

Origine e struttura dell'imbuto respiratorio indotto da *Steiniella callida* Meig. (Dipt. Larvaevoridae) nelle larve di *Melasoma populi* L. (Col. Chrysomelidae) (*)

L'imbuto respiratorio è una particolare struttura, a forma di tronco di cono o di campana, indotta nei loro ospiti dalle larve endofaghe dei Ditteri Larvevoridi e utilizzata da queste ultime per assicurare l'accesso dell'aria agli stigmi presenti nell'ultimo segmento del loro corpo.

Tali formazioni sono state sommariamente descritte da numerosi Autori in svariatissime vittime di questi Ditteri, e recentemente uno di noi (MELLINI, 1964) ha riunito i disparati reperti in una organica sintesi, per quanto concerne i tipi di imbuto, il momento della loro induzione, la loro localizzazione, il numero di imbuti indotti da un singolo individuo del parassita, il tipo di imbuto in relazione alle modalità di contaminazione dell'ospite.

Se sufficientemente conosciuti possono ritenersi gli imbuti sotto questi aspetti, altrettanto non può dirsi invece per quanto riguarda i materiali che li costituiscono e la dinamica della loro formazione. I pareri dei vari Autori risultano discordanti e in genere non basati su specifiche e adeguate ricerche. Non è qui il caso di esaminarli dettagliatamente, tanto più che una discussione generale sull'argomento è stata fatta di recente da SALT (1963) nella sua ampia memoria sulle reazioni degli Insetti ai loro Metazoi parassiti.

Posto che l'imbuto appare il più delle volte costituito da due parti, una basale, coniforme, rigida e bruno-nerastra (l'imbuto propriamente detto) e una distale subcilindrica, spesso nei primi stadi a fondo cieco, membranacea, quasi trasparente (detta « guaina »), basti semplicemente rilevare che oggi, in genere, si ritiene la prima di origine epidermale (se il sifone è tegumentale) o epiteliale (se il sifone è tracheale) e la seconda di origine emocitaria. Data però l'incertezza e l'approssimazione di tali conclusioni, appariva necessario effettuare studi approfonditi, con l'utilizzazione di opportune tecniche, specificatamente intesi a illustrare la struttura degli imbuti nel loro divenire. In questa prima nota le indagini sono state limitate agli imbuti tegumentali primari; ci riserviamo di estenderle prossimamente a quelli secondari sia tegumentali che tracheali.

(*) Studi sui Ditteri Larvevoridi. XV contributo.

MATERIALE E TECNICA.

Le ricerche sono state condotte su larve di *Melasoma populi* L. parassitizzate da *Steiniella callida* Meig.

La biologia del Larvevoride in riguardo a questo Crisomelide è nota (MELLINI, 1962). La *Steiniella* è una specie oligofaga, monovoltina, ibernante allo stadio di pupa nel terreno. Le femmine depongono uova, che subito

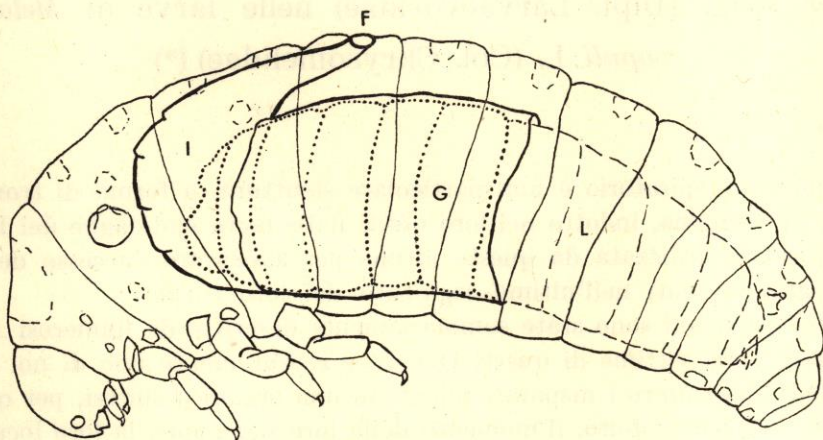


FIG. I.

Disegno semischematico per mostrare la disposizione dell'imbuto respiratorio e della larva endofaga in III età di *Steiniella callida* Meig. nel lacunoma di larva matura di *Melasoma populi* L. Si noti come, in seguito al notevole sviluppo del parassita, l'imbuto venga ripiegato a formare una stretta ansa: F, foro esterno dell'imbuto; G, guaina; I, imbuto; L, larva endoparassita.

schiodono, direttamente sulle larve di qualsiasi età di *Melasoma*. Le larvette neosgusciate, planidiformi, penetrano nell'ospite perforandone il tegumento, praticamente in un punto qualsiasi del corpo, e rimangono ancorate con l'ultimo urite nel foro di penetrazione. Durante la I e la II età la larva parassita resta completamente avvolta da una guaina sacciforme, che la isola dal lacunoma dell'ospite, e si nutre dell'emolinfa che filtra entro tale involucro attraverso le pareti estremamente sottili specie nel terzo medio e distale. Durante la III età la larva lacera il fondo della sacca in cui è racchiusa e divora, rimanendo in sito, pressochè integralmente i visceri dell'ospite che ben presto soccombe; soltanto nelle ultime fasi dello sviluppo essa fuoriesce dall'imbuto e dalla guaina e, qualche tempo dopo avere raggiunto la maturità, dalla vittima.

Si è scelta questa coppia ospite-parassita per la relativa facilità con la quale si può procedere in laboratorio alla parassitizzazione sperimentale dell'ospite e per il vistoso imbuto tegumentale primario che in quest'ultimo viene a differenziarsi.

Si sono contaminate, seguendo tecniche già illustrate in altra occasione (MELLINI, 1962) gruppi di larve in differenti stadi del loro sviluppo; tali

larve sono state poi dissezionate in tempi successivi, dopo un numero vario di giorni dall'avvenuta parassitizzazione, allo scopo di prelevare imbuti in diverse fasi del loro accrescimento. Il materiale così ottenuto veniva fissato in liquido di Bouin.

I preparati sono stati colorati parte con ematossilina-eosina per il comune esame istologico e parte con l'Alcian blu, combinato con la reazione all'acido periodico di Schiff per l'analisi istochimica intesa a mettere in evidenza gli eventuali mucopolisaccaridi presenti nelle strutture.

Sugli imbuti in toto e su porzioni di imbuto si è applicato il metodo di ricerca microchimica, descritto da CAMPBELL (1929), per rivelare la presenza di chitina e di conseguenza stabilire l'estensione della parte di origine tegumentale nel sifone.

CENNI SULL'ACCRESIMENTO DELL'IMBUTO.

Per una più agevole comprensione della struttura dell'imbuto al termine dello sviluppo è opportuno illustrare per sommi capi le varie fasi della sua formazione.

Durante la I età del parassità l'imbuto è costituito pressochè esclusivamente da una esilissima guaina elastica e trasparente, originatasi a spese degli emociti dell'ospite, la quale avvolge completamente l'endofago ad esclusione della porzione caudale dell'ultimo urite, che sporge all'esterno del corpo della vittima attraverso il foro di penetrazione. Soltanto verso la fine di questa età, alla base della guaina ed internamente ad essa, comincia ad accennarsi una stretta fascia leggermente brunastra.

Durante la II età la guaina si inspessisce nella parte basale, alquanto a valle del foro di penetrazione, ad opera degli emociti che quivi affluiscono in massa; mentre la parte distale si mantiene sottilissima, elastica ed appare priva di emociti. L'accrescimento vero e proprio di tale capsula avviene quindi per apposizione di nuovo materiale nella regione basale, mentre in quella distale si verifica fundamentalmente una distensione, uno stiramento delle pareti in seguito alla pressione esercitata dall'endofago che si sviluppa rapidamente e si spinge in avanti contro il fondo cieco della sacca.

Nel contempo, in seguito a fenomeni di cicatrizzazione (già avviati nell'età precedente) in corrispondenza della ferita aperta dalla larva parassita nel penetrare, si differenzia, all'interno e alla base della guaina, un piccolo cercine di origine tegumentale.

Frattanto la fascia brunastra all'interno della guaina, man mano l'endofago in accrescimento va allontanandosi dal foro di penetrazione, si estende, si irrobustisce e si pigmenta progressivamente nel tratto di involucro lasciato libero; essa infatti deriva dalla coagulazione e dal disseccamento dell'emolinfa che continua a filtrare entro la guaina ove le pareti sono più esili, e che, defluendo nell'intercapedine tra queste e corpo del parassita, viene a tro-

varsi, caudalmente a quest'ultimo, a contatto con l'aria. Per il continuo estendersi del suddetto strato brunastro l'esuvia della larva di I età, che variamente pieghettata rivestiva inizialmente per breve tratto le pareti interne della sacca, finisce col rimanere interposta fra queste e lo strato in avanzamento.

Nella II età, pertanto, l'imbuto in senso stretto degli Autori è rappresentato da quella porzione della capsula che risulta irrigidita dallo strato interno di sangue disseccato. Mentre in questa età l'imbuto ha un decorso rettilineo, nella III età esso risulta piegato a gomito in corrispondenza della zona di transizione fra la parte basale e quella media; in certi casi mostra addirittura la prima parte, che è rigida, parzialmente introflessa nella seconda. Infatti la larva parassita, che oramai ha raggiunto dimensioni notevoli e che nel lacunoma dell'ospite si trova racchiusa in uno spazio molto ristretto, finisce con l'esercitare contro l'imbuto, lungo il suo asse longitudinale, una forte pressione.

Durante la III età continuano e si intensificano i processi di accrescimento in atto nello stadio precedente: lo strato interno consistente in una crosta di sangue si estende e si ingrossa ulteriormente, lo strato esterno formato a spese degli emociti si inspessisce vieppiù sub-prossimalmente ove viene a formare vistose anse; l'esuvia della larva di II età, anch'essa variamente pieghettata e trattenuta in sito dalla sottile guaina emocitaria esterna e da una membrana del tutto simile interna, irrobustisce un ulteriore ed ampio tratto della capsula estendendo i confini del cosiddetto imbuto. Questo pertanto risulta formato quasi esclusivamente da: *a*) sangue dell'ospite che conferisce, seccandosi, rigidità e pigmentazione alla parte basale della struttura; *b*) materiale elastico e

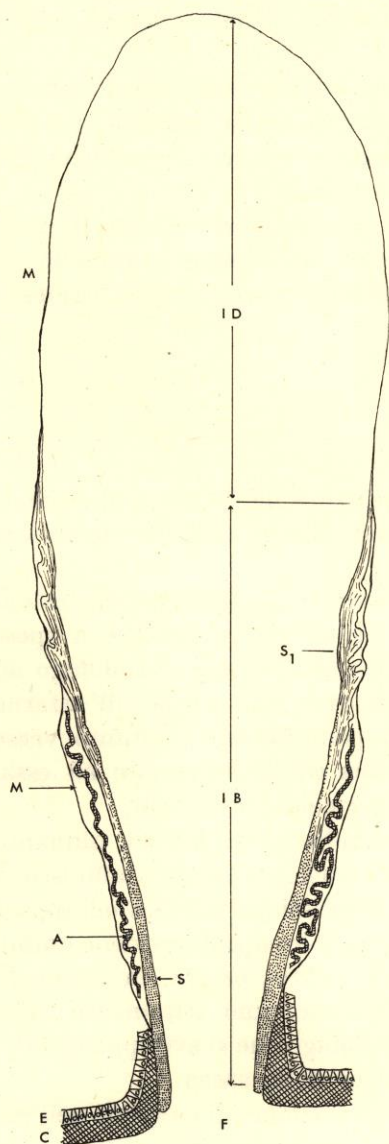


FIG. II.

Sezione longitudinale di imbuto respiratorio di *S. callida* Meig. alla II età: A, esuvia del planidio; C, cuticola dell'ospite; E, epidermide dell'ospite; F, foro esterno dell'imbuto; IB, parte basale dell'imbuto; ID, parte distale; M, membrana emocitaria (distalmente costituisce la guaina); S, strato di emolinfa disseccata; S1, strato fibroso.

fibroso, formato a spese degli emociti dell'ospite, che avvolge e collega

in un tutto unico le varie parti dell'imbuto; e) esuvia della larva di I età (di importanza trascurabile) e della larva di II età del parassita che costituisce la parte più ampia, scarsamente pigmentata e di consistenza pergamenacea dell'imbuto. Contrariamente all'opinione degli Autori, il tegumento dell'ospite vi concorre in misura estremamente modesta costituendo soltanto una strettissima fascia attorno al foro di penetrazione; infatti se piegato l'imbuto facilmente si stronca alla base.

STRUTTURA DELL'IMBUTO AL TERMINE DELLO SVILUPPO.

Quando ha raggiunto il massimo sviluppo, l'imbuto respiratorio indotto da *Steiniella callida* Meig. nelle larve di *Melasma populi* L. è una grande formazione coniforme, nerastra nel tratto basale e via via meno pigmentata procedendo verso l'estremità più larga, che misura in media, esclusa la porzione distale piuttosto incoerente e flaccida (la cosiddetta guaina), mm 3,4 in lunghezza e mm 2,5 nel diametro maggiore.

Trattato in soluzione acquosa satura (a temperatura ambientale) di KOH a 160 °C per 15 minuti, l'imbuto si disintegra e in gran parte si scioglie; restano infatti integre soltanto tre porzioni a forma di tubo, liberamente fluttuanti, e precisamente, in ordine crescente di dimensioni, una modestissima fascia basale in continuazione con la cuticola della larva ospite, l'esuvia della larva parassita di I età e l'esuvia della stessa alla II età; cioè le uniche parti di origine tegumentale contenenti chitina.

La struttura dell'imbuto a sviluppo ultimato è piuttosto complessa e possiamo individuare, nel senso della lunghezza, tre regioni abbastanza chiaramente distinte: una parte basale spessa, rigida e nerastra, una parte media scarsamente pigmentata, di aspetto e consistenza pergamenacea, e una parte distale assai molle e debole. Le tre parti sono lunghe rispettivamente, all'incirca mm 2,5, mm 2, e mm 2,5.

Esaminiamo partitamente la costituzione e la natura delle tre porzioni intimamente associate a formare un tutto unico.

I) PARTE BASALE. — È composta procedendo dall'interno, cioè dal lume del tubo verso l'esterno, dai seguenti strati:

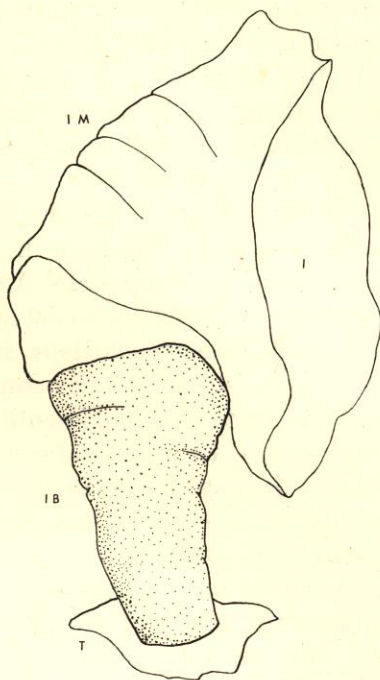


FIG. III.

Imbuto respiratorio di *S. callida* Meig. visto di lato: I, apertura interna dell'imbuto; IB, parte basale dell'imbuto; IM, parte media; T, tegumento dell'ospite.

a) Un grosso strato amorfo, rigido, di colore bruno-nerastro, a decorso rettilineo, progressivamente assottigliantesi e meno pigmentato procedendo verso l'estremità distale che tuttavia non viene mai raggiunta. Esso è costituito dall'emolinfa che penetra all'interno dell'imbuto e che si pigmenta, si coagula e si indurisce in una robusta crosta a contatto con l'aria presente nel tratto basale del sifone stesso. Infatti durante lo sviluppo, man mano la larva parassita si allontana dal foro praticato nel tegumento dell'ospite, lo strato pigmentato si estende sempre più addentro lungo le pareti interne dell'imbuto ed inoltre su di esse, quando l'endofago compie movimenti di avanti e indietro, si può osservare un leggero velo di emolinfa. Tale strato può prolungarsi in modo del tutto irregolare, per brevissimo tratto, esternamente al foro sul corpo della vittima.

È questo strato che conferisce alla parte basale dell'imbuto le particolari caratteristiche di rigidità e di pigmentazione. Per tali qualità esso è stato erroneamente ritenuto dagli Autori, convinti, senza prove, della natura tegumentale di questa parte del sifone, formato da sclerotina; esso però si dissolve facilmente in soluzione satura di KOH a caldo.

b) Uno strato di varia consistenza, in diretta continuazione con la cuticola dell'ospite e rapidamente assottigliantesi distalmente; esso contiene chitina com'è risultato dalle reazioni chimiche applicate secondo i metodi descritti da CAMPBELL (1929). Questa fascia cuticolare è presente solo alla base dell'imbuto ed ha una altezza pari all'incirca al diametro del foro di penetrazione; essa interessa solo un decimo dell'intera lunghezza della parte rigida del sifone e pertanto ha una estensione estremamente limitata, contrariamente alle opinioni correnti, secondo le quali formerebbe tutto l'imbuto propriamente detto.

Lo strato cuticolare mostra lo stesso colore che presenta l'esoscheletro dell'ospite nell'area interessata dalla ferita praticata dal parassita; infatti se il foro è stato aperto in una zona ove la cuticola è pressochè incolore, lo strato è esso pure incolore, se invece si apre entro una placca pigmentata anche lo strato è similmente colorato; infine se investe in parte una placca e in parte una zona non pigmentata lo strato mostra corrispondentemente nei due diversi settori caratteristiche differenti⁽¹⁾.

La fascia cuticolare dell'imbuto, al termine dell'accrescimento, presenta a un di presso lo stesso sviluppo, in lunghezza e in spessore, sia che la larva ospite sia stata parassitizzata nella prima, che nella seconda o nella III età.

c) Uno strato di cellule epidermiche sottostante l'anzidetta lamina cuticolare, in diretta continuazione con lo strato di cellule matrici della cuticola nel tegumento dell'ospite. Esse mostrano caratteristiche simili a queste ultime, per quanto non risultino disposte in modo altrettanto regolare.

(1) Si noti come, ovviamente, nel processo di cicatrizzazione le cellule dell'epidermide interessate producano cuticola simile a quella originariamente formata nel tegumento indenne.

d) Uno strato anisto che comincia ad apparire evidente distalmente

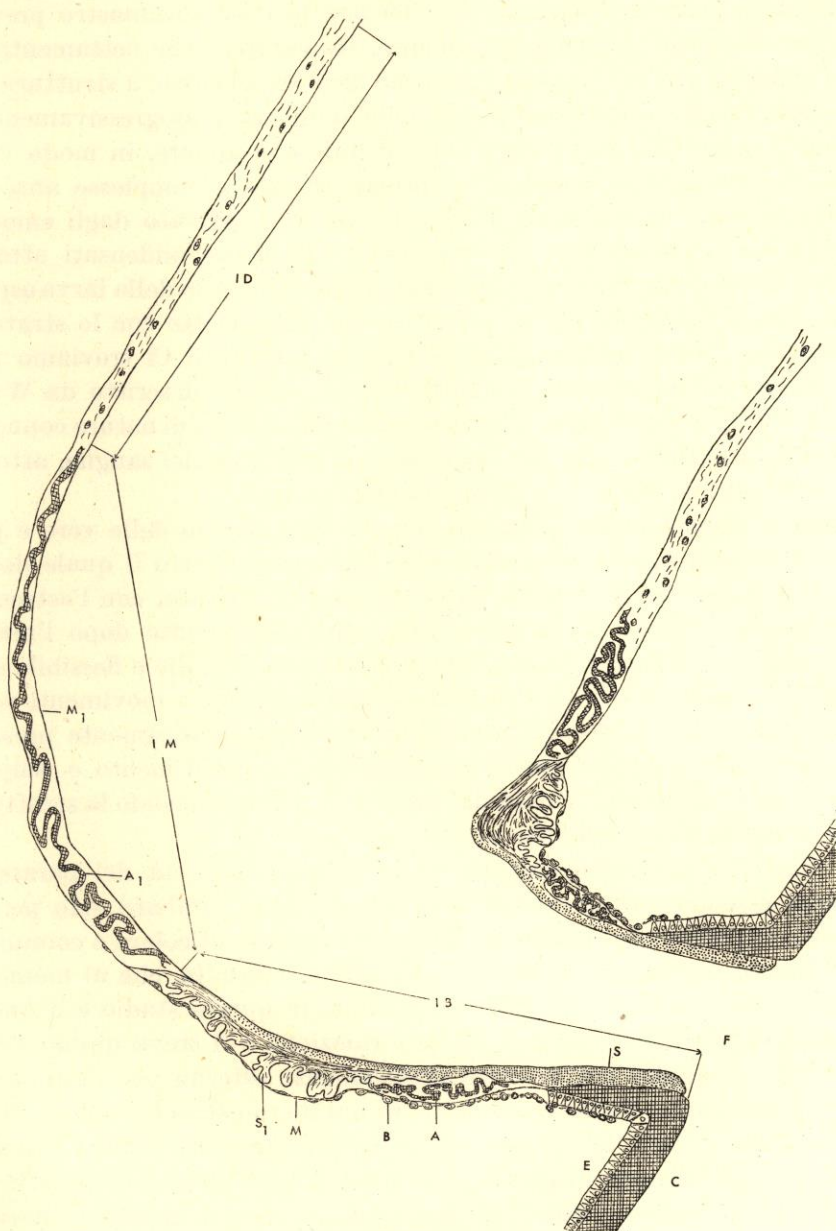


FIG. IV.

Sezione longitudinale di imbuto respiratorio di *S. callida* Meig. alla III età: A, esuvia del planidio; A1, esuvia della larvâ di II età del parassita; B, emociti; C, cuticola dell'ospite; E, epidermide; F, foro esterno dell'imbuto; IB, parte basale dell'imbuto; ID, parte distale; IM, parte media; M, guaina emocitaria esterna; M1, membrana emocitaria interna; S, strato di emolinfa disseccata; S1, strato fibroso.

alla fascia cuticolare, per quanto nel primo tratto non presenti limiti ben

netti col sovrastante strato bruno-nerastro formato da croste di emolinfa. Assieme a quest'ultimo rappresenta il principale costituente della parte basale dell'imbuto, con la differenza che, mentre lo strato brunastro prevale prossimalmente, questo prevale distalmente. Ha caratteristiche nettamente diverse dal suddetto strato; è infatti pressochè incolore, elastico, a struttura più o meno chiaramente fibrosa nel senso della lunghezza, progressivamente e vistosamente ingrossato verso l'estremità distale ove appare, in modo viepiù evidente, variamente ondulato a formare strette e complesse anse.

Risulta formato da materiale PAS positivo ed è derivato dagli emociti, che continuano a restare ove più o meno fittamente addensati attorno all'imbuto, anche quando questo, approssimandosi la morte della larva ospite, è verso la fine dello sviluppo. Gli emociti a intimo contatto con lo strato fibroso risultano spesso variamente appiattiti ed allungati. Ci troviamo pertanto di fronte ad un processo del tutto simile a quello descritto da WIGGLESWORTH (1956) in riguardo alla formazione delle capsule di natura connettivale che si differenziano, ad opera degli elementi cellulari del sangue, attorno ai corpi estranei introdotti nel lacunoma degli Insetti.

Le vistose pieghettature di questo strato, che formano delle vere e proprie anse nettamente separate dallo strato pigmentato sotto il quale decorrono, sono originate in gran parte dalla pressione esercitata, con l'estremità caudale, contro l'imbuto dalla larva parassita specialmente dopo l'ultima muta. Il materiale derivato dalla reazione emocitaria è molle e flessibile ed è suscettibile di ridistendersi se stirato dalla larva durante i movimenti verso l'avanti, mediante le microspinule con punta rivolta cefalicamente presenti negli ultimi uriti; ma il progressivo inspessimento, indurimento e ampliamento della crosta interna formata dal sangue finisce, irrigidendo la struttura, col rendere definitive le suddette pieghe.

e) Uno strato formato dall'esuvia della larva di I età del parassita; tale spoglia essendo variamente accartocciata, fascia l'imbuto solo per un breve tratto alquanto distalmente al sopradetto strato cuticolare e comunque nel terzo basale di questa prima parte del sifone. L'esuvia, che al momento della muta tappezza le pareti ancora esilissime, in questo stadio e a questo livello, della cavità dell'imbuto in via di formazione e si trova quindi all'interno, finisce in seguito col divenire praticamente esterna per l'estendersi, all'interno dell'imbuto, dello strato derivato dal disseccamento dell'emolinfa. In questo tratto infatti lo spessore delle pareti aumenta soprattutto dall'interno per l'apposizione di croste di sangue. L'esuvia rimane tuttavia coperta da una esile lamina anista (vedi paragrafo *g*), cui sono accostati in scarso numero emociti, che rappresenta la sottilissima guaina involucente completamente il parassita al momento della muta dalla I alla II età.

f) Strato più o meno spesso e irregolare di emociti, particolarmente numerosi nel terzo distale dell'imbuto e addensati in fitti gruppi in special modo entro le profonde insenature dello strato fibroso; a monte dell'esuvia del planidio gli emociti sono invece scarsissimi o addirittura mancano.

g) Sottilissima membranella avvolgente quasi tutta questa prima parte dell'imbuto e costituita da materiale anisto cui è addossato un cordone più meno continuo di emociti. Con l'alcian-Pas assume un intensissimo colore rosso.

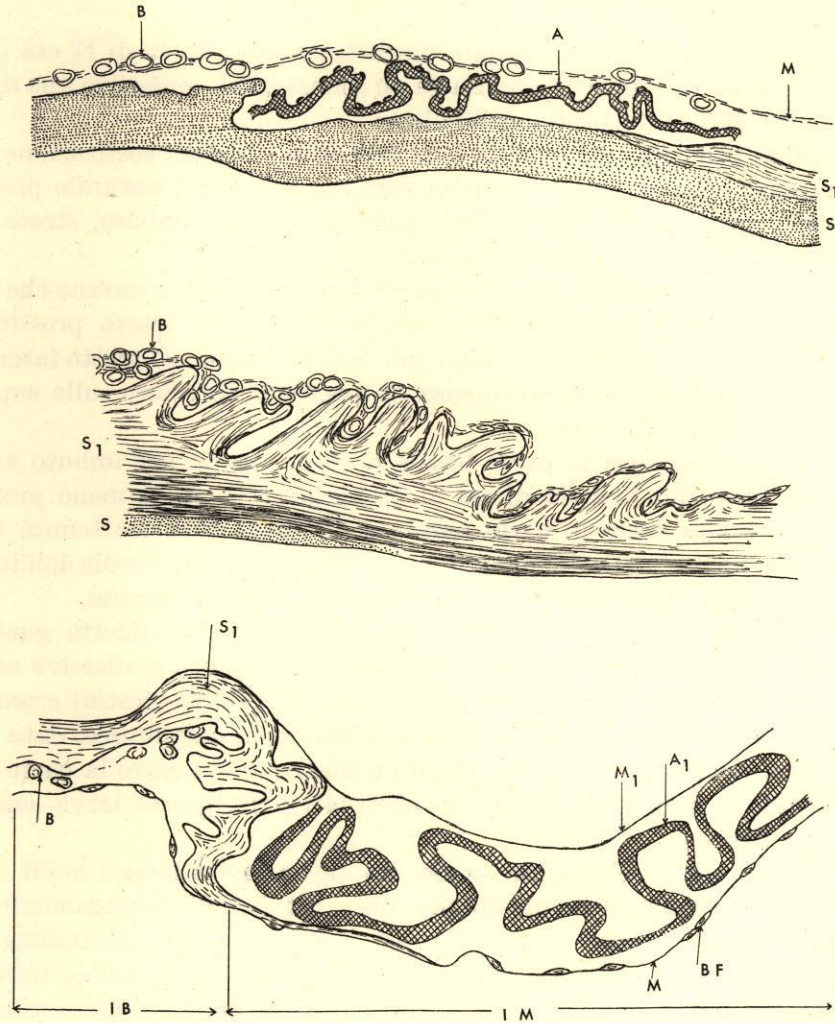


FIG. V.

Sezioni longitudinali di imbuto respiratorio di *S. callida* Meig. a vari livelli. — In alto: sezione della parte basale in corrispondenza della esuvia di I età del parassita. Al centro: sezione della parte basale a livello delle anse formate dallo strato fibroso. In basso: sezione in corrispondenza della zona di congiunzione fra parte basale e parte media: BF, emociti fusiformi (le altre lettere come nella figura precedente).

II) PARTE MEDIA. — Comprende i seguenti strati.

a) Una pellicola interna costituita da materiale non cellulare e da emociti; essa si continua con lo strato brunastro della parte basale dell'imbuto, in corrispondenza dell'estremità distale svasata di detta porzione. A livello

della parte media dell'imbuto il sangue che vi è penetrato e che resta compreso fra le sue pareti e il corpo del parassita, rimane liquido, cioè non forma, mancando l'aria, una sorta di crosta indifferenziata come succede nella parte basale e pertanto gli emociti organizzano quivi una membrana simile a quella che si forma sulla parete esterna dell'imbuto bagnata dall'emolinfa che riempie il lacunoma.

b) L'ampia esuvia variamente pieghettata della larva di II età del parassita; è questo lo strato di gran lunga più robusto, che conferisce una discreta consistenza alla parte media dell'imbuto.

c) Una pellicola esterna assai esile del tutto simile per costituzione ed origine a quella interna sopra descritta; essa rappresenta il naturale prolungamento del grosso strato fibroso della parte basale dell'imbuto, strato che a questo livello si assottiglia bruscamente.

Nei preparati colorati con l'Alcian-PAS sia la pellicola esterna che quella interna acquistano una marcata colorazione rossa nel tratto prossimale e celeste in quello distale che è assai più esile, mentre nel tratto intermedio la colorazione è mista con prevalenza di quest'ultimo colore sulla superficie libera di ciascuna pellicola.

La congiunzione fra la parte basale e quella media dell'imbuto avviene nel seguente modo: l'esuvia di cui al paragrafo b) è più o meno profondamente invaginata entro la parte basale dell'imbuto ed è trattenuta in sito dalle due anzidette pellicole che, prolungandosi dalla parte basale dell'imbuto, la rivestono sia sulla superficie interna che su quella esterna.

III) PARTE DISTALE. — È quella che costituisce la cosiddetta guaina. A differenza delle parti precedentemente esaminate, questa si dissolve completamente in soluzione satura di KOH a caldo. Nei tubi respiratori oramai abbandonati dalla larva parassita vicina alla maturità, essa finisce, data la sua flaccidezza, con l'essere sospinta, piegata e accartocciata entro la parte media dell'imbuto, in seguito ai movimenti effettuati dalla grossa larva endofaga entro la vittima.

Le pareti sono decisamente spesse ma anche molto lasse e molli. Esternamente si nota una sottile membrana che costituisce il prolungamento della membrana che riveste la parte media dell'imbuto, ed internamente un grosso strato irregolare e variamente lacunoso di materiale anisto frammisto a numerosi emociti. Notiamo anzi che in questa parte e all'estremità distale di quella basale dell'imbuto, cioè laddove mancano strutture rigide ed esuvie, gli elementi cellulari sono molto numerosi, a differenza di quanto si verifica nella parte media e nei due terzi prossimali di quella basale.

RIASSUNTO E CONCLUSIONI

1. — L'imbuto respiratorio tegumentale primario indotto da *Steiniella callida* Meig. nelle larve di *Melasoma populi* L. si origina fundamentalmente come una capsula formata da emociti, confluenti in corrispondenza della ferita aperta dal parassita per penetrare nell'ospite. Tale capsula differisce da quelle che si formano attorno ai parassiti vaganti liberamente

nel lacunoma, portandoli a morte per soffocamento, soprattutto per il fatto di essere in comunicazione con l'esterno tramite il foro di penetrazione.

2. — In relazione a tale particolarità ed al concomitante fatto che il parassita così « incapsulato », avendo libero accesso all'aria, si sviluppa normalmente, la parte basale della capsula emocitaria si ispessisce e si complica per l'apposizione di nuovi materiali, ed è appunto questa porzione più complessa della capsula che gli Autori denominano imbuto respiratorio.

3. — I nuovi materiali si aggiungono partendo dalla base della capsula, cioè dalla regione prossima al foro nel tegumento dell'ospite, e procedendo in direzione della parte distale; essi sono costituiti, all'interno della « cisti », da croste bruno-nerastre di sangue riseccato nonché dalle esuvie di I e II età della larva parassita, e all'esterno da strati fibrosi PAS positivi formati a spese degli emociti dell'ospite.

4. — Nella parte basale dell'imbuto i caratteri di rigidità e di pigmentazione non sono conferiti da cuticola sclerificata, cioè da sclerotina dell'ospite, come ritiene la maggioranza degli Autori, bensì, semplicemente, da croste di sangue. L'emolinfa dell'ospite filtra infatti entro la capsula, attraverso le pareti sottilissime della porzione medio-distale, costituendo l'unico alimento del parassita durante la I e la II età; man mano questo, sviluppandosi, si allontana dal foro di penetrazione, il sangue che defluisce posteriormente nella cavità libera della capsula, in presenza dell'aria, si dissecca e si imbrunisce.

5. — Contrariamente all'opinione della generalità degli Autori, il tegumento dell'ospite concorre a formare l'imbuto solo in minima parte; i processi di cicatrizzazione tegumentale, a livello della ferita aperta dal parassita per penetrare, portano soltanto alla formazione di una strettissima, quasi trascurabile, fascia basale non più alta del diametro del foro di penetrazione; tale sorta di anello appare alquanto pigmentato se il foro si apre in una placca pigmentata del tegumento dell'ospite, incolore invece se il foro è stato praticato in una regione membranacea.

6. — Dopo la II muta il parassita lacera il fondo della capsula, che è esilissimo per la continua pressione esercitata sulle sue pareti dall'endofago stesso, e viene così a sporgere con l'avancorpo nel lacunoma. In questo stadio, con l'apposizione della seconda esuvia, l'imbuto propriamente detto si amplia di acchito notevolmente.

7. — La cosiddetta guaina degli Autori, sottile e trasparente, non è altro che quella parte di capsula che non viene interessata dai suddetti processi di irrobustimento e pigmentazione.

8. — Nell'imbuto al termine dello sviluppo si possono riconoscere tre regioni abbastanza chiaramente distinte: a) una parte basale, rigida e nerastra, costituita fundamentalmente da uno strato interno amorfo di emolinfa dissecata e da uno strato esterno fibroso formato a spese degli emociti; b) una parte media, di aspetto e consistenza pergamenacea, formata dall'esuvia variamente pieghettata della larva di II età del parassita, compresa fra due sottili lamine di origine emocitaria; c) una parte distale, molle e debole, derivata dagli emociti. Le prime due parti costituiscono l'imbuto propriamente detto, l'ultima rappresenta la guaina.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. — The primary respiratory funnel induced into the larvae of *Melasoma populi* L. by *Steiniella callida* Meig. originates essentially as a capsule composed of haemocytes flowing together in correspondence with the wound inflicted by the parasite for penetrating into the host. Such capsule differs from those which form around the parasites wandering freely into the haemocoel bringing them to death by suffocation, chiefly by the fact that it is in communication with the outside through the hole made by piercing.

2. — In relation to the before mentioned peculiarity and the concurrent fact that the parasite so « incapsulated », being able to reach freely the open air, develops normally, the basal part of the haemocytic capsule thickens and grows complicated by apposition of new materials; and is exactly this more complicated part of the capsule which the Authors call respiratory funnel.

3. — The new materials are added beginning from the basal part of the capsule, that is, from the region near the hole in the integument of the host, and proceeding toward the distal part; in the interior of the « cyst » they are composed of dark-blackish crusts of dried blood and also of the exuviae of the 1st and 2nd larval instar of the parasite and outside consist of PAS-positive fibrous layers formed at the expense of the host haemocytes.

4. — In the basal part of the funnel the characteristics of being rigid and pigmented are not given by a sclerified cuticle, that is by « sclerotin » of the host, as most of the Authors thinks, but simply by blood crusts. The host haemolymph, in fact, passes into the capsule through the very thin walls of the middle-distal part, forming the only food of the parasite during the 1st and 2nd stage; as the latter developing goes away from the penetration hole, blood which flows posteriorly into the free cavity of the capsule, in the presence of air becomes dry and brown.

5. — In opposition to the opinion of the greatest part of the Authors the host integument contributes to the funnel formation only in least; the processes of tegumentary cicatrizing on a level with the wound inflicted by the parasite for penetrating into the host, bring about only the formation of a very narrow, almost negligible, basal band no higher than the diameter of the penetration hole; such kind of ring appears somewhat pigmented, when the hole is bored in a pigmented plate of the host integument; colourless, instead, when the hole is cut in a membranaceous region.

6. — After the second moult, the parasite tears up the bottom of the capsule, which is very thin owing to the continuous pressure exerted on its walls by the growing parasite itself, so that the fore part of its body ends by protruding into the haemocoel. In this stage, with the apposition of the second exuviae the funnel, properly called, becomes at once noticeable larger.

7. — The so-called sheath of the Authors, which is thin and transparent, is merely that portion of the capsule, which is not involved in the before mentioned processes of strengthening and pigmentation.

8) At the end of development it is possible to distinguish in the funnel three distinct regions: a) a rigid blackish basal part composed mainly of an inner amorphous layer of dried haemolymph and an outer fibrous layer formed at the expense of the haemocytes; b) a middle part of a parchment-like consistency formed of the variously plaited exuviae of the 2nd larval instar of the parasite enclosed among two thin plates of haemocytic origin; c) a soft weak distal part derived from haemocytes. The first two parts form the properly called funnel; the last is the sheath.

PUBBLICAZIONI CITATE

- CAMPBELL F. L. — *The detection and estimation of insect chitin; and the irrelation of « chitinization » to hardness and pigmentation of the cuticula of the american cockroach, Periplaneta americana L.* - Ann. Ent. Soc. America, vol. XXII, 1929, pp. 401-426, 1 fig.
- MELLINI E. — *Studi sui Ditteri Larvevoridi. IX. Steiniella callida Meig. su Melasoma populi L. (Coleoptera Chrysomelidae).* - Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna, vol. XXVI, 1962, pp. 131-159, 13 figg.
- — — *Studi sui Ditteri Larvevoridi. X. Influenze degli stadi postembrionali dell'ospite (Melasoma populi L.) sul ritmo di sviluppo del parassita (Steiniella callida Meig.).* - Ibidem, vol. XXVI, 1962, pp. 161-177, 5 figg.
- — — *L'imbuto respiratorio negli ospiti dei Ditteri Larvevoridi.* - Atti Acc. Naz. Ital. Entomologia, Rendiconti, Anno XII, 1964, pp. 47-62.
- SALT G. — *The defence reactions of insects to metazoan parasites.* - Parasitology, vol. 53, 1963, pp. 527-642, 26 figg.
- WIGGLESWORTH V. B. — *The haemocytes and connective tissue formation in an insect, Rhodnius prolixus (Hemiptera).* - Quart. Jour. Micr. Sci., vol. 97, 1956, pp. 89-98, 5 figg.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE.

TAV. I.

- In alto. A sinistra: sezione longitudinale di imbuto respiratorio di larva alla III età di *Steiniella callida* Meig., a livello della zona di transizione fra la parte basale e quella media per mettere in evidenza le modalità di collegamento fra le due parti. Si notino le vistose anse formate distalmente dallo strato fibroso. A destra: sezione longitudinale di imbuto di larva parassita alla II età; sullo strato fibroso sono addensati numerosi emociti.
- In basso. Sezioni longitudinali di imbuto respiratorio di larva di *S. callida* Meig. alla III età per mostrare la struttura dello strato fibroso. A destra sono chiaramente visibili gruppi di emociti accostati allo strato fibroso: A1, esuvia della larva di II età del parassita; B, emociti; IN, intercapedine tra imbuto e corpo del parassita; L, larva parassita; M, guaina emocitaria esterna; M1, membrana emocitaria interna; N, anse formate dallo strato fibroso; S, strato di emolinfa dissecata; S1, strato fibroso.

TAV. II.

- In alto. Sezione longitudinale di imbuto respiratorio indotto da *S. callida* Meig. in larva alla III età di *Melasma populi* L. All'interno dell'imbuto si notano distalmente la parte posteriore della larva parassita alla II età ed all'esterno vari organi dell'ospite.
- In basso. A sinistra: sezione longitudinale di parte basale di imbuto respiratorio di larva alla III età di *S. callida* Meig. A destra: sezione longitudinale di imbuto di larva parassita alla II età, a livello dell'esuvia del planidio: A, esuvia del planidio; C, cuticola dell'ospite; F, foro esterno dell'imbuto; I, cavità dell'imbuto; P, placchette sclerificate nell'esuvia del planidio (le altre lettere come nella tav. I).

