

Importanza della cera nella dieta artificiale di *Galleria mellonella* L., ospite di sostituzione per il parassita *Pseudogonia rufifrons* Wied.

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

Il presente lavoro ha lo scopo di mettere in evidenza l'importanza della cera ⁽¹⁾ d'api nella dieta semiartificiale (Beck, 1960; Campadelli, 1973; Campadelli e Baronio, 1978) del lepidottero *Galleria mellonella* L.

Altre importanti indicazioni traibili dalla presente sperimentazione riguardano gli effetti diretti o indiretti della cera nella dieta dell'ospite sul parassita *Pseudogonia rufifrons* Wied. e le eventuali ripercussioni sui rapporti fisiologici tra i due simbionti indotti da variazioni nella alimentazione dell'ospite.

L'elemento variabile della sperimentazione riguarda la qualità e la quantità, nonché la tecnica di preparazione della cera incorporata nella dieta.

MATERIALE E METODO

La sperimentazione consta di 5 ripetizioni, ciascuna composta da 6 tesi che variano solo nella qualità e nella quantità di cera immessa nella dieta, ferme restando tutte le altre condizioni di allevamento delle larve utilizzate, e la composizione della dieta nei confronti degli altri

(1) Per la sua composizione si consulti Louveaux, 1980; Tulloch, 1980.

costituenti. Ogni ripetizione è dunque costituita da 6 gruppi di larve, trattate nel seguente modo:

- Tesi A: dieta standard ⁽²⁾ con cera non « purificata » scura in dose di 150 g/Kg.
Tesi B: dieta standard con cera non « purificata » (scura) in dose di 450 g/Kg.
Tesi C: dieta standard con cera « purificata » (chiara) in dose di 150 g/Kg.
Tesi D: dieta standard con cera « purificata » (chiara) in dose di 450 g/Kg.
Tesi E: dieta standard senza cera.
Tesi F: dieta standard con cera non purificata sciolta alla fiamma in dose di 150 g/Kg.

La cera è stata fusa, secondo i casi, seguendo l'una o l'altra delle seguenti modalità:

- a) a bagno maria, cioè in un recipiente immerso nell'acqua contenuta in altro recipiente più grande sotto cui è posta la sorgente di calore. In tale modo il riscaldamento della massa cerosa è omogeneo e graduale;
- b) alla fiamma, cioè la fiamma lambisce direttamente il recipiente contenente la cera; ciò determina un riscaldamento troppo violento e non omogeneo della massa, con conseguenti alterazioni nella cera a stretto contatto del recipiente.

La cera utilizzata può essere « scura », provenendo direttamente dalla fusione dei favi, e cioè avere una colorazione bruna più o meno accentuata, impartita da una quantità di materiali presenti in essa e depositati nell'alveare in seguito all'attività delle api: residui di bozzoli, api morte, melanina proveniente dai pigmenti degli insetti, propoli, polline, ecc.

La cera chiara (da non confondere con la cera bianca ottenuta da processi chimici mediante l'uso di ossidanti, oppure artigianalmente con esposizione alle radiazioni solari) è quella ottenuta per filtrazione, allo scopo di estrarre gran parte delle impurità presenti nella cera scura. La filtrazione viene effettuata facendo passare la cera fusa at-

(2) 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.

traverso uno strato di cotone idrofilo, e consente di ottenere una cera di colore giallo pallido.

L'impiego dei due tipi di cera ha lo scopo di mettere in evidenza l'eventuale azione delle impurità in essa presenti. Infatti, mentre la cera chiara ha, sulle larve, un'azione esclusivamente dinamogena, cioè energetica, dovuta al fatto di essere composta da acidi grassi esterificati con alcoli a lunga catena, le impurità presenti nella cera scura potrebbero apportare sostanze quaternarie, cioè plastiche; tali sostanze verrebbero perciò a mancare nei gruppi di larve alimentati con cera chiara (C e D).

L'uso di uno stesso tipo di cera, a dosi elevate (450 g), ha lo scopo di mettere in luce un'eventuale azione della cera su *Galleria* non evidenziabile a dosi normali (150 g).

Ciascuna tesi è costituita da 50 larve isolate in VI età, scelte in base alle dimensioni della capsula cefalica secondo il metodo corrente.

È stato scelto questo stadio larvale per due motivi ben precisi:

1) l'incremento ponderale maggiore delle larve di *Galleria* si ha dalla VI muta fino allo stadio di eopupa; è possibile quindi una diversificazione ponderale delle crisalidi ottenute dai vari gruppi, tale da consentire una valutazione degli effetti provocati da un diverso tipo di trattamento.

2) Utilizzando le larve neonate e immettendole subito nel substrato loro assegnato, si avrebbero vantaggi per ciò che concerne l'indicazione traibile dal rapporto larva-pabulum, ma non sarebbe assolutamente possibile la parassitizzazione cumulativa, con conseguente introduzione di fonti di variabilità all'interno della sperimentazione.

Per ogni ripetizione si è effettuata una parassitizzazione cumulativa delle 300 larve occorrenti. A tale fine sono state somministrate 36 foglioline di cera sopportanti complessivamente circa 2400 uova microtipiche di *Pseudogonia* (circa 67/foglia) e quindi mediamente 8 uova/larva. Le larve, nutrendosi di tali foglie, restano automaticamente parassitizzate. Il giorno successivo, da queste 300 larve provenienti da medesime condizioni di allevamento e di contaminazione, vengono prelevati a caso 6 gruppi di 50 larve, ognuno dei quali viene poi alimentato con un diverso tipo di dieta in altrettanti contenitori di materiale plastico della capacità di 500 cc.

Sono stati rilevati i seguenti dati:

- il tempo intercorso fra l'isolamento delle larve di VI età e la formazione delle crisalidi;
- peso delle crisalidi distinte per sesso;

- percentuali di sfarfallamento dell'ospite, nel caso di crisalidi rimaste indenni;
- peso dei pupari del parassita;
- percentuali di parassitizzazione in base al rapporto n° pupari/n° crisalidi.

RISULTATI E DISCUSSIONE

A. - Effetti sull'ospite *Galleria mellonella* L.

1. Peso delle crisalidi « indenni ».

Crisalidi maschili. - Le variazioni ponderali rispecchiano fedelmente l'andamento che verrà descritto in seguito per altri parametri; infatti troviamo che i pesi maggiori si sono avuti nelle tesi B e C con 139,61 e 136,38 mg rispettivamente, mentre i pesi minori si sono registrati nella tesi E con 123,28 mg, con uno scarto di 16,33 punti, pari all'11% sul

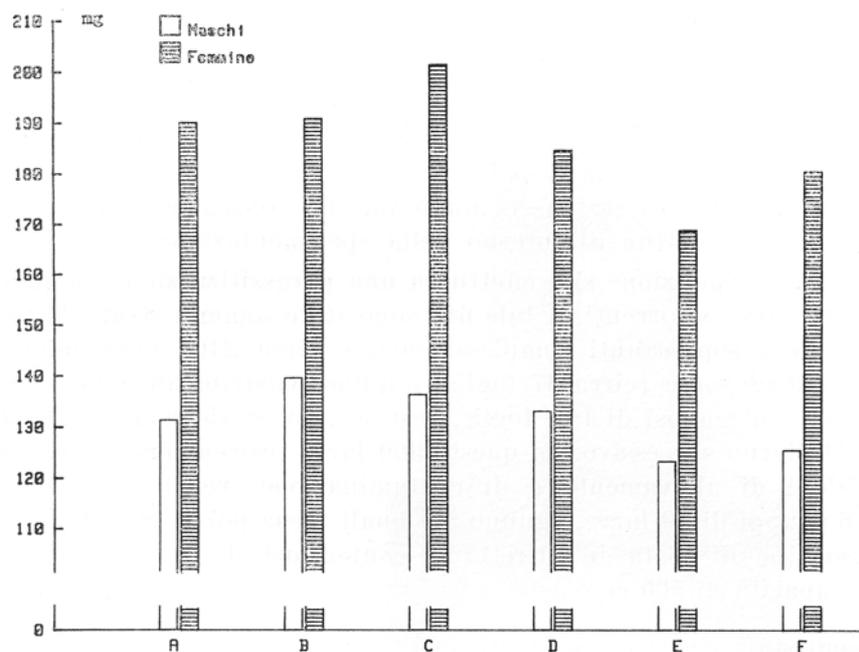


FIG. I

Galleria mellonella L. Pesi delle crisalidi indenni (in cui non si è formato il pupario del parassita), ottenute nei vari tipi di dieta.

valore maggiore (fig. I). Le differenze fra le varie tesi non sono tuttavia risultate significative.

Crisalidi femminili. - Riguardo il peso delle forme indenni si riscontrano differenze significative fra le varie tesi, fenomeno che non viene evidenziato per le crisalidi parassitizzate, molto probabilmente a causa dell'influsso esercitato dal parassita. Negli istogrammi di fig. I il valore più elevato si osserva nella tesi C, con 201,51 mg, mentre il peso più basso si è avuto nella tesi E, con 168,85 mg. Il campo di variazione è stato di 32,65, pari al 16% sul dato maggiore e al 19% sul dato minore. Dall'analisi della varianza effettuata tramite sistema a blocchi randomizzati, con test di Duncan sulla differenza tra le medie, risulta una significatività al 5% e in alcuni casi all'1% come risulta dalla tabella che segue.

n°	Tesi	Peso medio mg.	Non significativo fino alla tesi n°	
			P 1%	P 5%
1	C	201,51	4	3
2	B	190,36	5	5
3	A	190,12	5	5
4	D	184,67	6	5
5	F	180,45	6	6
6	E	168,85		

Da quanto sopra emerge che nelle crisalidi indisturbate, cioè non sottoposte alla complessa azione fisiologica del parassita, la cera impiegata, nei suoi vari tipi, diversifica la propria azione e, inoltre che il non uso della cera determina elevati decrementi di peso delle crisalidi.

2. Peso delle crisalidi parassitizzate.

Crisalidi maschili. - Il valore più elevato si riferisce alla tesi E, con 151,22 mg, mentre quello più basso si riferisce alla tesi F con 132,35 mg. Il campo di variazione dei dati estremi è quindi di 18,87 mg, pari al 12,4% sul dato più elevato, e al 14,2% sul dato più basso; i valori relativi alle altre tesi si collocano entro questo intervallo in modo relativamente omogeneo. L'elaborazione statistica dei dati effettuata tramite analisi della varianza con test di Duncan non ha posto in evidenza differenze significative.

Crisalidi femminili. - Le tesi che raggiungono i valori più elevati sono la D e la C, rispettivamente con 195,24 e 195,17 mg, mentre le tesi con valori più bassi sono la E e la F, con 181,01 e 176,73 mg rispettiva-

mente. Il campo di variazione risulta perciò di 18,51 mg, pari al 10,4% sul dato minore, con uno scarto troppo basso per potere risultare statisticamente significativo.

3. Tempo d'incrisalidamento ⁽³⁾ degli individui « indenni ».

Crisalidi maschili. - Nell'istogramma di figura II si nota che i tempi minori si sono avuti nelle tesi C, D e F, mentre i tempi maggiori

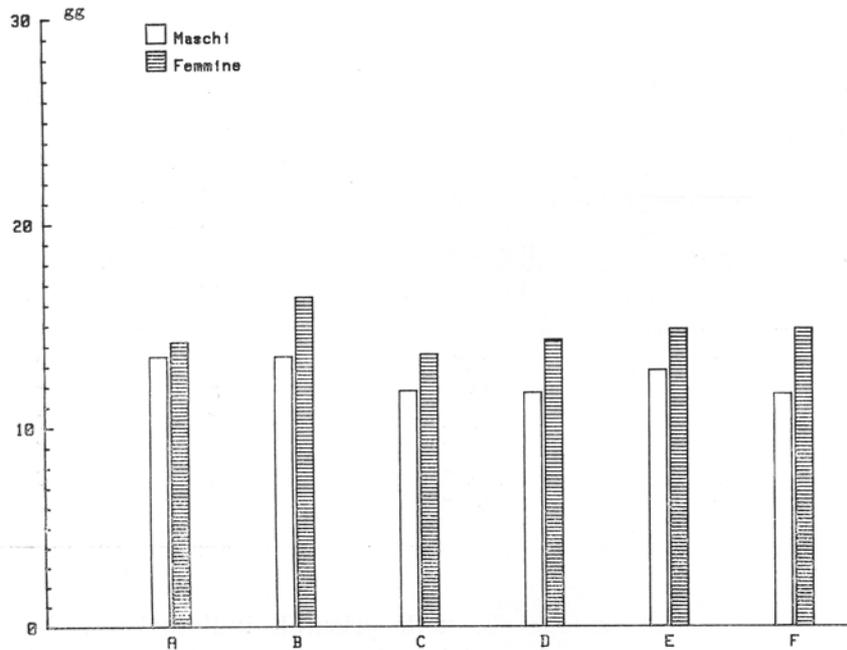


FIG. II

Galleria mellonella L. Tempi intercorrenti fra le fasi intermedie della penultima età e l'incrisalidamento nelle diverse diete.

n°	Tesi	Tempo medio gg.	N.S. fino a (5%)
1	B	13,5	4
2	A	13,5	4
3	E	12,8	6
4	C	11,8	6
5	D	11,7	6
6	F	11,6	

(3) Con tale dizione s'intende l'intervallo temporale medio intercorrente tra la VI età dell'ospite (al momento dell'isolamento) e la formazione della crisalide.

sono occorsi alle tesi A e B. Lo scarto è stato di 1,9 giorni, pari al 16% sul valore minore. Le differenze sono risultate significative al 5%.

Crisalidi femminili. - Gli istogrammi sono abbastanza simili ai precedenti. I tempi maggiori si sono avuti nella tesi B, mentre la tesi con i tempi più bassi è stata la C. Lo scarto è di 2,8 giorni, pari al 20% sul dato minore.

Come risulta dalla seguente tabella le differenze sono risultate significative solo fra la tesi B e C.

n°	Tesi	Tempo medio gg.	N.S. fino a (5%)
1	B	16,4	5
2	E	14,8	6
3	F	14,8	6
4	D	14,3	6
5	A	14,2	6
6	C	13,6	

4. Tempi d'incrisalidamento degli individui parassitizzati.

Crisalidi maschili. - I valori più elevati risultano nelle tesi C e D, con 12,6 e 12,5 giorni rispettivamente. I valori più bassi si sono riscontrati nelle tesi E e F con 10,8 e 9,9 giorni rispettivamente. Il campo di variazione risulta di 2,7 giorni. Per questo parametro l'analisi della varianza non ha messo in luce differenze significative.

Crisalidi femminili. - I tempi d'incrisalidamento, come già riferito per i pesi delle crisalidi, risultano più elevati per gli individui femminili in relazione al dimegetismo esistente fra i due sessi del lepidottero. Il valore più elevato è stato raggiunto nella tesi D, ove sono occorsi mediamente 16,8 giorni per giungere alla formazione delle crisalidi; i valori più bassi si sono avuti nelle tesi C e F, con 12,2 e 12,5 giorni rispettivamente. Gli altri valori si aggirano entro un intervallo che va dai 13,1 ai 13,7 giorni. Il campo di variazione è stato perciò di 4,6 giorni. In tutte e cinque le ripetizioni i tempi d'incrisalidamento degli individui femminili sono risultati nettamente maggiori nella tesi D.

5. Percentuali d'incrisalidamento.

Sono date dal rapporto fra il numero totale di crisalidi formatesi e il numero di larve impiegate nelle varie prove. Tale parametro ha lo scopo di evidenziare fattori di mortalità a carico delle larve di *Galleria*,

come le percentuali di sfarfallamento li denunciano nei riguardi delle crisalidi. Sono quindi due parametri che s'integrano in quello della resa in adulti.

Riguardo ai risultati, si può dire che l'analisi della varianza non ha messo in luce alcuna significatività. Il dato minore si è avuto nella tesi C con 70,6% e quello maggiore nelle tesi A e B con 76 e 77,4% rispettivamente, con un campo di variazione di soli 6,8 punti percentuali. I dati fra le varie tesi risultano pertanto abbastanza omogenei.

6. Percentuali di sfarfallamento.

Sono date dal rapporto fra il numero di adulti di *Galleria* e quello delle crisalidi indenni, nelle quali non si è formato il pupario del parassita. Il valore più elevato si riscontra nella tesi C con 77,3%, mentre i valori più bassi si sono avuti nelle tesi E e F con 69,7 e 67%. Lo scarto quindi di 10,3 punti fra le tesi C e F.

Anche se le differenze non sono significative, si può notare che le tesi E e F raggiungono in riguardo a molti parametri, valori minori rispetto alle altre tesi, mentre le tesi che raggiungono valori più elevati sono di solito la C e la D, cioè quelle a cera purificata.

7. Resa in adulti.

È calcolata in base al rapporto fra il numero d'individui adulti dell'ospite ed il numero di larve impiegate nella sperimentazione.

È un dato complementare a quelli già discussi. In questo caso si è potuto osservare che il valore più elevato in assoluto è quello relativo alla tesi B, con 49,7% mentre quello più basso si ha nella tesi F con 40,5%. Lo scarto percentuale è quindi di 9,2 punti; le altre tesi oscillano entro valori che vanno dal 45,4 al 41,1%.

B. - Effetti sul parassita *Pseudogonia rufifrons* Wied.

1. Percentuali di parassitizzazione.

Sono date dal rapporto fra il numero dei pupari e quello delle crisalidi totali. Il valore più elevato si è avuto nella tesi C, con 42,5% e quello più basso nella tesi F con 32,9%, si è avuto perciò uno scarto di 9,6 punti in percentuale, che non è risultato significativo. Le altre tesi oscillano in modo relativamente omogeneo entro questo intervallo.

2. Peso dei « pupari ».

In ospiti maschili. - Anche per questo parametro l'elaborazione statistica dei dati non ha evidenziato differenze significative; però, quasi a

conferma di quanto precedentemente affermato, si è ripetuto l'andamento già messo in evidenza per le crisalidi dell'ospite. I pesi maggiori si sono avuti nella tesi D, con 70,67 mg, mentre i pesi minori si sono avuti nella tesi F con 60,79 mg. Il campo di variazione risulta perciò di 9,88 mg, pari al 14% circa.

In ospiti femminili. - La tesi D ha dato i valori più elevati con 91,61 mg, mentre nelle tesi E e F si sono riscontrati i pesi minori, rispettivamente 77,91 e 80,91 mg. Il campo di variazione è stato di 13,7 mg, pari a circa il 15% sul dato massimo.

Anche per ciò che concerne i pesi di questi pupari, pur non essendo le differenze significative, si può notare come nelle tesi E e F si siano formati, costantemente, pupari di peso inferiore.

3. Indici di trasferimento.

S'intende con ciò il rapporto fra il peso dei « pupari » e il peso delle crisalidi entro le quali si sono formati. Questo parametro ha la funzione di mettere in evidenza il grado di sfruttamento dell'ospite operato dal parassita.

Pupari provenienti da ospiti di sesso maschile. - Il valore più elevato si è riscontrato a livello dei pupari della tesi D, con 0,480, mentre i valori più bassi si sono avuti nelle tesi E e F, con 0,462 e 0,459 rispettivamente, con un campo di variazione di 0,021, pari al 4,5%. Anche in questo caso si osserva, in pratica, l'andamento già messo in luce in precedenza a riguardo dei pesi delle crisalidi e dei pesi dei pupari.

Pupari provenienti da ospiti di sesso femminile. - Questi valori, rispetto a quelli relativi ai pupari ottenuti nelle crisalidi maschili, sono mediamente più bassi, anche se ripetono l'andamento dei precedenti. Infatti i valori più elevati si sono avuti nelle tesi B e D con 0,470 e 0,469 rispettivamente, mentre nella tesi E si è riscontrato il valore più basso con 0,430. Il campo di variazione risulta di 0,040, pari al 9% circa sul dato minore. L'analisi della varianza non ha dato risultati significativi.

4. Percentuali di sfarfallamento.

Sono date dal rapporto tra il numero degli adulti e quelli dei pupari ottenuti. I valori più elevati si sono registrati nelle tesi D e B, con 87,4 e 87% rispettivamente, mentre quello più basso si è verificato nella tesi C con 75,6%. Lo scarto è stato quindi di 11,8 punti in percentuale. Le altre tesi si mantengono su valori intermedi. Questo parametro ha lo scopo di evidenziare la vitalità dei pupari del parassita e di mettere in luce eventuali fattori capaci d'inibire lo sviluppo dell'immagine.

VALUTAZIONE GLOBALE DEI RISULTATI

Per potere effettuare una valutazione generale degli effetti dei diversi tipi di cera, occorre confrontare parametri molto diversi fra di loro. A tale scopo si può ricorrere ad un semplice sistema consistente nell'attribuire un punteggio ai vari parametri e di sommare i loro valori per ciascuna tesi, ottenendo così un'indicazione globale di riferimento dei risultati ottenuti. Come punteggio si assegna un + ai valori più elevati dei vari parametri (come pesi, percentuali, ecc.) positivi e un — ai valori più bassi di tali parametri, nonché a quelli più elevati però con riflessi negativi (tempi di incrisalidamento) (vedasi tabella I).

TABELLA I. - Valutazione globale dei risultati.

	D i e t a					
	A	B	C	D	E	F
1) Pesi crisalidi indenni ♂♂		+	+		—	—
Pesi crisalidi indenni ♀♀		+	+		—	—
2) Pesi crisalidi parass. ♂♂	—			+	+	—
Pesi crisalidi parass. ♀♀			+	+	—	—
3) Tempi incrisal. indenni ♂♂	—	—	+	+		
Tempi incrisal. indenni ♀♀	+	—	+			—
4) Tempi incrisal. parass. ♂♂			—	—	+	+
Tempi incrisal. parass. ♀♀			+	—	—	+
5) % incrisalidamento	+	+	—	—		
6) % sfarfallamento ospite		+	+		—	—
7) Resa adulti ospite	+	+			—	—
8) % di parassitizzazione	+	—	+			—
9) Pesi pupari parassita						
da ospiti maschili	—			+	+	—
da ospiti femminili	+			+	—	—
10) Indici di trasferimento						
in ospiti maschili		+		+	—	—
in ospiti femminili		+	—	+	—	
11) % sfarfallamento parassita		+	—	+	—	
	— 3	— 3	— 4	— 3	— 10	— 11
	+ 5	+ 8	+ 8	+ 8	+ 3	+ 2
A: + 2	B: + 5	C: + 4	D: + 5	E: — 7	F: — 9	

Come appare dalla tabella, le tesi che hanno dato i risultati migliori sono la B e la D, mentre quelle che hanno fornito i risultati peggiori sono la E e F, cioè rispettivamente le tesi con dieta priva di cera e con cera non purificata sciolta alla fiamma. Le tesi B e D contengono

cera non purificata e purificata in dose triplice. Poiché la cera rappresenta l'ingrediente più costoso della dieta e visto che le differenze non sono molto forti rispetto alla tesi A (cera non purificata in dose normale), si conclude che, tutto sommato è questa la dieta che conviene adottare. Sono invece assolutamente da escludere la dieta priva di cera e quella con cera non purificata sciolta alla fiamma, che hanno ottenuto un punteggio fortemente negativo.

RIASSUNTO

La ricerca è stata condotta effettuando cinque ripetizioni. Ciascuna prova è formata da sei tesi che variano unicamente per la quantità e la qualità della cera immessa nella dieta: tesi A (con cera non purificata in dose normale 150 g); tesi B (con cera non purificata in dose triplicata 450 g); tesi C (con cera purificata in dose normale 150 g); tesi D (con cera purificata in dose triplicata 450 g); tesi E (senza cera); tesi F (con cera non purificata sciolta alla fiamma 150 g).

Le differenze tra i valori dei vari parametri considerati (peso delle crisalidi «indenni» e parassitizzate, tempo impiegato per giungere all'incrisalidamento, percentuali d'impupamento e sfarfallamento dell'ospite, percentuali di parassitizzazione, peso dei pupari del parassita, indici di trasferimento e percentuali di sfarfallamento del parassita) non sempre sono apparse significative; tuttavia una valutazione globale dei risultati indica che i migliori, sia per quanto concerne l'ospite (*Galleria mellonella* L.) che il parassita (*Pseudogonia rufifrons* Wied.), si sono ottenuti nelle tesi B e D e i peggiori nelle tesi E e F. Tenuto conto che la cera rappresenta l'ingrediente più costoso, si conclude che è più conveniente adottare la dieta A, la quale ha dato risposte vicine a quelle ottimali, pure contenendo cera non purificata in dose normale.

Importance of wax in the semiartificial diet of *Galleria mellonella* L.
substitute host for the parasite *Pseudogonia rufifrons* Wied.

SUMMARY

The research has been carried out in five repetitions. Each test is composed of six groups varying according to the quantity and the quality of wax introduced into the diet: A) with non purified wax in normal dose 150 g; B) with non purified wax in triplicate dose 450 g; C) with purified wax in normal dose 150 g; D) with purified wax in triplicate dose 450 g; E) without wax; F) with no purified wax melted on fire 150 g.

The differences between the values of the different parameters taken into consideration (weight of unparasitized and parasitized chrysalids, time necessary to pupate, percentages of pupation and emergence of the host, percentage of parasitism, weight of pupae of the parasite, indexes of transfer and percentages of emerging of parasite) have rarely appeared to be significative. Nevertheless a global estimation of the data shows that the best results (both for the host and the parasite) were obtained in groups B) and D) while the worst in groups E) and F). Taking into consideration the fact that wax is the most expensive ingredient, we can conclude that the introduction of diet A, that has given almost optimum results, is the most convenient even if it contains non purified wax in normal dose.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- BECK S. D., 1960. — Growth and development of the greater wax moth *Galleria mellonella* L. - *Wis. Acad. Arts, Sci., Lett.*, 49: 137-148.
- CAMPADELLI G., 1973. — Allevamento di *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera Galleriidae) con dieta semiartificiale. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 11-25.
- CAMPADELLI G. e BARONIO P., 1978. — Indagine sulla capacità di sviluppo in laboratorio di un gruppo di Ditteri Tachinidi sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleriidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 34:27-33.
- LOUVEAUX J., 1980. — Les Abeilles et leur élevage. - 220 pp., Hachette.
- TULLOCH A. P., 1980. — Beewax-composition and analysis. - *Bee World*, 61: 47-62.