MONITORIZAREA CICLULUI ONTOGENETIC DE DEZVOLTARE A ENTOMOFAGULUI *BRACON HEBETOR SAY*. ȘI GAZDEI DE LABORATOR *GALLERRIA MELLONELLA* L.

MONITORING THE ONTOGENETIC DEVELOPMENT CYCLE OF THE ENTOMOPHAGE *BRACON HEBETOR SAY*. AND LABORATORY HOSTS GALLERRIA MELLONELLA L.

CZU: 57.08:595.792 **https://doi.org/10.59295/spd2024n.11**

Corina GLIBICIUC,
ORCID: 0009-0005-6238-2440
e-mail: corina.glibiciuc@sti.usm.md
Institutul de Genetică Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de stat din Moldova
Tudor NASTAS,
ORCID: 0000-0002-0322-710X
e-mail: tudor.nastas@sti.usm.md
Institutul de Genetică Fiziologie și Protecție a Plantelor,
Universitatea de stat din Moldova

Summary. *The aim of the current investigations was to monitor the ontogenetic development cycle of the entomophagous Bracon hebetor on the larvae of the laboratory host Galleria mellonella, multiplied on the standard nutrient medium. The entomophagous Bracon hebetor and the laboratory host Galleria mellonella served as test objects. For the laboratory host, the experiences were set up in 15 repetitions and for the entomophagous – in 5 repetitions. In the given article is to determine the development of an ontogenetic cycle of the entomophagous Bracon hebetor and the laboratory host Galllerria mellonella under controlled condition to optimize multiplication. Thus, is was experimentally demonstrated that under controlled conditions the laboratory host Gallerria mellonella has an ontogenetic development cycle equal to about 45 days, and the entomophagous Bracon hebetor – about 25 days.*

Keywords: *Bracon hebetor,* egg, *Gallerria mellonella*, *larva, pupa.*
Cuvinte-cheie: *Bracon hebetor*, *Gallerria mellonella*, imago, larvă, ou, pupă.

INTRODUCERE

Pe fundalul schimbărilor climatice sporește vădit impactul dăunătorilor asupra culturilor agricole. Ca urmare se majorează interesul asupra procedeelor tehnologice de producere a agenților biologici, care duc sporirea randamentului de protecție a plantelor fără afectarea stării ecologice a agroecosistemelor contemporane. Activitățile necontrolate în domeniul agriculturii din ultimii ani au afectat ecosistemele, reducând biodiversitatea și creând noi condiții pentru dezvoltarea intensă a mai multor agenți fitosanitari.

Drept consecință, FAO (Organizația Națiunilor Unite pentru Alimentație și Agricultură) a fixat ca 12 mai de a fi Ziua Internațională a Sănătății Plantelor. Aceasta a determinat necesitatea abordării profunde a problemelor de protecție a plantelor orientate spre elaborarea metodelor alternative, nechimice, de menținere sub control densitatea populațiilor de dăunători [1]. Una din aceste metode se atribuie către elaborarea procedeelor tehnologice de multiplicare a entomofagului *Bracon hebetor* folosind în calitate de gazdă de laborator specia dăunătorului *Gallerria mellonella*.

Entomofagul *Bracon hebetor* face parte din rândul speciilor de insecte benefice și cu perspectivă vădită în domeniul protecției biologice a plantelor, deoarece evolutiv și-a creat un mod de viață specific, 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 [2]. Există o necesitate stringentă de a elabora medii nutritive optimale pentru înmulțirea speciei *Gallerria mellonella* în calitate de gazdă de laborator și obținerea unor larve de calitate, nestresate, cu o variabilitate genetică minimală. Sunt la faza de căutare și a unor medii nutritive optimale de înmulțire a gazdei de laborator *Galleria mellonella* [3]. 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 [4].

Scopul investigațiilor actuale a fost de a monitoriza ciclul ontogenetic de dezvoltare a entomofagului *Bracon hebetor* pe larvele gazdei de laborator *Galleria mellonella*, multiplicată pe mediul nutritiv standard.

MATERIALE ȘI METODE

Entomofagul *Bracon hebetor* și specia *Galleria mellonella* (în calitate de gazdă de laborator), au servit ca test obiecte în experiențele planificate. Materialul biologic necesar a fost obținut prin multiplicare în condiții controlate de laborator. Variantele experiențelor au fost montate și întreținute în climocameră specializată de tip ,,NITEH", la temperatura medie de 27^{0}C și umiditatea relativă 60%. Multiplicarea ambelor specii a avut loc prin folosirea boxelor alimentare cu un volum de 10 litri (Fig. 1).



Fig.1. Multiplicarea gazdei de laborator *Galleria mellonella* în condiții controlate de laborator.

Specia *Galleria mellonella* a fost întreținută pe mediu nutritiv elaborat în mod experimental de noi. Pentru obținerea a circa 350 larve este necesar de un kilogram mediu nutritiv standard, care conține o serie de componenți (Tabelul 1).

Tabelul 1. Componența mediului nutritiv pentru multiplicarea speciei *Galleria mellonela*

Varianta	Componenții la obținerea 1 kg de mediu nutritiv							
	Tărâțe (g)	**Făină de grâu (g)**	**Făină de porumb (g)**	**Miere de albine (g)**	**Glicerină (g)**	**Lapte praf (g)**	**Merva (g)**	**Drojdie (g)**
Mediul nutritiv Standard	140	150	130	120	120	90	210	40

De asemenea, s-a multiplicat și întreținut în condiții similare de laborator și entomofagul *Bracon hebetor*, cu scopul determinării indicilor biologici. Pentru determinarea duratei de dezvoltare a unui ciclu ontogenetic a entomofagului *Bracon hebetor* și gazdei de laborator *Gallerria mellonella* s-a efectuat un șir de experiențe. Pentru gazda de laborator *Gallerria mellonella* au fost montate experiențe în 15 repetări, iar pentru entomofagul *Bracon hebetor* – în 5 repetări. Monitorizarea dezvoltării a fost efectuată zilnic, pe întreg ciclu ontogenetic de dezvoltare. Femelelor entomofagului *Bracon hebetor* îi erau propuse pentru parazitare doar larvele, care au atins vârsta III-IV. După fiecare 24 ore – larvele de *Gallerria mellonella* erau înlăturate și supuse observărilor ulterioare (Fig. 2).



Fig. 2. Aprecierea potențialului de dezvoltare a unui ciclu ontogenetic a entomofagului *Bracon hebetor* și a gazdei de laborator *Gallerria mellonella* în condiții controlate.

Rezultatele obținute au fost analizate și prelucrate matematic cu utilizarea pachetului de programe Microsoft Excel.

REZULTATE ȘI DISCUȚII

Pe parcursul experiențelor a fost determinat, că temperatura optimală de dezvoltare a gazdei de laborator *Galleria mellonella* este de 27-28^{0}C și umiditatea relativă de 65-70%. În asemenea condiții o femelă, după faza de copulare, depune în medie 186 ouă în primele 24 ore. Pe parcursul vieții (circa 120 ore), o femelă depune în total circa 965 ouă, dintre care 94% o constituie ouăle fertile și 6% - ouăle sterile. Aceasta ne demonstrează, că mediul nutritiv elaborat nu influențează negativ asupra fertilității femelelor.

Pentru examinarea ratei de viabilitate a gazdei de laborator *Galleria mellonella*, pe parcursul ciclului ontogenetic, au fost montate experiențe în care sau luat numărul de ouă mediu depus de o femelă în 24 ore (186 ouă), și urmărită dezvoltarea până la stadia de imago. În rezultatul analizei datelor obținute s-a constatat, că din cele 186 ouă luate inițial, au ecluzat 182 larve (97,8%). Observările vizuale efectuate au permis de a constata, că larvele ecluzate la a 4 zi sunt de culoare alb-gălbuie, cu capul brun. S-a constat, că perioada de dezvoltare a stadiei de larvă a gazdei de laborator *Galleria mellonella*, în condiții controlate, durează circa 30-31 zile (de la stadia I până la stadia II - 14 zile; de la stadia III până la stadia IV - 10 zile; iar stadia V - 7 zile). Ulterior, în dezvoltarea speciei are loc trecerea lentă la stadia de pupă. Pupele nou formate, sunt de culoare galben-deschis, iar după 6 zile – sunt de o culoare maro închis. Pupele sunt adesea aranjate în grupuri iar coconii se află în rânduri aproape unul de celălalt. Analizele rezultatelor ne-a permis de a constata, că pe parcursul dezvoltării gazdei de laborator *Galleria mellonella* de la stadia de larvă până la stadia de pupă pot fi obținute 172 pupe dintre care 76 femele și 96 masculi. Astfel a fost demonstrat, că în rezultatul dezvoltării unui ciclu ontogenetic a gazdei de laborator *Galleria mellonella* în condiții controlate și prin aplicarea mediului nutritiv elaborat, se obține un raport între femele și masculi egal cu 1,2:0,8. Rezultatele obținute ne indică, că înmulțirea gazdei de laborator *Galleria mellonella* pe mediul nutritiv elaborat (componența este mai sus indicată în Tabelul 1), și în condiții controlate, e posibil de a obține un raport între genuri aproape de 1:1, ceea ce este caracteristic în condiții naturale de dezvoltare a specie date (Tabelul 2).

Tabelul 2. Viabilitate dezvoltării gazdei de laborator *Galleria mellonella* în condiții controlate pe durata unui ciclu ontogenetic

Numărul mediu total ouă/femelă			**numărul inițial de ouă**	**nr. de larve ecluzate %**	**nr. de pupe obținute %**	**nr. de imago obținuți**			**Durata unui ciclu ontogenetic (zile)**
Total	**Fertile %**	**Sterile %**				♀ **%**	♂ **%**	**Raport ♀ : ♂**	
965	94,1	5,9	186	97,8	92,5	44,2	55,8	1,2:0,8	42

Astfel, în mod experimental a fost demonstrat, că durata unui ciclu ontogenetic de dezvoltare a gazdei de labo*rator Galleria mellonella*, pe mediul nutritiv elaborat, și în condiții controlate, este egal cu circa 40-42 zile.

Pe parcursul experiențelor totodată a fost demonstrat, că dezvoltarea optimală a entomofagului *Bracon hebetor* are loc la aceeași temperatură ca și gazda de laborator *Galleria mellonella*, adică la temperatura de 27-28^{0}C și umiditatea relativă 65-70%.

S-a constatat, că o femelă a entomofagului *Bracon hebetor* poate depune în medie 167 ouă pe parcursul vieții (circa 14 zile), dintre care 97% ouă fertile și 3% ouă sterile. În continuarea cercetărilor au fost montate o serie de experiențe pentru a fi apreciată viabilitatea entomofagului pe întreg ciclu de dezvoltare ontogenetică. Inițial, a fost luat pentru experiențe un număr de ouă mediu depus de o femelă, adică 162 ouă, și urmărită dezvoltarea lor până la stadia de imago. Este necesar de menționat, că femelele entomofagului *Bracon hebetor* încep depunerea ouălor după 24 de ore de la stadia de copulare. Ouăle sunt depuse direct pe larvele gazdei de laborator *Galleria mellonella*. În rezultatul analizei datelor obținute s-a constatat, că din 162 de ouă au ecluzat în medie circa 162 larve (100%). S-a constatat, că larvele ecluzează din ou după 3 zile și au o culoare alb-gălbuie. Ele își prelungesc perioada de nutriție direct pe larvele gazdei de laborator. Perioada de dezvoltare a stadiei de larvă entomofagului *Bracon hebetor*, în condiții controlate, durează circa 4 zile. Ulterior, larvele trec în stadia de pupă. Pupele nou formate sunt de culoare galben-deschis, iar după 3 zile – devin mai întunecate. Pe parcursul dezvoltării de la stadia de larvă până la stadia de pupă au fost obținute 162 pupe (100%), dintre care 33,3% femele și 66,7% masculi. Astfel a fost demonstrat, că în rezultatul dezvoltării unui ciclu ontogenetic a entomofagului *Bracon hebetor*, în condiții controlate, pe gazda *Galleria mellonella*, se obține un raport între femele și masculi egal cu 0,5:2,0. S-a constatat, că cilul ontogenetic de dezvoltare a unei generații a entomofagului *Bracon hebetor*, pe larvele gazdei de labo*rator Galleria mellonella*, durează circa 23-25 zile (Tabelul 3).

Tabelul 3. Viabilitatea dezvoltării entomofagului *Bracon hebetor*, în condiții controlate, pe larvele gazdei de labo*rator Galleria mellonella*, pe durata unui ciclu ontogenetic

Numărul mediu de ouă/femelă			**nr. de larve ecluzate %**	**nr. de pupe obținute**	**nr. de imago obținuți**			**Durata dezvoltării unui ciclu ontogenetic (zile)**
Total	**Fertile %**	**Sterile %**			**♀ %**	**♂ %**	**Raportul ♀ : ♂**	
167	97	3	97	162	33,3	66,7	0,5:2,0	23-25

Astfel, în mod experimental a fost demonstrat, că în condiții controlate, gazda de laborator *Gallerria mellonella* are un ciclu ontogenetic de dezvoltare egal cu circa 42 zile, iar entomofagul *Bracon hebetor,* multiplicat pe larvele gazdei *Gallerria mellonella* – circa 25 zile.

CONCLUZII

1. S-a constatat, că pe parcursul vieții o femelă *Gallerria mellonella* depune 965 ouă (94% fertile și 6% - sterile), iar o femelă *Bracon hebetor* - 167 ouă (97% fertile și 3% sterile).
2. A fost demonstrat, că în condiții controlate gazda de laborator *Gallerria mellonella* are un ciclu ontogenetic de dezvoltare egal cu 42 zile, iar entomofagul *Bracon hebetor* – circa 25 zile.

REFERINȚE

1. VOLOȘCIUC, L. De la combaterea organismelor dăunătoare spre aplicarea mecanismelor naturale și a mijloacelor ecologic inofensive de reglare a densității populațiilor de agenți fitosanitari. În materialele Simpozionul Științific International Protecția Plantelor - Realizări şi Perspective, 2-3 octombrie 2023, Chișinău, p. 3-7. ISBN 978-9975-62-563-0;
2. BRADOWSKY, V., BRADOWSKAYA, N., POGORLETSKAYA, A. Advances in the elaboration of methods for the entomophagy 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;
3. 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 5 baze de date internaționale (Master Journal List ISI Thomson Reuters, PROQUEST LLC**,** EBSCO, Index Copernicus, SCIPIO Platform**)**. Universitatea V. Alexandri, Bacău, 2016, 25(2), pp. 77-81. ISSN: 1224-919X;
4. 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.

NOTĂ. Cercetările au fost realizate în cadrul Subprogramului *011103 ,,Elaborarea mijloacelor ecologic inofensive de reducere a impactului organismelor dăunătoare ale culturilor agricole pe fundalul schimbărilor climatice"*, finanțat de Ministerul Educației și Cercetării.