°C.

Risultati

Le prove di schiusa non hanno confermato i dati bibliografici relativi al momento in cui *Aedes albopictus* comincia a deporre uova diapausanti, è stato infatti riscontrato un fotoperiodo critico di 11-12 ore di luce contro le 12-13 ore riportate in letteratura.

Interessante risulta poter stabilire quando nel nostro areale le zanzare cominciano a deporre le uova diapausanti. Concentrando la lotta in questo periodo è infatti possibile ridurre l'inoculo per l'anno successivo.

La gran parte delle uova diapausanti viene deposta da fine settembre a metà ottobre. Normalmente i piani di controllo si fermano molto prima permettendo quindi alle zanzare di riprodursi liberamente e costituendo così un inoculo per l'anno successivo.

BIBLIOGRAFIA

- Galliard H. 1962. **Recherches sur la biologie des culicidés à Hanoi (Tonkin, Nord - Vietnam). II. Reproduction et ponte d'*Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* et *Armigeres obturans*. Ann. Parassitol. Hum. Comp., 37 : 348-365.**
- Hawley W.A. 1985. **Population dynamics of *Aedes sierrensis*, pp. 167-184. In : L. P. Lounibos, J. R. Rey and J. H. Frank eds.), Ecology of mosquitoes : Proceedings of a Workshop. Florida Medical Entomology Laboratory, Vero Beach, Florida.**
- Hawley W.A. 1988. **The biology of *Aedes Albopictus*. J. Am. Mosq. Control Assoc., 4 (suppl.) :1-40.**
- Imai C., Maeda O. 1976. **Several factors affecting on hatching of *Aedes albopictus* eggs. Jap. J. Sanit. Zool., 27 : 367-372 (in Japanese with English summary).**
- Mitchell C.J. 1995. **Geographic spread of *Aedes albopictus* and potential for involvment in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. J. Vec. Ecol., 20 :44-58.**
- Moore, Francy, Eliason, Monath 1988. ***Aedes albopictus* in the United States : rapid spread of a potential disease vector. J. Am. Mosq. Control Assoc., 4 : 360-361.**
- Mori A. 1979. **Effects of larval density and nutrition on some attributes of immature and adult *Aedes albopictus*. Trop. Med., 21 : 85-103.**
- Sota T. and Mogi M. 1992. **Survival time and resistance to disiccation of diapause and not-diapause eggs of temperate *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes. Entomol. exp. appl., 63 : 155-161.**
- Toma T., Sakamoto S. and Miyagi I. 1982. **The seasonal appearance of *Aedes albopictus* in Okinawajima, the Ryukyu archipelago, Japan. Mosq. New, 42 : 179-183.**

•Wang, K. C.1962. One Year's observation on the ecology of *Aedes albopictus* Skuse in Foochow. *Acta Entomol. Sinica*, 11 : 357-362.

•Wang, R. L.1966. Observations on the influence of photoperiod on egg diapause in *Aedes albopictus* Skuse. *Acta Entomol. Sinica*, 15 : 75-77 (in Chinese).