CZU: 595.767.13:591.5:57.08 https://doi.org/10.53040/ppap2023.23

MONITORIZAREA DEZVOLTĂRII GAZDEI DE LABORATOR *GALLERIA MELLONELLA* L. PE DIFERITE MEDII NUTRITIVE

GLIBICIUC Corina, NASTAS T.*, ZAVATIN Maria
Institutul de Genetică Fiziologie și Protecție a Plantelor al USM, Chisinău, Republica Moldova
**https://orcid.org/ 0000-0002-0322-710X* ,
e-mail: corina.grigor@igfpp.md

Summary. In the given article, the results of the optimization of the nutrient medium for the multiplication of the species *Galleria mellonella* L. as a laboratory host for the multiplication of the entomophagous *Bracon hebetor* Say are presented. At the same time, it was found that the females of the entomophagous *Bracon hebetor* can parasitize the larvae of *Galleria mellonella* starting from those of age III and up to age V, and the longevity of the larval parasitism period extends for about 8 days with a potential of about 2.4 larvae /24 hours.

Keywords: *Galleria mellonella, Bracon hebetor, Eggs, Larva, Pupa, Imago, Nutrient medium.*

Introducere. În prezent, în plan mondial datorită gestionării durabile a ecosistemelor agricole, treptat crește rata aplicării mijloacelor biologice de combatere. Unul din aceste metode este reprezentat de colectarea unor specii de insecte benefice din biotopurile naturale, elaborarea metodelor de înmulțire în condiții de laborator și lansarea lor în agrobiocenozele contemporane.

Înmulțirea și lansarea entomofagilor dețin un șir de priorități, care constau în reducerea cheltuielilor pentru protecția culturilor agricole, păstrarea biodiversității în agrocenoze, asigurarea calității produselor, evitarea poluării mediului înconjurător, prețul mic, și simplitatea utilizării [1].

În calitate de gazdă pentru multiplicarea unor entomofagi servesc larvele dăunătorului *Galleria mellonella*. Molia corespunzătoare face parte din familia *Pyralidae*. Această specie este răspândită în toată lumea. Pentru prima dată, ca dăunător, a fost depistată în regiunea țărilor din Asia. Mai târziu sa răspândit și pe teritoriul Republicii Moldova ca unul din dăunătorii economic importanți în gospodăriile apicole [2].

Entomofagul *Bracon hebetor* face parte din rândul speciilor de insecte benefice și de perspectivă în protecția biologică a plantelor, deoarece modul de viață este orientat spre parazitarea stadiei de larvă a mai multor dăunători. Până în prezent s-au efectuat un șir de investigații în diferite țări consacrate metodelor de aplicare al acestui entomofag în sistemele integrate de protecție a plantelor [1]. Sunt la faza de căutare și a unor medii nutritive optimale de înmulțire a gazdei de laborator *Galleria mellonella*. De asemenea, există o serie de lucrări științifice închinate investigațiilor de apreciere a unei gazde de laborator, optimale pentru multiplicarea în masă a entomofagului *Bracon hebetor* în condiții de laborator [3].

Scopul investigațiilor actuale a fost de a monitoriza dezvoltarea stadiilor ontogenetice a speciei *Galleria mellonella* pe diferite medii nutritive și de a evalua potențialul biologic de parazitare a larvelor de către entomofagul *Bracon hebetor*.

Materiale și metode. În calitate de test obiecte pentru estimarea relațiilor între parazit și gazdă a servit specia entomofagului *Bracon hebetor* și a dăunătorului *Galleria mellonella*, multiplicate în condiții de laborator. Procesul de multiplicare s-a desfășurat în camere climatice la o temperatură constantă de 27-28^{0}C și umiditate relativă a aerului de 70%. Au fost testate trei variante de mediu nutritiv în comparație cu mediul nutritiv standard (Tabelul 1).

Tabelul 1. Mediile nutritive, testate pentru multiplicarea speciei *Galleria mellonella*, în calitate de gazdă de laborator, la înmulțirea entomofagului *Bracon hebetor*

Varianta	Componenții și rata lor la 1 kg de mediu
Standard	tărâțe de grâu (40g) + făină de grâu (150g) + făină de porumb (130g) + miere de albine (120g) + glicerină (120g) + lapte praf (90g) + merva (250g)
I	tărâțe de grâu (250g) + făină de grâu (250g) + ceară de albine (500g)
II	merva (1000g)
III	tărâțe de grâu (300g) + merva (600g) + drojdie (100g)

Mediile corespunzătoare au fost călite în dulapul de uscare la o temperatură de 70^{0}C pe parcursul a 4 ore. Pe fiecare mediu nutritiv preparat conform variantelor planificate se aplicau câte 150 ouă de *Galleria mellonella* cu vârsta de până la 24 ore. Testarea mediilor nutritive experimentale a fost

efectuată pe perioada dezvoltării unui ciclu ontogenetic a gazdei de laborator *Galleria mellonela*, în a câte trei repetări.

Pentru aprecierea indicilor biologici a entomofagului *Bracon hebetor*, multiplicat în condiții de laborator, s-a evaluat prolificitatea femelelor, ecluziunea entomofagului, gradul de parazitare a entomofagului, cota femelelor și masculilor ecluzați, și durata vieții femelelor.

Pentru determinarea potențialului biologic de parazitare a entomofagului *Bracon hebetor*, în dependență de stadiul larvar a gazdei de laborator *Galleria mellonella*, s-au efectuat o serie de experiențe, care constau din 4 variante a câte 3 repetări:

- Varianta I – 10 larve vîrsta II *G. mellonella* + 5 perechi a entomofagului *B. hebetor*;
- Varianta II - 10 larve vîrsta III *G. mellonella* + 5 perechi a entomofagului *B. hebetor*;
- Varianta III - 10 larve vîrsta IV *G. mellonella* + 5 perechi a entomofagului *B. hebetor*;
- Varianta IV - 10 larve vîrsta V *G. mellonella* + 5 perechi a entomofagului *B. hebetor*.

Variantele au fost montate în vase cilindrice din sticlă cu volumul de 0,7 cm^3 și apoi plasate în camera climaterică. După fiecare 24 ore – larvele de *Galleria mellonella* erau înlăturate și supuse observărilor ulterioare pentru aprecierea gradului de parazitare a lor de către femelele *B. hebetor*. Larvele de *Galleria mellonella* erau înlocuite zilnic până la moartea femelelor entomofagului *B. hebetor*. Durata experiențelor s-a extins pe o perioadă de 8 zile. Rezultatele au fost supuse analizei matematice conform pachetului de programe Microsoft Excel.

Rezultate și discuții. Pe parcursul experiențelor a fost fixat, că ecluzarea larvelor din ouăle de *Galleria mellonella,* depuse pe mediile nutritive experimentale, a fost fixată după 6 zile, fără o oarecare deosebire după variante. Pe parcursul dezvoltării larvelor au fost efectuate monitorizări zilnice pentru a se evidenția cea mai optimală variantă (Tabelul 2).

Tabelul 2. Dezvoltarea larvelor speciei *Galleria mellonella* în dependență de componența mediilor nutritive.

Variantele	În medie sau obținut larve de vârsta V	Diferența față de Standard	Grupa
Standard	114,3	-	-
I	105,7	- 8,6	II
II	115,0	+0,7	II
III	136,7	+22,4	II
			$DEM_{0,05}$ = 29,1

Analiza rezultatelor obținute a demonstrat, că în toate variantele mediilor nutritive testate, dezvoltarea larvelor de *Galleria mellonella* a avut loc fără mari devieri și nu se deosebea esențial de dezvoltarea larvelor în varianta standard. Cu toate acestea e necesar de menționat, că în varianta III, numărul larvelor, care s-au dezvoltat până la vârsta a V, aveau o tendință prioritară de supraviețuire față de larvele întreținute din celelalte variante.

Investigațiile ulterioare au fost axate pe monitorizarea procesului de formare a pupelor din larvele de *Galleria mellonella*, în dependență de mediile nutritive testate, față de mediul standard. Rezultatele obținute sunt oglindite în tabelul 3.

Tabelul 3. Numărul pupelor de *Galleria mellonella*, obținute în rezultatul nutriției larvelor pe diferite medii de nutriție.

Variantele	În medie sau obținut pupe	Diferența față de standard	Grupa
Standard	100,0	-	-
I	86,4	-23,4	III
II	105,7	+5,7	II
III	123,4	+23,4	I
			$DEM_{0,05}$ = 16,2

Analiza rezultatelor obținute demonstrează, că larvele dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta I, au avut o rată a împupării esențial de redusă față de larvele dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta Standard. Tot odată accentuăm faptul, că pe parcursul dezvoltării larvelor de la I vârstă până la vârsta a V, nu au fost fixate deosebiri esențiale față de larvele dezvoltate în varianta cu mediul nutritiv Standard (Tabelul 2).

Larvele dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta II, au avut o rată de impupare la nivelul larvelor dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta Standard. În același timp a fost fixat momentul, că larvele dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta III se deosebește esențial, cu semn pozitiv, față de larvele dezvoltate pe mediul nutritiv din varianta Standard. Astfel, putem concluziona, că componența mediului nutritiv din varianta III este mai optimal atât din punct de vedere a costului, cât și din punctul de vedere a obținerii pupelor viabile. Tot odată este necesar de menționat, că în varianta III, longevitatea perioadei de dezvoltare a larvelor și pupelor nu se deosebea esențial de a celor din varianta Standard, pe când dezvoltarea în celelalte două variante a decurs mult mai lent, deoarece în mediile nutritive corespunzătoare se conținea o cantitate de proteină mai redusă.

Investigațiile ulterioare au fost axate pe aprecierea raportului dintre femele și masculi în dependență de componența mediilor nutritive pe care sau dezvoltat larvele. Efectuarea unei analize minuțioase a stadiei imago, ecluzați din pupele obținute din larvele dezvoltate pe diferite medii nutritive a demonstrat, că rata femelelor a atins cel mai înalt nivel în varianta III și se deosebea semnificativ atât de celelalte variante, cât și de varianta Standard. Astfel, raportul între femele și masculi constituia 0,9:1,1 pe când în varianta Standard – 0,6:1,5. Luând în considerație faptul, că raportul între femele și masculi în populațiile naturale a speciei *Galleria mellonella* este de aproximativ 1:1, în varianta III au fost obținute rezultate ce tind spre populația din arealul natural de dezvoltare. Rezultatele obținute sunt oglindite în tabelul 4.

Tabelul 4. Rata femelelor și masculilor obținuți în rezultatul dezvoltării larvelor speciei *Galleria mellonella* pe diferite medii de nutriție.

Variantele	Pupe obținute	Imago ecluzați	Divizarea imago după sex		Raportul între ♀ și ♂
			♀	♂	
Standard	100	85,3	33,4	51,9	0,6:1,5
I	86,4	80,6	33,0	47,6	0,6:1,4
II	105,7	105,3	33,9	71,4	0,4:2,1
III	123,4	116,7	55,9	60,8	0,9:1,1

Experimental a fost demonstrat, că entomofagul *Bracon hebetor* are o capacitate majoră de parazitare a larvelor. Astfel s-a constatat, că femelele entomofagului pot parazita larvele de *Galleria mellonella* începând cu cele de vârsta III și până la vârsta V. Monitorizarea capacității de parazitare a larvelor

de către femelele entomofagului *Bracon hebetor* în timp a arătat, că pe parcursul întregii perioade de viață, ele zilnic pot efectua parazitarea larvelor propuse, până când nu decedează. Longevitatea perioadei de parazitare a larvelor de către femelele *Bracon hebetor* se extinde pe circa 8 zile. S-a constatat, că pe parcursul acestei perioade femelele entomofagului pot parazita zilnic în medie câte 2,4 larve. Astfel pe durata întregii vieți, o femelă a entomofagului *Bracon hebetor* este disponibilă de a parazita în medie circa 19,2 larve de *Galleria mellonella*. Cu atât mai mult, s-a constatat, că vârsta femelelor nu influențează esențial asupra capacității de parazitare – atât cele cu vârsta de 2 zile, cât și cele cu vârsta de 8 zile pot parazita în medie zilnic de la 2 până la 3 larve.

Rezultatele obținute pot fi aplicate atît în procesul de multiplicare a speciei *Galleria mellonella* în calitate de gazdă de laborator, cît și în practică ca element tehnologic de lansare a entomofagului *Bracon hebetor* pentru diminuarea populațiilor de dăunători, economic importanți pentru agricultură.

Concluzii:

1. A fost demonstrat, că mediul nutritiv cu o componență din 30% tărâțe de grâu + 60% merva + 10% drojdie s-a manifestat ca fiind cel mai optimal la multiplicarea speciei *Galleria mellonella* în calitate de gazdă de laborator pentru înmulțirea entomofagului *Bracon hebetor* atât din punct de vedere a sine costului, cât și din punctul de vedere a dezvoltării larvelor și a raportului între femelele și masculii ecluzați din pupele obținute;
2. S-a constatat, că femelele entomofagului *Bracon hebetor* pot parazita larvele de *Galleria mellonella* începând cu cele de vârsta III și până la vârsta V, iar longevitatea perioadei de parazitare a larvelor se extinde pe circa 8 zile cu un potențial de circa 2,4 larve/24 ore.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului Programului de Stat 20.80009.5107.27 ”Identificarea și evaluarea substanțelor biologic active, a speciilor de entomofagi, culturilor vegetale entomofile, și a mecanismelor interacțiunii acestora în contextul organismelor nocive”, finanțat de Agenția Națională pentru Cercetare și Dezvoltare.

Bibliografie

1. Bradowsky V., Bradowskaya N., Pogorletskaya A. Advances in the elaboration of methods for the entomophage rearing and application. In: *International Symposium "Actual Problems of Zoology and Parasitology: Achievements and Prospects"*, 13 october 2017. Chisinau, 2017. 283-286. ISBN 978-9975-66-590-2;
2. Bradowsky V., Bradowsky N., Nastas T. State, problems and perspectives for development of the industrial entomophages rearing and their application. *Revista "Scientific Studies and Researches", Biology series*. Indexată pentru patru baze de date internaționale (Thomson, Ebsco, Proquest, Copernicus). Universitatea V. Alecsandri, Bacău, 2016, 25(2), 77-81. ISSN: 1224-919X;
3. Брадовская Н., Брадовский В., Настас, Т. Усовершенствование питательной среды для разведения *Galleria mellonella* – хозяина энтомофага *Bracon hebetor*. In: *International Research and Practice Conference "Biotechnological Production Systems and Application of Agriculture Biologization*". Information Bulletin IOBS EPRS. Odessa, on october 3-7, 2016. nr. 49. pp. 55-57. ISBN 978-617-7337-46-0.