

Prove di selezione di popolazioni non soggette a diapausa del Lepidottero *Galleria mellonella* L.

(Ricerche eseguite con il contributo del C.N.R.)

GENERALITÀ

La diapausa è un fenomeno adattativo che facilita la sopravvivenza degli Insetti in condizioni sfavorevoli. Durante tale periodo l'esapode cessa ogni attività e il metabolismo viene mantenuto a un livello estremamente basso. Tutto ciò conferisce una particolare resistenza a condizioni ambientali avverse, per cui la diapausa consente agli Insetti di riprendere vita attiva quando l'ambiente sarà loro del tutto favorevole.

È però importante considerare che la diapausa non è direttamente riferibile alle avverse condizioni ambientali poichè si manifesta quando queste sono ancora propizie. Essa può quindi essere contrapposta alla « pseudo-diapausa » la cui insorgenza è una conseguenza diretta delle condizioni climatiche e nutrizionali che, risultando negative per gli organismi, agiscono direttamente su di essi causando la loro inattività.

Il determinismo della diapausa propriamente detta è un determinismo complesso e non ancora integralmente rivelato. Sappiamo che la diapausa è provocata dalla presenza o assenza di particolari ormoni secreti dalle cellule neuricrine dello gnato-cerebro e del protocerebro e che il sistema endocrino risente dell'influenza delle condizioni ambientali, ma non è ancora nota la causa prima di tale fenomeno; si ritiene però che la presenza o meno di diapausa in un individuo sia determinata geneticamente. Si riscontra infatti che nella prole di una stessa femmina, sottoposta alle medesime condizioni di allevamento, può esistere una notevole eterogeneità nello sviluppo, in quanto assieme ad individui che vanno in diapausa ve ne sono altri che si sviluppano senza arresto.

D'altra parte sappiamo che, sebbene la diapausa sia controllata da fattori ambientali quali fotoperiodo, nell'ambito della stessa specie possono divenire geneticamente differenziate varie razze aventi caratteristiche diverse a questo riguardo. In *Bombyx mori* L., per es., esistono razze prive di diapausa, razze con una generazione all'anno e razze con due o più.

Non è insolito che razze geografiche diverse presentino differenze nel numero delle generazioni annuali, a seconda delle caratteristiche ambientali, come conseguenza della selezione naturale di genotipi. Tale fenomeno si è riscontrato in molti Insetti come, ad es., nell'Ortottero *Locusta migratoria gallica* (Remaudière), nel Lepidottero *Ostrinia nubilalis* (Hbn.) e nell'Imenot-

tero *Gilpinia polytomus* (Hartig) comprendenti razze con una o due generazioni annue a differente distribuzione geografica. La capacità degli Insetti di essere adattati ai diversi fotoperiodi e la intensità della diapausa alle varie condizioni ambientali presenti alle differenti latitudini spiega l'ampia distribuzione latitudinale delle specie.

Mansingh e Smallman (1966), in seguito ai loro esperimenti sul Lepidottero *Hyalophora cecropia* L. che presenta una sola generazione all'anno, affermano che la diapausa non è una caratteristica fissa della specie; in una popolazione naturale vi sono alcuni individui che sono potenzialmente capaci di svilupparsi senza diapausa quando le condizioni ambientali siano favorevoli. Sulla base di tale variabilità, essi conclusero che la diapausa è un adattamento ambientale acquisito mediante la selezione naturale.

Tale conclusione è stata confermata da House (1966) sul Dittero *Pseudosarcophaga affinis* (Fall.) che, allevato in laboratorio, presenta variazioni stagionali nella percentuale di pupe che vanno in diapausa: nel periodo compreso tra Gennaio e Marzo tale percentuale è risultata del 99,1, da Aprile a Giugno del 76, da Luglio a Settembre del 75,9, da Ottobre a Dicembre del 100%. Ad eccezione dell'ultima parte dell'autunno, vi era sempre un certo numero di individui che non presentava diapausa; questi sono stati utilizzati per la riproduzione, selezionando in tale modo quella parte di popolazione il cui sviluppo non presentava arresti. Si è riscontrato, con il susseguirsi delle generazioni, una notevole diminuzione della percentuale di organismi in diapausa. House concluse che all'interno di una popolazione di *P. affinis* (Fall.), che in natura sembra obbligata ad entrare in diapausa pupale, in seguito all'allevamento in condizioni di laboratorio, che favoriscono gli individui il cui sviluppo non presenta interruzioni, diviene dominante una razza che non presenta diapausa. Allo stesso modo sembra che possa avvenire il contrario; cioè che, se si verificano adeguate condizioni ambientali, da una popolazione con più generazioni in un anno si possa determinare la selezione di una razza con una sola generazione annua, con diapausa obbligatoria.

In natura questa situazione condurrebbe alla possibilità per le popolazioni di una data specie, di variare il numero delle generazioni annue nelle diverse regioni geografiche; tale situazione, per es., avviene anche nel Lepidottero *Ostrinia nubilalis* (Hbn.) in cui, dopo la sua introduzione in U.S.A., si è trovato che la razza presente nella regione dei Grandi Laghi svolge una sola generazione all'anno con diapausa obbligatoria, mentre la razza del New England ne compie due.

Arbuthnot (1944) dimostrò che la differenza nel numero di generazioni in *Ostrinia nubilalis* (Hbn.) è controllata da fattori genetici multipli. Gli ibridi, ottenuti da una razza di individui con una generazione all'anno incrociata con individui caratterizzati da due generazioni annuali, presentavano caratteristiche intermedie rispetto a quelle delle linee parentali.

Nel Dittero *Lucilia caesar* L. si ottennero in laboratorio due razze (Ring,

1971), una con scarsa e l'altra con elevata percentuale di individui in diapausa. Incrociando tali razze si è ottenuta una F_1 con caratteristiche intermedie mentre nella F_2 si è avuta scarsa segregazione. Ciò indica che per la diapausa vi è una eredità di tipo poligenico.

Il Lepidottero *Pectinophora gossypiella* (Saunders) presenta diapausa prepupale che è indotta da fotoperiodi brevi; se gli individui sono tenuti a 12 ore di luce e a una temperatura di 28 °C, si osserva che quasi tutti entrano in diapausa. Gli individui che in tali condizioni non presentavano diapausa, selezionati da Barry e Adkisson (1966) hanno condotto, dopo 23 generazioni di tale selezione, ad una linea genetica in cui la diapausa avveniva molto raramente. In questo caso sembra che la diapausa sia controllata da fattori multipli non legati al sesso.

In *Bombyx mori* L. il numero delle generazioni è apparentemente controllato da 6 alleli, di cui 3 sono legati al sesso mentre 3 sono autosomici dominanti. Gli autosomici sono cumulativi, mentre i geni legati al sesso mostrano epistasi.

Se la diapausa è controllata geneticamente, ne deriva che sarà possibile selezionare delle linee che si sviluppino senza di essa. Infatti vari Autori oltre a quelli sopra citati hanno ottenuto, in successive generazioni allevate in laboratorio, una diminuzione nella percentuale di individui che vanno in diapausa.

Baerwald e Boush (1967) hanno selezionato, in sole quattro generazioni, una razza del Dittero *Rhagoletis pomonella* Walsh senza diapausa, partendo da una popolazione naturale in cui soltanto il 4% non presentava arresti durante lo sviluppo.

Pickford e Randell (1969) invece, ottennero una razza dell'Ortottero *Melanoplus sanguinipes* (Fabr.) priva di diapausa dopo ben 70 generazioni.

Nel Lepidottero *Grapholitha molesta* (Busek), Glass (1970) ha selezionato una razza in cui la percentuale di diapausa era circa del 1% in condizioni di giorno corto che sono quelle che inducono l'ingresso in diapausa. Allo stesso modo Hònek (1972) ha operato una selezione nei Rincoti *Aelia acuminata* (L.) e *Aelia rostrata* Boh. L'incidenza della diapausa in *A. acuminata* (L.) decresce dal 91% nella prima generazione al 16% nella 17ª. Per *Aelia rostrata* Boh. sono state considerate soltanto tre generazioni; comunque si passa da una percentuale di organismi che vanno in diapausa del 78% nella prima generazione a 64% nella seconda e a un 40% nella terza.

Lyon, Richmond, Robertson e Lucas (1972), hanno riscontrato che nel Lepidottero *Choristoneura fumiferana* (Clem.) è possibile selezionare un ceppo privo di diapausa dopo 6 generazioni di inincroci partendo da una popolazione in cui solo il 3 o 4% non presentava tale fenomeno.

Un importante studio sulla determinazione genetica della diapausa è stato effettuato sul Dittero *Drosophila littoralis* Meig. (Lakovaara et alii, 1972) che presenta un arresto riproduttivo. Di tale specie esistono

razze con una generazione all'anno, indicate con *U*, e razze con più generazioni annue indicate con *M*. La prole ottenuta dall'incrocio ♀♀*U* × ♂♂*M* è stata reincrociata con entrambi i parentali. Poichè la progenie non va in diapausa possiamo dire, per quanto riguarda i fattori genetici che stanno

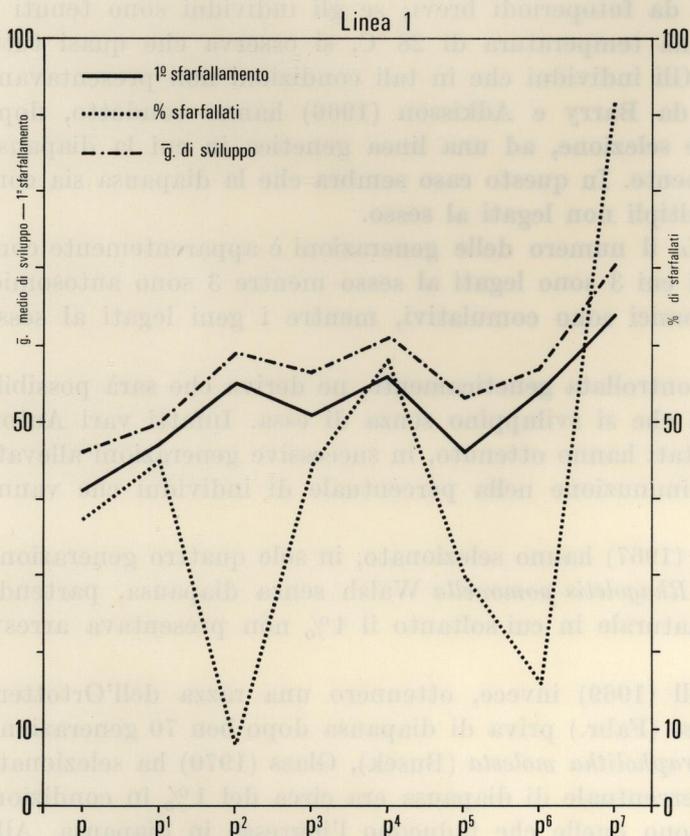


FIG. I.

Galleria melonella L. - Linea 1. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in sette generazioni allevate su dieta con colesterolo.

utilizzate le pupe ottenute entro 25-45 gg in colture isolate; si è riscontrato che nella 4^a generazione nessuna larva presentava diapausa in condizioni di isolamento, mentre in colture affollate la incidenza della diapausa era del 38%. Si è allora continuata la selezione usando pupe ottenute in condizioni di affollamento. Durante tale selezione si è ottenuta l'eliminazione della diapausa.

Le larve che invece non si erano impupate entro 45 gg sono state utilizzate per selezionare una linea che presentasse diapausa; in tali esperimenti si è ottenuto che, pur con varie oscillazioni, la percentuale di individui in

alla base di tali risultati, che i geni della non-diapausa devono essere dominanti.

La diapausa del Coleottero *Trogoderma granarium* Everts può essere suddivisa in due tipi (Nair e Desai, 1972 e 1973) a seconda che si manifesti in condizioni di isolamento (diapausa che non dipende dalla densità), oppure di affollamento (diapausa dipendente dalla densità).

Da tale specie, Nair e Desai (1973) hanno cercato di selezionare una linea che non presentasse diapausa in entrambe le situazioni sperimentali. Per tale selezione sono state

diapausa tende ad aumentare nel corso delle generazioni.

Tali risultati mostrano che la diapausa è determinata geneticamente e che, mediante selezione e incroci, è possibile selezionare popolazioni che presentino 100 % di diapausa o la sua completa assenza: ciò suggerisce che la diapausa sia un carattere poligenico.

L'espressione fenotipica del genotipo diapausa dipende parzialmente dalle condizioni ambientali come temperatura, densità di popolazione e nutrimento; infatti per certe larve che potenzialmente potrebbero andare in diapausa, una deficienza nutrizionale ne impedisce la manifestazione. D'altra parte l'ambiente può indurre diapausa soltanto se sono presenti adeguati fattori genetici. Si può concludere che le razze selezionate hanno perduto il potenziale genetico che consente di rispondere agli stimoli ambientali che inducono diapausa.

In *Trogoderma granarium* Everts il più breve periodo di sviluppo del maschio rispetto a quello della femmina (Burgess, 1957; Karnavar, 1967) può servire come meccanismo per conservare l'eterogeneità genetica della popolazione in quanto riduce la possibilità di incrocio con conseguente ovvio vantaggio per la popolazione.

MATERIALE E METODI

Per i nostri studi abbiamo utilizzato la *Galleria mellonella* L., Lepidottero che vive negli alveari nutrendosi della cera dei favi. Per quanto riguarda la durata del ciclo vitale di tale organismo, si è riscontrato che, in allevamenti in cella climatica a 27 ± 1 °C di temperatura su pabulum artificiale (cfr. Campadelli, 1973) i vari stadi durano in media: 7 giorni quello di uovo, 4 giorni quello di eopupa, 11 giorni quello di crisalide. Lo sviluppo larvale è invece piuttosto difforme, sia per quanto concerne il numero di stadi larvali attraversati (da 5 a 9), sia per quanto riguarda la durata di ogni stadio; in alcuni casi l'intervallo tra due mute successive non supera la giornata, mentre le medie per i vari stadi variano da 4,11 a 7,35 giorni. Il numero di stadi larvali è più frequentemente 6, sia negli individui allevati con dieta provvista di colesterolo che in quelli nutriti con dieta mancante di tale sostanza. La durata dello sviluppo postembrionale varia fortemente anche nella prole di una stessa femmina.

Considerando l'intervallo di tempo che intercorre tra sgusciamiento dall'uovo e sfarfallamento in 137 individui (89 ♀♀ e 48 ♂♂), accanto a una durata media di sviluppo pari a 35,46 giorni se ne ha una minima di 29 giorni e una massima di 40. È invece limitata la differenza tra le medie dei due sessi; 35,67 per le femmine e 35,39 per i maschi (Campadelli, 1973).

Secondo la maggior parte degli Autori, gli stadi larvali sarebbero 8; secondo Moon e Carefoot (1972), allevando le larve con dieta artificiale alla temperatura di 32 °C e con un fotoperiodo di 16 ore di luce e 8 di oscurità,

queste attraversano dai 9 ai 12 stadi larvali; Beck (1960) ne ha riscontrati solo 7 in allevamenti effettuati in oscurità a una temperatura di 35 °C.

Nel nostro laboratorio le larve, prelevate da favo, sono state allevate con dieta artificiale e mantenute in condizioni di oscurità completa alla temperatura di 27 ± 1 °C e con una umidità relativa pari al 75 ± 5 %.

Si è impiegata la dieta preparata da Campadelli (1973) ottenuta modificando quella di Beck.

Galleria mellonella L. si è dimostrata, sotto molti aspetti, un ottimo animale di laboratorio. Essa infatti può essere allevata in continuità durante tutto l'anno, presenta notevole vitalità e elevata adattabilità alle condizioni di laboratorio, inoltre può essere nutrita con diete artificiali e semiartificiali. Per queste sue caratteristiche, si è pensato di utilizzarla quale ospite per studiare il fenomeno del parassitismo negli Insetti entomofagi, e in particolare i complessi rapporti fisiologici che intercorrono tra i due simbionti antagonisti. Come parassiti si sta provando, già con qualche successo, di impiegare i Ditteri Larvevoridi *Nemoraea pellucida* (Meig.) e *Sturmia bella* Meig. In natura essi non attaccano la *Galleria* ma abbiamo potuto osservare sperimentalmente che tali entomofagi riescono a svilupparsi a spese delle larve del nostro Lepidottero.

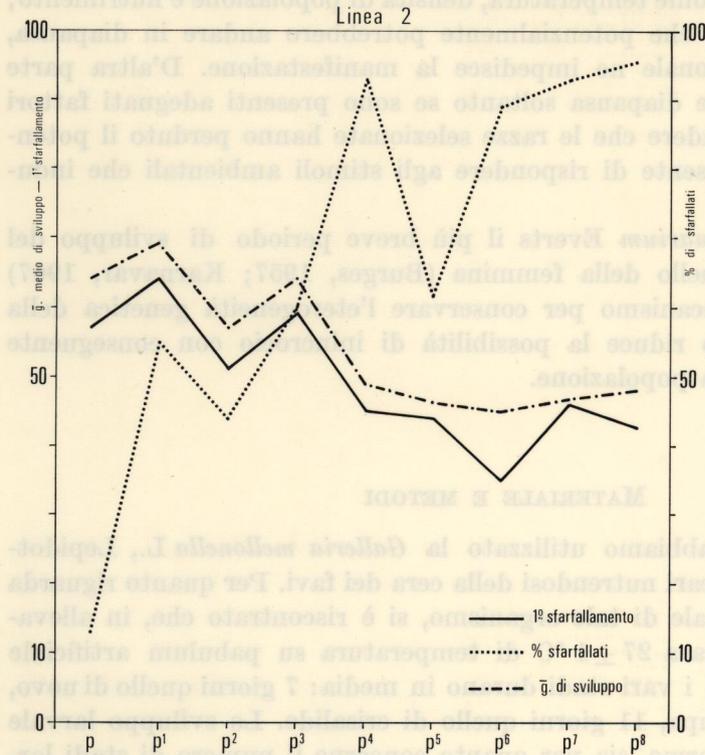


FIG. II.

Galleria mellonella L. - Linea 2. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in otto generazioni allevate su dieta con colesterolo.

Durante l'allevamento di *G. mellonella* L., si è spesso notato un arresto allo stadio di larva matura per periodi di tempo variabili da qualche giorno a diversi mesi. Ed infatti, nella prole di una stessa femmina, sottoposta alle medesime condizioni di allevamento, si riscontra una notevole variabilità

per quanto riguarda il tempo dello sfarfallamento, in quanto una percentuale più o meno elevata di larve mature entra in diapausa.

RISULTATI

Abbiamo detto che si è riscontrata, durante l'allevamento di *Galleria mellonella* L. in laboratorio, una notevole eterogeneità nello sviluppo, anche per l'insorgenza di fenomeni di diapausa. Per i nostri studi sui rapporti fisiologici che intercorrono tra ospite e parassita negli Insetti entomofagi, è però necessario conoscere esattamente lo stadio dell'ospite al momento della parasitizzazione e poter disporre di individui il più possibile sincronizzati. Abbiamo perciò cercato di selezionare delle linee di *Galleria mellonella* L. in cui lo sviluppo si svolgesse in modo omogeneo attraverso un numero costante di mute e nelle quali non si manifestasse la tendenza ad entrare in diapausa.

Per tale motivo, partendo da una popolazione iniziale estremamente eterogenea, abbiamo incrociato gli adulti sfarfallati per primi e abbiamo considerato gli adulti sfarfallati nell'arco di tempo compreso nell'ambito di 11 giorni dopo il primo sfarfallamento. Tale periodo di tempo è stato scelto per esaminare tutti gli individui che si sviluppano senza diapausa. Essendosi però riscontrata una certa differenza nel tempo di sviluppo tra gli individui allevati su dieta provvista di colesterolo e quelli allevati con dieta priva

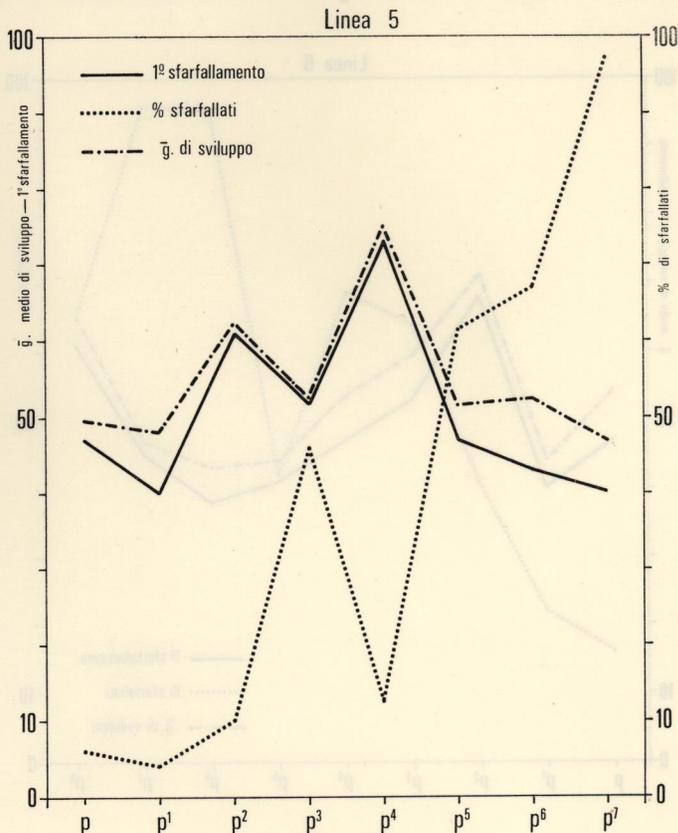


FIG. III.

Galleria mellonella L. - Linea 5. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in sette generazioni allevate su dieta con colesterolo.

di tale sostanza, abbiamo cercato di selezionare ceppi privi di diapausa in entrambe le situazioni sperimentali.

Abbiamo preso in esame 8 linee di *Galleria mellonella* L. i cui individui sono stati nutriti con dieta presentante colesterolo e una linea il cui pabulum era privo di tale sostanza.

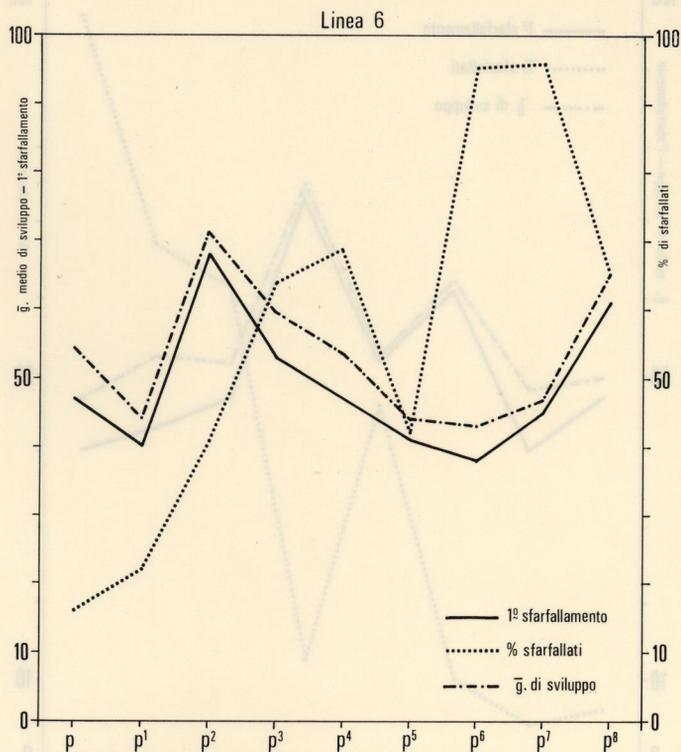


FIG. IV.

Galleria mellonella L. - Linea 6. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in otto generazioni allevate su dieta con colesterolo.

al totale delle uova poste in allevamento (1).

Nella linea 1 (fig. I), di cui abbiamo considerato 7 generazioni, si nota un aumento del tempo impiegato per giungere al primo sfarfallamento che, con alcune oscillazioni passa dai 41 giorni della generazione parentale ai 64 della 7^a generazione; si può riscontrare inoltre che esiste una perfetta corrispondenza di tale parametro con il giorno medio di sviluppo degli individui che non presentano diapausa. Per quanto riguarda l'incidenza della diapausa,

I parametri considerati in queste 9 linee sono: il numero di giorni impiegati dal primo individuo per giungere allo sfarfallamento, la percentuale di sfarfallati nell'arco di tempo compreso nell'ambito di 11 giorni dopo il primo sfarfallamento (cioè la percentuale di organismi che si sviluppano senza diapausa) e il giorno medio di sviluppo di tali individui. Abbiamo inoltre preso in esame la fertilità di tali linee, valutando cioè la percentuale di larve ottenute rispetto

(1) Per ciascuna femmina sono state trattenute, di solito, un centinaio di uova tra quelle deposte nelle prime ventiquattro ore.

riscontriamo delle oscillazioni considerevoli con una elevata percentuale di individui in diapausa nella 2^a e nella 6^a generazione; nella 7^a generazione però, il numero di individui, sfarfallati nell'arco di tempo di 11 giorni dopo il primo, aumenta notevolmente. Considerando globalmente tale linea, si vede che, da una percentuale di individui non in diapausa del 37% nella generazione parentale, si passa a un 92% nella 7^a generazione. La fertilità di tale linea presenta delle oscillazioni piuttosto considerevoli, con un basso valore di tale parametro nella 1^a e nella 4^a generazione; confrontando però la generazione parentale con la 5^a generazione, notiamo che tale parametro ha subito un lieve aumento passando dal 46 al 52%.

Le larve prese in esame in tale linea sono comprese tra un minimo di 24 (1P⁴) e un massimo di 94 (1P²).

Nella linea 2 (fig. II), la percentuale di individui che si sviluppano senza diapausa tende ad aumentare, col procedere delle generazioni; notiamo però una elevata incidenza di diapausa nelle generazioni 2 e 5 in cui non si raggiungono però valori così elevati come nella generazione parentale. Si riscontra poi una diminuzione del tempo impiegato per il primo sfarfallamento (da 57 a 43 gg) e, corrispondentemente, del giorno medio di sviluppo (da 64 a 48 gg).

Prendendo ora in esame la fertilità riscontrata in tale linea, in cui abbiamo ottenuto un numero di larve compreso tra un minimo di 50 (2P⁶) e un massimo di 156 (2P⁵), possiamo osservare delle variazioni piuttosto consistenti di tale parametro che presenta un valore elevato in 2P³ e una forte diminuzione in 2P⁴. Notiamo però, considerando tale linea globalmente, una diminuzione della fertilità che, dal 65% della generazione parentale, passa al 57,5% della 6^a generazione.

La linea 3, selezionata come le altre da noi esaminate, ha presentato nella 3^a generazione una incidenza di diapausa pari al 100%, ed infatti il primo sfarfallamento si è ottenuto dopo 98 giorni dalla ovideposizione; tale tempo di sviluppo supera ampiamente la media di 55-61 giorni che si riscontra negli individui che non presentano arresti durante l'accrescimento. Si è tuttavia continuata la selezione utilizzando per gli incroci gli individui sfarfallati per primi e nelle generazioni successive si è ottenuta risposta alla selezione, sia per quanto riguarda il primo sfarfallamento che passa a 51 giorni nella 6^a generazione, che per quanto concerne la percentuale di sfarfallati che nella 6^a generazione è di 82%.

La fertilità di tale linea, dopo una diminuzione riscontrabile passando dalla parentale alla 4^a generazione, aumenta nella 5^a raggiungendo un valore pari quasi a quello della generazione parentale. In tale linea abbiamo ottenuto un numero di larve compreso tra un minimo di 43 (3P⁴) e un massimo di 82 (3P⁵).

Nella linea 4, non è stato possibile continuare la selezione oltre la 2^a generazione poichè gli sfarfallamenti dei maschi e delle femmine non sono avvenuti contemporaneamente, la quale cosa non ha consentito di procedere agli accoppiamenti.

Nella linea 5 (fig. III), il tempo impiegato per il primo sfarfallamento e il giorno medio di sviluppo presentano, durante le varie generazioni, delle notevoli oscillazioni ma tornano alla 7^a generazione a valori prossimi a quelli della generazione parentale; la percentuale di individui in diapausa diminuisce

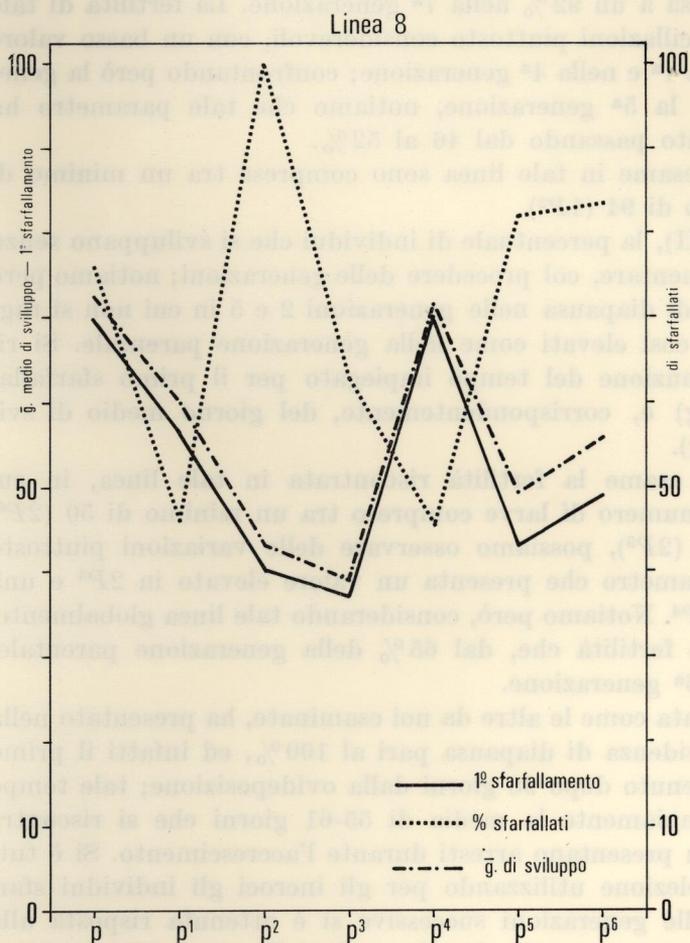


FIG. V.

Galleria mellonella L. - Linea 8. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in sei generazioni allevate su dieta con colesterolo.

invece con il procedere delle generazioni, pur riscontrandosi un valore piuttosto elevato nella 5^a generazione. La fertilità subisce delle considerevoli oscillazioni ma non esiste una variazione molto rilevante tra la parentale e la 5^a generazione (da 44 a 40,5%). Le larve considerate in tale linea sono state sempre superiori a 65 ad eccezione della 3^a generazione in cui ne abbiamo ottenute soltanto 13.

Nella linea 6 (fig. IV), il tempo impiegato per il primo sfarfallamento presenta considerevoli oscillazioni; nella 8^a generazione il primo individuo è sfarfallato dopo 61 gg dalla ovideposizione. Considerando come privi di diapausa soltanto gli individui sfarfallati entro 70 gg, notiamo che la percentuale di diapausa aumenta passando dalla 7^a alla 8^a generazione. In tale linea, in cui abbiamo ottenuto un numero di larve che va da un minimo di 48 (6P³) a un massimo di 73 (6P⁵), la fertilità rimane pressochè costante (da 30,5 a 37,5%).

Per quanto riguarda la linea 7, si riscontra che, nella prima generazione, tutti gli individui entrano in diapausa ed infatti il primo sfarfallamento si verifica dopo ben 97 gg dalla ovideposizione. Nelle generazioni successive, si è ottenuta risposta alla selezione in quanto la percentuale di sfarfallati nella 6^a generazione è pari al 72,5% e il primo individuo sfarfalla dopo 44 gg. In tale linea si sono ottenute da un minimo di 27 a un massimo di 119 larve e la fertilità presenta delle forti oscillazioni con un aumento passando dalla parentale alla 5^a generazione (da 28 a 48%).

La linea 8 (fig. V) presenta una perfetta corrispondenza tra primo sfarfallamento, giorno medio di sviluppo e percentuale di individui a sviluppo diretto; la percentuale di diapausa diminuisce infatti quando si abbassano i valori del giorno medio di sviluppo e del tempo impiegato dal primo individuo per sfarfallare.

La linea E (fig. VI), a differenza delle altre precedentemente analizzate, è stata nutrita con dieta mancante di colesterolo; non si notano però delle differenze, rispetto alla selezione, tra questa e le linee allevate con pabulum provvisto di colesterolo. Tale linea presenta soltanto, nelle prime generazioni, uno sviluppo più lento rispetto a quello riscontrato nelle altre linee. Si ha anche qui risposta alla selezione; diminuisce infatti l'incidenza della diapausa, sia pure con forti oscillazioni. Si abbassa anche il tempo impiegato per il primo sfarfallamento ed esiste una perfetta corrispondenza tra i tre parametri presi in esame.

Abbiamo considerato anche la mole, raggiunta allo stadio di crisalide, degli individui che non presentavano diapausa confrontando i pesi medi dei maschi

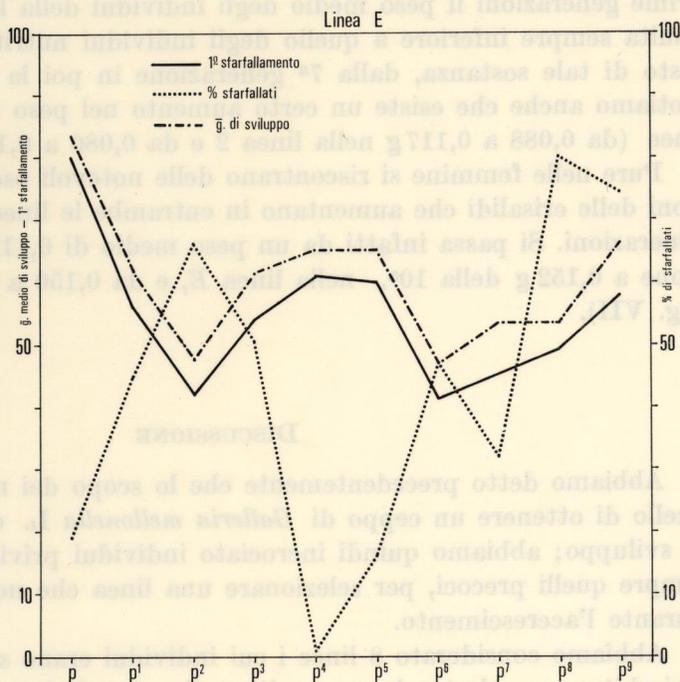


FIG. VI.

Galleria mellonella L. - Linea E. Durata dello sviluppo del primo individuo sfarfallato, percentuale di sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo in nove generazioni allevate su dieta priva di colesterolo.

e delle femmine delle linee 2 ed *E*, nelle varie generazioni ottenute. Per tale carattere è stata compiuta una analisi separata per i due sessi date le notevoli differenze nelle dimensioni tra i maschi e le femmine. Tale confronto è stato effettuato per mettere in evidenza l'influenza della composizione della dieta sulle dimensioni degli individui. Per quanto riguarda il peso medio dei maschi, notiamo delle considerevoli oscillazioni, ma esso presenta in entrambe le linee lo stesso andamento. Vediamo inoltre che, mentre nelle prime generazioni il peso medio degli individui della linea senza colesterolo risulta sempre inferiore a quello degli individui nutriti con pabulum provvisto di tale sostanza, dalla 7^a generazione in poi la situazione si inverte. Notiamo anche che esiste un certo aumento nel peso medio in entrambe le linee (da 0,088 a 0,117 g nella linea 2 e da 0,080 a 0,121 g nella *E*).

Pure nelle femmine si riscontrano delle notevoli oscillazioni nelle dimensioni delle crisalidi che aumentano in entrambe le linee, col proseguire delle generazioni. Si passa infatti da un peso medio di 0,112 della prima generazione a 0,152 g della 10^a, nella linea *E*, e da 0,150 a 0,163 g nella linea 2 (fig. VII).

DISCUSSIONE

Abbiamo detto precedentemente che lo scopo dei nostri esperimenti era quello di ottenere un ceppo di *Galleria mellonella* L. omogeneo per tempo di sviluppo; abbiamo quindi incrociato individui privi di diapausa e scelto sempre quelli precoci, per selezionare una linea che non presentasse arresti durante l'accrescimento.

Abbiamo considerato 8 linee i cui individui erano stati nutriti con dieta arricchita con colesterolo e una linea il cui pabulum non presentava tale sostanza. Non si è però riscontrata grande differenza nei risultati ottenuti con i due tipi di dieta: si è notato soltanto che, nelle prime generazioni, gli individui nutriti con dieta mancante di colesterolo hanno uno sviluppo più lento e risultano di dimensioni inferiori rispetto agli altri.

Durante la selezione si sono notate, per quanto riguarda il tempo impiegato dal primo individuo per giungere allo sfarfallamento e il giorno medio di sviluppo degli individui che non presentano diapausa, delle notevoli oscillazioni; si ritorna però, nelle ultime generazioni prese in esame, a valori all'incirca pari a quelli della generazione parentale, o in certe linee inferiori.

Per la percentuale di individui che non presentano diapausa durante il loro sviluppo, notiamo invece una netta risposta alla selezione, pur con delle oscillazioni, nel corso delle generazioni.

Tali oscillazioni in tutti e tre i parametri presi in esame possono essere spiegati con un aumento della variabilità, che si riscontra comunemente dopo un certo numero di incroci. Sappiamo d'altra parte quanto sia importante la variabilità genetica per una popolazione e come essa rappresenti

la base di ogni possibilità di adattamento e di sopravvivenza. Non stupisce quindi che, tramite fenomeni di ricombinazione, tale variabilità venga mantenuta. La variabilità genetica rappresenta infatti la base dell'adattamento perchè dove c'è variabilità c'è possibilità di trasformarsi e di adattarsi, da cui la notevole importanza di tutti quei fenomeni la cui presenza è sinonimo di variabilità e premessa di evoluzione.

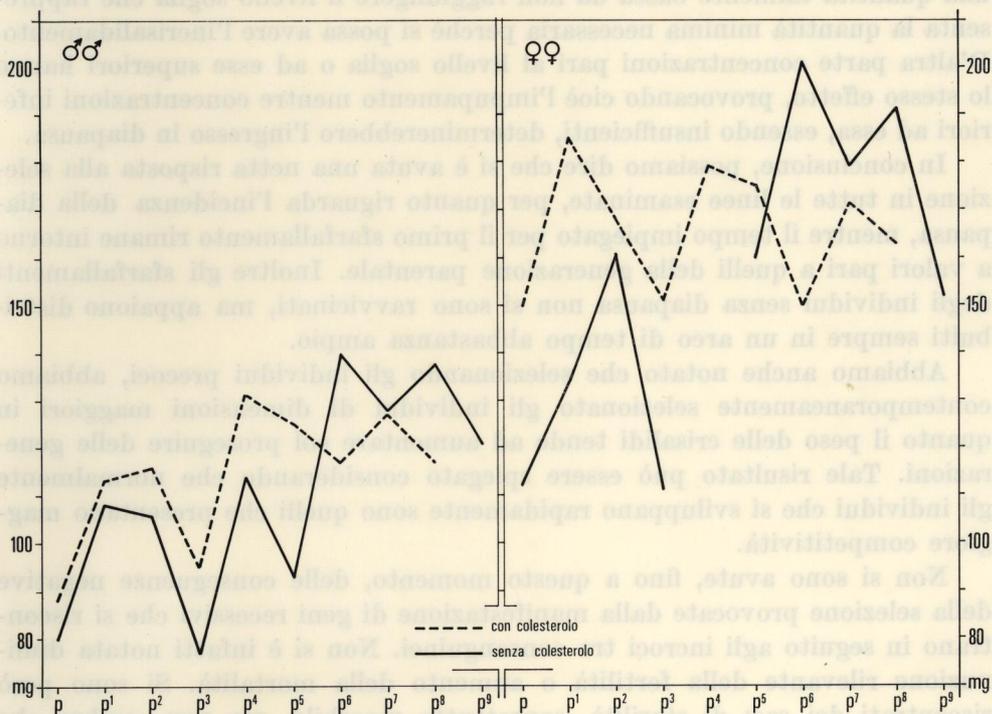


FIG. VII.

Galleria mellonella L. - Peso medio delle crisalidi maschili e femminili nelle varie generazioni della linea II (larve allevate con dieta provvista di colesterolo) e della linea E (larve allevate su dieta priva di colesterolo).

Dalle nostre analisi si riscontra anche che vi è una certa corrispondenza, escluso la linea 1 e le prime generazioni delle linee 2 e 6, tra primo sfarfallamento e percentuale di sfarfallati negli 11 giorni successivi e, soprattutto tra primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo degli individui che non presentano diapausa. Possiamo quindi dire che il primo sfarfallamento non è un avvenimento casuale ma rispecchia il comportamento di tutta la popolazione; ad un tempo breve impiegato dal primo individuo per completare lo sviluppo preimmaginale, corrisponde infatti un giorno medio di sviluppo basso e una elevata percentuale di organismi senza diapausa.

La diapausa, essendo determinata da una particolare situazione ormonale, potrebbe essere considerata un carattere soggetto a un effetto

soglia. Per potere avere l'impupamento è necessaria la presenza di ecdisione, accompagnata però dalla mancanza di neotenina. A livello genetico, potremmo spiegare il fenomeno in base all'ipotesi dei geni multipli o eredità poligenica, considerando la produzione di ecdisione o il riassorbimento di neotenina come dovuto a dei fattori dominanti e l'assenza a dei fattori recessivi, tenendo presente che l'effetto di tali fattori è additivo. Dai reciproci rapporti tra tali fattori ne deriva una quantità tale da determinare l'impupamento o una quantità talmente bassa da non raggiungere il livello soglia che rappresenta la quantità minima necessaria perchè si possa avere l'incrisalidamento. D'altra parte concentrazioni pari al livello soglia o ad esse superiori hanno lo stesso effetto, provocando cioè l'impupamento mentre concentrazioni inferiori ad essa, essendo insufficienti, determinerebbero l'ingresso in diapausa.

In conclusione, possiamo dire che si è avuta una netta risposta alla selezione in tutte le linee esaminate, per quanto riguarda l'incidenza della diapausa, mentre il tempo impiegato per il primo sfarfallamento rimane intorno a valori pari a quelli della generazione parentale. Inoltre gli sfarfallamenti degli individui senza diapausa non si sono ravvicinati, ma appaiono distribuiti sempre in un arco di tempo abbastanza ampio.

Abbiamo anche notato che selezionando gli individui precoci, abbiamo contemporaneamente selezionato gli individui di dimensioni maggiori in quanto il peso delle crisalidi tende ad aumentare col progredire delle generazioni. Tale risultato può essere spiegato considerando che normalmente gli individui che si sviluppano rapidamente sono quelli che presentano maggiore competitività.

Non si sono avute, fino a questo momento, delle conseguenze negative della selezione provocate dalla manifestazione di geni recessivi che si riscontrano in seguito agli incroci tra consanguinei. Non si è infatti notata diminuzione rilevante della fertilità o aumento della mortalità. Si sono però riscontrati dei casi di sterilità, soprattutto maschile, ma non sembra che tale fenomeno sia una conseguenza degli incroci poichè era presente anche nelle prime generazioni.

RIASSUNTO

Si sta tentando di utilizzare *Galleria mellonella* L., ben noto animale di laboratorio, come ospite di sostituzione per alcuni Ditteri Larvevoridi. Durante l'allevamento di tale Lepidottero si è però notato che esso presentava una notevole eterogeneità riguardo al tempo di sviluppo, in quanto, tra l'altro, una considerevole percentuale di larve mature entrava in diapausa.

Essendo necessario, per i nostri scopi, di poter disporre di individui il più possibile sincronizzati e non soggetti a diapausa, abbiamo cercato di selezionare una linea di *Galleria* che presentasse tali requisiti. La selezione è stata effettuata sia in individui nutriti con dieta provvista di colesterolo che in altri allevati senza tale sostanza. Mentre il tempo impiegato dal primo individuo per giungere allo sfarfallamento rimane, nel complesso dell'esperimento, pressochè uguale a quello della generazione parentale, si riscontra invece

risposta alla selezione per quanto riguarda la percentuale di individui in diapausa, che diminuisce con il procedere delle generazioni, anche se con forti oscillazioni. Inoltre la corrispondenza tra primo sfarfallamento e giorno medio di sviluppo degli individui che non presentano diapausa con la percentuale di individui sfarfallati entro 11 giorni dopo il primo, indica che il primo sfarfallamento è un indice piuttosto esatto del comportamento di tutta la popolazione. Si giunge, da ultimo, alla conclusione che la diapausa è determinata geneticamente e che presenta un tipo di eredità poligenica.

Non si sono notate considerevoli differenze, durante tale selezione, tra linee nutrite con diete diverse, se non per il fatto che la linea allevata su pabulum privo di colesterolo presenta, limitatamente alle prime generazioni, uno sviluppo più lento rispetto alle altre linee.

Selection experiments for non diapausing populations of *Galleria mellonella* L.

S U M M A R Y

Experiments were conducted to attempt to use *Galleria mellonella* (L.), a well-known laboratory species, as a substitute host for some Diptera Larvaevoridae. While raising this Lepidoptera species, it was noted that it presented a remarkable heterogeneity with regard to the period of development, since, among other traits, a high percentage of the mature larvae entered a stage of diapause. Since, for our purposes, specimens as synchronized and as resistant to diapause as possible, were necessary, an attempt was made to select a line of *Galleria* with the above requisites. The selection was conducted both on specimens nourished on a cholesterol diet and on others without that substance.

Whereas the amount of time required by the former specimen to reach the adult stage continues to be almost equal to that of the parent generation, during the experiment, a response to the selection was instead observed with regard to the percentage of specimens in diapause, which decreased as the generations continued, even though there were strong fluctuations. Also the correspondence between the first adult and average day of development of the specimens which showed no diapause with the percentage of specimens which emerged within 11 days after the first adult indicates that the first adult could be considered to be a fairly precise index of the whole population's behaviour. The conclusion reached in a final analysis is that the diapause is genetically determined and that it presents a type of polygenic heredity.

No considerable difference were noted, during this selection, among specimens nourished with different diets, except that the line raised on cholesterol-lacking pabulum proved to be slower in its development than the other lines, only during the first generations.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ARBUTHNOT K. D., 1944. - Strains of the European corn borer in United States. - *U.S. Dept. Agr. Tech. Bull.*, 869: 1-20.
- BAERWALD R. J., BOUSH G. M., 1967. - Selection of a non diapausing race of apple maggot. - *J. Econ. Ent.*, 60: 682-684.
- BARRY B. D., ADKISSON P. L., 1966. - Certain aspects of the genetic factors involved in the control of larval diapause of the pink bollworm. - *Ann. ent. Soc. Am.*, 59: 120-125.
- BECK S. D., 1960. - Growth and development of the greater wax moth *Galleria mellonella* (L.). - *Wis. Acad. Arts Sci. Lett.*, 49: 137-148.

- BURGES H. D., 1957. — Studies on the dermestid beetle, *Trogoderma granarium* Everts. Identification and duration of the developmental stages. - *Entomologist's mon. Mag.*, 93: 105-110.
- CAMPADELLI G., 1973. — Allevamento di *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera Galleriidae) con dieta semiartificiale. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 11-25.
- 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.
- GLASS E. H., 1970. — Change in diapause response to photoperiod in laboratory strains of oriental moth. - *Ann. ent. Soc. Am.*, 63: 74-76.
- HONEK A., 1972. — Selection for non-diapause in *Aelia acuminata* and *A. rostrata* (Heteroptera, Pentatomidae) under various selective pressures. - *Acta ent. bohemoslov.*, 69: 73-77.
- HOUSE H. L., 1967. — The decreasing occurrence of diapause in the fly *Pseudosarcophaga affinis* through laboratory-reared generations. - *Can. J. Zool.*, 65: 149-153.
- HURPIN B., 1962. — Alimentation, development et fécondité chez les insectes. - *Ann. Nutr. Aliment.*, 16: 153-200.
- KARNAVAR G. K., 1967. — Studies on the biology of the khapra beetle, *Trogoderma granarium* Everts under laboratory conditions, with emphasis on diapause. - *J. Anim. Morph. Physiol.*, 14: 205-215.
- LAKOWARA S., SAURA A., KOREF-SANTIBANEZ S., EHRMAN L., 1972. — Aspects of diapause and its genetics in northern drosophilids. - *Hereditas*, 70: 89-96.
- LYON R. L., RICHMOND C. E., ROBERTSON J. L., LUCAS B. A., 1972. — Rearing diapause and diapause-free western budworm (*Choristoneura occidentalis* Freeman) (Lepidoptera: Tortricidae) on an artificial diet. - *Can. Ent.*, 104: 417-426.
- MANSINGH S., SMALLMAN B. N., 1966. — Photoperiod control of an «obligatory» pupal diapause. - *Can. Ent.*, 98: 613-616.
- 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.
- NAIR K. S., DESAI A. K., 1972. — Some new findings on factors inducing diapause in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera, Dermestidae). - *J. stored Prod. Res.*, 8: 27-54.
- NAIR K. S., DESAI A. K., 1973. — Studies on the isolation of diapause and non diapause strains of *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera, Dermestidae). - *J. stored. Prod. Res.*, 9: 181-188.
- PICKFORD R., RANDELL R. L., 1969. — A non-diapause strain of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* (Orthoptera: Acrididae). - *Can. Ent.*, 101: 894-896.
- RING R. A., 1971. — Variations in the photoperiodic reaction controlling diapause induction in *Lucilia caesar* L. (Diptera Calliphoridae). - *Can. J. Zool.*, 49: 137-142.

BIBLIOGRAFIA CITATA

Anderson K. D., 1941. — Studies of the European corn borer in United States. - *U.S. Dept. Agr. Tech. Bull.*, 839: 1-30.

Hansford H. J., Brown G. M., 1967. — Selection of a non-diapausing race of the greater wax moth. - *J. Econ. Ent.*, 60: 523-524.

Karnavar G. K., 1967. — Certain aspects of the genetic factors involved in the control of larval diapause of the greater wax moth. - *Ann. Ent. Soc. Am.*, 60: 120-125.

Ring R. A., 1966. — Growth and development of the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.). - *Wash. Acad. Sci. Bull.*, 48: 121-128.