

9. Giuliana D'ANCONA. — Osservazioni preliminari sugli incroci fra popolazioni di *Culex molestus* di zone diverse d'Italia.

**Riassunto.** — Incrociando due popolazioni di *Culex molestus*, provenienti da due regioni italiane (Lazio e Veneto), è stato osservato un certo grado di sterilità, differente nei due sensi dell'incrocio. Ciò ha indotto ad ammettere che la sterilità osservata dipenda oltre che da differenze genotipiche, anche dall'intervento di altri fattori probabilmente citoplasmatici.

**Summary.** — On crossing two populations of *Culex molestus* from two parts of Italy (Lazio and Veneto) a certain level of sterility was observed which differed in the two directions of the cross. This has led to the assumption that the observed sterility does not depend only on genotypic differences but also on other factors which are probably cytoplasmic.

---

E' noto come nel complesso « *Culex pipiens* » si distingue la forma denominata *Culex molestus* F. (FORSKAL) dal *Culex pipiens* L. (LINNEUS) per alcuni caratteri biologici come l'autogenia (capacità di deporre uova senza nutrizione di sangue ed anche in assenza di qualsiasi altro alimento da parte della ♀ adulta), la stenogamia, l'omodinamia.

L'incrocio tra popolazioni di *Culex molestus* di differenti zone della sua area di diffusione, secondo ricerche compiute da MARSHALL <sup>(1)</sup>, ROUBAUD <sup>(2)</sup>, GHELELOVITCH <sup>(3)</sup> e LAVEN <sup>(4, 5)</sup>, ha dato come risultato comune una parziale sterilità dovuta non a mancanza di accoppiamento e di fecondazione, in quanto in tutti i casi furono deposte uova con embrione in via di sviluppo, ma dovuta o a morte dell'embrione, in varie fasi del suo sviluppo, o all'inibizione della fuoriuscita della larva dall'uovo, o per morte di questa al 1° stadio.

MARSHALL <sup>(1)</sup> usò tre ceppi inglesi (provenienti da Hull, Londra e Hayling) e uno proveniente da Parigi. Gli incroci tra ♀♀ di Hull con ♂♂ di Londra, Hayling e Parigi furono fertili. Così pure gli incroci tra ♀♀ di Parigi con ♂♂ di Hull, Londra e Hayling: ♀♀ di Londra

furono fertili solo se incrociate con ♂♂ di Hayling. Tutti gli altri possibili incroci furono sterili o parzialmente sterili.

Anche LAVEN ottenne dei risultati simili; da principio, nel 1951, fece le sue esperienze incrociando quattro popolazioni di diverse località della Germania con popolazioni di Londra e di Parigi; in seguito, nel 1953, estese le sue ricerche usando un totale di 10 differenti popolazioni, poste in tutte le combinazioni possibili. Gli incroci tra alcune popolazioni furono fertili in entrambe le direzioni, altri solo in una direzione e altri ancora furono sterili. Secondo LAVEN (<sup>4</sup>, <sup>5</sup>), la composizione genica di ciascun tipo di zigote della  $F_1$  è presumibilmente la stessa, per cui le differenze nella vitalità dovrebbero dipendere da un fattore citoplasmatico.

Anche secondo GHELELOVITCH (<sup>3</sup>) l'eredità citoplasmatica potrebbe dare una spiegazione della sterilità osservata in certi incroci di *Culex molestus* di differenti zone geografiche.

La produzione di prole fertile in una sola direzione è stata osservata anche in incroci di sottospecie di *Aedes scutellaris*. SMITH-WHITE (<sup>6</sup>) e successivamente SMITH-WHITE e WOODHILL (<sup>7</sup>) hanno cercato di spiegare le variazioni nella fertilità in incroci reciproci tra l'*Aedes scutellaris* sottospecie *Katherinensis* e l'*A. scutellaris* sottospecie *scutellaris*; due gruppi, però, questi distinti morfologicamente. I risultati ottenuti da tali Autori sono essenzialmente simili a quelli riportati da LAVEN. Essi considerano due possibili spiegazioni della sterilità. La prima è che lo sperma non possa entrare nell'uovo per condizioni d'incompatibilità sierologica o per ragioni meccaniche. La seconda possibilità è che, pur entrando lo sperma nell'uovo, o la fecondazione non avviene o gli embrioni ibridi muoiono ad uno stadio molto precoce, a causa di una incompatibilità tra il citoplasma dell'uovo e il genoma nucleare aploide dello sperma o dell'embrione ibrido. Nel caso dell'incrocio fertile il citoplasma della ♀ deve esser interamente compatibile sia con il genoma del genitore che con quello dell'embrione ibrido.

Nel 1955 DOBROTWORSKY (<sup>8</sup>) eseguì incroci tra popolazioni di *molestus* provenienti da 5 località diverse e tra queste e il *Culex fatigans* come pure con il *C. globocoxitus*. Dalle sue ricerche sembra che l'intensità dell'effetto citoplasmatico dipenda dalla maggiore o minore affinità tra gli individui incrociati. Quando essi sono più strettamente affini, le uova si sviluppano, ma le larve non arrivano alla schiusura, mentre

le uova non si sviluppano del tutto quando l'affinità è minore. Secondo DOBROWORSKY, in base ai differenti meccanismi isolanti e di interfertilità, vi sarebbero differenti livelli di speciazione nel « *pipiens* » e il « *molestus* » starebbe compiendo una rapida evoluzione espansiva senza, però, che le mutazioni genetiche siano accompagnate, per ora, da differenze morfologiche e fisiologiche rilevabili.

SERVICE <sup>(9)</sup>, incrociando popolazioni di *C. fatigans*, ha osservato che non vi sono barriere genetiche tra il *fatigans* di Lagos (Nigeria) e quello della Guiana inglese, quindi tra popolazioni coospecifiche in zone geografiche ben distinte e lontane.

Al contrario ROUBAUD <sup>(10)</sup>, sempre in incroci di *fatigans*, ha trovato incompatibilità tra ♀♀ provenienti dall'Africa occidentale francese (Dakar) e ♂♂ dell'Africa equatoriale (Brazzaville), come pure tra ♀♀ della Nuova Caledonia (Oceania) e ♂♂ di Dakar. L'incompatibilità sarebbe dovuta al fatto che la barriera di sterilità non è basata sulla incapacità dei ♂♂ a fecondare le ♀♀ eterozigoti, ma sulle influenze letali introdotte dai ♂♂ eterozigoti.

Per consiglio della Prof.ssa Lidia La Face, che ringrazio per avere messo a mia disposizione il materiale di studio occorrente e per i suoi utili suggerimenti, ho cercato di portare un contributo alle ricerche su riferite, studiando le possibilità d'incrocio fra due ceppi riferibili alla forma *Culex molestus* e provenienti da due zone diverse della regione italiana, cioè dalla provincia di Latina (Formia) e dalla provincia di Gorizia (zona del Liser).

I due ceppi sono stati ottenuti partendo da singole ovodeposizioni di ♀♀ provenienti dalle due località suddette. Il ceppo di Formia è stato ottenuto da una ovodeposizione avuta da una alata catturata il 19 novembre 1959, in una abitazione della città suddetta in contrada « Le Mole ». Il ceppo di Gorizia da una ovodeposizione ottenuta da una femmina trovata, con l'intestino pieno di sangue, in un pollaio nella zona del Liser il 22 ottobre 1959.

Per quanto concerne le differenze morfologiche tra le due popolazioni incrociate, sono stati presi in particolare considerazione l'indice sifonale e i caratteri del mesosoma nell'ipopigio maschile.

Com'è noto l'indice sifonale esprime il rapporto tra la lunghezza del sifone e la sua massima larghezza.

Si sono preparate, per ogni ceppo, 50 larve montate in liquido di FAURE e si è proceduto alle misurazioni. La media dell'indice sifonale del ceppo di Formia è stata di 3,28, con la lunghezza media di 1483, 1  $\mu$  e la larghezza di 452,8  $\mu$ .

L'indice del sifone del gruppo del Veneto è stato di 3,29, mentre la lunghezza media era di 1293,4  $\mu$  e la larghezza di 382,3  $\mu$ .

Quindi allo stadio larvale non si sono rilevate nelle due popolazioni esaminate differenze notevoli per quanto riguarda l'indice sifonale.

Per lo studio del mesosoma nell'ipopigio maschile si è proceduto all'allestimento di preparati impiegando il metodo più comunemente usato: chiarificazione in potassa al 10%, a freddo: passaggi in acqua addizionata in ac. acetico al 10% e montaggio in liquido di FAURE. Si sono fatte su 100 esemplari alcune misure indicate nella fig. 1 e cioè delle distanze: tra le punte estreme delle braccia ventrali (V); tra le punte delle braccia dorsali (D); tra il lato esterno del braccio dorsale e la punta estrema del braccio ventrale (DV). Sono state anche confrontate le larghezze massime delle braccia ventrali (W) e, infine, la lunghezza del tratto del braccio dorsale sorpassante il braccio ventrale, misurata dall'incrocio del lato interno del braccio ventrale fino all'estremo del braccio dorsale (P) (Fig. 1).

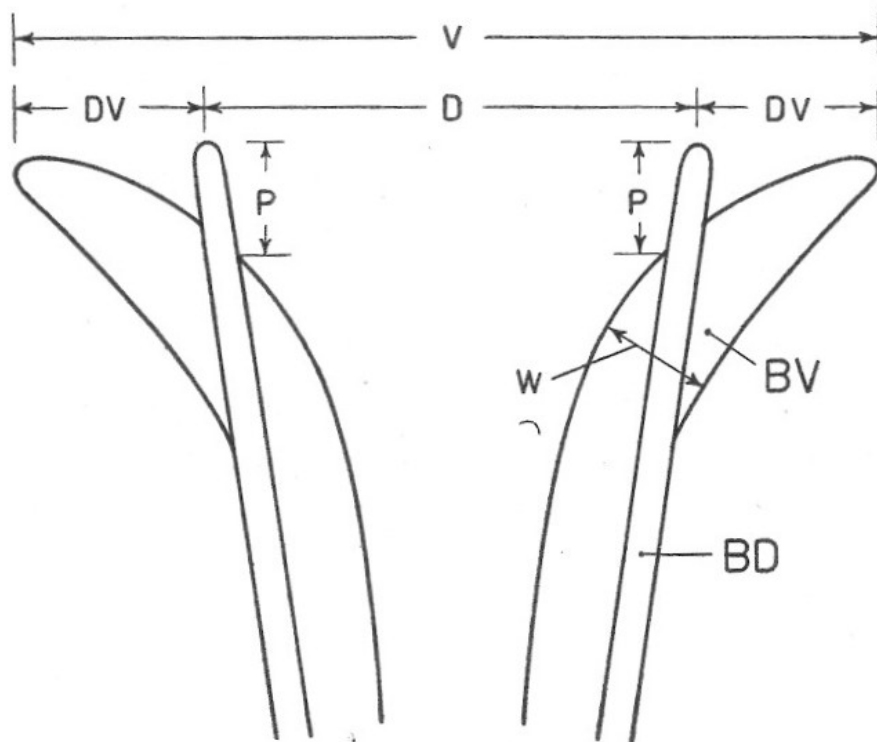


Fig. 1. - Braccia dorsali (BD) e ventrali (BV) del mesosoma.  
(da Sundararaman).

In complesso, non sono state notate differenze sensibili nei caratteri morfologici delle due popolazioni prese in esame, all'infuori della distanza tra le punte estreme delle braccia ventrali e della lunghezza del tratto del braccio dorsale sorpassante quello ventrale. Quindi le due popolazioni di *molestus* prese in esame possono considerarsi molto simili dal punto di vista morfologico.

Si è proceduto quindi all'incrocio tra le due popolazioni dopo averle allevate in laboratorio per quattro generazioni (Lazio) e per cinque generazioni (Veneto).

Le condizioni di allevamento dei due ceppi sono state le seguenti: per gli insetti adulti ci si è serviti di gabbiette di tulle delle dimensioni di  $12 \times 8 \times 8$ ; ogni gabbietta era fornita di una vaschetta contenente acqua per la deposizione delle uova. Le larve sono state allevate in bacinelle di creta circolari del diametro di circa 22 cm. L'alimentazione è consistita in cruschetto di grano per le larve e soluzione zuccherina per le alate. La soluzione zuccherina è stata offerta alle alate per aumentarne la longevità. Gli allevamenti furono tenuti a temperatura ambiente; un grado sufficiente di umidità fu ottenuto applicando sulle gabbie dei grossi batuffoli di ovatta bagnata. Gli individui provenienti da ogni singola ovodeposizione sono stati selezionati sino alla quarta generazione per il ceppo del Lazio e sino alla quinta per quello del Veneto. Negli allevamenti, le ninfe, man mano che si venivano formando, si andavano isolando in bicchierini di vetro coperti con della garza, per evitare la fecondazione delle femmine da parte dei maschi dello stesso ceppo.

TABELLA I

Misure in microns riguardanti le braccia del mesosoma nelle due popolazioni del Lazio e del Veneto.

| ZANZARE                                | Numero<br>individui<br>esaminati | Distanza<br>tra le<br>punte<br>estreme<br>delle braccia<br>ventrali<br><br>V | Distanza<br>tra le<br>punte<br>delle braccia<br>dorsali<br><br>D | Distanza<br>tra la<br>punta del<br>braccio V<br>e la punta<br>del<br>braccio D<br><br>D V | Larghezza<br>massima<br>del<br>braccio<br>ventrale<br><br>W | Lunghezza<br>del tratto<br>del braccio D<br>sorpassante<br>il braccio<br>V<br>P |
|----------------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| Culex molestus del<br>Lazio . . . . .  | 100                              | 148,5                                                                        | 152,8                                                            | 1,3                                                                                       | 10,3                                                        | 6,5                                                                             |
| Culex molestus del<br>Veneto . . . . . | 100                              | 139,1                                                                        | 150,4                                                            | 3,4                                                                                       | 11,1                                                        | 14,1                                                                            |

Una parte dei componenti di ogni generazione dei due ceppi non è stata usata per gli incroci allo scopo di poter fare il confronto tra la sterilità degli individui inincrociati e quelli incrociati.

Si sono così formati quattro gruppi, isolati in altrettante gabbiette e cioè:

- 1) femmine e maschi di Formia;
- 2) femmine e maschi di Gorizia;
- 3) femmine di Formia e maschi di Gorizia;
- 4) femmine di Gorizia e maschi di Formia.

Da ciascuno dei quattro gruppi si sono avute numerose ovodeposizioni. Si è tenuto conto in ogni esperimento del numero degli individui, delle ovodeposizioni sia di quelle schiuse normalmente come anche di quelle non schiuse. L'esperimento d'incrocio è stato ripetuto due volte e i risultati sino riassunti nelle Tabelle II e III.

TABELLA II

| Popolazioni inincrociate ed incrociate                 | N.<br>♀ ♀ | N.<br>♂ ♂ | N.<br>ovod, | Ovodeposizioni<br>con embrione<br>avanzato<br>nello sviluppo | Numero<br>ovodeposizioni<br>schiuse                      |
|--------------------------------------------------------|-----------|-----------|-------------|--------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| ♀ ♀ di Formia (G4) x ♂ ♂ di<br>Formia (G4) . . . . .   | 40        | 40        | 37          | tutte                                                        | tutte                                                    |
| ♀ ♀ di Gorizia (G3) x ♂ ♂ di<br>Gorizia (G3) . . . . . | 71        | 71        | 62          | tutte                                                        | 52                                                       |
| ♀ ♀ di Formia (G4) x ♂ ♂ di<br>Gorizia (G3) . . . . .  | 60        | 60        | 59          | tutte                                                        | 23                                                       |
| ♀ ♀ di Gorizia (G3) x ♂ ♂ di<br>Formia (G4) . . . . .  | 105       | 84        | 85          | tutte                                                        | 3 (di cui è<br>schiuso 1 uo-<br>vo soltanto<br>ciascuna) |

TABELLA III

| Popolazioni inincrociate ed incrociate               | N.<br>♀♀ | N.<br>♂♂ | N.<br>ovod. | Ovodeposizioni<br>con embrione<br>avanzato<br>nello sviluppo | Numero<br>ovodeposizioni<br>schiusi                 |
|------------------------------------------------------|----------|----------|-------------|--------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| ♀♀ di Formia (G5) x ♂♂ di<br>Formia (G5) . . . . .   | 45       | 45       | 43          | tutte                                                        | quasi<br>tutte                                      |
| ♀♀ di Gorizia (G6) x ♂♂ di<br>Gorizia (G6) . . . . . | 44       | 44       | 41          | tutte                                                        | quasi<br>tutte                                      |
| ♀♀ di Formia (G5) x ♂♂ di<br>Gorizia (G6) . . . . .  | 72       | 72       | 65          | tutte                                                        | 2 (1 comple-<br>tamente e 1<br>con 1 sola<br>larva) |
| ♀♀ di Gorizia (G6) x ♂♂ di<br>Formia (G5) . . . . .  | 71       | 71       | 64          | tutte                                                        | 2 (1 larva<br>ciascuna)                             |

Come risulta dalla Tabella II in un primo incrocio eseguito tra ♀♀ di Formia con ♂♂ di Gorizia, 23 ovodeposizioni sulle 59 ottenute sono state fertili, mentre nell'incrocio reciproco tra ♀♀ di Gorizia e ♂♂ di Formia solo 3 ovodeposizioni su 85 sono schiuse e da ciascuna delle tre ovodeposizioni si è avuta una sola larva.

Ripetuto l'incrocio, usando individui della V generazione del ceppo del Lazio e della VI del ceppo del Veneto, si sono ottenuti risultati un po' diversi in quanto che, come appare dalla Tabella III, delle 65 ovodeposizioni ottenute dall'incrocio tra ♀♀ di Formia con ♂♂ di Gorizia solo da una si è avuta schiusura completa delle larve; da un'altra si è ottenuta una sola larva e le rimanenti non sono schiuse. Il grado di sterilità è stato superiore nell'incrocio reciproco cioè tra ♀♀ di Gorizia e ♂♂ di Formia: perchè infatti da due ovodeposizioni su 64 si è ottenuta la schiusura di una sola larva per ciascuna.

La dissezione delle uova non schiuse in tutti e quattro gli incroci ha rivelato che esse contenevano, tutte, embrioni in fase di sviluppo.

In complesso: se si confronta la fertilità degli individui inincrociati dei due ceppi con quella degli individui incrociati appare evidente in questi ultimi la tendenza alla sterilità manifestantesi come azione

inibitrice sulla schiusura delle larve. Tale sterilità indicherebbe che le due popolazioni studiate appartengono a due genotipi diversi tra i quali esiste una incompatibilità fisiologica. Il fatto che la sterilità sia maggiore nell'incrocio tra le ♀♀ di Gorizia con i ♂♂ di Formia, in confronto al reciproco, fa ritenere probabile l'intervento di altri fattori che potrebbero essere, riferendosi alle vedute di LAVEN, citoplasmatici. Ma la conferma di ciò richiede ulteriori ricerche.

Altri esperimenti di incroci su popolazioni di diversa provenienza sono attualmente in corso e sui risultati di essi si riferirà in una nota successiva.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratori di Parassitologia.

#### BIBLIOGRAFIA

- (<sup>1</sup>) MARSHALL J. F. - The British mosquitoes. London: Brit. Mus. (N.H.) (1938).
- (<sup>2</sup>) ROUBAUD E. - C. R. Acad. Sci., Paris, 242: 257 (1944).
- (<sup>3</sup>) GHELELOVITCH S. - C. R. Acad. Sci., Paris, 234: 2386 (1952).
- (<sup>4</sup>) LAVEN H. - Evolution, 3: 370 (1951).
- (<sup>5</sup>) LAVEN H. - Z. ind. Abs. Vererb., 85: 118 (1953).
- (<sup>6</sup>) SMITH-WHITE S. - Proc. Linn. Soc. N. S. W., 75: 279 (1950).
- (<sup>7</sup>) SMITH-WHITE S. e WOODHILL A. R. - Proc. Linn. Soc. N. S. W., 79: 163 (1954).
- (<sup>8</sup>) DOBROTWORSKY N. V. - Proc. Linn. Soc. N. S. W., 80: 33 (1955).
- (<sup>9</sup>) SERVICE M. W. - Nature, 178: 1065 (1956).
- (<sup>10</sup>) ROUBAUD E. - C. R. Acad. Sci., Paris, 242: 1557 (1956).
- (<sup>11</sup>) LA FACE L. - Rend. Ist. San. pubbl., 1: 669 (1938).
- (<sup>12</sup>) SIMONETTI A. - Riv. Biol., 44: 117 (1952).
- (<sup>13</sup>) SUNDARARAMAN S. - Am. J. Hyg., 50: 307 (1949).

---

*Direttore responsabile:* Prof. DOMENICO MAROTTA

---

*Reg. Stampa - Trib. di Roma n. 1534 del 14 luglio 1956*