GUIDO CAMPADELLI

Istituto di Entomologia dell'Università degli Studi di Bologna

Allevamento di Galleria mellonella L. (Lepidoptera Galleriidae) con dieta semiartificiale.

Premessa

Per potere affrontare efficacemente lo studio dei fenomeni del parassitismo negli Insetti entomofagi e in particolare dei complessi rapporti fisiologici che intercorrono tra i due simbionti antagonisti, è indispensabile disporre in laboratorio di un allevamento continuato sia dell'ospite che del parassita.

Nel nostro Istituto si è pensato di utilizzare quale ospite la Galleria mellonella L., Lepidottero Galleriide ben noto nella sua etologia e nella sua biologia, in quanto diffusamente impiegato come animale da laboratorio per lo studio della fisiologia degli Insetti. Come parassita stiamo tentando d'impiegare il Dittero Larvevoride Nemoraea pellucida Meig., specie ovovivipara, con larva della I età di tipo planidio che depone negli ambienti frequentati dall'ospite. Esso in natura non attacca la Galleria, ma abbiamo potuto sperimentalmente osservare il suo sviluppo a spese delle larve del nostro lepidottero; tale entomofago, inoltre, è stato studiato ampiamente da Mellini (1963).

Sia per l'ospite che per il parassita sono richiesti alcuni requisiti indispensabili perchè possano costituire un materiale idoneo per lo studio sperimentale dei fenomeni attinenti il parassitismo:

- 1) Possibilità di essere allevati, in continuità durante tutto l'anno, e di conseguenza elevato numero di generazioni.
- 2) Notevole vitalità e comunque elevata adattabilità alle condizioni di laboratorio.
- 3) Possibilità di essere allevati con relativa facilità, e per quanto concerne l'ospite, su diete artificiali o semiartificiali o comunque su materiale inerte.

Sotto questi aspetti la G. mellonella L. è certamente un ospite ideale e lo dimostra il fatto che essa viene comunemente allevata nei laboratori sia con dieta naturale (¹) sia su dieta semiartificiale.

⁽¹) Cfr. al riguardo Biliotti e Desmier de Chenon (1971) i quali allevano il nostro lepidottero su cera e polline.

Dopo varie prove iniziali con pabulum naturale, abbiamo preferito orientarci verso una dieta semiartificiale. Tale scelta è stata effettuata allo scopo di disporre di un pabulum sicuramente indenne in partenza (senza ricorrere ad una disinfestazione preliminare) da larve di G. mellonella L. e della confamiliare Achroia grisella (F.), nonchè del temibilissimo Imenottero Calcidide Dibrachys boucheanum (Ratz.), parassita di Galleria assai diffuso e ben difficilmente eliminabile una volta introdotto inavvertitamente nell'allevamento mediante favi invasi dai suoi bianchicci, ma non sempre ben evidenti, bozzoletti.

Per quanto riguarda le diete semiartificiali esiste un'ampia letteratura; varie sono state quelle da me sperimentate, senza però ottenere risultati sufficientemente positivi.

La dieta di Pipa (1963), ad esempio, comprendente « Gerber Misto Cereali » e altri ingredienti, mi è apparsa troppo fluida, per cui le larve, anzichè avere la possibilità di muoversi liberamente nella massa, finivano con l'affondarvi. Anche le diete di Waller (1965), di Haydak (1936), di Young (1961), di Good et alii (1953) presentavano una eccessiva fluidità, per cui le larve incontravano gli inconvenienti sopradescritti. Fra le varie diete da me provate, quella di Beck (1960) ha dato i migliori risultati, seppure non del tutto soddisfacenti, e su di essa pertanto ho concentrato la mia attenzione.

COMPOSIZIONE DELLA DIETA SEMIARTIFICIALE

Le larve di Galleria mellonella L. vengono dunque da noi allevate sulla dieta di Beck (1960) modificata.

I recipienti contenenti le larve ed il pabulum sono mantenuti in cella climatica, in completa oscurità, con temperatura di 27.5 ± 1 °C e con umidità relativa pari al $75\%\pm5\%$.

La dieta inizialmente era composta dai seguenti ingredienti:

miele.												$25\mathrm{g}$
glicerin												
acqua												
pabulu												
lievito	di	b	irr	\mathbf{a}								$10 \mathrm{g}$
cera d	ap	i										5 g

Partendo da questo schema base ho poi operato diverse modifiche nel costante tentativo di eliminare o per lo meno di ridurre, in parte, i limiti riscontrati nelle varie diete sopra ricordate.

⁽¹) Abbiamo utilizzato quello della ditta Buitoni (Nipiol cinque+uno) che contiene i seguenti prodotti: crema di riso, crema di avena, farina di segala, farina di grano, crema d'orzo, farina di soja, amido di mais, proteine del latte, sale, gluconato ferroso, vitamine A, B, B₆, PP, C, D.

Per prima cosa ho sostituito, nelle stesse proporzioni, il lievito di birra con il « bacto yeast extract » (difco) per evitare che, col passare del tempo, la dieta divenisse acida e di conseguenza non gradita alle larve.

Un'altra modifica è stata apportata al processo di liquefazione della cera vergine d'api. Seguendo la su riportata formula di Beck, la cera viene liquefatta mediante etere dietilico; avendo però notato che l'odore di etere persisteva a lungo nella dieta, nel timore che in qualche modo esso potesse nuocere alle larve, ho preferito liquefare la cera a bagno maria.

Nonostante queste modifiche, continuavano a verificarsi alcuni inconvenienti di una certa gravità e precisamente: forte asincronia nello sviluppo anche di larve provenienti da una medesima ovatura e inoltre lunga durata dello sviluppo larvale. Infatti per compiere l'intero ciclo, da uovo a uovo, sono occorsi, nella maggior parte dei casi osservati, 70 giorni (ciclo con 6 stadi larvali), con punte massime (limitate a pochi individui) di 87, 89, 103 giorni, rispettivamente per cicli comprendenti 7, 8, 9 stadi larvali (vedi tabella III).

Per porvi rimedio, dopo varie prove, ho aggiunto alla dieta sopra descritta le seguenti sostanze:

colesterolo							$0,6~\mathrm{g}$
acido ascorbico.							$0.6~\mathrm{g}$
saccarosio (D+)							0,6 g
nipagina							$0,1~\mathrm{g}$

L'addizione di colesterolo, in particolare, ha permesso di effettuare, salvo quiescenze più o meno prolungate nello stadio di larva imbozzolata, l'intero ciclo da uovo a uovo della generazione successiva in un periodo che si aggira in media sui 55 giorni (per sviluppi compiuti attraverso 6 stadi larvali) con variazioni in più con l'aumentare degli stadi larvali (61 gg per cicli con 7 stadi) o in meno col diminuire degli stadi stessi (55 gg per cicli con 5 stadi) (vedi tabella II). La durata delle altre fasi del ciclo del lepidottero si mantengono invece costanti e pari, in media, a: 7 giorni per lo sviluppo embrionale, 4 giorni per lo stadio eopupale, 11 giorni per quello di crisalide, mentre intercorrono da qualche ora a un giorno tra lo sfarfallamento e l'inizio della ovideposizione.

In prove successive sono state aggiunte alla dieta dosi diverse di colesterolo e precisamente 2%, 1%, 0,5%, 0,2%, 0,1%, 0,05%, 0,01%. Allevando la prole di una singola femmina si è visto che, per quanto concerne la durata dello sviluppo postembrionale e il peso delle crisalidi, non vi sono differenze sensibili per quantitativi di colesterolo compresi tra il 2% e lo 0,05%; per dosi dello 0,01% si è verificato invece un forte aumento della durata media dello sviluppo postembrionale, che è salito da circa una quarantina di giorni a oltre 72, e un sensibile decremento del peso delle crisalidi. Questi dati sono riportati nella tabella I; da notare che ciascun gruppo di Galleria era costituito inizialmente da una ventina di larve neonate.

Da quanto sopra emerge dunque che è sufficiente una dose di colesterolo pari a meno di un decimo di quella effettivamente impiegata nei nostri allevamenti.

Tabella I. – Azione delle varie concentrazioni di colesterolo su larve allevate singolarmente e provenienti da una stessa femmina.

Dosi colesterolo	N° cri-		ta svilup embriona		Р	eso crisalio	li	Nº eopupe in stato di
	salidi	Media	Min.	Max.	Media	Min.	Max.	quiescenza
2%	5	41	36	53	0,241	0.038	0,664	4
1%	4	38,3	38	39	0,159	0,088	0,207	_
0,50%	6	38.75	38	41	0,174	0,114	0,243	_
0,20%	8	46,5	36	86	0,165	0,114	0,217	_
0,10%	7	38	36	44	0,150	0,038	0,257	1
0,05%	4	41	36	44	0,148	0,097	0,224	4
0,01%	4	72,5	72	73	0,124	0,093	0,136	_

L'aggiunta di ac. ascorbico è stata suggerita da vari dati sperimentali che hanno indicato come tale vitamina abbia la capacità di aumentare la resistenza organica delle larve in genere. Così Levinson e Navon (1969) l'hanno utilizzato per ottenere una più elevata percentuale di crisalidi e di adulti in allevamenti del Lepidottero *Prodenia litura* L.; secondo Hurpin (1962) essa svolgerebbe un'azione generale protettrice contro le varie avitaminosi cui possono essere soggetti gli Insetti allevati in diete artificiali.

La nipagina (metil-p-idrossibenzoato) è stata immessa per evitare la formazione di muffe che altrimenti in pochi giorni finiscono col ricoprire la dieta, causando danni più o meno sensibili alle larve (tra l'altro comparsa di chiazze scure in varie parti del corpo).

PREPARAZIONE DELLA DIETA

In un cristallizzatore si pongono, nelle proporzioni in precedenza indicate, gli ingredienti in polvere (bact yeast extract, misto cereali, ecc.) e in un altro gli ingredienti semisolidi e fluidi (miele, glicerina, ecc.). In un terzo cristallizzatore si fa liquefare la cera vergine d'api a bagno maria.

Innanzitutto vengono miscelati bene gli ingredienti in forma pulverulenta per ottenere una distribuzione omogenea e così pure quelli fluidi e semifluidi. Successivamente la miscela costituita dalle parti fluide viene versata nel cristallizzatore contenente i composti in polvere. Appena effettuata tale operazione, il tutto viene mescolato affinchè la dieta possa assumere una forma granulare. Quando la cera d'api è completamente liquefatta viene versata su tale pabulum che subito viene miscelato affinchè la cera possa essere incorporata.

La consistenza granulare della dieta è una caratteristica molto importante perchè permette alle larve di potersi facilmente insinuare nel substrato come sono solite fare in ambiente naturale.

A questo punto la dieta è pronta per essere somministrata, ovvero può essere conservata a lungo in frigorifero alla temperatura di 4 °C, secondo necessità.

TECNICA DI ALLEVAMENTO

La maggior parte degli Autori (come ad esempio Beck, 1960) per ottenere l'accoppiamento immettono gli adulti entro cristallizzatori di medie dimensioni ($190 \times 100 \text{ mm}$).

Personalmente ho riscontrato come sia più soddisfacente allo scopo l'adozione di cilindri di vetro $(15 \times 6,5 \text{ cm})$ chiusi alle due estremità con garza, in ciascuno dei quali viene posta una singola coppia (1).

Dadd (1964), per favorire la deposizione delle uova, interponeva tra la garza esterna e il bordo del recipiente un anello di carta da filtro; noi abbiamo preferito sostituirlo con carta gommata (altezza 2 cm) aderente sia alla superficie interna che esterna del bordo del cilindro. Le uova vengono regolarmente incollate dalla femmina su tale carta, che può essere tolta senza che se ne distacchino. Una volta applicata la carta, le due estremità del cilindro vengono chiuse mediante pezzi di tulle mantenuti aderenti alle pareti esterne mediante un elastico.

Le uova sono prelevate assieme al pezzetto di carta che le sopporta e quindi poste in capsula Petri di plastica (diametro 140 mm), provvista di abbondante dieta; successivamente vengono introdotte in cella termica, al buio completo, alla temperatura di 27.5 ± 1 °C e con umidità relativa pari al $75\% \pm 5\%$, quindi nelle stesse condizioni in cui venivano allevate da Jacox (1971).

In media in ciascuna capsula sono inizialmente collocate 650 uova. La durata dell'incubazione varia da 7 a 9 giorni pure nell'ambito della medesima ovatura. Noi abbiamo di norma prelevato le larvette sgusciate al 7º giorno, selezionando in tal modo quelle più precoci. Nonostante l'abbon-

⁽¹) La distinzione dei due sessi in *G. mellonella* L. è abbastanza agevole in base, come ha messo in evidenza Smith (1965), alle caratteristiche del margine distale delle ali anteriori, che nel maschio presentano un vistoso incavo, mentre nella femmina sono addirittura convesse. Inoltre i maschi sono di colore grigio chiaro mentre le femmine hanno una livrea di colore castagno scuro. Allo stadio di crisalide la distinzione è pure facile a livello degli uriti genitali: nella femmina l'VIII urosterno appare diviso medialmente da un solco longitudinale corrispondente all'apertura virtuale della borsa copulatrice, solco che ovviamente manca nella crisalide maschile la quale invece presenta due piccoli lobi nel IX urosterno ai lati del gonotrema (virtuale).

dante dieta alcune larve neosgusciate tendono ugualmente ad abbandonare l'abitacolo. Ho rimediato a tale inconveniente chiudendo ermeticamente le capsule con carta gommata. Solo quando le larve hanno raggiunto il terzo stadio tale precauzione non è più necessaria, poichè le loro dimensioni sono divenute tali da non permettere il passaggio tra l'orlo e il coperchio del contenitore.

Quando le larve cominciano a pervenire alla terza età, ne vengono scelte una trentina per ogni capsula, mentre le ritardatarie sono scartate. Di tanto in tanto sono aggiunti piccoli quantitativi di pabulum secondo necessità.

Nelle sopraddette condizioni di allevamento, dallo sfarfallamento degli adulti all'inizio della ovideposizione trascorre da un minimo di circa un'ora ad un massimo, peraltro eccezionale, di circa 1 giorno (¹). Il numero delle uova deposte da ciascuna femmina nelle prime 24 ore (che è il periodo di massima ovideposizione) si aggira in media sulle 650 unità; la prima placca, comprendente circa 250 elementi, viene emessa nel giro di 4-5 ore. Durante l'intero arco della sua vita (²) ogni femmina finisce con l'emettere in media 1400 uova (³); di esse, però, quasi una metà non schiude (⁴). Gli adulti neosfarfallati, in attesa di provvedere agli accoppiamenti (⁵), vengono posti entro provette (8×25 cm) nelle quali è collocato un pezzetto di cartone spalmato di miele ovvero, più semplicemente, viene lasciato il bozzolo sul quale rimane sempre una certa quantità di pabulum semiartificiale di cui si nutrono (⁶). Le provette sopracitate sono chiuse mediante un tappo di cotone idrofilo e mantenute nello stesso ambiente nel quale sono allevate le larve.

Le larve nutrite con la nostra dieta in cella climatica, nelle menzionate condizioni di temperatura e umidità, raggiungono la maturità in circa 28, 32 e 38 giorni, per sviluppi larvali completati rispettivamente attraverso 5, 6 e 7 stadi; con le altre diete da me sperimentate occorrevano fino a una sessantina di giorni.

⁽¹) Per quanto riguarda la durata degli accoppiamenti, che iniziano poco dopo lo sfarfallamento, ho rilevato tempi variabili da qualche minuto (6) fino a un'ora e un quarto. Faccio notare che le femmine vergini non ovidepongono.

⁽²⁾ È interessante rilevare che la durata della vita delle femmine adulte è assai più breve (circa la metà) di quella dei maschi. La vita media di 14 99 è risultata infatti di 13 giorni (minimo 9, massimo 20) mentre quella di 14 33, nelle stesse identiche condizioni, ha raggiunto i 22 giorni (minimo 18, massimo 32).

⁽³⁾ Per la precisione, la media di uova deposte da 14 femmine è risultata di 1428, con un minimo di 1065 e un massimo di 1922.

⁽⁴⁾ Se inoltre si considera che numerose larve soccombono durante lo sviluppo e che da varie crisalidi non sfarfallano gli adulti, ne emerge che, almeno in cattività, circa i 4/5 della progenie di una femmina vanno perduti durante l'ontogenesi.

⁽⁵⁾ Si noti che gli adulti sono in grado di accoppiarsi anche vari giorni dopo lo sfarfallamento.

⁽⁶⁾ Yendol (1970) alimenta gli adulti con una soluzione satura di saccarosio in acqua. Peraltro ho osservato che le femmine possono deporre le uova anche senza essersi minimamente nutrite.

Dutky et alii (1962) nei loro allevamenti di G. mellonella L. poterono osservare che le larve, per raggiungere la maturità, impiegavano 4 settimane a 34 °C, mentre a 30 °C tale tempo saliva a 6 settimane. Essi dimostrarono inoltre che la durata della vita larvale non dipendeva solo dalla temperatura ma anche dalla presenza di vitamine nella dieta; delle 10 vitamine utilizzate, due risultavano influire in modo spiccato sullo sviluppo larvale e precisamente la B_2 e la vitamina B_t .

Tabella II. – Durata dello sviluppo larvale in relazione al numero degli stadi attraversati (dieta con colesterolo).

	Sviluppo larvale con 5 stadi									
Stadi larvali	D	urata stadi		Durata media	N. casi	%				
larvan	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati					
\mathbf{L}_{1}	6,75	6	8	_		_				
L_2	4,62	3	11	_		_				
L_3	5,87	3	8	_	_					
L_4	3,37	2	5	_	_	_				
L_5	7,25	3	14			_				
-				27,86	8	15,38				

		Sviluppo larvale con 6 stadi									
Stadi larvali		Ourata stadi		Durata media	N. casi	%					
141 v 411	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	/0					
	- 00		0								
L_1	7,02	4	9	_							
L_2	4,72	1	10	_		_					
L_3	4,11	1	8	_	_	_					
L_4	4,52	1	8	_		_					
L_5	4,61	1	13	_		_					
L_{6}	7,33	2	17		_	_					
0				32,31	36	63,2					

	Sviluppo larvale con 7 stadi										
Stadi	D	urata stadi		Durata media	N. casi	%					
larvali	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	/0					
$_{\rm L_1}$	6,50	4	7	_	_	_					
$\hat{L_2}$	4,25	3	5								
L_3	5,50	3	8								
L_4	3,87	1	6	_							
L_5	4,12	3	5								
L_6	5,75	3	10								
L_7	8,25	4	12								
,				38,24	8	15,38					

Le varie operazioni sopradescritte, e in particolare la scelta delle larve della III età (separazione, ecc.), vengono effettuate per poter disporre di larve di ogni età in ogni periodo dell'anno ed hanno anche la funzione di ottenere, in un certo qual modo, una selezione genetica. Infatti Beck (1960) potè notare che, utilizzando esclusivamente le larve più precoci, dopo la IV generazione, la deviazione standard nello sviluppo larvale era più piccola di quella iniziale.

Nei nostri allevamenti, nonostante i vari accorgimenti adottati, lo sviluppo larvale di *Galleria* si è mantenuto estremamente difforme, come si può rilevare nella tabella II ove, per 52 individui, sono riportati il numero degli stadi attraversati, nonchè la loro durata media, minima e massima e la durata media di tutto lo sviluppo larvale.

Nella tabella III sono riportati comparativamente i dati relativi allo sviluppo larvale sulla stessa dieta, priva però di colesterolo. Il numero dei casi osservati (14) è notevolmente inferiore perchè con tale dieta la mortalità si innalza fortemente. A parte ciò la differenza più vistosa è data dall'aumento del numero degli stadi larvali attraversati, accompagnato da un notevole aumento della durata dello sviluppo larvale (1).

Tabella III. – Durata dello sviluppo larvale in relazione al numero degli stadi attraversati (dieta senza colesterolo).

Q4 7:	Sviluppo larvale con 6 stadi									
Stadi larvali	D	urata stadi		Durata media		0/				
- Iai vaii	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	%				
L_1	9,50	8	13		_					
L_2	6,83	6	9	_						
L_3	3,66	2	6							
L_4	5,66	2	12			merus.				
L_{5}	12,50	7	20							
L_{6}	9,16	7	12							
				47,31	6	42,85				

⁽¹) Effettivamente nelle tabelle II e III si rileva che col crescere del numero degli stadi larvali aumenta anche la durata della vita larvale: nella dieta con colesterolo una muta supplementare comporta un allungamento di circa 5-6 giorni (che è poi la durata media di un qualsiasi stadio); in quella senza colesterolo gli incrementi appaiono in genere notevolmente più lunghi e diversi.

		Sv	riluppo lai	vale con 7 stad	i	
Stadi larvali	D	urata stadi		Durata media	N. casi	%
	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	/0
$\mathbf{L_{i}}$	8,00	7	9	_	_	
L_2	9,50	6	13	_		_
L_3	12,00	8	16	_		
L_4	5,50	4	7	_		
L_5	10,00	9	11			
L ₆	12.00	12	12	_		
L ₇	7,50	7	8			
′	, , , ,			64,50	2	14,28

		S	viluppo la	rvale con 8 stad	i	
Stadi Iarvali	D	urata stadi		Durata media	N. casi	%
larvan	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	
\mathbf{L}_{1}	9,20	6	16			
L_2	7,60	7	11	_		_
L_3	4,00	3	5	_		
L_4	7,40	5	10	_		
L_5	8,80	4	15	_		_
Γ^{e}	14,20	5	23	_		
L_7	17,00	7	32			_
L_8	8,20	5	11	_		
-				76,40	5	35,71

~		Sv	viluppo lar	vale con 9 stad	i	
Stadi larvali	Dı	ırata stadi		Durata media	N. casi	%
larvan	Media	Min.	Max.	vita larvale	osservati	
L_1	4	_	_		-	
L_2	9					
Γ^3	9		_	_		
L_4	5		_	_	-	
L_5	11	_		_		
L_6	11	_	_	_	_	_
L_7	13			_		
L_8	9				-	
$L_{\mathfrak{g}}$	9	_	_			_
				80	1	7,14

Il confronto fra le due tabelle mostra che la presenza del colesterolo nella dieta porta ad una diminuzione del numero delle mute (da 6-9 e 5-7) e della durata media della vita larvale che scende da 47,31-80 giorni a 27,86-38,24 giorni. A ciò va aggiunto il fatto che l'addizione del colesterolo nella suddetta dieta fa praticamente raddoppiare il peso medio della crisalide, come appare nell'annessa tabella IV ove vengono posti a confronto il peso di individui allevati su diete variamente formulate.

Tabella IV. - Peso delle crisalidi in relazione alla dieta.

Dieta	N.	Peso crisalidi					
21000	crisalidi	Media	Min.	Max.			
Cera (a scaglie) $+$ polline	31	0,216	0,061	0,318			
Cera (blocco) + polline	47	0,176	0,107	0,275			
Dieta artificiale con colesterolo							
$\supsetneq A$	59	0,175	0,094	0,241			
$\mathrel{\supsetneq} B$	79	0,181	0,054	0,270			
$\cup C$	34	0,192	0,122	0,309			
? D	17	0,200	0,128	0,267			
Dieta artificiale senza colesterolo	8	0,092	0,074	0,114			
Favo	17	0,155	0,103	0,302			

Le differenze ponderali tra i sessi compaiono nella tabella V nella quale vengono riportati i pesi di 189 crisalidi ottenute da allevamenti col normale pabulum con colesterolo (1).

Tabella V. - Peso delle crisalidi in relazione al sesso.

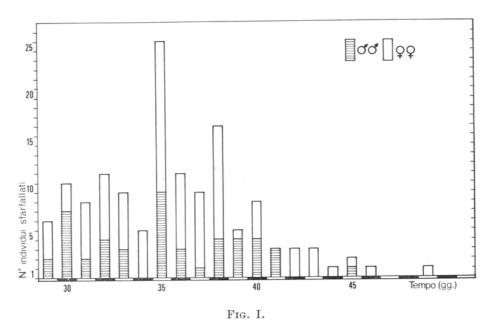
오	♀ Crisalidi totali (*)					Crisa	alidi 33		Crisalidi ♀♀				
ma-	N				N.		Peso				Peso	Peso	
dre	11.	Media	Min.	Max.	Media Min. Max.				N.	Media	Min.	Max.	
A	59	0,175	0,094	0,241	21	0,152	0,094	0,203	23	0,206	0,150	0,241	
B	79	0,181	0,054	0,270	32	0,151	0,054	0,230	41	0,208	0,110	0,270	
C	34	0,192	0,122	0,309	13	0,161	0,122	0,179	16	0,216	0,164	0,309	
$\mid D \mid$	17	0,200	0,128	0,267	5	0,144	0,128	0,166	9	0,226	0,176	0,267	

(*) In questa colonna sono compresi anche individui dei quali, non essendo stato accertato il sesso, non compaiono nelle successive colonne.

Le tabelle II e III mostrano inoltre chiaramente quanto sia difforme, in ogni caso, lo sviluppo larvale di *Galleria*, sia per quanto concerne il numero degli stadi attraversati (da 5 a 9) sia per quanto riguarda la durata di ogni singolo stadio; infatti, come si può osservare, in non pochi casi l'intervallo tra due mute successive, durante quasi tutto l'accrescimento, non supera la giornata, mentre le medie per i vari stadi variano da 4,11 a 7,35 (si confronti in particolare la tabella II nella colonna relativa allo sviluppo attraverso 6 stadi).

 $^{^{(1)}}$ Facciamo notare che pur risultando il peso delle femmine di un buon 25% superiore a quello dei maschi, la durata media dello sviluppo postembrionale è pressochè uguale nei due sessi.

Per quanto concerne il numero degli stadi larvali è opportuno sottolineare che esso è più comunemente di 6, non solo per individui allevati su dieta con colesterolo (69,23% dei casi) ma anche per quelli nutriti con dieta priva di tale sostanza (42,85% dei casi).



Durata dello sviluppo postembrionale nella discendenza di una singola femmina di Galleria mello nella L. Le larve sono state allevate su dieta semiartificiale con colesterolo.

La durata dello sviluppo postembrionale varia fortemente anche tra la prole di una singola femmina, come si può rilevare dall'istogramma della fig. I. In esso sono riportati i dati relativi all'intervallo di tempo intercorrente tra lo sgusciamento dell'uovo e lo sfarfallamento per i 137 adulti (89 99 e 48 33) ottenuti ponendo in allevamento in un unico contenitore 741 uova deposte da una femmina nel giro di 24 ore circa. Accanto ad una durata media dello sviluppo postembrionale pari a 35,46 giorni, se ne ha una minima di 29 giorni ed una massima di 49. Pressochè irrilevante invece la differenza tra le medie dei due sessi: 35,67 giorni per le femmine, 35,39 per i maschi.

È necessario qui ricordare che secondo la maggior parte degli Autori gli stadi larvali sarebbero otto. Secondo Moon e Carefoot (1972), allevando le larve con dieta artificiale alla temperatura di 32 °C e a fotoperiodo con 16 ore di luce e 8 ore di oscurità, queste attraversano addirittura dai nove ai dodici stadi. Beck (1960), invece, in allevamenti effettuati all'oscurità e con temperatura di 35 °C, ha ottenuto solo 7 stadi larvali.

In base a questi dati si potrebbe senz'altro concludere che il numero delle mute larvali, oltre che dipendere da fattori interni, è influenzato in larga misura da vari fattori esterni, come dieta, temperatura, ecc. Nel nostro caso la sensibile riduzione del numero delle età larvali è, almeno in parte, da porre in relazione con la forte dose di colesterolo presente nella dieta, come si può desumere dal confronto delle tabelle II e III.

Tabella VI. – Incidenza e durata della diapausa nella discendenza di varie femmine di G. mellonella L.

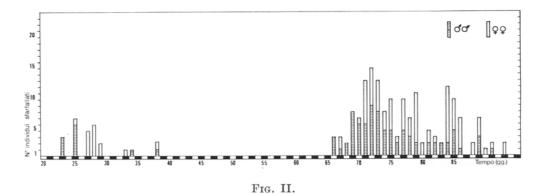
ç madre	N. larve mature	N. adulti sfarfallati	N. larve mature in quiescenza do- po oltre un mese	% individui quiescenti
I	79 59	73	6	7,67
III		44	15	25,42
	45	14	31	68,88
IV	43	29	14	32,55
V	43	12	31	72,09
VI	34	11	23	67,64
VII	26	8	18	69,23
			N. larve mature in quiescenza do- po oltre tre mesi	
VIII	25	24	1	4
IX	23	20	3	13,04
X	27	14	13	51,85
XI	33	20	13	39,39

Un altro fattore che rende ancora più vario il ciclo della nostra Galleria è rappresentato dalla sua possibilità di arrestarsi nello sviluppo come larva matura imbozzolata per un periodo di tempo estremamente variabile, da qualche giorno a diversi mesi (¹). La percentuale degli individui che entrano in quiescenza differisce enormemente tra la prole delle varie femmine (vedi tabella VI), ed anche secondo il pabulum. Per quanto abbiamo veduto tale tendenza appare più spiccata per le larve allevate su favo. In ogni caso, nel corso di questo primo anno di prove di allevamento, si è notato un progressivo forte incremento dei casi di quiescenza. Così, tra i figli di una stessa femmina, ad un primo lotto di sfarfallamenti regolari seguono variamente intervallati altri lotti più o meno cospicui distribuiti su un lunghissimo arco di tempo (vedi istogramma fig. II).

In conclusione, dunque, nel corso di questa prima fase di messa a punto di una soddisfacente tecnica di allevamento per la G. mellonella L., è emerso,

⁽¹) Al di fuori dell'ultima età non si riscontrano dei veri e propri arresti dello sviluppo ma in qualche caso dei semplici rallentamenti (vedi ad esempio nelle tabelle I e II i valori massimi delle permanenze nei vari stadi).

con nostra grande sorpresa, una estrema eterogeneità nel suo sviluppo postembrionale per cui è praticamente impossibile in un comune allevamento,



Andamento dello sfarfallamento della discendenza (allevata su favo) di una singola femmina di Galleria mellonella L. Appare evidente lo stato di quiescenza subito da una notevole aliquota di larve mature.

partendo da una data ovatura, disporre poi di individui appartenenti ad uno stesso stadio larvale. Dovendosi per le ricerche sui rapporti fisiologici ospite-parassita conoscere esattamente lo stadio dell'ospite al momento della contaminazione, tale materiale sarebbe pressochè inservibile. Il nostro attuale obbiettivo è pertanto quello di selezionare, se possibile, ceppi di *Galleria* nei quali lo sviluppo preimmaginale si svolga con un certo sincronismo attraverso un numero costante di mute e nei quali inoltre non si manifesti la tendenza, per le larve mature, di entrare in quiescenze più o meno protratte nel tempo.

RIASSUNTO

È stata messa a punto una dieta semiartificiale per l'allevamento continuato in laboratorio di Galleria mellonella L. (Lepidoptera Galleriidae), ospite di sostituzione per alcuni Ditteri Larvevoridi. Tale dieta è stata ottenuta modificando quella di Beck (1960), oltre che in alcune fasi della sua preparazione anche nella sua composizione. Si è sostituito infatti il lievito di birra con « bacto yeast extract » e si è aggiunto al quantitativo base di 100 g di pabulum, 0.6 g di colesterolo, 0.6 g di acido ascorbico, 0.6 g di saccarosio D(+)e 0,1 g di nipagina. Con simile pabulum, in cella climatica, in completa oscurità, a $+27^{\circ}\pm1^{\circ}$ C e con U.R. del 75% $\pm5\%$, le larve raggiungono la maturità, in media, in 32 giorni, nel caso, peraltro più frequente, che passino attraverso 6 stadi. Il numero degli stadi larvali è variato da 5 a 7 con la suddetta dieta, e da 6 a 9 con la stessa dieta però priva di colesterolo (contro i 9-12 riscontrati da altri Autori). Considerato che la durata della incubazione dell'uovo è di 7-9 giorni, che la vita crisalidale si protrae per 9-13 giorni e che dall'accoppiamento degli adulti alla deposizione delle prime uova intercorre un periodo che varia da un minimo di qualche ora ad un massimo di 24, ne deriva che per compiere una generazione col suddetto pabulum e nelle anzidette condizioni ambientali, la Galleria impiega in media 55 giorni (con 6 stadi larvali), con un minimo ed un massimo che si aggirano rispettivamente tra i 51 giorni (5 stadi larvali) e i 61 giorni (7 stadi).

Raising Galleria mellonella L. (Lepidoptera Galleriidae) with a semi-artificial diet.

SUMMARY

A semi-artificial diet was perfected for continual laboratory rearing of Galleria mellonella L. (Lepidoptera Galleriidae), a substitution host for some Diptera Larvaevoridae. The diet was obtained by the modifying Beck's diet (1960), in several phases of its preparation as well as its composition. In fact, beer yeast was substituted by «bacto yeast extract» and additions were made to the 100 g pablum base, 0.6 g of cholesterol, $0.6\,\mathrm{g}$ as corbic acid, $0.6\,\mathrm{g}$ saccharose D (+) and $0.1\,\mathrm{g}\,\mathrm{Methyl}\text{-p-Hydroxybenzoat}$ (Nipagina). With such pablum, in climatized cells, in complete darkness, at $+27^{\circ}\pm1$ C and with U.R. at $75\% \pm 5$, the larvae reach maturity on an average of 32 days, when, as frequently happens, they pass through 6 stages. The number of larval stages with the above diet varies from 5 to 7, or from 6 to 9 if the diet is lacking in cholesterol (in contrast to the 9-12 observed by other Authors). By considering that egg incubation lasts for 7-9 days, that the chrysalis stage is prolonged for 9-13 days and that from the mating of adults to the laying of the first eggs that varies from a minimum period of several hours to a maximum of 24, one may assume that for a complete generation cycle with this pablum and in the above mentioned conditions, about 55 days are necessary (with 6 larval stages), with a minimum of 51 days (five larval stages) and a maximum of 61 days (seven larval stages).

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.
- BILIOTTI E., DESMIER DE CHENON R., 1971. Le parasitisme de *Pales pavida* (Meig.) (Dipt. Tachinidae) sur *Galleria mellonella* L. (Lep. Galleridae). Mise au point d'un elevage permanent en laboratoire. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 3: 361-371.
- DADD R. H., 1964. A study of carbohydrate and lipid nutrition in the wax moth Galleria mellonella (L.) using partially synthetic diets. J. Insect Physiol., 10: 161-178.
- DUTKY S. R., THOMPSON J. V., CANTWELL G. G., 1962. A technique for mass rearing the greater wax moth (Lepidoptera: Galleriidae). *Proc. ent. Soc. Washington*, 64: 56-58.
- Good M. E., Morrison F. O., Mankiewicz E., 1953. Lipidolytic enzymes extracted from *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) reared on natural and artificial media. Can. Ent., 85: 252-253.
- HAYDAK M. H., 1936. Is wax necessary constituent of the wax moth larvae. Ann. ent. Soc. America, 29: 581-588.
- Hurpin B., 1962. Alimentation, developpement et fécondité chez les insectes. Annls. Nutr. Aliment., 16: 153-200.
- Jacox E. R., 1971. Rearing wax moth larvae. Coop. ext. Serv. Univ. Illinois, 2 pp.
- LEVINSON H. Z. and NAVON A., 1969. Ascorbic acid and unsaturated fatty acids in the nutrition of the Egyptian cotton leafworm, *Prodenia litura*. J. Insect Physiol., 15: 591-595.
- Mellini E., 1963. Studi sui Ditteri Larvevoridi. XI. Nemoraea pellucida (Meig.) su Spilaretia lubricipeda (L.) (Lepidoptera: Arctiidae). Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna, 26: 241-272.

- Moon B. J., Carefoot T. H., 1972. The energy requirements of metamorphosis of the greater wax moth *Galleria mellonella* (L.). *Can. J. Zool.*, 50: 67-75.
- PIPA R. I., 1963. Studies on the hexapod nervous system. VI. Ventral nerve cord shortening; a metamorphic process in *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). *Biol. Bull.*, 124: 293-302.
- SMITH T. L., 1937. Breeding methods for Galleria mellonella. In: Culture methods for invertebrate animals, Ithaca, New York Comstock Publishing Company, Inc.; cfr. pp. 349-352.
- SMITH T. L., 1965. External morphology of the larva, pupa and adult of the wax moth, Galleria mellonella. J. Kansas ent. Soc., 38: 287-310.
- Waller J. B. 1965. The effect of the venom of Bracon hebetor L. on the respiration of the wax moth Galleria mellonella (L.). J. Insect Physiol., 11: 1595-1599.
- YENDOL W. G., 1970. Fatty acid composition of Galleria larvae, haemolimph and diet (Lepidoptera: Galleriidae). Ann. ent. Soc. America, 63: 339-341.
- Young R. G., 1961. The effects of dietary and wax components on the larvae of the greater wax moth *Galleria mellonella* (L.). *Ann. ent. Soc. America*, 54: 657-659.