

Dott. ALESSANDRA ALBERTONI

Borsista del CNR presso l'Istituto di Entomologia dell'Università di Bologna

Ricerche sulla specificità parassitaria di alcuni Ditteri Larvevoridi parassiti di Coleotteri Crisomelidi.

Uno studio sui parassitoidi si può condurre mediante diretta osservazione in natura, oppure intervenendo con metodo sperimentale. Nel primo caso si ricavano dati essenziali relativi al ciclo biologico, ai vari comportamenti eto-ecologici ecc., nel secondo si può riuscire anche a mettere in evidenza qualche aspetto delle complesse relazioni che si vengono a stabilire tra ospite e parassita.

Si interviene con metodo sperimentale per esempio applicando tecniche di parassitizzazione artificiale. Proprio in tale modo si può pensare di aggredire uno dei principali problemi del parassitismo e cioè quello della specificità parassitaria. Studi in questo senso sono stati condotti quasi esclusivamente sugli Imenotteri Terebranti (cito in proposito i numerosi ed interessanti lavori di SALT⁽¹⁾). Per quanto riguarda l'altro grande gruppo di parassitoidi, e cioè quello dei Ditteri Larvevoridi, finora è stato fatto solo qualche tentativo inteso a rilevare se avvenisse o no lo sfarfallamento del parassita dall'ospite sperimentale, o a controllare con prove di laboratorio il comportamento di un parassita in natura.

(¹) Cito tra questi:

- Salt G. - *Experimental studies in insect parasitism. III Host selection.* - Proc. Roy. Soc. B. vol. 117, 1935, pp. 413-435, fig. 1.
— — *Experimental studies in insect parasitism. VI Host suitability.* - Bull. Ent. Res. vol. 29, 1938, pp. 223-246, fig. 3.
— — *Experimental studies in insect parasitism. VIII Host reactions following artificial parasitization.* - Proc. Roy. Soc., London, vol. 144, 1955, pp. 380-398, figg. 3.
— — *Experimental studies in insect parasitism. IX The reactions of a stick insect to an alien parasite.* Proc. Roy. Soc., London, vol. 146, 1956, pp. 93-108, figg. 3, 1 tav.
— — *Experimental studies in insect parasitism. X The reactions of some endopterygote insects to an alien parasite.* - Proc. Roy. Soc. London, vol. 147, 1957, pp. 167-184, 2 tavv.
— — *The fate of a Braconid parasite, Rogas testaceus, in four species of hosts.* - Biologia, Lahore, vol. 5, 1959, pp. 84-95, figg. 3.
— — *Experimental studies in insect parasitism. XI The haemocytic reaction of a caterpillar under varied conditions.* - Proc. Roy. Soc., London, vol. 151, 1960, pp. 446-467, figg. 2.

Nel 1959 iniziai (come tesi per la laurea in Scienze biologiche, che ho conseguito nel 1961) un lavoro di ricerca riguardante uno dei vari aspetti della specificità parassitaria e cioè l'idoneità dell'ospite. Per questo studio ho applicato metodi di parassitizzazione artificiale e ho utilizzato planidi dei Ditteri Larvevoridi *Steiniella callida* Meig., *Macquartia tenebricosa* Meig., *Ptilopsina nigrisquamata* Zett. a carico di oltre 500 larve di Coleotteri Crisomelidi appartenenti a 9 specie. Tali specie, che non sono attaccate spontaneamente dai parassiti trattati, rientrano o nella stessa sottofamiglia o in sottofamiglie sistematicamente affini agli ospiti riscontrati in natura. Ho ritenuto interessante e opportuno poter fare un confronto dei risultati ottenuti nelle varie specie, operando con ogni Dittero nei diversi ospiti e con i diversi Ditteri in ospite della stessa specie. Ho eseguito pertanto un discreto numero di esperienze con tutti e tre i parassiti su quasi tutte le nove specie di fitofagi. Non è stato facile, però, poter disporre contemporaneamente di ospiti delle diverse specie dei Ditteri, perchè in alcuni casi erano più o meno sfasati i tempi di massima presenza delle larve dei fitofagi e delle femmine prolificanti dei parassiti. Con questo lavoro, eseguito anche con lo scopo di aprire la via ad eventuali e più specifiche ricerche future, ho potuto dapprima mettere a punto e perfezionare qualche tecnica di parassitizzazione, e ricavare poi dati relativi all'adattamento dei parassitoidi, nonché qualche indicazione su taluni aspetti dei rapporti che si venivano a stabilire e a manifestare fra parassita e ospiti sperimentali.

Ringrazio vivamente il prof. E. MELLINI, aiuto presso l'Istituto di Entomologia, che mi ha indirizzato a questo studio e seguito durante le ricerche e che inoltre ha determinato i Ditteri sottoposti ad esperienza.

MATERIALE E METODO.

Per quanto riguarda il materiale, ottenevo le larve degli ospiti⁽¹⁾ da allevamenti che tenevo in gabbie nel giardino sperimentale dell'Istituto di Entomologia. Non avevo invece la possibilità di allevare i Ditteri parassiti e quindi li catturavo direttamente in campagna, cercando femmine già intente alla parassitizzazione. disponevo così di larve dei fitofagi sicuramente indenni da qualsiasi parassita e di femmine degli entomofagi con un certo numero di planidi maturi entro l'ovidutto impari.

(¹) Tali ospiti sono tutti Crisomelidi e precisamente: *Crioceris asparagi* L., *Leptinotarsa 10-lineata* Say, *Chrysomela polita* L., *Phyllodecta laticollis* Suffr., *Plagiodera versicolor* Laich., *Melasoma populi* L., *Agelastica alni* L., *Haltica lythri* Aub., *Haltica brevicollis* Foudr.

Per quanto concerne la tecnica, ho incontrato alcune difficoltà, anche perchè nella letteratura non mi è stato possibile trovare indicazioni utili al riguardo. Ho quindi eseguito alcuni tentativi in laboratorio per studiare la tecnica adatta al mio caso. Tra i vari metodi provati il seguente mi è parso il più idoneo: alla femmina parassita viva, privata delle ali e costretta sul dorso, praticavo opportunamente una piccola incisione negli ultimi uriti, costituenti l'ovopositore di sostituzione, e nel gonodotto impari: in questo modo si ottiene che i planidi, pronti a sgusciare e numerosi nell'ultima porzione dell'ovidutto, escano a uno o due per volta; inoltre la femmina si mantiene viva per circa un'ora⁽¹⁾ e durante tale periodo i planidi risultano assai vivaci. Mediante un'ansa alla SPEMANN (che nella ripiegatura del capello sopporta un velo di acqua) prelevavo e subito deponevo un planidio su ciascuna delle larve scelte come ospiti: così deposto il planidio penetra spontaneamente e naturalmente entro la larva del fitofago; la penetrazione è agevolata se si opera e si mantengono le larve ospiti in ambiente molto umido. Tale metodo, piuttosto semplice, è risultato valido per le specie di parassitoidi che inducono un imbuto respiratorio primario entro l'ospite. Per le specie che non inducono tale imbuto non è necessario usare metodi che permettano la spontanea penetrazione del planidio e così, anzichè usare l'ansa, ho addirittura iniettato il planidio entro la larva ospite mediante una sorta di microsiringa in vetro da me costruita in laboratorio⁽²⁾.

In genere i planidi penetrano con maggior facilità appena sgusciati a confronto di quanto avviene se sono utilizzati dopo un periodo più o meno lungo dalla schiusa. Così, soprattutto per poter disporre di planidi assai vitali, l'utilizzazione dei germi di ogni femmina è stata compiuta in un tempo piuttosto breve. Con i germi di ciascuna femmina sono stati contaminati piccoli gruppi di tutte le specie di larve scelte come ospiti. Per ciascuna specie di larve ospiti sono stati scelti gruppi sia alla penultima sia all'ultima età⁽³⁾. Le larve parassitizzate, dapprima isolate e poi riunite a gruppi, venivano allevate in laboratorio⁽⁴⁾ ed osservate giornalmente al binoculare. Dopo tale esame eseguivo la dissezione di alcune, limitandone il numero in base ai risultati ottenuti.

(1) Il tempo naturalmente varia a seconda della specie.

(2) Tale siringa è costituita da un sottile tubetto in vetro leggermente imbutiforme, con l'estremità più stretta capillare e perforante, perchè troncata a becco di flauto; entro tale tubetto scorre opportunamente un pistone in vetro pieno.

(3) Solo nel caso di *Chrysomela polita* L. ho utilizzato larve di tutte le età.

(4) La temperatura di laboratorio era piuttosto costante per ciascun periodo in cui sono state fatte le esperienze, variando da un minimo di 18° C ad un massimo di 23 °C, senza bruschi sbalzi; l'umidità era assolutamente costante e sempre elevata, mantenendosi tra l'80 % e il 90 %.

ANALISI DEI RISULTATI

I. - STEINIELLA CALLIDA Meig.

È parassita specifico delle larve dei Coleotteri Crisomelidi *Melasoma populi* L. e *Melasoma tremulae* L. La femmina depone i suoi germi direttamente sul corpo dell'ospite. La larva schiude immediatamente, penetra subito attraverso il tegumento entro la vittima e vive ancorata a questo in un tubo respiratorio primario, avvolta interamente da una guaina, fin verso la maturità. L'impupamento avviene nel terreno, fuori dalle spoglie della vittima (1).

Con i planidi di questo Dittero ho eseguito una serie di esperienze su *Crioceris asparagi* L., *Leptinotarsa 10-lineata*, Say, *Plagioderia versicolor* Laich., *Phyllodecta laticollis* Suffr., *Agelastica alni* L. e inoltre sull'ospite abituale *Melasoma populi* L.

Riporto in sintesi i risultati ottenuti, seguendo l'ordine sistematico delle specie ospiti.

A. - In *Crioceris asparagi* L. — Dall'esame dei 50 individui trattati e dalla dissezione di numerosi tra questi, osservo che il parassita penetra facilmente e induce subito un imbuto, sempre irregolare od abnorme, molto pigmentato, con bordi del foro nel tegumento ingrossati e sporgenti verso l'esterno. Dopo 24 ore attorno al planidio vivo e in fase subjeuna si osserva un notevole strato di emociti; dopo 48-36 ore il parassita rimane racchiuso entro una sorta di capsula, di forma subovale, dalle pareti robuste e nere, aperta verso l'esterno. Tale formazione viene poi regolarmente espulsa con la muta insieme col relativo endofago.

B. - In *Leptinotarsa 10-lineata* Say. — Dall'esame delle 20 larve contaminate eseguito « in vivo » a distanza di 24 e 48 ore dall'operazione, ho trovato il planidio morto in fase jeuna, libero nel lacunoma e non circondato da emociti, ma leggermente pigmentato. Non ho proseguito lo studio in questo ospite.

C. - In *Phyllodecta laticollis* Suffr. — Dall'esame dei 68 individui trattati e dalla dissezione di numerosi tra questi, ho osservato che il planidio ha indotto un imbuto con bordi esterni abnormemente ingrossati e molto pigmentati, e che, in seguito, è risultato avvolto da una guaina dalle pareti notevolmente consistenti e di colore nero. Tale formazione, analogamente

(1) Mellini E. — Studi sui Ditteri Larvevoridi. IX *Steiniella callida* Meig. su *Melasoma populi* L. (Coleoptera Chrysomelidae). - Boll. Ist. Entom. Univ. Bologna vol. XXVI, 1962, pp. 131-159, figg. 1-13.

a quanto ho osservato in *Crioceris*, è stata poi espulsa con la muta pupale (come è risultato dall'esame di molte pupe che non si erano ancora liberate dall'esuvia larvale).

In 5 casi invece, ho osservato lo sviluppo del parassita fino alla seconda età larvale. Alla dissezione (1) trovavo un imbuto con orli del foro esterno ingrossati, una guaina normale e una larva parassita di dimensioni un poco ridotte (2).

D. - In *Plagiodera versicolor* Laich. — Dai 68 individui trattati e dalle numerose dissezioni (eseguite tutte «in vivo») ricavo i seguenti dati: il parassita, deposto sulla larva, vi penetra con facilità e induce subito un imbuto respiratorio di aspetto regolare. Dopo due giorni dalla penetrazione il planidio risulta avvolto da una sottile guaina in modo analogo a quanto avviene nell'ospite abituale e si trova in fase subjejuna almeno nella maggior parte dei casi. Dopo 4 giorni ha già raggiunto la fase repleta e reagisce vivacemente a stimoli esterni. In seguito, le relazioni tra ospite e parassita appaiono alquanto variabili. In certi casi dopo soli 7 giorni dalla penetrazione (operazione eseguita su larva della seconda età), la larva parassita abbandona l'ospite — ridotto alla sola cuticola, ma allo stadio di larva matura — per impupare dopo circa 24-48 ore; in altri il soggiorno del parassita nell'ospite dura 10-15 giorni, in altri ancora le larve del Dittero risultano vive, ancora alla seconda età, con imbuto e guaina normali, entro pupe in genere malformate (3) (ad esempio con un solo abbozzo alare). Infine, in un esiguo numero di casi, il planidio risulta morto in fase repleta entro la larva ospite; questa, contaminata alla seconda età, è rimasta dopo 10 giorni ancora allo stesso stadio di sviluppo, ma risponde vivacemente agli stimoli esterni e per tutto il periodo ha continuato a nutrirsi.

Nella maggior parte dei casi si ottengono i pupari dopo 10, 12, 15 giorni dalla penetrazione del planidio nell'ospite. Tali pupari, formati in ospite estraneo in natura al parassita, presentano: pigmentazione un po' meno intensa rispetto al normale, superficie talvolta liscia, talvolta con profondi solchi trasversi o con grinze, spiracoli tracheali posteriori ed anteriori e placca anale identici, per dimensioni ed aspetto, a quelli dei pupari ottenuti dall'ospite abituale (*Melasoma populi* L.) quindi abnormi in relazione con le dimensioni del puparietto. Infatti questo è assai ridotto, perchè si è veri-

(1) Eseguita in questi casi in ospite vivo appena l'endofago, stimolato dall'esterno attraverso il tegumento della larva, non rispondeva più a tale sollecitazione.

(2) I diversi risultati, per quanto ho osservato, non dipendono dallo stadio (seconda e terza età) in cui la larva del fitofago è stata contaminata.

(3) Distinguevo le larve del fitofago, nelle quali il parassita aveva attecchito, oltre che dalla presenza dell'imbuto respiratorio, indotto dall'endofago, dalla maggior durata della loro vita a confronto dei controlli, costituiti da individui non contaminati provenienti dalla medesima ovatura. Tale ritardo a compiere le mute si accentuava nel passaggio terza età - eopupa - pupa.

ficato un adattamento alle modestissime dimensioni della *Plagiodera* ospite (1). La variazione megetica risulta evidente se si esaminano le dimensioni qui sotto riportate:

adulto di *Melasoma*, lunghezza mm 12; pupario di *Steiniella*, lunghezza mm 5,60, \varnothing maggiore mm 2,70;

adulto di *Plagiodera*, lunghezza mm 4; pupario di *Steiniella*, lunghezza mm 3,70, \varnothing maggiore mm 1,30.

E. - In *Melasoma populi* L. — Nell'ospite abituale il parassita si è sviluppato regolarmente e la larva ha raggiunto la maturità in un periodo variabile dai 14 ai 20 giorni. Anche nei pochi casi in cui il planidio è deceduto entro l'ospite non si sono verificate reazioni emocitarie o melaniche.

F. - In *Agelastica alni* L. — Nei pochi casi in cui ho eseguito la dissezione ho trovato che il planidio induce un imbuto respiratorio e rimane poi racchiuso in una capsula nera dalle pareti piuttosto consistenti in modo analogo a quanto descritto per i casi precedenti. In questa formazione finisce poi col soccombere.

OSSERVAZIONI.

Tenendo presente che la *Steiniella* è parassita naturale di larve di *Melasoma*, che hanno tegumento assai consistente, è logico pensare che il planidio, utilizzato alla schiusa, sia riuscito ad introdursi con relativa facilità nei vari ospiti alloggiandosi nel lacunoma in condizioni di piena vitalità.

La reazione del tegumento è stata diversa nei vari ospiti: si è riscontrato la formazione di imbuti normali in *Plagiodera*, abnormi o comunque irregolari in *Crioceris*, *Phyllodecta* e *Agelastica*, nessuna reazione del tegumento in *Leptinotarsa 10-lineata*.

Tale diversità di reazione influisce evidentemente sullo sviluppo del parassita, se non altro almeno per quanto riguarda la sua respirazione. Faccio notare che nelle specie (e risultano in maggior numero) in cui l'imbuto è malformato, o non accompagnato dalla normale guaina, lo sviluppo del parassita è stato solo parziale, o addirittura nullo. Benchè il sifone respiratorio non risultasse del tutto normale, il parassita ha raggiunto in alcuni casi la seconda età in *Phyllodecta*; più frequentemente però anche in quest'ospite è rimasto allo stadio di planidio ed è allora che risulta racchiuso (così come in ospiti di altre specie) in una capsula nera e spessa, aperta almeno inizialmente verso l'esterno. La capsula è assai simile per aspetto e per costitu-

(1) Sarebbe interessante poter seguire un allevamento di Ditteri sfarfallati da questi pupari a ridotte dimensioni.

zione nelle varie specie ospiti: essa risulta costituita da elementi figurati del sangue, da pigmento nero e da tegumento introflesso a formare un imbuto respiratorio.

Si può pensare, con buona probabilità di vedere le cose sotto una giusta luce, che la formazione di tale capsula prenda inizio dal prolungarsi dell'imbuto respiratorio, per abnorme reazione del tegumento al parassita introdottosi. Infatti, almeno nei casi da me osservati, l'imbuto è la prima formazione che si riscontra, già dopo poche ore, attorno al planidio vivo. Noto in particolare che in *Crioceris*, dopo la formazione dell'imbuto, è avvenuta per prima la reazione emocitaria attorno al planidio vivo ed è stata poi seguita dalla reazione melanica. Questo fa pensare che la formazione di queste capsule sia una causa piuttosto che un effetto della morte del parassita. Del resto tale formazione non si osserva mai attorno a planidi morti entro l'ospite abituale.

II. - MACQUARTIA TENEBRICOSA Meig.

Parassita di alcune specie di *Chrysomela* ⁽¹⁾, è ovovivipara. La sua larva, alla schiusa, penetra nell'ospite perforandone il tegumento, vi induce un imbuto primario, e vive poi, fino alla terza età, avvolta interamente da una guaina differenziata dall'ospite stesso. L'impupamento avviene nel terreno entro le spoglie della vittima ⁽²⁾.

Con i planidi di questo Dittero ho eseguito la parassitizzazione dei seguenti Crisomelidi; *Crioceris asparagi* L., *Chrysomela polita* L., *Phyllo-decta laticollis* Suffr., *Plagioderia versicolor* Laich., *Melasoma populi* L., *Agelastica alni* L., *Haltica brevicollis* Foudr. Non era agevole la ricerca del Dittero, tuttavia ho eseguito un buon numero di esperienze. Espongo i dati ottenuti seguendo l'ordine sistematico degli ospiti.

A. - In *Crioceris asparagi* L. — Dall'esame dei 120 individui trattati e dalla dissezione di 45 tra questi osservo che il parassita è riuscito a vivere per un certo periodo in questo ospite, raggiungendo in alcuni casi la terza età con dimensioni alquanto ridotte. In tutti i casi dopo tre o quattro giorni il planidio si trova in fase repleta, fissato al tegumento e comunicante con l'esterno mediante un imbuto respiratorio spesso abnorme. Manca invece la guaina, che in condizioni normali racchiude completamente il parassita. Si osserva inoltre un prolungamento dell'imbuto a rivestire anche fino

⁽¹⁾ Precisamente, per quanto finora noto, di *Chrysomela varians* Schall., *C. hyperici* Forst., *C. geminata* Payk., *C. fastuosa* Scop., *C. graminis* L.

⁽²⁾ Mellini E. - *Studi sui Ditteri Larvevoridi*. V *Macquartia chalconota* Meig. su *Chrysomela fastuosa* Scop. - Boll. Ist. Entom., Univ. Bologna vol. XXIII, 1958-59, pp. 1-35, 18 figg.

a metà il corpo del planidio stesso. Se il planidio è morto in fase repleta si può ritrovarlo nel corpo dell'ospite, divenuto adulto senza che la metamorfosi ne sia stata disturbata. Anche nei casi in cui il parassita ha raggiunto la seconda o anche la terza età è assente una normale guaina. Un ulteriore sviluppo non si è mai verificato, nè ho riscontrato l'impupamento del Dittero ⁽¹⁾.

B. - In *Chrysomela polita* L. — Dall'esame dei 52 individui trattati e dalla dissezione di alcuni fra questi riporto le seguenti osservazioni: il planidio penetra in queste larve con notevole facilità e rapidità, induce subito un imbuto respiratorio, si sviluppa e impupa normalmente. Il periodo complessivo di sviluppo delle larve di *Chrysomela* è durato più a lungo per le larve contaminate a confronto di quelle indenni appartenenti alla medesima ovatura. Inoltre tale periodo, a parità di condizioni ambientali, è stato più lungo nelle larve contaminate in età precoce a confronto di quanto è avvenuto in quelle contaminate in età più avanzata, e precisamente: 10-12 giorni nelle larve parassitizzate alla seconda e terza età (casi 16) e 18 o più giorni in quelle trattate alla prima età (casi 25). Lo sfarfallamento è avvenuto in ogni caso dopo 8-9 giorni dall'impupamento; i Ditteri ottenuti presentano aspetto e dimensioni normali.

C. - In *Phyllodecta laticollis* Suffr. — Dall'esame dei 35 individui trattati e dalla dissezione di 14 tra questi osservo che il planidio penetra abbastanza facilmente nell'ospite e vi induce un imbuto normale. Fino a 7 giorni dopo la sua penetrazione (in larve alla terza età) si può trovare il planidio vivo in ospite vivo, che si presenta in condizioni normali, ma con sviluppo rallentato. Il parassita non ha mai superato lo stadio di planidio subjeuno e l'ospite ha spesso subito ritardo nella metamorfosi, dando luogo ad adulti talvolta difettosi, specialmente per quanto riguarda lo sviluppo delle ali.

D. - In *Plagioderia versicolor* Laich. — Dalla dissezione di una decina degli individui trattati noto che il Dittero non ha mai superato lo stadio di planidio. In alcuni casi si osserva un imbuto respiratorio malformato, in altri non ho riscontrato tale reazione del tegumento.

E. - In *Melasoma populi* L. — Nei casi in cui il planidio è riuscito a penetrare ha indotto un imbuto abnorme senza poi svilupparsi ulteriormente. Tale risultato è uguale per tutti i 18 casi esaminati.

F. - In *Agelastica alni* L. — Dall'esame dei 40 individui contaminati e dalla dissezione di numerosi tra questi, osservo che il planidio induce sempre un imbuto, che si prolunga poi a rivestirlo quasi interamente; lo sviluppo del planidio non ha luogo, ed esso muore in fase subjeuna.

⁽¹⁾ Non è da escludere però la possibilità di un completo sviluppo, sia pure in queste anormali condizioni, anche se nei miei casi non si è verificato.

G. - In *Haltica brevicollis* Foudr. — Dall'esame dei 22 casi trattati e dalla dissezione di una decina tra questi, osservo che il planidio penetra con facilità, ma non supera poi la fase subjejuna, vivendo al massimo tre-quattro giorni; solo nei casi in cui il planidio lascia sporgere dal tegumento uno o più uriti, si forma un imbuto respiratorio, con pareti sempre ispessite e talvolta notevolmente allungate verso l'interno. In altri casi il planidio resta libero nel lacunoma e lo si può trovare poi morto in fase subjejuna, leggermente pigmentato entro l'ospite divenuto adulto senza alterazione dello sviluppo.

OSSERVAZIONI.

In questa serie di esperienze si deve prendere in considerazione il tegumento degli ospiti anche per quanto riguarda la possibilità di penetrazione del planidio, dato che alla *Macquartia* sono state sottoposte sperimentalmente larve con un tegumento che appare più consistente di quello degli ospiti abituali (e cioè variamente sclerificato e comunque protetto da setole o da ghiandole protrusibili). In tali casi il planidio riusciva a penetrare solo se particolarmente vitale e deposto sulla larva del fitofago nel modo più opportuno. Nei casi in cui è avvenuta la penetrazione si è quasi sempre verificata la reazione del tegumento a formare un imbuto più o meno normale; è da notare come nella maggior parte degli ospiti in cui le condizioni di respirazione del planidio si sono in qualche modo instaurate esso sia poi morto ugualmente in fase jejuna o subjejuna.

Si osserva tuttavia un certo grado di sviluppo del parassitoide in *Crioceris asparagi* L. dove la situazione per quanto riguarda l'imbuto respiratorio risulta abbastanza vicina alla norma (manca però una regolare guaina attorno al parassita); nel caso in cui le condizioni dell'endofago a questo riguardo si presentano del tutto normali (vedi *Chrysomela polita* L.) si ottiene lo sfarfallamento del Dittero che porta a termine regolarmente il suo sviluppo.

III. - PTILOPSINA NIGRISQUAMATA Zett.

È parassita di larve dei Coleotteri Crisomelidi *Plagioderia versicolor* Laich. e forse anche di *Colaspidema atrum* Ol. (1). La femmina, ovovivipara, depone direttamente i suoi germi sulle larve ospiti. La larva raggiunge la maturità

(1) **Lecaillon A.** - *Le négril de la lucerne* (*Colaspidema atrum* Ol.). - Ann. Epiphyt. vol. 11, 1925, pp. 235-298.

vivendo libera nel lacunoma dell'ospite, senza indurre imbuto respiratorio, impupa poi sulle foglie, sotto le spoglie della vittima (1).

Con i planidi di questo Dittero, ho eseguito esperienze su *Phyllodecta laticollis* Suffr., *Galerucella luteola* Müll., *Agelastica alni* L., *Haltica lythri* Aub., oltre che sull'ospite abituale *Plagiodera versicolor* Laich. Per queste esperienze ho potuto disporre di pochissimi Ditteri.

A. - In *Phyllodecta laticollis* Suffr. — Dalle dissezioni di alcune larve trovo che il planidio soccombe di norma dopo breve tempo, in fase subjejuna e con il mesentero pigmentato.

B. - In *Plagiodera versicolor* Laich. — Il parassita si è sviluppato normalmente in oltre l'80% dei casi e ho ottenuto lo sfarfallamento di adulti normali.

C. - In *Agelastica alni* L. - Il planidio penetra più facilmente che nell'ospite precedente e lo si trova poi avvolto da una cisti nera con pareti pigmentate e robuste, aperta almeno inizialmente verso l'esterno, entro ospite di aspetto normale.

D. - In *Galerucella luteola* Müll. — In 9 sui 20 casi trattati il planidio, iniettato o depresso sull'ospite, si trova, più tardi, morto in fase subjejuna e coperto di pigmento giallastro entro l'adulto normalmente sviluppato.

E. - In *Haltica lythri* Aub. — Il planidio, depresso o iniettato, non riesce a superare la fase subjejuna e muore dopo pochi giorni. Lo si ritrova più tardi nell'ospite adulto senza che ne abbia danneggiato lo svolgimento della metamorfosi.

OSSERVAZIONI.

Si tenga presente che i planidi di *Ptilopsina* respirano utilizzando l'ossigeno disciolto nell'emolinfa della vittima. È quindi esclusa la reazione del tegumento dell'ospite all'induzione dell'imbuto e tutto quanto da questa può dipendere. Occorre invece notare che questi planidi sono molto delicati e muoiono dopo pochi minuti dalla schiusa. Per questo è piuttosto difficile utilizzarli, specialmente se vengono semplicemente deposti sulla vittima: essi si trovano sovente a penetrare già in condizioni di scarsa vitalità. Iniettando il planidio entro l'ospite si ovvia a tale inconveniente.

Sia nei casi in cui il parassita è riuscito a penetrare spontaneamente, sia nei casi in cui ho dovuto iniettarlo, se ne è riscontrato il decesso dopo 24-48 ore o poco più. La formazione di capsule con pareti non molto consistenti si è verificata solo in *Agelastica alni*.

(1) Mellini E. - Studi sui Ditteri Larvevoridi. IV *Ptilopsina nitens* Zett. parassita di *Plagiodera versicolor* Laich. - Boll. Ist. Entom. Univ. Bologna vol. XXII, 1957, pp. 135-176, 16 figg.

Quadro riassuntivo delle esperienze eseguite.

OSPITI	PARASSITI		
	<i>Steiniella callida</i> Meig.	<i>Macquartia tenebricosa</i> Meig.	<i>Ptilopsina nigrisquamata</i> Zett.
Criocerinae:			
<i>Crioceris asparagi</i> L.	P, C	L ₂ , L ₃	—
Chrysomelinae:			
<i>Leptinotarsa 10-lineata</i> Say	P	—	—
<i>Chrysomela polita</i> L.	—	A	—
<i>Phyllodecta laticollis</i> Suffr.	C, L ₂	P	P
<i>Plagioderia versicolor</i> Laich.	A	P	A
<i>Melasoma populi</i> L.	A	P	—
Galerucinae:			
<i>Agelastica alni</i> L.	P, C	P	P, C
<i>Galerucella luteola</i> Müll.	—	—	P
Halticinae:			
<i>Haltica lythri</i> Aub.	—	—	P
<i>Haltica brevicollis</i> Foudr.	—	P	—

Abbreviazioni:

- C : formazione di capsule.
- P : il parassitoide non ha superato lo stadio di planidio.
- L₂ : il parassitoide si è sviluppato fino allo stadio di larva della II età.
- L₃ : il parassitoide si è sviluppato fino allo stadio di larva della III età.
- A : il parassitoide ha raggiunto lo stato adulto o, quanto meno, di larva della III età.

DISCUSSIONE GENERALE.

Sui dati riportati e sulle osservazioni da questi ricavati si possono fare alcune considerazioni sia in riguardo alle reazioni dei fitofagi, sia soprattutto in riguardo ai parassiti, oggetto del presente studio.

La penetrazione dei planidi nell'ospite è il primo punto da considerare. Questa avviene in misura maggiore o minore in relazione principalmente alla vitalità di ciascun planidio, e alla difficoltà che presenta per questi la perforazione del tegumento dell'ospite. Ma, oltre che come ostacolo per la penetrazione, il tegumento è da considerare per quanto riguarda quella reazione — dipendente dalla penetrazione del planidio — che è la formazione dell'imbuto respiratorio. Tale formazione si è vista qui variare in uno stesso ospite secondo il parassita e viceversa in ospiti diversi per lo stesso parassita.

Per le due specie di Ditteri (*Steiniella* e *Macquartia*) che inducono un imbuto primario, si è vista di frequente una reazione abnorme del tegumento, che potrebbe considerarsi indice di una scarsa predisposizione dell'ospite spe-

Elenco delle specie dei fitofagi e delle piante ospiti.

In ordine sistematico sono qui elencati sia gli ospiti abituali dei parassitoidi trattati sia quelli sottoposti ad esperienze.

Criocerinae:

Crioceris asparagi L.

Asparagus officinalis L.

Chrysomelinae:

Colaspidema atrum Oliv. (1)

Medicago sativa L.

Leptinotarsa 10-lineata Say.

Solanacee

Chrysomela polita L.

Mentha aquatica, *Lycopus exaltatus* L.
e *L. aeuropaeus* L.

Chrysomela varians Schall (2)

Hypericum perforatum L. e *H. quadrangolum* L. *Galeopsis* sp., *Lamium* sp., e altre Labiate.

» *fastuosa* Scop. (2)

» *graminis* L. (2)

Composite corimbifere

» *geminata* Payk. (2)

Hypericum sp.

» *hyperici* Forst. (2)

Hypericum perforatum Z.

Phyllodecta laticollis Suffr.

Populus spp.

Plagioderia versicolor Laich. (3)

Salicacee

Melasoma populi L. (4)

Populus spp.

Melasoma tremulae L. (4)

Salicacee

Galerucinae:

Agelastica alni L.

Alnus glutinosa Vill. e *A. incana* Vill.

Galerucella luteola

Ulmus campestris L.

Halticinae:

Haltica lythri Aub.

Salix triandra L.

Haltica brevicollis Foudr.

Corylus avellana L.

(1) Ospite probabile di *Ptilopsina nigrisquamata* Zett.

(2) Ospiti di *Macquartia tenebricosa* Meig.

(3) Ospite di *Ptilopsina nigrisquamata* Zett.

(4) Ospiti di *Steiniella callida* Meig.

rimentale ad accogliere il parassita: infatti il parassita non ha mai provocato tali abnormi reazioni in ospiti che gli consentivano lo sviluppo. D'altra parte è da notare che in molti casi anche quei parassiti che hanno indotto un imbuto, sia pure irregolare, entro l'ospite sperimentale, assicurandosi in certo modo il rifornimento di ossigeno, non si sono sviluppati completamente, raggiungendo al massimo la seconda età o l'inizio della terza età larvale. Inoltre, per i rari casi in cui il planidio è sopravvissuto, pur senza il necessario imbuto, per 24-36 ore nel lacunoma del fitofago ed è stato poi trovato in fase subjejuna, faccio notare la possibilità posseduta in generale da tutti gli endofagi di utilizzare l'O₂ disciolto nell'emolinfa dell'ospite. Questa modalità di respirazione è normale per la *Ptilopsina*, che non induce mai un imbuto respiratorio nelle vittime abituali e solo alla fine della terza età

larvale assume O₂ atmosferico attraverso una lacerazione praticata nel tegumento dell'ospite ormai condotto a morte. Per i planidi di questo Dittero, quindi, il mancato differenziamento di un imbuto negli ospiti sperimentali non rappresenta la causa dell'insuccesso. E in generale appare evidente che la causa del decesso dei parassiti è da ricercare in altri fattori, e non da riferire semplicemente ad una insufficiente attività respiratoria. Inoltre i vari casi di mancato sviluppo del parassitoide in ospite evolventesi sulla stessa specie di pianta o in specie affini a quella su cui si evolve l'ospite naturale (*Steiniella* in *Phyllodecta*, *Ptilopsina* in *Haltica lythri*) mi portano a concludere che la pianta sulla quale vive l'ospite non costituisce sempre, di per se stessa, una causa condizionante lo sviluppo del parassita. Tale conclusione è convalidata dal caso opposto: entro un ospite evolventesi su una pianta appartenente a un gruppo sistematico più o meno lontano da quello della pianta frequentata dalle vittime abituali, si è avuto uno sviluppo della larva del parassitoide (*Macquartia* in *Crioceris*, per esempio). I planidi dopo poche ore dalla penetrazione nell'ospite mostrano il mesentero pigmentato in seguito all'ingestione di emolinfa. Parrebbe quindi, da quanto esposto, che sia l'emolinfa dell'ospite che per ingestione o forse anche per semplice contatto conduce a morte il parassita. È così che dei vari elementi costituenti l'idoneità dell'ospite sono portata a supporre che frequentemente sia la composizione dell'emolinfa del fitofago il fattore responsabile del mancato sviluppo del parassita (indipendentemente, almeno in certi casi, dall'influenza della pianta nutrice).

Restano da considerare i casi in cui il parassita ha raggiunto uno sviluppo più o meno avanzato. In particolare considero le esperienze eseguite con *Steiniella* in *Plagiodera* e in *Phyllodecta* e con *Macquartia* in *Crioceris* e in *Chrysomela polita* L. Lo sviluppo del Larvevoride in questi ospiti (parziale e occasionale in *Phyllodecta*, parziale e con adattamento delle dimensioni in *Crioceris*, totale e con dimensioni assai ridotte in *Plagiodera*, totale e normale in *Chrysomela polita*) ha dimostrato che esiste una certa adattabilità del parassita, che è riuscito a svilupparsi sperimentalmente in ospiti diversi (anche di diverse sottofamiglie) da quelli in cui sono comprese le sue vittime abituali. Ciò può sorprendere, e tanto più se si considera il completo sviluppo della *Steiniella* in *Plagiodera* mentre in certe altre Crisomeline *Steiniella* e *Macquartia* non si sono sviluppate (*Phyllodecta laticollis*, per la *Steiniella*, *Plagiodera* e *Melasoma* per la *Macquartia*, per esempio).

Pertanto ritengo opportuno far notare che accanto ai numerosi casi in cui lo sviluppo del parassita è rimasto completamente inibito se ne sono verificati altri in cui questi ha potuto crescere raggiungendo la seconda o perfino la terza età, nonostante l'imbuto respiratorio risultasse abnorme o mancasse anche la normale guaina avvolgente. Inoltre particolarmente interessante risulta il caso di adattamento della *Steiniella* in *Plagiodera* (considerate anche le ridotte dimensioni di quest'ultima rispetto all'ospite naturale (*Melasoma*) e le ridottissime dimensioni del pupario ottenuto.

È da mettere anche in evidenza il caso in cui il parassita (*Macquartia* in *Chrysomela polita*) si è sviluppato senza alcuna modificazione in ospite sperimentale fino a dare adulti di aspetto normale. Un tale risultato di laboratorio, anche se finora non ha trovato riscontro in natura, fa ritenere, con buona probabilità di essere nel vero, che il fitofago venga attaccato anche spontaneamente dal Dittero. Comunque resterebbe da osservare se i Ditteri sfarfallati da tale ospite si riproducano poi normalmente.

Certamente oltre il riportare un elenco delle varie specie di fitofagi che hanno permesso od ostacolato in grado maggiore o minore lo sviluppo del parassita, mi sembra interessante richiamare l'attenzione sulle reazioni che le larve ospiti oppongono in genere all'endofago (e che sono evocate dal parassita stesso) varianti da specie a specie di parassita per uno stesso ospite (1) e ovviamente nei diversi ospiti per uno stesso parassita (2), come appare chiaramente dai casi esposti.

In primo luogo è da notare la formazione delle capsule che in alcune specie ospiti finiscono con l'avvolgere completamente il parassita (capsule praticamente uguali nelle diverse specie. Tali capsule sono formate, col concorso del tegumento, da elementi figurati del sangue e da pigmento nero, che con tutta probabilità è di natura melanica (3). Ho già osservato che per primo comincia a formarsi l'imbuto respiratorio a spese dell'epitelio tegumentale e poi si addensano gli emociti, da ultimo si manifesta la reazione melanica. Tutta la formazione si può considerare come la risultante di reazioni di difesa (tali sono considerate in altro luogo da SALT le reazioni emocitaria e melanica) e ritengo che sia una causa piuttosto che un effetto della morte del planidio. Inoltre nei casi in cui tali capsule non si formano è interessante considerare la formazione di imbusti respiratori anormali perchè abnormi o con orli ingrossati e non seguiti dalla normale guaina. Anche in queste condizioni non si verifica mai il completo sviluppo del parassita.

(1) Ad es. la *Crioceris* non forma capsula attorno al planidio di *Macquartia*, mentre ne forma una voluminosa attorno a quello di *Steiniella*.

(2) La *Plagiodera* non reagisce mai alla *Steiniella* nè con addensamento di emociti nè con reazione melanica e formazione di una capsula, mentre la *Phyllosecta*, la *Crioceris* e altre formano di notevoli.

(3) Per quanto riguarda l'esatta natura del pigmento nero o bruno degli Insetti V. B. WIGGLESWORTH e D. GILMOUR, ritengono che esso sia dovuto in parte a proteine tannizzate e in parte a melanina ad esse associata e riscontrata presente in genere negli Insetti. La produzione di melanina è generalmente considerata un meccanismo di deposito di fenoli, tossici se in circolo, che vengono prodotti da una interruzione dei processi metabolici, la distribuzione del pigmento sarebbe da mettere in relazione con l'intensità di metabolismo nei tessuti sottostanti (Gilmour D. - *Biochemistry of insects*. - London e New York 1961, cfr. pp. 260-261. Wigglesworth V. B. - *The principles of Insect Physiology*. - London, 1953, cfr. pp. 26, 35, 401-403).

Da ultimo mi sembra interessante far notare per converso l'effetto dell'endofago su taluni ospiti: in certi casi infatti la presenza della larva del Dittero, che poi ha finito col soccombere, pur non portando a morte l'ospite, ne ha causato alterazioni morfologiche più o meno appariscenti (ad esempio formazione di adulti con ali più o meno atrofiche).

RIASSUNTO

Nella presente memoria vengono esposti i risultati ottenuti da una serie di esperienze eseguite applicando metodi di parassitizzazione artificiale, utilizzando quali parassiti Ditteri Larvevoridi e quali vittime Coleotteri Crisomelidi.

Con i planidi di tre specie di Larvevoridi (*Steiniella callida* Meig., *Macquartia tenebricosa* Meig., *Ptilopsina nigrisquamata* Zett.) sono state contaminate circa 500 larve di Crisomelidi appartenenti a una decina di specie, più o meno vicine sistematicamente a quelle attaccate in natura da questi Ditteri. Per ogni specie di tali ospiti sperimentali venivano utilizzate larve alla penultima e ultima età.

I dati emersi riguardano l'adattamento dei parassiti agli ospiti sperimentali e qualcuna delle complesse relazioni stabilitesi tra ospite e parassita. Tali dati portano un contributo allo studio della specificità parassitaria, in particolare per quanto riguarda lo studio della idoneità dell'ospite.

Ho osservato che: la penetrazione del planidio nell'ospite è sempre possibile se questi è molto vitale. Per le due specie di Ditteri (*S. callida* Meig. e *M. tenebricosa* Meig.) che formano un imbuto primario, si è verificata generalmente l'induzione di tale imbuto. Tale reazione, però, è risultata differente per le due specie di endofagi anche entro ospite identico. In molti casi si è formato un imbuto abnorme, con orli sporgenti all'esterno, ingrossati e neri; in altri l'imbuto appare simile al normale, ma manca la normale guaina interna; in altri ancora, e sono in minor numero, tale imbuto si presenta del tutto normale compresa la relativa guaina.

Interessanti reazioni (emocitaria e melanica) con formazione di grosse capsule, che hanno portato a morte il planidio, si sono verificate in molti casi; in altri invece l'endofago è deceduto per cause diverse.

In numerose specie il parassita è morto dopo un periodo più o meno breve di permanenza entro l'ospite: questo si è verificato anche quando le condizioni respiratorie si erano in qualche modo instaurate. Si può pensare, che il decesso dell'endofago in tali casi sia dipeso dalla composizione dell'emolinfa, tossica per esso o comunque non adatta per il suo completo sviluppo.

In alcune specie di vittime le larve di *Steiniella* e di *Macquartia* hanno raggiunto la seconda e talvolta la terza età. Solo in due specie di ospiti sperimentali si è verificato il completo sviluppo del parassita. Questo è avvenuto con notevole adattamento megetico per la *Steiniella* che ha formato pupari nani in *Plagioderia vericolor* Laich. Tali pupari hanno dimensioni minori della metà rispetto al controllo normale, gli spiracoli invece e la placca anale sono normali anche come dimensioni e quindi abnormi per il puparietto.

Infine la *Macquartia* si è sviluppata regolarmente raggiungendo dimensioni normali in *Chrysomela polita* L., per questo, e per altre ragioni, si può fare l'ipotesi che tale *Chrysomela* sia ospite del Dittero anche in natura, benchè ciò non sia stato finora riscontrato.

S U M M A R Y

In this paper the Author gives the results achieved during a series of experiments carried on by applying methods of artificial infestation with parasites. As parasites the Author made use of *Diptera Larvaevoridae* and as victims of *Coleoptera Chrysomelidae*. About 500 larvae of *Chrysomelidae* were contaminated with the planidia of three species of *Larvaevoridae* (*Steiniella callida* Meig., *Macquartia tenebricosa* Meig., *Ptilopsina nigrisquamata* Zett.) The infected larvae belonged to about ten species more or less taxonomically related with those attacked in nature by these Diptera. Larvae of the last and last but one stages were used for every species of the experimental hosts.

The data obtained concern the adaptations of the parasites to the experimental hosts and some of the complex relationships established between host and parasite; they give a contribution to the study of parasitic specificity and, particularly, of the conditions affecting the host suitability.

The Autor has observed that, if the parasite is very viable, the penetration of the planidium into the host is always possible. As regards the two Dipterous species (*S. callida* Meig. and *M. tenebricosa* Meig.) which form a primary funnel, the induction of this funnel generally occurred. The two endophagous species however, have different reactions even within an identical host. In many cases an abnormal funnel is formed, exhibiting black thick rims, jutting outside; in other instances the funnel presents a normal appearance, but the normal sheath is lacking; in other cases moreover (and they are less numerous) such funnel looks wholly normal including the relative sheath.

In many cases haemocytic and melanic reactions occurred with the production of big capsules, which caused the planidium to die; in others, instead, the endophagan died for different causes.

In many species the parasite died after a more or less prolonged stay within the host; this event occurred even when the respiratory conditions had been in some way established.

One might think that the death of the endophagan is caused by the composition of the haemolymph, which is toxic to it, or, in any case insuitable for its full development.

In some species of victims the larvae of *Steiniella* and *Macquartia* reached the 2nd and sometimes the 3rd stage. The full development of the parasites occurred only in two species of experimental hosts: *Steiniella* has undergone a noticeable megetic adaptation during its development, forming dwarf puparia in *Plagioderia versicolor* Laich.; they are smaller than half the normal sizes of the control, the spiracles and the anal plate are normal in size and therefore abnormal in respect of the small puparium. Finally *Macquartia* with normal sizes developed regularly in *Chrysomela polita* L. and for this and other reasons one can suppose that such *Chrysomela* is a host of the Dipteran in nature too, although this occurrence has not been till now recorded.