

La diapausa larvale in *Mallada* (= *Anisochrysa*) *flavifrons* (Brauer) (Neuroptera Chrysopidae): cicli fotoperiodici rispondibili dell'induzione, sviluppo di diapausa e attivazione, accrescimento ponderale dello stadio con diapausa (*).

INTRODUZIONE

Lo studio della diapausa che colpisce le larve ancora lontane dalla maturità è stato affrontato da vari Autori e per insetti olometaboli appartenenti a ordini diversi (principalmente Lepidotteri, Ditteri, Coleotteri). È questa una diapausa che si presenta con sue caratteristiche proprie e in alcuni casi è stata riconosciuta come una « oligopausa » (secondo la classificazione di Mansingh, 1971). Per certi aspetti essa è ritenuta simile alla diapausa che colpisce gli insetti adulti (Hodek, 1982). Senz'altro va distinta dalla diapausa che colpisce la larva matura, soprattutto quando in questa si è già iniziata la differenziazione interna che la prepara per la metamorfosi. Tale ultima diapausa dovrebbe infatti, secondo Beck (1980), essere indicata come « diapausa prepupale » (« eopupale » secondo la terminologia di Grandi, 1951).

Nei diversi insetti, in cui la diapausa larvale propriamente detta è stata indagata, si è tuttavia rilevata una gran varietà di comportamenti per quanto riguarda gli stadi sensibili ai fattori ambientali inducenti la diapausa, lo stadio o gli stadi che ne sono colpiti, la capacità di movimenti e di conservare una certa attività, di nutrirsi, di aumentare di peso, di compiere mute, di conservare la sensibilità al fotoperiodo durante gli stadi diapausanti e, infine, le risposte ai fattori ambientali che influiscono sullo sviluppo di diapausa (sensu Andrewartha, 1952) e che possono favorire la fine della diapausa stessa.

Una diapausa facoltativa, che colpisce la larva ancora non matura, è stata individuata e studiata da Principi e al. (1975, 1977) in una specie di *Mallada* e precisamente in *M. flavifrons* (Brauer), Neurottero della famiglia Chrysopidae.

Nel presente lavoro intendiamo esporre per esteso e discutere i

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

risultati di ulteriori indagini (in parte resi noti in una nota preventiva: Principi e Sgobba, 1985) che permettono di meglio definire alcuni aspetti di tale diapausa e di poterla quindi meglio caratterizzare. In particolare ci siamo soffermati sulle risposte ottenibili nello stadio diapausante in dipendenza dell'esperienza fotoperiodica subita dallo stadio responsabile dell'induzione, sulle possibilità di risposta al fotoperiodo ancora riscontrabili nello stadio diapausante, su come in tale stadio proceda lo sviluppo di diapausa e, infine, durante lo stadio diapausante che presenta un prolungamento accentuato del suo sviluppo, su quale sia l'andamento dell'accrescimento ponderale.

Come già è stato reso noto, sensibili al fotoperiodo sono risultati i primi due stadi larvali. La sensibilità del 1° stadio è però assai debole e difficilmente rilevabile nella sperimentazione. Tuttavia se il 1° stadio è esposto a giorni brevi, il 2° stadio, qualora sia riportato a giorni lunghi, manifesta un leggero prolungamento del suo sviluppo. Il 2° stadio è sensibile al fotoperiodo anche se il 1° stadio è stato esposto a giorni lunghi; se esso è esposto a giorni brevi, reagisce con un prolungamento del suo sviluppo e nello stesso tempo è responsabile della determinazione della diapausa che si manifesta nel 3° stadio. Il 3° stadio, se gli stadi precedenti sono mantenuti a giorni lunghi, non rivela alcuna sensibilità al fotoperiodo e, anche se è mantenuto a giorni brevi, compie il suo sviluppo nello stesso numero di giorni di quando tutto il ciclo si svolge sotto fotoperiodo con lunga fotofase. Ma se il 2° stadio è stato esposto a giorni brevi, esso conserva una forma di sensibilità al fotoperiodo e, se mantenuto a giorni brevi, prolunga il suo sviluppo per alcuni mesi. Tuttavia, pur rimanendo a giorni brevi, è in grado di completare la diapausa e di filare normalmente il bozzolo entro cui si compiranno le metamorfosi.

In natura, infatti, sono di regola le larve del 3° stadio dell'ultima generazione (la terza) che sono destinate ad attraversare l'inverno (solo saltuariamente, durante l'inverno, si può trovare qualche larva ancora di 2° stadio). Le larve, protette dal caratteristico fardello di frammenti che costantemente ricopre il loro dorso, sono state osservate, soprattutto nelle giornate meno rigide, spostarsi con la loro caratteristica andatura, per lo più sui tronchi di alberi, e catturare qualche preda reperibile. Il bozzolo viene costruito a primavera iniziata. I primi adulti si vedono volare ai primi di maggio (Principi, 1956).

MATERIALE E METODO

Come nelle sperimentazioni di cui si è riferito nei contributi precedenti, il materiale utilizzato era costituito da esemplari provenienti da un allevamento di laboratorio di *Mallada flavifrons*, derivato dalla ripro-

duzione di adulti catturati su *Quercus ilex* presso il litorale toscano e precisamente a Quercianella in prov. di Livorno. Sono state impiegate le due celle climatizzate in muratura già descritte, in cui il fotoperiodo era regolato in una con 16 ore di luce e 8 di oscurità, nell'altra con 12 ore di luce e 12 di oscurità. In ambedue la temperatura era mantenuta a $21^{\circ} \text{C} \pm 1$ e l'UR era costantemente dell' $80 \pm 5\%$. Le larve venivano allevate, ciascuna isolatamente, in contenitori di plexiglass delle dimensioni di cm 5 x 5 x 3. Come cibo venivano loro somministrate, a giorni alterni, larve in pezzi di *Galleria mellonella*, offerte su di un piccolo rettangolo di pergamino. Ogni tesi era normalmente costituita da 60-80 individui, ad eccezione di quelle sperimentazioni dove una elevata mortalità ha ridotto sensibilmente il numero degli esemplari (in questi casi è riportata nella tabella la dimensione del campione).

Gli adulti, le uova e le larve di 1° stadio erano mantenuti costantemente a fotoperiodo con fotofase di 16 ore e scotofase di 8. Dopo la 1ª muta le larve venivano trasferite da una cella all'altra nel momento previsto dal programma sperimentale.

Per eseguire le pesature è stato condotto un allevamento a parte. Ogni larva veniva prelevata dal suo contenitore, ripulita accuratamente con un pennellino degli eventuali frammenti ancorati al suo dorso, posta in un piccolo cilindretto di plastica con coperchio, delle dimensioni di cm 3 di altezza e di cm 1,3 di diametro, di cui era noto il peso e il tutto posto su di una bilancia Mettler H 51. Le pesate erano effettuate per ciascuna larva una volta la settimana: la prima pesata era effettuata subito dopo la 2ª muta; nell'ultima era pesato il bozzolo.

I dati ottenuti negli esperimenti sono stati sottoposti all'analisi della varianza ed al test di Duncan.

RISULTATI

Cicli fotoperiodici responsabili dell'induzione

Sono state misurate le risposte ottenute riguardo alla lunghezza di sviluppo in giorni delle larve di 3° stadio mantenute a fotoperiodo con breve fotofase, con esposizione delle larve di 2° stadio a differenti numeri di cicli con fotoperiodo a breve fotofase.

Poiché la media di sviluppo delle larve di 2° stadio sottoposte a giorni lunghi si aggira intorno ai 10 giorni, si sono operati i trasferimenti delle larve dal fotoperiodo con lunga fotofase a quello con breve fotofase dopo numeri di giorni compresi, nelle diverse tesi, fra un massimo di 7 ed un minimo di 2. Ne son risultati prolungamenti di sviluppo dello stadio che sono rimasti abbastanza contenuti per i trasferimenti operati

dopo 7 - 4 giorni (con trasferimento dopo 4 giorni si è avuta una lunghezza media di sviluppo di $13,750 \pm 0,340$ ⁽¹⁾ giorni, valore non molto superiore a quello di $9,971 \pm 0,161$ giorni per l'intera permanenza del 2° stadio a fotoperiodo con lunga fotofase). Con trasferimenti operati dopo 3 giorni o meno i prolungamenti di sviluppo del 2° stadio si sono assai accentuati: sviluppo medio complessivo di $20,367 \pm 0,301$ giorni per

TAB. I - Influenza dell'esposizione delle larve del 2° stadio a numeri diversi di cicli a breve fotofase, sulla lunghezza di sviluppo complessivo delle larve di 3° stadio. La linea tratteggiata separa le risposte ottenute con trasferimento delle larve di 2° stadio a fotoperiodo con breve fotofase da 7 a 4 giorni dopo la muta da quelle ottenute con trasferimento da 3 a 2 giorni dopo la muta. Sono espresse con lettere in rotondo le medie non significativamente diverse per $p < 0,05$ ed in corsivo quelle non diverse per $p < 0,01$ (analisi della varianza e test di Duncan).

2° STADIO LARVALE		3° STADIO LARVALE			
n. gg. a 16:18 dopo la 2ª muta	n. medio gg. a 12:12 (*)	n. medio gg. sviluppo complessivo	regime foto-periodico	n. medio gg. sviluppo complessivo	differenza tra il numero medio gg. di sviluppo complessivo con esposizione permanente del 2° stadio a 12:12 e il n. medio gg. di sviluppo complessivo con esposizione parziale del 2° stadio a 12:12 (*)
intero sviluppo	0	$9,971 \pm 0,161$ a	12:12	$12,108 \pm 0,253$ a	177
7	4	$10,965 \pm 0,323$ a	12:12	$17,285 \pm 0,359$ a	172
5	8	$13,250 \pm 0,424$ b	12:12	$24,625 \pm 0,364$	164
4	10	$13,750 \pm 0,340$ b	12:12	$31,250 \pm 0,522$	158
3	17	$20,367 \pm 0,301$	12:12	$113,393 \pm 1,546$	76
2	28	$30,060 \pm 0,387$	12:12	$160,900 \pm 1,806$	28
0	intero sviluppo	$32,241 \pm 0,414$	12:12	$189,100 \pm 1,953$	—

(*) Cifre arrotondate.

il trasferimento dopo 3 giorni e di $30,060 \pm 0,387$ giorni per il trasferimento dopo 2 giorni (per la permanenza continua a fotoperiodo con breve fotofase il valore medio dello sviluppo è di $32,241 \pm 0,414$ giorni).

Pertanto come conseguenza si è avuto che il numero medio di giorni di esposizione a fotoperiodo con breve fotofase per ogni gruppo di larve è andato progressivamente aumentando, come si vede nella tab. I, da

(1) Per ogni media viene indicato il relativo errore standard.

un minimo di 4 giorni (per il trasferimento dopo 7 giorni) ad un massimo di 28 giorni (per il trasferimento dopo 2 giorni) (2).

Si sono quindi registrate le risposte ottenute nelle larve del 3° stadio, mantenute a fotoperiodo con breve fotofase per il periodo del loro sviluppo (dalla 2^a muta alla filatura del bozzolo).

Sempre nella tab. I si può vedere che con esposizione a un numero medio di cicli con breve fotofase compreso tra 4 e 10 lo sviluppo delle larve del 3° stadio è piuttosto contenuto. Infatti rispetto alla lunghezza media di $12,108 \pm 0,253$ giorni raggiunta quando il 2° stadio è stato esposto permanentemente a fotoperiodo con lunga fotofase (che è praticamente la stessa lunghezza che si ottiene con tutti gli stadi larvali esposti a giorni lunghi) si passa, con un numero medio di 4 cicli a breve fotofase sperimentati dalla larva di 2° stadio, alla lunghezza media di $17,285 \pm 0,359$ giorni; con 8 cicli si raggiunge la lunghezza media di $24,625 \pm 0,364$ giorni; con 10 cicli, la lunghezza media di $31,250 \pm 0,522$ giorni.

Con il numero medio di 17 cicli la durata dello sviluppo del 3° stadio diviene assai più elevata e raggiunge la media di $113,393 \pm 1,546$; con 28 cicli la media raggiunta è di $160,900 \pm 1,806$ giorni, valore non molto inferiore alla media di $189,100 \pm 1,953$ giorni ottenuta con larve del 2° stadio permanentemente esposte a fotoperiodo con breve fotofase.

Praticamente, nelle condizioni sperimentali adottate, si trova tra 10 e 17 la soglia del numero di cicli a breve fotofase necessari per ottenere una diapausa di notevole lunghezza (dalla lunghezza media di sviluppo di $31,250 \pm 0,522$ con 10 cicli si passa infatti alla lunghezza media di sviluppo di $113,393 \pm 1,546$ giorni con 17 cicli).

I risultati ottenuti confermano che anche nella specie in esame, e per il tipo di diapausa larvale presentato, le esperienze fotoperiodiche hanno carattere cumulativo e che le risposte relative alla durata della diapausa (e presumibilmente alla intensità) sono almeno in parte determinate dal numero dei cicli fotoperiodici ai quali gli insetti sono esposti durante gli stadi di sviluppo responsabili della induzione. Ogni ciclo giornaliero contribuirebbe cioè ad un certo incremento verso la deter-

(2) Come è stato già riportato nei contributi precedenti, è stato rilevato nelle larve di molti insetti un decremento della velocità di crescita negli stadi precedenti la diapausa soggetti alla induzione fotoperiodica. Il fotoperiodo cioè eserciterebbe un effetto regolatore sulla velocità di accrescimento e quindi sull'incremento ponderale. E' evidente che l'induzione fotoperiodica causa nelle larve cambiamenti fisiologici che si manifestano qualche tempo prima del reale stato di diapausa. Rimane tuttavia da chiarire la relazione esatta tra i due fenomeni: giorno breve e prolungamento dello sviluppo (cfr. al riguardo, tra le altre, le rassegne su tale comportamento riportate in Beck, 1980; Lees, 1968; Saunders, 1982).

minazione della diapausa (o della non diapausa) e la reazione dello sviluppo dell'insetto rifletterebe l'immissione totale delle informazioni fotoperiodiche (Beck, 1977; 1980) (3).

Attivazione della larva in diapausa

Come è stato già riferito, la larva di *Mallada flavifrons* del 3° stadio, qualora in essa sia stata indotta la diapausa (qualora cioè il 2° stadio sia stato esposto a giorni brevi) conserva la capacità di reagire al fotoperiodo (essa non è invece sensibile al fotoperiodo se lo stadio precedente è stato permanentemente esposto a giorni lunghi). Pertanto, come è stato dimostrato per molti altri insetti che offrono tale caratteristica, il suo sviluppo di diapausa può essere accelerato dal fotoperiodo a giorno lungo (Beck, 1980). Il completamento della diapausa avviene tuttavia anche se la larva rimane permanentemente esposta a fotoperiodo con breve fotofase (4) e dopo la fine della diapausa cessa la reazione al fotoperiodo.

È noto che vari fattori ambientali (tra cui il fotoperiodo e la temperatura) possono influenzare fortemente la velocità di sviluppo della diapausa (Tauber e Tauber, 1976) (5). Essi possono esplicare pertanto un'azione attivante. Secondo Hodek (1982, 1983) a portare al completamento della diapausa sarebbero due processi collegati tra loro: lo sviluppo di diapausa (processo orotelico) e l'attivazione della diapausa (processo tachitelico). Quest'ultimo sarebbe dovuto alla stimolazione di fattori ambientali, tra cui appunto il fotoperiodo. La diapausa quindi potrebbe essere completata in modo tachitelico con vari trattamenti, tra cui il più comune sarebbe l'attivazione fotoperiodica. L'Autore precisa che non si può fare una netta distinzione tra sviluppo di diapausa (processo orotelico) e attivazione della diapausa (processo tachitelico). Poiché per la diapausa si devono distinguere una fase iniziale di inten-

(3) In molti casi il livello richiesto per l'induzione si realizzerebbe solo gradualmente, con l'esposizione di molti cicli successivi. L'insetto accumulerebbe giornalmente l'immissione fotoperiodica finché sia raggiunto il numero necessario di fotoperiodi provocanti l'induzione (De Wilde, 1962; Gibbs, 1975). Quando però lo stato sensibile è limitato ad un preciso stadio larvale, si è dimostrato che pochi cicli fotoperiodici possono essere decisivi (Way e Hopkins, 1930). La questione dell'influenza del numero dei cicli di illuminazione e delle risposte che si ottengono è altresì esposta e discussa in Lees (1968), Saunders (1982).

(4) Come affermano Tauber e Tauber (1976), pochi insetti avrebbero bisogno di uno stimolo specifico per terminare la diapausa.

(5) Le larve, come gli adulti, risponderebbero più facilmente, durante la diapausa, ai cambiamenti dell'ambiente di altri stati diapausanti (Hodek, 1982).

sificazione, in cui essa non si è ancora stabilita saldamente, una fase di diapausa profonda e, quindi, una fase in cui l'intensità di diapausa diminuisce (il completamento della diapausa è infatti un processo graduale), secondo che l'attivazione sperimentale si operi durante le diverse fasi della diapausa, cioè durante tappe diverse dei processi orotelici, le risposte saranno differenti. Nelle prime fasi si otterrà un incremento graduale del ritardo di sviluppo. La diminuzione graduale del ritardo di sviluppo potrà considerarsi come una indicazione della progressione col tempo dei processi orotelici. Se cioè l'attivazione avviene quando i processi orotelici non sono molto avanzati il completamento tachitelico durerà più a lungo di quando i processi orotelici sono ulteriormente avanzati e pressoché completati.

TAB. II - Riattivazione delle larve del 3° stadio diapausanti con esposizione a fotoperiodo con lunga fotofase per l'intero sviluppo o solo per un periodo di 10 giorni, a differenti distanze dalla 2ª muta.
I dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza ed al test di Duncan: la differenza tra le medie si è dimostrata altamente significativa in tutti i confronti ($p < 0,01$).

Condizione fotoperiodica	n. medio gg. di sviluppo dopo il trasferimento a 16:18 (fino alla filatura del bozzolo)	n. medio gg. dello sviluppo complessivo (dalla 2ª muta alla filatura del bozzolo)	differenza tra il n. medio gg. di sviluppo complessivo a 12:12 e il n. medio gg. di sviluppo complessivo con riattivazione (cifre arrotondate)
intero sviluppo a 16:8	28,667 ± 0,347	28,667 ± 0,347	160
10 gg. a 16:8 subito dopo la 2ª muta, poi di nuovo a 12:12	56,743 ± 1,196	56,743 ± 1,196	132
10 gg. a 16:8 dopo 20 gg. dalla 2ª muta, poi di nuovo a 12:12	87,000 ± 2,013	107,000 ± 2,013	82
10 gg. a 16:8 dopo 40 gg. dalla 2ª muta, poi di nuovo a 12:12	126,867 ± 3,780	166,867 ± 3,780	22
intero sviluppo a 12:12	0	189,100 ± 1,953	0

Per misurare l'effetto dell'attivazione fotoperiodica sulle larve di 3° stadio di *M. flavifrons*, in cui sia stata indotta la diapausa, sono state condotte due serie di esperimenti.

Nella prima si è utilizzato come strumento di riattivazione un periodo di 10 giorni con fotoperiodo a lunga fotofase, a cui si sono sottoposte a intervalli di tempo diversi le larve del 3° stadio diapausanti e normalmente mantenute con fotoperiodo a breve fotofase. Precisamente

un primo gruppo di larve è stato sottoposto alla parziale riattivazione subito dopo la 2^a muta; un secondo gruppo, venti giorni dopo la muta; un terzo gruppo, quaranta giorni dopo la muta. Le risposte ottenute sono messe in evidenza dalla tab. II. Il primo gruppo offre un ritardo di sviluppo evidente. La media di $56,743 \pm 1,196$ giorni impiegati dalla 2^a muta alla filatura del bozzolo è infatti superiore a quella di circa una diecina di giorni o poco di più ottenuta per le larve di 3° stadio in cui non sia stata indotta la diapausa. Si tratta tuttavia di un ritardo assai modesto se si tiene presente che lo sviluppo complessivo (dalla 2^a muta alla filatura del bozzolo) nelle larve non sottoposte ad alcuna attivazione raggiunge la media di $189,100 \pm 1,953$ giorni.

Nel secondo gruppo il valore medio di giorni di sviluppo complessivo appare pressoché raddoppiato ($107,000 \pm 2,013$).

Il terzo gruppo presenta una media di $166,867 \pm 3,780$ giorni di sviluppo complessivo, non molto inferiore a quella di $189,100 \pm 1,953$ ottenuta per le larve che non hanno subito attivazione. Nonostante che le larve dopo la muta progrediscano gradatamente nel loro accrescimento, tuttavia il ritardo nella filatura del bozzolo appare tanto più accentuato quanto più l'intervento di attivazione (per lo meno per gli interventi operati nei primi quaranta giorni) sia tardivo. La risposta all'attivazione è cioè, entro tale periodo, tanto più debole quanto più ci si allontani dalla muta.

Una seconda serie di esperimenti è stata realizzata operando il trasferimento delle larve diapausanti a fotoperiodo con lunga fotofase in maniera definitiva, lasciando cioè le larve permanentemente esposte a tale fotoperiodo fino alla filatura del bozzolo. I trasferimenti sono stati eseguiti a intervalli di giorni diversi dalla 2^a muta e, precisamente, subito dopo la muta e quindi 20, 40, 70, 120 giorni dopo la muta. Le lunghezze di sviluppo complessivo ottenute si sono quindi paragonate con la lunghezza di sviluppo di larve diapausanti tenute permanentemente a fotoperiodo con breve fotofase. I risultati sono esposti nella tab. III.

Si può osservare come il numero medio di giorni di sviluppo complessivo dalla 2^a muta alla filatura del bozzolo aumenti progressivamente dal valore medio di $28,667 \pm 0,347$ giorni con trasferimento operato subito dopo la muta, fino al valore medio di $141,500 \pm 0,881$ giorni con trasferimento operato dopo 120 giorni. È bene qui tenere presente che lo sviluppo delle larve di 3° stadio (dalla muta alla filatura del bozzolo) esposte permanentemente a lunga fotofase, e qualora non sia stata indotta la diapausa, ha una lunghezza media di poco più di una diecina di giorni, mentre, quando è stata regolarmente indotta la diapausa e il 3° stadio rimane permanentemente esposto a fotoperiodo con breve fotofase, si è raggiunto il valore medio di $194,471 \pm 1,123$ giorni.

Se consideriamo ora, come è riportato nella tab. III, il numero medio di giorni che intercorre dal momento del trasferimento fino alla filatura del bozzolo, vediamo che tale numero ha un valore poco elevato quando il trasferimento è operato subito dopo la muta ($28,667 \pm 0,347$ giorni), aumenta notevolmente con trasferimento operato dopo 20 giorni ($50,710 \pm 1,579$ giorni) e si mantiene elevato su valori simili per i trasferimenti successivi operati entro i 70 giorni (con trasferimento operato dopo 70 giorni dalla muta il valore medio è risultato di $52,538 \pm 2,459$ giorni).

La differenza tra i valori medi ottenuti con i trasferimenti operati

TAB. III - Riattivazione delle larve del 3° stadio diapausanti con trasferimento a fotoperiodo con lunga fotofase operato a differenti distanze dalla 2ª muta. I dati sono stati sottoposti all'analisi della varianza ed al test di Duncan: la differenza tra le medie dello sviluppo complessivo si è dimostrata altamente significativa in tutti i confronti ($p < 0,01$).

n. gg. a 12:12 dopo la 2ª muta prima del trasferimento a 16:8)	n. medio gg. a 16:8 (dal trasferimento fino alla filatura del bozzolo)	n. medio gg. di sviluppo complessivo (dalla 2ª muta alla filatura del bozzolo)	differenza tra il n. medio gg. di svi- luppo complessivo a 12:12 e il n. medio gg. di sviluppo complessivo con riattivazione (cifre arrotondate)
0	$28,667 \pm 0,347$	$28,667 \pm 0,347$	166
20	$50,710 \pm 1,579$	$70,710 \pm 1,579$	124
40	$45,030 \pm 1,637$	$85,030 \pm 1,637$	109
70	$52,538 \pm 2,459$	$122,538 \pm 2,459$	72
120	$21,500 \pm 0,881$	$141,500 \pm 0,881$	53
intero sviluppo a 12:12	0	$194,471 \pm 1,123$	—

dopo 20, 40 e 70 giorni dalla muta non è significativa. Il valore medio scende poi, per il trasferimento operato dopo 120 giorni, a $21,500 \pm 0,881$ giorni. Le larve di questo gruppo hanno filato il bozzolo con un vantaggio in media di circa 53 giorni rispetto alle larve diapausanti permanentemente esposte a fotoperiodo con breve fotofase.

Accrescimento ponderale delle larve del 3° stadio

in condizioni di non diapausa e di diapausa

Le larve del 3° stadio subito dopo la 2ª muta hanno differente peso secondo che provengano da larve del 2° stadio esposte a fotoperiodo con lunga fotofase oppure a breve fotofase. Nel caso in cui non sia stata indotta la diapausa si è infatti registrato il peso medio di mg

1,731 ± 8,551; quando la diapausa è stata indotta il peso medio è di mg 1,969 ± 5,021. La differenza tra i due valori è statisticamente significativa (tab. IV). Evidentemente il prolungamento di sviluppo che si osserva nelle larve di 2° stadio sottoposte a giorni brevi è collegato con il raggiungimento di un peso corporeo maggiore.

In seguito l'accrescimento ponderale delle larve del 3° stadio pro-

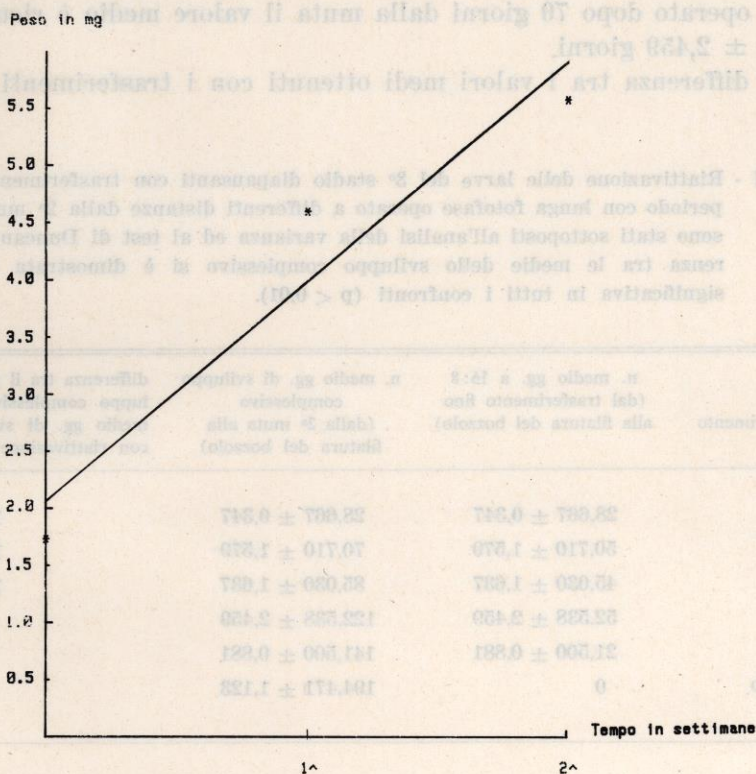


FIG. I

Andamento dell'accrescimento ponderale medio delle larve di 3° stadio senza diapausa (l'ultima pesata è stata eseguita entro la settimana precedente la filatura del bozzolo). La retta è il risultato dell'interpolazione lineare dei valori ottenuti. Gli asterischi rappresentano i valori ponderali medi. L'asterisco sulla destra indica la media ottenuta con i soli esemplari che hanno trascorso nel terzo stadio almeno due intere settimane.

segue con una velocità diversa secondo che si tratti di larve in cui non sia stata indotta la diapausa e mantenute a fotoperiodo con lunga fotofase, o di larve in cui sia stata indotta la diapausa e mantenute a fotoperiodo con breve fotofase.

Come già è stato riferito, le prime presentano uno sviluppo assai più rapido delle seconde. Nell'esperimento condotto per il rilievo dei

pesi, le larve senza diapausa hanno impiegato dalla 2^a muta alla filatura del bozzolo una media di $12,217 \pm 0,340$ giorni; quelle con dia-

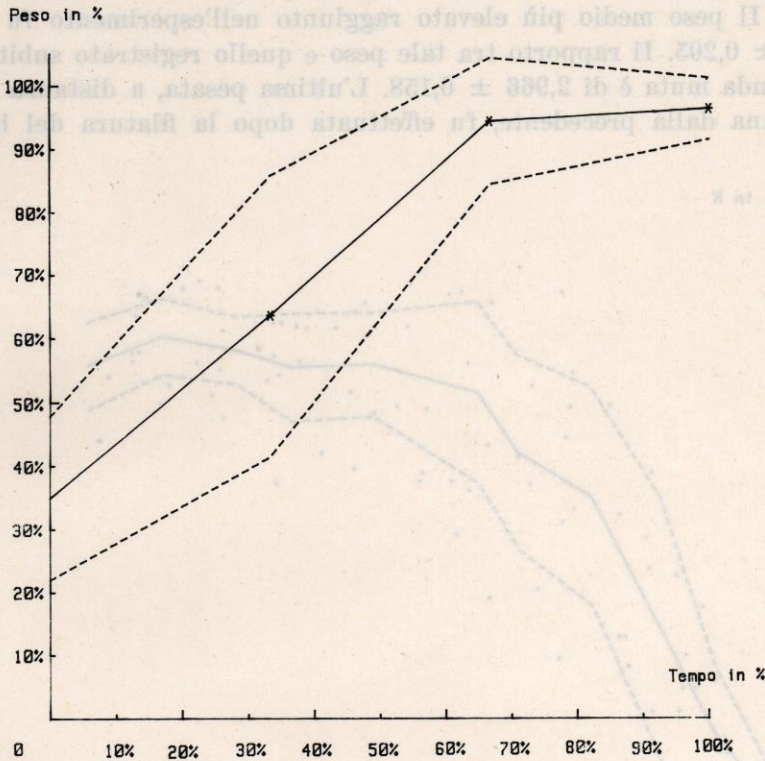


FIG. II

Andamento dell'accrescimento ponderale medio delle larve di 3^o stadio senza diapausa (l'ultima pesata riguarda il bozzolo). I valori che formano la linea continua sono stati calcolati in percentuale rispetto al peso massimo di ogni individuo (in ordinata) e in percentuale rispetto al tempo trascorso in 3^a età (in ascissa). Le linee tratteggiate indicano la deviazione standard delle medie che compongono la spezzata.

pausa una media di $60,652 \pm 4,536$ (°) (con differenza altamente significativa tra i due valori).

(6) Questa media è assai meno elevata di quelle ottenute negli esperimenti dove le larve non erano sottoposte alla pesatura. Si pensa che una probabile causa dell'abbassamento di tale valore sia stata l'elevata mortalità verificatasi soprattutto per le larve in diapausa, che hanno subito un numero elevato di pesate e quindi ripetute manipolazioni. Molte delle larve con più lungo sviluppo finirono per soccombere prima di filare il bozzolo e vennero così escluse dal conteggio. D'altra parte Ineichen e al. (1979) negli allevamenti condotti con *Chironomus plumosus*, con lo scopo di studiarne il comportamento di sviluppo sotto l'influenza del fotoperiodo, hanno osservato che la manipolazione delle larve in diapausa può portare a un leggero accorciamento dello sviluppo. Responsabile del fenomeno potrebbe essere, tra l'altro, un aumento della temperatura.

Le larve senza diapausa presentano un accrescimento ponderale più veloce e la velocità con cui raggiungono il loro peso massimo è piuttosto uniforme rispetto a quanto avviene nelle larve con diapausa (figg. I, II). Il peso medio più elevato raggiunto nell'esperimento fu di $4,886 \pm 0,205$. Il rapporto tra tale peso e quello registrato subito dopo la seconda muta è di $2,966 \pm 0,158$. L'ultima pesata, a distanza di una settimana dalla precedente, fu effettuata dopo la filatura del bozzolo.

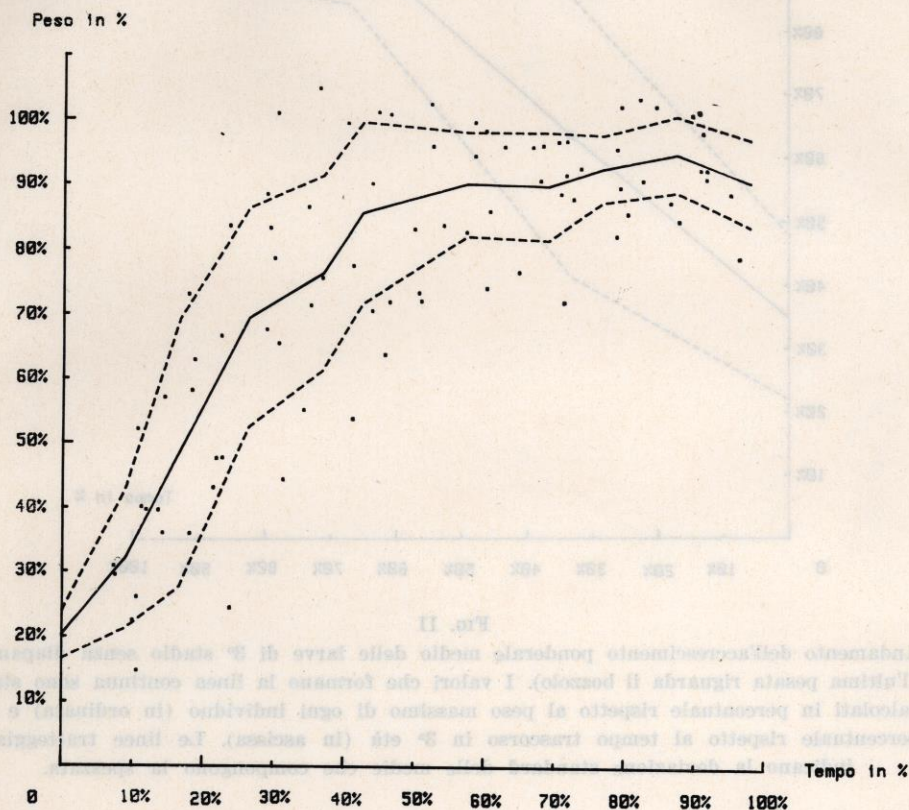


FIG. III

Andamento dell'accrescimento ponderale medio delle larve di 3° stadio in diapausa, che abbiano trascorso in 3° età almeno dieci settimane. L'ultima pesata riguarda il bozzolo. I valori che formano la linea continua sono stati calcolati in percentuale seguendo lo stesso criterio esposto per la fig. II. Le linee tratteggiate indicano la deviazione standard delle medie. I punti raffigurano in percentuale i valori delle singole pesate.

Il peso medio del bozzolo risultò di $4,999 \pm 0,197$ (tab. IV). Le larve infatti, prima di costruire il bozzolo, riducono o annullano l'incremento ponderale (per alcune è stato osservato addirittura un decremento) (fig. II).

L'accrescimento ponderale delle larve con diapausa si manifesta con un andamento assai diverso. In una prima fase esse aumentano di peso

TAB. IV - Valori ponderali raggiunti durante lo sviluppo delle larve di 3° stadio con e senza diapausa.

Condizione della larva di 3° stadio	Numero individui	Peso medio in mg, larve di 3° stadio subito dopo la 2ª muta	Peso massimo medio in mg delle larve di 3° stadio	Peso medio del bozzolo in mg	Rapporto medio peso massimo/peso dopo la 2ª muta delle larve di 3° stadio
senza diapausa	46	1,731 ± 8,551	4,886 ± 0,205	4,999 ± 0,197	2,966 ± 0,158
con diapausa	24	1,969 ± 5,021	9,655 ± 0,405	8,070 ± 0,286	4,868 ± 0,150
		diff. sign.	diff. alt. sign.	diff. alt. sign.	diff. sign.

La differenza tra i valori sottoposti all'analisi della varianza ed al test di Duncan, è stata considerata significativa per $p < 0,05$ ed altamente significativa per $p < 0,001$.

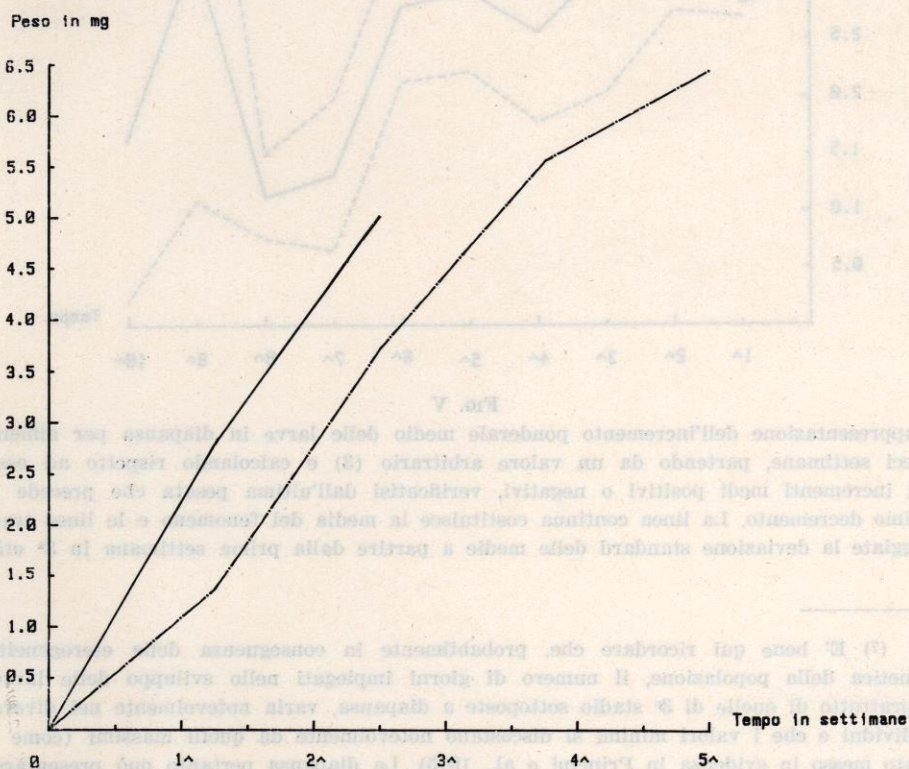


FIG. IV

Rappresentazione dell'incremento ponderale medio durante la 3ª età in larve senza diapausa (linea continua) e con diapausa (linea tratteggiata). Per le larve in diapausa sono considerate solo le prime cinque settimane.

abbastanza velocemente, tuttavia con una velocità inferiore rispetto a quella delle larve non in diapausa (figg. III, IV). Tale fase, nei diversi

individui, non ha una durata uniforme (7). Essa può estendersi per tre

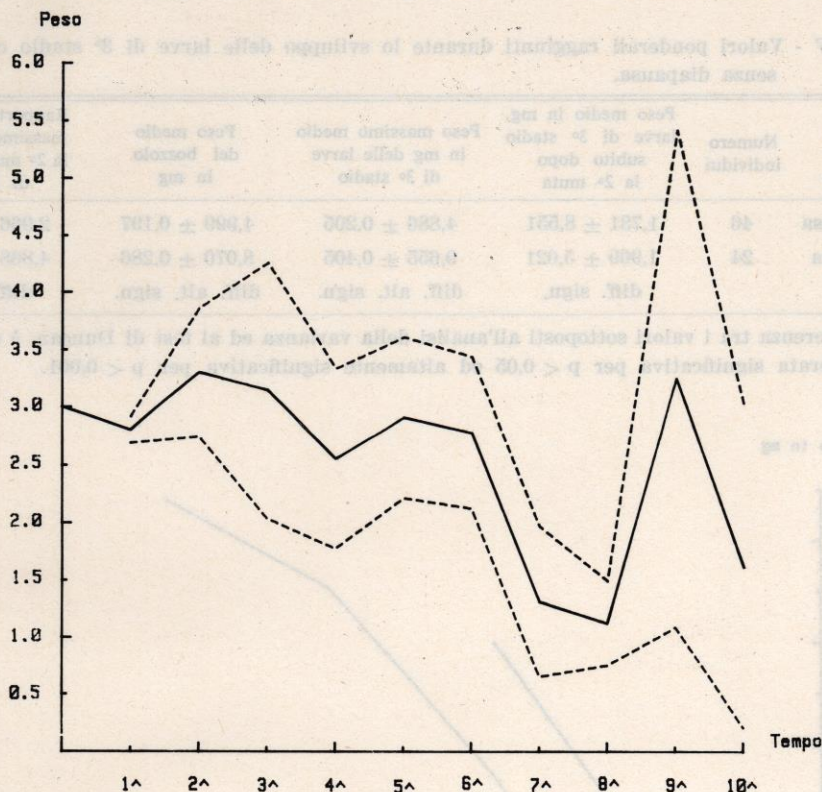


FIG. V

Rappresentazione dell'incremento ponderale medio delle larve in diapausa per almeno dieci settimane, partendo da un valore arbitrario (3) e calcolando rispetto ad esso gli incrementi medi positivi o negativi, verificatisi dall'ultima pesata che precede il primo decremento. La linea continua costituisce la media del fenomeno e le linee tratteggiate la deviazione standard delle medie a partire dalla prima settimana in 3^a età.

(7) E' bene qui ricordare che, probabilmente in conseguenza della eterogeneità genetica della popolazione, il numero di giorni impiegati nello sviluppo delle larve, soprattutto di quelle di 3^o stadio sottoposte a diapausa, varia notevolmente nei diversi individui e che i valori minimi si discostano notevolmente da quelli massimi (come è stato messo in evidenza in Principi e al., 1975). La diapausa pertanto può presentarsi con lunghezze di giorni assai differenti. Tauber e Tauber (1976) mettono in rilievo al riguardo che nell'ambito di ciascuna popolazione una grande eterogeneità genetica provoca una grande variabilità nella durata della diapausa.

Per tale motivo, nella rappresentazione grafica dell'andamento del peso medio delle larve si è ricorso al calcolo percentuale, in quanto con una rappresentazione tradizionale indicante il tempo reale e la media delle singole pesate l'osservazione del fenomeno sarebbe stata mascherata dalla scalarità nel tempo di ogni larva nel raggiungere il proprio peso massimo e nel filare il bozzolo.

o più settimane, fino a comprendere la 5^a settimana. Fin dalla 4^a settimana può registrarsi qualche decremento.

Oltre la 5^a settimana si registrano ancora incrementi di peso, ma questa seconda fase è caratterizzata da una velocità di accrescimento ponderale assai ridotta rispetto a quella della prima fase e agli incrementi si alternano periodi in cui non si registra alcun aumento sostanziale di peso o addirittura decrementi (figg. IV, V).

Complessivamente per le larve di 3^a età mantenute in diapausa il peso medio più elevato è risultato di mg $9,655 \pm 0,405$ (con una differenza altamente significativa rispetto al peso medio più elevato di mg $4,886 \pm 0,205$ registrato per le larve non in diapausa) (tab. IV). Tale dato va però considerato in funzione delle condizioni di allevamento, dove la temperatura era senz'altro costantemente più elevata di quella che si registra nei nostri climi durante l'inverno, ed il cibo era di diversa natura e fornito in abbondanza ⁽⁸⁾ ⁽⁹⁾. Il rapporto tra il peso medio massimo ed il peso medio registrato subito dopo la 2^a muta è di $4,868 \pm 0,150$. La differenza tra tale rapporto e quello di $2,966 \pm 0,158$ calcolato per le larve mantenute in tutti gli stadi a fotoperiodo con lunga fotofase, è significativa.

Come per le larve senza diapausa, l'ultima pesata, a distanza di una settimana dalla precedente, fu effettuata dopo la filatura del bozzolo. Il peso medio del bozzolo risultò di mg $8,070 \pm 0,286$, valore notevolmente più elevato del peso medio del bozzolo delle larve non in diapausa (la differenza è altamente significativa) (tab. IV). Nelle larve con diapausa, pertanto, il peso medio del bozzolo, è inferiore al valore del peso medio massimo (di mg $9,655 \pm 0,405$) raggiunto dal 3^o stadio. La differenza è statisticamente significativa. Le larve infatti, prima di filare il bozzolo, subiscono un decremento di peso che, secondo gli individui, può interessare una o talora due o più settimane (figg. IV, V).

(8) In un allevamento condotto molti anni orsono, prima dell'inizio degli esperimenti sull'influenza del fotoperiodo sul ciclo di sviluppo, larve di 3^o stadio ibernanti furono mantenute entro gabbie in ambiente naturale. Una saltuaria fornitura di cibo si rese necessaria perché le larve in condizione di digiuno integrale finivano per morire. Alcune di esse all'inizio della primavera apparvero tuttavia denutrite e ripresero a nutrirsi con voracità prima di filare il bozzolo.

(9) Adamek e Fischer (1985), riportano per *Chironomus plumosus* che le larve dormienti di 4^a età sono più pesanti di quelle non dormienti. Ineichen e al. (1979), per la stessa specie, precisano che l'alto peso riscontrato nelle larve dormienti negli esperimenti di laboratorio può essere dovuto alla temperatura (di 15° C) in collegamento con la breve fotofase del fotoperiodo (cioè ad una condizione di temperatura non « invernale » rispetto al fotoperiodo « invernale »). La temperatura regolerebbe la presa del cibo. Tuttavia gli Autori aggiungono che anche in natura gli adulti primaverili, provenienti da larve che hanno subito la dormienza, sono molto più grandi e pesanti degli adulti estivi provenienti da larve sviluppatesi senza dormienza.

CONCLUSIONI

Le larve di *Mallada flavifrons* subiscono dunque una diapausa facoltativa, che si manifesta durante il 3° stadio larvale e che si completa prima della filatura del bozzolo. In natura sono di regola le larve della 3ª generazione, il cui sviluppo ha inizio verso la fine dell'estate e nel primo periodo dell'autunno, che sono destinate a subire l'influenza dei giorni brevi. Sensibili al fotoperiodo sono ambedue i primi stadi larvali, ma è il 2° stadio, indipendentemente dall'esperienza fotoperiodica del 1° stadio, che risulta prevalentemente responsabile dell'induzione.

Il 2° stadio, secondo il periodo stagionale durante il quale si svolge il suo sviluppo, riceverà una esperienza fotoperiodica diversa, cioè più avanzata nella stagione sarà la sua comparsa, più elevato naturalmente sarà il numero dei cicli fotoperiodici con breve fotofase che subirà. Poiché poi i brevi giorni hanno l'effetto di provocare un prolungamento del suo sviluppo, aumenterà progressivamente sotto tale esperienza il numero dei cicli a breve fotofase subiti. Sperimentalmente si è potuto dimostrare che la larva del 2° stadio è sensibile al fotoperiodo per tutto il periodo del suo sviluppo e che fin dai primi giorni dopo la 1ª muta l'effetto fotoperiodico si rivela nella induzione della diapausa.

La diapausa nel 3° stadio si manifesta come un prolungamento accentuato dello sviluppo che, se le larve sperimentalmente sono mantenute a una temperatura abbastanza elevata ($21^{\circ} \text{C} \pm 1$) e fornite costantemente di cibo, purché sotto fotoperiodo con breve fotofase, può protrarsi per una media di oltre sei mesi.

Tali lunghezze si sono tuttavia raggiunte negli esperimenti quando la larva di 2° stadio era esposta a una media di una trentina di cicli fotoperiodici con breve fotofase. Se la larva di 2° stadio subisce l'influenza dei giorni brevi solo nell'ultima parte del suo sviluppo e per la prima parte rimane a giorni lunghi, il prolungamento di sviluppo presentato dalla larva di 3° stadio è molto modesto. Esso tuttavia tende ad aumentare con l'aumentare del numero dei cicli fotoperiodici a breve fotofase subiti dal 2° stadio. Sperimentalmente, con uno sviluppo della larva di 2° stadio in media di circa 14 giorni, di cui in media gli ultimi 10 sotto breve fotofase, la lunghezza di sviluppo della larva di 3° stadio (mantenuta a breve fotofase) non va oltre una media di circa 31 giorni, valore assai modesto rispetto alla media di circa 12 giorni che si verifica quando il 2° stadio ha solo sperimentato giorni lunghi. Quando tuttavia si porta sperimentalmente da 4 a 3 il numero di giorni a lunga fotofase, con il risultato che lo sviluppo del 2° stadio si prolunga complessivamente per una media di circa 20 giorni, il numero medio di cicli a breve fotofase sale a 17, con il risultato che la lunghezza di sviluppo della larva di 3° stadio raggiunge la media di circa 113 giorni. Una ulteriore riduzione del

numero dei giorni a lunga fotofase con aumento dei cicli a breve fotofase, porta la lunghezza in giorni dello sviluppo della larva di 3° stadio a valori medi assai prossimi a quelli raggiunti con l'intera permanenza del 2° stadio a fotoperiodo con breve fotofase.

Evidentemente ogni ciclo fotoperiodico a breve fotofase ha una sua efficacia sulla determinazione della diapausa e l'effetto è cumulativo, ma è solo l'immissione di un numero critico di cicli a breve fotofase che provoca l'induzione di una diapausa di notevole lunghezza. Nella nostra sperimentazione tale numero è risultato compreso tra 10 e 17 cicli.

La sensibilità al fotoperiodo della larva di 3° stadio, a differenza di quanto avviene per il 2° stadio, è condizionata dall'esperienza fotoperiodica dello stadio precedente. Se non vi è stata induzione, se cioè il 2° stadio non ha sperimentato i giorni brevi, la larva di 3° stadio, anche se mantenuta con fotoperiodo a breve fotofase, compie il suo sviluppo in un numero di giorni pressoché uguale a quello di quando tutto il ciclo si svolge sotto fotoperiodo con lunga fotofase. Viceversa, se lo sviluppo del 2° stadio si è svolto sotto i giorni brevi, il 3° stadio, mantenuto a fotoperiodo con breve fotofase, presenta nelle condizioni sperimentali una lunghezza di sviluppo che raggiunge e oltrepassa la media di sei mesi. Il fotoperiodo con breve fotofase nel 3° stadio esplicherebbe una funzione di mantenimento della diapausa. Tuttavia esso non impedisce ai processi orotelici di proseguire e lo sviluppo di diapausa procede fino al suo completamento, così che anche sotto i giorni brevi le larve portano a termine il loro sviluppo, completano la diapausa e, quindi, si preparano alla filatura del bozzolo entro cui compiranno normalmente le metamorfosi.

La riattivazione sperimentale, mediante l'impiego temporaneo o permanente di cicli fotoperiodici a lunga fotofase, ha messo in evidenza che la larva di 3° stadio, in cui sia stata indotta la diapausa, si trova già, subito dopo la 2^a muta, in uno stato fisiologico particolare, così che la riattivazione la porta a completare il suo sviluppo in un numero di giorni assai ridotto rispetto a quando la larva è mantenuta permanentemente sotto giorni brevi, ma tuttavia sempre notevolmente più lungo di quando la diapausa non è stata determinata. Quando la riattivazione è operata una ventina di giorni dopo la 2^a muta, il prolungamento di sviluppo è assai più accentuato e più elevato è il numero di giorni che occorrono dall'inizio della riattivazione alla filatura del bozzolo. Con il procedere dei processi orotelici tale numero rimane assai elevato, fino a che, sperimentalmente dopo 120 giorni, il periodo necessario per la riattivazione diminuisce sensibilmente (da 50 giorni circa dopo 70 giorni dalla muta, a 21 giorni circa dopo 120 giorni). Evidentemente la diapausa volge oramai al suo completamento.

L'andamento dell'accrescimento ponderale, seguito nelle larve di un allevamento sperimentale, è fondamentalmente in accordo con quanto ha permesso di mettere in rilievo il metodo dell'attivazione sperimentale.

Mentre le larve del 3° stadio senza diapausa completano il loro sviluppo in poco più di una diecina di giorni in media e offrono un accrescimento ponderale rapido e continuo fino al raggiungimento del peso massimo, dopo di cui vi è una lieve diminuzione dell'incremento ponderale che precede la filatura del bozzolo, le larve del 3° stadio con diapausa aumentano altresì di peso dopo la muta, ma con una velocità di accrescimento inferiore a quella presentata dalle larve senza diapausa. Tale accrescimento di peso, sia pure piuttosto lento, prosegue nelle prime tre o quattro settimane senza interruzione; poi si incomincia ad osservare qualche decremento e la velocità di accrescimento ponderale, dopo la quarta o la quinta settimana, complessivamente diminuisce. Pur tuttavia le larve accrescono ancora il loro peso, così da raggiungere un peso massimo assai più elevato di quello raggiunto dalle larve senza diapausa.

Prima della filatura del bozzolo le larve subiscono un decremento di peso accentuato, che può interessare una o più settimane.

Il fatto che le larve in diapausa raggiungano un peso massimo più elevato di quello delle larve non in diapausa, potrebbe, almeno in parte, essere la conseguenza delle condizioni sperimentali. Infatti le larve con diapausa sono mantenute ad una temperatura costante ($21^{\circ} \text{C} \pm 1$) più elevata delle temperature medie che normalmente le larve sopportano in condizioni naturali durante la seconda parte dell'autunno e dell'inverno, e per di più dispongono di cibo sempre offerto loro in abbondanza.

Durante l'inverno le larve sono state osservate in condizioni naturali spostarsi, catturare prede e nutrirsi, ma certamente le basse temperature influiscono su di loro riducendone l'attività e inoltre (le larve di *Mallada* sono piuttosto resistenti al digiuno) i pasti non potranno essere molto frequenti in quanto le prede, durante l'inverno, non sono sempre di facile reperimento.

RIASSUNTO

In un contributo precedente è stato dimostrato che in *Mallada flavifrons* una diapausa facoltativa colpisce la larva di 3° stadio durante la sua vita libera, prima della filatura del bozzolo.

E' risultata responsabile dell'induzione l'esposizione a giorni brevi (con 12 ore di luce e 12 di oscurità) della larva di 2° stadio. Sensibile al fotoperiodo è altresì il primo stadio larvale, ma la sensibilità del 2° stadio si verifica anche se il 1° stadio ha sperimentato solo i giorni lunghi (con 16 ore di luce e 12 di oscurità). Tuttavia, se il 1° stadio ha sperimentato i giorni brevi, il 2° stadio ne risente con un lieve prolungamento del suo sviluppo. Nel 3° stadio la diapausa si manifesta con un prolungamento accen-

tuato dello sviluppo che, nelle condizioni sperimentali con temperatura di $21^{\circ} \text{C} \pm 1$ e sotto brevi giorni può protrarsi per una media di circa sei mesi.

Nel presente contributo si è voluta indagare sperimentalmente l'influenza esercitata da differenti numeri di cicli fotoperiodici a giorno breve subito dal 2° stadio, sulla lunghezza di sviluppo della larva di 3° stadio mantenuta a giorni brevi. La larva del 2° stadio è apparsa sensibile al fotoperiodo durante tutto il suo sviluppo: fin dai primi giorni dopo la 1ª muta l'effetto fotoperiodico si rivela nella induzione della diapausa. Poiché poi i brevi giorni hanno altresì l'effetto di prolungare entro certi limiti lo sviluppo del 2° stadio, sotto tale esperienza aumenterà progressivamente il numero dei cicli fotoperiodici a giorno breve subito. Con uno sviluppo della larva di 2° stadio in media di $13,750 \pm 0,340$ giorni, di cui in media gli ultimi 10 a fotoperiodo con breve fotofase, la larva di 3° stadio offre uno sviluppo in media di $31,250 \pm 0,522$ giorni (mentre la lunghezza del suo sviluppo, quando il 2° stadio è stato permanentemente esposto a giorni lunghi, è in media di $12,108 \pm 0,253$ giorni). Se si riduce da 4 a 3 il numero dei cicli fotoperiodici con lunga fotofase sperimentati dal 2° stadio dopo la 1ª muta, la lunghezza dello stadio medesimo si prolunga complessivamente per una media di $20,367 \pm 0,301$ giorni e il numero dei cicli a breve fotofase sale quindi a una media di 17. Come conseguenza si registra che la lunghezza di sviluppo della larva del 3° stadio raggiunge la media di $113,393 \pm 1,546$ giorni. L'ulteriore riduzione a 2 cicli a lunga fotofase, con conseguente aumento a una media di 28 cicli a breve fotofase, conduce a una lunghezza media di sviluppo del 3° stadio di $160,900 \pm 1,806$ giorni, valore assai prossimo alla media di $189,100 \pm 1,953$ giorni che si ottiene quando il 2° stadio ha sperimentato solo giorni brevi (con sviluppo in media di $32,241 \pm 0,414$ giorni).

Ogni ciclo fotoperiodico a breve fotofase ha quindi una sua efficacia sulla determinazione della diapausa e l'effetto è cumulativo. Ma è solo l'immissione di un numero critico di cicli a breve fotofase (nella nostra sperimentazione compreso tra 10 e 17) che provoca l'induzione di una diapausa di notevole lunghezza e intensità.

La sensibilità al fotoperiodo nella larva di 3° stadio, differentemente da quanto avviene nel 2° stadio, è condizionata dall'esperienza fotoperiodica dello stadio precedente. Se questo infatti è stato esposto permanentemente a giorni lunghi, il 3° stadio, esposto a fotoperiodo con breve fotofase, compie il suo sviluppo nello stesso numero di giorni di quando l'intero sviluppo si svolge sotto giorni lunghi. Ma se la diapausa è stata indotta, il fotoperiodo con breve fotofase eserciterebbe una funzione di mantenimento della diapausa. Tuttavia esso non impedisce ai processi orotelici di proseguire e lo sviluppo di diapausa procede fino al suo completamento. Le larve, anche sotto giorni brevi, portano a termine il loro sviluppo, e, completata la diapausa, si preparano alla filatura del bozzolo.

La riattivazione sperimentale, mediante l'impiego temporaneo o permanente di cicli fotoperiodici a lunga fotofase, ha messo in evidenza che la larva di 3° stadio in cui sia stata indotta la diapausa, si trova già subito dopo la 2ª muta in uno stato fisiologico particolare. Se infatti è sottoposta a 10 cicli a lunga fotofase e quindi riportata a breve fotofase, essa completa il suo sviluppo in una media di $56,743 \pm 1,196$ giorni; se riattivata permanentemente, essa lo completa in una media di $28,667 \pm 0,347$ giorni. Ambedue i valori sono più elevati della media di $12,108 \pm 0,253$ giorni che si ha quando non vi è stata induzione. Quando la riattivazione ha inizio 20 giorni dopo la 2ª muta, si ha come risposta una lunghezza complessiva di sviluppo in media di $107,000 \pm 2,013$ giorni, con riattivazione temporanea di 10 giorni; in media di $70,710 \pm 1,579$ giorni con riattivazione permanente. In questo ultimo caso dall'inizio della riattivazione alla filatura del bozzolo occorre quindi una media di $50,710 \pm 1,579$ giorni. Con il progredire dei processi orotelici il numero dei giorni che trascorrono dall'inizio della riattivazione alla filatura del bozzolo rimane assai elevato. Con riattivazione permanente iniziata 70 giorni dopo la 2ª muta, esso risulta in media di $52,538 \pm 2,459$. Con

riattivazione permanente iniziata dopo 120 giorni, esso tuttavia si riduce a una media di $21,500 \pm 0,881$, con uno sviluppo complessivo medio di $141,500 \pm 0,881$ giorni (rispetto alla lunghezza complessiva di sviluppo in media di $194,471 \pm 1,123$ giorni che si ha quando non si opera alcuna riattivazione).

Evidentemente la diapausa volge oramai al suo completamento.

Subito dopo la 2^a muta le larve di 3^o stadio hanno peso significativamente diverso secondo che, durante il 2^o stadio, si sia avuta o no l'induzione della diapausa (nel primo caso il peso è di $mg\ 1,969 \pm 5,021$, nel secondo di $mg\ 1,731 \pm 8,551$). L'accrescimento ponderale procede quindi con velocità diversa secondo che si tratti di larve con diapausa o senza diapausa.

Nelle larve senza diapausa la velocità dell'accrescimento ponderale è maggiore e più uniforme. Il peso medio più elevato raggiunto fu di $mg\ 4,886 \pm 0,205$. Tuttavia prima della filatura del bozzolo l'incremento ponderale si riduce.

L'accrescimento ponderale delle larve con diapausa si manifesta con un andamento assai diverso. Nelle prime tre o quattro settimane esso ha una velocità abbastanza uniforme, ma inferiore a quella registrata nelle larve senza diapausa. Poi si incomincia a verificare qualche decremento di peso e, complessivamente, la velocità di accrescimento ponderale dopo la 4^a o la 5^a settimana diminuisce ulteriormente. Tuttavia le larve continuano ad aumentare di peso (il peso medio più elevato raggiunto fu di $mg\ 9,655 \pm 0,405$).

La differenza tra i due rapporti calcolati tra il peso massimo raggiunto e quello iniziale dopo la 2^a muta, rispettivamente nelle larve senza e con diapausa, è significativa ($2,966 \pm 0,158$ contro $4,868 \pm 0,150$).

Si suppone che il peso notevolmente elevato raggiunto dalle larve con diapausa rispetto a quello raggiunto dalle larve senza diapausa, possa, almeno in parte, essere la conseguenza della temperatura ($21^{\circ}C \pm 1$) mantenuta costantemente negli allevamenti.

Prima di filare il bozzolo le larve con diapausa subiscono un decremento di peso che, secondo gli individui, può interessare una o talora 2 o più settimane.

Larval Diapause in *Mallada* (= *Anisochrysa*) *flavifrons* (Brauer) (Neuroptera, Chrysopidae): Photoperiodic Cycles in Induction of Diapause, Diapause Development and Activation, Weight Increase of the Diapausing Instar.

SUMMARY

In an earlier publication it has been shown that in *Mallada flavifrons* the third instar larva undergoes a facultative diapause during its free life before cocoon spinning. It has been found that short day exposure (LD 12:12) of the second instar larva is responsible for induction. The first instar larva, too, is sensitive to photoperiod, but the second instar is sensitive even if the first instar experienced only long days (LD 16:8). However, if the first instar has experienced short days, the second instar shows a slight lengthening of its development. In the third instar diapause is expressed by a noticeable lengthening of development, which in experimental conditions at $21^{\circ}C \pm 1$ and under short-day conditions (LD 12:12) may reach an average of about six months.

In this contribution the authors intended to study the influence that different numbers of short-day cycles experienced by the second instar, exert on the length of development

in the third instar larva kept under short-day conditions. The second instar larva is sensitive to photoperiod throughout its development: from the first days after the first moult the photoperiodic effect is revealed in diapause induction. Moreover, as short days produce the effect of lengthening development of the second instar within certain limits, the number of short-day cycles experienced will increase progressively under such photoperiodic conditions. When development of the second instar larva lasts on an average 13.750 ± 0.340 days of which, on an average, the last ten days under short-day conditions, development of the third instar larva lasts on the average 31.250 ± 0.522 days (whereas, if the second instar has constantly experienced long days, its development requires on the average 12.108 ± 0.253 days). If the number of long-day cycles experienced by the second instar after the first moult is reduced from 4 to 3, the length of the same instar is protracted on the average to 20.367 ± 0.301 days and, therefore, the number of short-day cycles rises to an average of 17. In consequence the length of development of the third instar larva reaches an average of 113.393 ± 1.546 days. A further decrease to 2 long-day cycles, and, consequently, an increase to an average of 28 short-day cycles, result in an average length of the third instar development of 160.900 ± 1.806 days. This value, indeed, is very near to the average of 189.100 ± 1.953 days which results when the second instar has experienced only short days (its average development lasting 32.241 ± 0.414 days).

Therefore, every short-day cycle has its own effectiveness on the induction of diapause and the effect is cumulative, but it is only the immission of a critical number of short-day cycles (in our experiments between 10 and 17) which induces a diapause of a considerable length.

Photoperiodic sensitivity of the third instar larva, unlike what happens in the second instar, is conditioned by photoperiod experienced in the foregoing instar. Indeed if the second instar is continuously maintained under long-day conditions, the third instar exposed to short-day photoperiod, completes its development in the same number of days as when the whole development occurs under long-day conditions. Instead, if induction occurred, short-day photoperiod would perform an action of maintaining diapause. However it does not prevent horotelic processes from advancing and diapause development continues up to its completion. Larvae, even if under short-day conditions, fulfill their development and, having completed diapause, prepare for cocoon spinning.

Experimental reactivation by means of the temporary or permanent use of long-day cycles showed that the third instar larva, where diapause was induced, immediately after the second moult is already in a particular physiological state. Indeed, if it is exposed to 10 long-day cycles, and then transferred again to short-day conditions, it completes its development in an average of 56.743 ± 1.196 days; if reactivated permanently, it completes its development in an average of 28.667 ± 0.347 days. Both these values exceed the average of 12.108 ± 0.253 days, occurring when there was no induction. When reactivation begins 20 days after the second moult, the response is an overall length of development averaging 107.000 ± 2.013 days with a temporary reactivation of 10 days; the average is of 70.710 ± 1.579 days with permanent reactivation. In the latter case, therefore, an average of 50.710 ± 1.579 days is necessary from the beginning of reactivation to cocoon spinning. As horotelic processes are advancing, the number of days from the beginning of reactivation to cocoon spinning remains very high. When permanent reactivation begins 70 days after the second moult, it is 52.538 ± 2.459 ; however when permanent reactivation begins after 120 days, it drops to an average of 21.500 ± 0.881 , while the overall development averages 141.500 ± 0.881 days (whereas the overall development length averages 194.471 ± 1.123 days when there is no reactivation). It is evident that diapause is approaching its completion.

Immediately after the second moult the weight of third instar larvae is significantly different according to whether during the second instar there was or not diapause

induction (in the former case weight is $\text{mg } 1.969 \pm 5.021$, in the latter $\text{mg } 1.731 \pm 8.551$). Afterwards, weight increases at different rates depending on whether larvae are diapausing or non-diapausing.

In non-diapausing larvae the rate of weight increase is higher and more uniform. The highest average weight reached is $\text{mg } 4.886 \pm 0.205$. However, before cocoon spinning weight increase drops.

Weight increase of diapausing larvae exhibits a very different trend. In the first three to four weeks, weight increases at a rather uniform rate, even if lower than the rate recorded in non-diapausing larvae. Then, generally after four to five weeks, the rate of weight growth furthermore decreases. However, the weight of larvae continues to increase (the maximum average weight reached was $\text{mg } 9.655 \pm 0.405$).

The difference between the two ratios of the maximum weight to the initial one after the second moult in non-diapausing and diapausing larvae respectively, is significant (2.966 ± 0.158 vs. 4.868 ± 0.150).

It is assumed that the noticeably high weight reached by diapausing larvae compared with that reached by non-diapausing larvae, may be, at least partly, the effect of temperature ($21^\circ\text{C} \pm 1$) kept in the rearings.

Before cocoon spinning, diapausing larvae undergo a weight decrease that, depending on the individual, may involve one, sometimes two or more weeks.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ADAMEK G., FISCHER J., 1985. — The oxygen consumption of non-dormant and dormant larvae of *Chironomus plumosus* (Diptera). - *J. Insect Physiol.*, 31: 767-772.
- ANDREWARTHA H. G., 1952. — Diapause in relation to the ecology of insects. - *Biol. Rev.*, 27: 50-107.
- BECK S. D., 1977. — Dual system theory of the biological clock effects of photoperiod, temperature, and thermoperiod on the determination of diapause. - *J. Insect Physiol.*, 23: 1363-1372.
- BECK S. D., 1980. — Insect photoperiodism. - 2^a edit., *Academic Press*, New York, London, Toronto, Sydney, S. Francisco.
- DE WILDE J., 1962. — Photoperiodism in Insects and Mites. - *Ann. Rev. Ent.*, 7: 1-26.
- GIBBS D., 1975. — Reversal of pupal diapause in *Sarcophaga argyrostoma* by temperature shifts after puparium formation. - *J. Insect Physiol.*, 21: 1179-1186.
- GRANDI G., 1951. — Introduzione allo studio dell'Entomologia. - 2 voll., *Edizioni Agricole*, Bologna.
- HODEK I., 1982. — The peculiarities of diapause termination in adult insects. - *Atti Acc. naz. ital. Ent., Rc.*, 30-31-32 (1981-82, 1982-83, 1983-84): 45-58.
- HODEK I., 1983. — Role of environmental factors and endogenous mechanisms in the seasonality of reproduction in insects diapausing as adults: pp. 9-33. - In: « Diapause and life cycle strategies in insects », V. K. Brown, I. Hodek eds., *Dr. W. Junk publ.*, The Hague, Boston, London.
- INEICHEN H., RIESEN-WILLI U., FISCHER J., 1979. - Experimental contributions to the ecology of *Chironomus* (Diptera) II. The influence of the photoperiod on the development of *Chironomus plumosus* in the 4th larval instar. - *Oecologia*, 39: 161-183.
- LEES A. D., 1968. — Photoperiodism in Insects: pp. 47-137. - In: « Photophysiology », A. G. Giese edit., IV, *Academic Press*, New York, London.
- MANSINGH A., 1971. — Physiological classification of dormancies in Insects. - *Can. Ent.*, 103: 983-1009.

- PRINCIPI M. M., 1956. — Contributi allo studio dei Neurotteri italiani. XIII. Studio morfologico, etologico e sistematico di un gruppo omogeneo di specie del gen. *Chrysopa* Leach (*C. flavifrons* Brauer, *prasina* Burm. e *clathrata* Schn.). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 21: 319-410.
- PRINCIPI M. M., MEMMI M., PASQUALINI E., 1977. — Induzione e mantenimento della oligopausa larvale in *Chrysopa flavifrons* Brauer (Neuroptera, Chrysopidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 33: 301-314.
- PRINCIPI M. M., PIAZZI P., PASQUALINI E., 1975. — Influenza del fotoperiodo sul ciclo di sviluppo di *Chrysopa flavifrons* Brauer (Neuroptera Chrysopidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 305-322.
- PRINCIPI M. M., SGOBBA D., 1985. — La diapausa larvale in *Anisochrysa flavifrons* (Brauer) (Neuroptera Chrysopidae). - *Atti XIV Congr. Naz. Ital. Ent.*, Palermo, Erice, Bagheria, 28 maggio - 1 giugno 1985: 483-490.
- SAUNDERS D. S., 1982. — *Insect clocks*. - 2ª edit., *Pergamon Press*, Oxford, New York, Toronto, ecc.
- TAUBER M. J., TAUBER C. A., 1976. — Insect seasonality: diapause maintenance, termination and post diapause development. - *Ann. Rev. Ent.*, 21: 81-107.
- WAY M. J., HOPKINS B. A., 1950. — The influence of photoperiod and temperature on the induction of diapause in *Diataraxia oleracea* L. (Lepidoptera). - *J. exp. Biol.*, 27: 365-376.