

EGIDIO MELLINI

Aiuto nell'Istituto di Entomologia
dell'Università di Bologna

CARLO CALLEGARINI

Assistente nell'Istituto di Anatomia comparata
dell'Università di Ferrara

Analisi elettroforetica delle emoproteine delle larve di *Chrysomela herbacea* Duft. (Col. Chrysomelidae) parassitizzate da *Meigenia mutabilis* Fall. (1).

GENERALITÀ.

In un precedente lavoro (Mellini e Callegarini, 1967), valendoci delle tecniche elettroforetiche, abbiamo iniziato lo studio della proteinemia di Insetti parassitizzati da altri Esapodi, utilizzando la nota coppia ospite-parassita *Anagasta kuehniella* Zell. - *Devorgilla canescens* (Grav.). Nel contempo avevamo passato in rassegna i dati reperibili in letteratura sulle alterazioni apportate dai parassiti alla componente plasmatica dell'emolinfa degli Insetti ospiti, rilevando che, mentre per quanto riguarda l'azione dei microrganismi patogeni qualcosa era stato fatto, per quanto concerne invece l'azione esercitata da parassiti Metazoi, esclusa una brevissima nota preventiva (Barlow, 1962), nulla era stato pubblicato.

Dopo la pubblicazione dei risultati delle nostre ricerche sono comparse su questo interessante argomento circa una decina di nuove memorie, tutte però riguardanti l'azione dei microrganismi patogeni. Riteniamo tuttavia utile, per mantenere aggiornati i dati, di citare i risultati conseguiti coi vari lavori. Oltre una metà riguardano però le alterazioni apportate da tali agenti agli emociti. Essi non ci interessano in questo momento; ricordiamo tuttavia per la sua importanza generale il lavoro di Lappa (1967), nel quale si pone in evidenza il valore dei dati relativi alla patologia degli emociti per formulare prognosi sul pullulamento di Insetti nocivi e di conseguenza per conoscere se sia, o no, necessario intervenire con mezzi artificiali di lotta. Per quanto riguarda la componente plasmatica del sangue Ormerod (1967) trova che il Rincoto Reduviide *Rhodnius prolixus* Stål infettato da *Tripanosoma rangeli* presenta, in linea generale, un aumento nella concentrazione dei vari aminoacidi. Sull'azione dei Virus Van der Geest e Graig (1967) rilevano che nelle larve del Lepidottero Nottuide *Peridroma saucia* (Hbn.) affette da poliedrosi nucleari, si verifica una diminuzione del contenuto totale di solidi nell'emolinfa, in parte causata da un abbassamento nella concentrazione

(1) Studi sui Ditteri Larvevoridi. XVIII contributo.

delle proteine. Similmente Watanabe (1967), nelle larve del Lepidottero Arctiide *Hyphantria cunea* Drury colpite da poliedrosi nucleare, nota una progressiva riduzione nel numero e nella concentrazione delle varie frazioni proteiche del sangue, fino a una quasi totale sparizione nelle larve fortemente infette. Sull'azione dei Batteri Bennett, Shotwell e Hall (1968), valendosi oltre che della elettroforesi di altre tecniche, dimostrano che nelle larve del Coleottero Scarabeide *Popillia japonica* (Newman) durante il corso della malattia causata da *Bacillus popilliae* la proteinemia subisce sensibili variazioni con la scomparsa di una frazione proteica e l'apparizione di una nuova frazione, nonché con variazioni quantitative per le frazioni elettroforeticamente più mobili e più abbondanti.

Nulla di nuovo è stato dunque fatto in riguardo a eventuali alterazioni apportate alla proteinemia degli Insetti ospiti da parte degli Insetti parassiti. Era perciò opportuno riprendere l'argomento; tanto più che, mentre col precedente lavoro era stata indagata l'azione di un parassitoide appartenente all'ordine degli Imenotteri, col presente viene studiata l'azione di un parassitoide facente parte dell'ordine dei Ditteri, e le differenze biologiche tra gli entomofagi dell'uno e dell'altro ordine sono numerose e ben nette. D'altro canto, infine, la presente indagine rientra nel piano generale di ricerche che da vari anni uno di noi (Mellini) ha intrapreso sul parassitismo dei Ditteri Larvevoridi.

MATERIALE E METODO.

Le ricerche sono state compiute sulla coppia ospite-parassita *Chrysomela herbacea* Duft. - *Meigenia mutabilis* Fall.

C. herbacea Duft. ⁽¹⁾ è un Coleottero Crisomelide che si evolve, come fillofago, su varie specie di *Mentha*, nonché su altre Labiate. A quanto ci risulta esso compie nel Bolognese una sola generazione all'anno e sverna come larva matura affondata nel terreno sotto le piante ospiti. Gli adulti sfarfallano in primavera, si nutrono abbondantemente da maggio in poi ma cominciano a riprodursi soltanto nella seconda metà dell'estate. Le prime larve compaiono infatti sulle piante nutrici verso la fine di agosto mentre le ultime scompaiono entro la prima metà di novembre ⁽²⁾.

M. mutabilis Fall. è un Dittero Larvevoride assai noto quale parassita polifago di larve di Crisomelidi. Le femmine depongono uova macrotipiche sul corpo dell'ospite; le larve inducono la formazione di imbuti secondari di tipo tegumentale e portano a morte l'ospite allorchè si trovano in fasi avanzate della III ed ultima età. Impupano entro i resti della vittima ridotta

⁽¹⁾ Determinato dal Prof. G. Fiori cui vanno i nostri più vivi ringraziamenti.

⁽²⁾ Per notizie di qualche dettaglio sul ciclo biologico di questo Coleottero vedasi la nota di Milanaccio, 1959 (*C. menthastri* Suffr. = *C. herbacea* Duft.).

pressochè al solo esoscheletro. Nella provincia di Bologna si svolgono varie generazioni all'anno (a spese di specie diverse) trovandosi adulti in attività da maggio fino a novembre (Mellini, 1954).

Il materiale utilizzato nelle presenti ricerche è stato raccolto in varie riprese su Mentastro durante il mese di ottobre lungo gli argini del Fiume Reno nei pressi di Boschi di Baricella nella campagna bolognese. Sono state prelevate larve dell'ultima età della nostra *Chrysomela* in fase trofica, sia sopportanti sullo scuro tegumento le candide uova della *Meigenia* (fig. 1), sia indenni. Le larve erano poi allevate in laboratorio in appositi contenitori, col fondo ricoperto da uno spesso strato di sabbia, ove, raggiunta in breve la maturità, le larve, parassitizzate o no, affondavano per trascorrere la diapausa invernale. Mentre l'ospite mostra effettivamente una vera diapausa e in nessun caso si impupa fino alla primavera successiva, il parassita invece, in laboratorio a temperatura ambientale, prosegue in moltissimi casi ⁽¹⁾ lo sviluppo fino a raggiungere lo stato adulto.



FIG. I.

Chrysomela herbacea Duft. Larva matura vista di lato. Sui primi quattro uriti sono ben evidenti 7 uova macrotipiche del parassitoide *Meigenia mutabilis* Fall.; le uova bianche sono quelle che ancora non sono dischiuse. Nel metanoto si scorge il foro esterno di un imbuto respiratorio.

Per l'analisi elettroforetica delle proteine dell'emolinfa venivano impiegate larve mature di *Chrysomela* affondate nella sabbia da 3-4 giorni. Per il prelievo del sangue, queste tozze larve venivano fissate supine su un piano di paraffina mediante due microspilli: uno all'altezza del collo, l'altro in corrispondenza degli ultimi uriti, mentre l'emolinfa veniva aspirata con una micropipetta a livello di una zampa mesotoracica, appositamente amputata verso la sua base. Il sangue fuoriesce copiosamente e con rapidità dalla ferita,

⁽¹⁾ Soltanto nelle larve di *Chrysomela* raccolte verso la fine di ottobre (cioè nell'ultimo periodo di attività del Crisomelide) la larvetta di *Meigenia* si è arrestata nella I età, quiescente entro una sorta di capsula costituita dalla parte membranacea dell'imbuto respiratorio abnormemente estesa ad avvolgere completamente il parassita ibernante.

date anche le condizioni di tensione in cui si trova la larva così immobilizzata, e non di rado la goccia rapidamente ingrossantesi può confluire con il rigurgito stomodeale spesso molto abbondante, ovvero con l'emolinfa fuoriuscente in corrispondenza dello spillo anteriore di fissaggio. Generalmente in questi casi il campione veniva scartato e una nuova larva sottoposta all'operazione. Ma poichè le larve sono assai pronte a rigurgitare appena disturbate e si imbrattano, e dato che pure ripulendole con carta bibula non si può escludere ogni possibilità di un successivo inquinamento dell'emolinfa, si è pensato, per cogliere eventuali effetti di tale inquinamento sugli elettroferogrammi, di sottoporre ad elettroforesi anche campioni di sangue mescolato di proposito ad abbondante rigurgito.

Comunque l'emolinfa delle larve mature di *Chrysomela* è assai abbondante per i nostri scopi e praticamente, nei casi di individui indenni da parassiti, non ne veniva impiegata per l'elettroforesi più di una terza parte. In tal modo i campioni prelevati da individui sani erano quantitativamente pressochè uguali a quelli presi da larve con parassiti in fase avanzata di sviluppo, nelle quali il liquido emocelico è più o meno scarso.

Dopo il prelievo del sangue, in un secondo tempo, le larve venivano dissezionate sotto il microscopio stereoscopico al fine di stabilire lo stadio di sviluppo raggiunto dal parassita, nonchè le condizioni dei visceri dell'ospite. Oltre le larve latrici dei vistosi corion di *Meigenia* erano esaminate anche quelle che ne erano prive, e quindi apparentemente indenni da parassiti, potendo il nostro crisomelide essere stato contaminato dalla *Meigenia* prima di avere raggiunto l'ultima età, ovvero essere stato parassitizzato, tanto nell'ultima quanto in età precedenti, da altri Larvevoridi con altre modalità di contaminazione di cui non restano sul corpo della vittima tracce evidenti. Ed infatti abbastanza frequentemente larve in apparenza indenni risultavano in effetti parassitizzate da *Meigenia* ovvero da *Macquartia tenebricosa* Meig., specie ovovivipara deponente sull'ospite uova membranacee, che subito schiudono lasciando gli esilissimi ed incolori corion accartocciati e ben difficilmente percettibili.

Nei protocolli, oltre ai dati relativi alla parassitizzazione, venivano annotati, per ogni campione di emolinfa, dati sulle modalità di prelievo: quantità, eventuali inquinamenti da rigurgito stomodeale, ovvero mescolamenti con sangue sgorgante in corrispondenza degli spilli per il fissaggio del sacrificio (tali spilli quasi sempre perforano stomodeo e proctodeo); dati sulle caratteristiche dell'emolinfa (colore e densità); dati sul contenuto del canale alimentare ed infine indicazioni sullo stato dei vari sistemi organici dell'ospite. Specialmente le notizie relative alle modalità di prelievo del sangue sono in seguito risultate preziose per interpretare certe differenze negli elettroferogrammi altrimenti inspiegabili.

La tecnica di preparazione delle piastre elettroforetiche è la stessa già illustrata nel nostro precedente lavoro (Mellini e Callegarini, 1967). Parimenti l'elettroforesi è stata eseguita su gel d'amido in un sistema di

tamponi discontinuo TRIS-Borato secondo il già indicato metodo di Poulik leggermente modificato; anche le condizioni sono le stesse e precisamente: pH delle soluzioni tampone e dei gels pari a 9,4, mA 0,75/cm, V 7,7/cm, durata della corsa 105 minuti, installazione dell'apparecchio entro apposita cassa refrigerata a + 6 °C. Pure nelle presenti ricerche si è fatto uso di soluzione satura di feniltiourea che in questo caso, oltre ad impedire l'azione ossidante della tirosinasi ⁽¹⁾, è servita anche a diluire l'emolinfa (che è assai più densa di quella di *Anagasta kuehniella* Zell. e, a quanto pare, più viscosa negli individui parassitizzati che in quelli sani) e a ottenere di conseguenza un più confacente inserimento del campione di sangue nella piastra d'amido. Per la colorazione si è ricorsi, al solito, ad una soluzione di Amido-Schwarz in metanolo e acido acetico.

Il presente studio è stato condotto su 130 larve di cui oltre la metà parassitizzate.

RISULTATI.

Nell'emolinfa delle larve mature di *Chrysomela herbacea* Duft. esenti da parassitoidi vengono separate, nelle condizioni in cui si è svolta l'elettroforesi, 8 frazioni proteiche di cui 6 migranti in direzione dell'anodo e 2 in direzione del catodo. Le bande che giacciono dalla parte del catodo sono ampie ma solo leggermente colorate; quelle presenti dalla parte dell'anodo sono in genere più marcate e nettamente divisibili in due gruppi: il primo, più vicino alla linea di partenza e comprendente le bande I, II e III, è più intensamente colorato e in esso spicca sempre, per ampiezza e forte colorazione, la banda III che evidentemente corrisponde alla frazione proteica di gran lunga più abbondante; il secondo gruppo include le bande IV, V e VI piuttosto deboli e non sempre tutte ugualmente individuabili. Non essendo le gonadi di queste larve facilmente e chiaramente identificabili, nemmeno mediante dissezione al binoculare stereoscopico, non si è potuto tenere conto del sesso nella caratterizzazione dei vari campioni di sangue e di conseguenza nemmeno stabilire se le lievi differenze riscontrate tra gli elettroferogrammi delle larve sane siano legate al sesso.

Ma veniamo al confronto tra gli elettroferogrammi dell'emolinfa di larve parassitizzate rispetto a quelli di larve indenni. Finchè la larva del dittero entomofago (sia esso *Meigenia*, come nella generalità dei casi, o *Macquartia*, meno comunemente) si trova nella prima e nella seconda età, non si notano differenze tra gli elettroferogrammi di larve parassitizzate e quelli di larve sane (vedansi ad esempio nella tavola gli individui n. 3, 4, 7, 10, 12 della piastra A). Solo eccezionalmente quando l'entomofago è vicino alla fine della

⁽¹⁾ Senza l'uso di feniltiourea, infatti, i campioni di emolinfa appaiono già notevolmente imbruniti dopo 5 minuti soltanto dal prelievo.

II età, l'emolinfa dell'ospite può cominciare a denunciare lievi differenze consistenti nell'affievolimento delle già deboli bande IV, nonché delle due leggere bande giacenti dalla parte del catodo.

Quando la larva parassita è oramai entrata nella terza e ultima età gli elettroferogrammi dell'emolinfa dell'ospite appaiono, col procedere dello sviluppo dell'endofago, sempre più alterati: tutte le bande, ad esclusione della III e della VI, che tuttavia appaiono notevolmente sbiadite, si affievoliscono e finiscono con lo sparire (Tav. I: A, 1, 2), mentre compare, per quanto non sempre molto intensa, una banda nuova oltre la VI in direzione dell'anodo (Tav. I: A, 5, 6).

Questa è la situazione che si riscontra finché l'ospite è vivo. Quando lo ospite, con larva del parassita non lontana dalla maturità è oramai morto, il liquido denso e ricco di frammenti di organi e di tessuti che si trova nel suo lacunoma non mostra più nella piastra elettroforetica nessuna banda ad esclusione di quella nuova oltre la sesta, d'altronde appena accennata (Tav. I: B, 3; D, 5).

In conclusione dunque, soltanto quando la larva parassita è entrata nella terza ed ultima età gli elettroferogrammi dell'emolinfa della larva ospite cominciano ad apparire alterati. Scompaiono progressivamente le varie bande, mentre ne compare una nuova con proteine aventi maggiore mobilità elettroforetica; la banda nuova è anzi l'unica a permanere per qualche tempo dopo la morte dell'ospite, quando la larva parassita oramai matura è pronta per impuparsi.

DISCUSSIONE.

Come possono essere interpretati i dati su esposti?

Le larve dei Larvevoridi, almeno nella grande generalità, passano attraverso tre fasi trofiche, schematicamente così distinte: 1) una fase plasmofaga, durante la quale esse si nutrono esclusivamente di emolinfa; tale fase si esplica durante tutta la I età nonché per un periodo più o meno lungo della II età. 2) Una fase cosiddetta steatofaga nel cui corso il parassita attacca il corpo adiposo; tale fase prende inizio in periodi più o meno avanzati della II età e si prolunga per gran parte della III età. 3) Una fase indicata dagli Autori come sarcofaga durante la quale la larva si nutre indiscriminatamente di tutti i visceri dell'ospite, i quali in breve entrano in disfacimento formando una sorta di denso liquame misto a minuti brandelli di organi e tessuti; essa ha inizio, di solito, dopo qualche tempo che la larva ha raggiunto la terza ed ultima età. Per certe specie di Larvevoridi questa 3^a fase può mancare, e allora l'ospite può sopravvivere più o meno a lungo all'esodo del suo parassitoide (cfr. Mellini, 1962).

Durante la I età e gran parte della seconda la larva di *Meigenia* si nutre dunque di sangue. Orbene l'analisi elettroforetica dell'emolinfa dell'ospite

mostra che in questo periodo, per quanto riguarda il contenuto proteico, non si manifestano variazioni qualitative né di concentrazione ⁽¹⁾. Poiché le proteine presenti nel sangue degli Insetti vengono sintetizzate (secondo vari Autori) dal corpo adiposo, pare lecito dedurre che è a spese di questo che viene mantenuto il livello proteico dell'emolinfa durante i primi periodi dell'attività parassitaria, come del resto si era già supposto in riguardo ad *Anagasta kuehniella* Zell. parassitizzata da *Devorgilla canescens* (Grav.) (Mellini e Callegarini, 1967). Ciò sembra poi confermato dall'osservazione diretta al microscopio binoculare, giacché alla dissezione il corpo adiposo delle *Chrysomela* con parassiti verso la fine della II età larvale appare, anche laddove non è stato direttamente intaccato, visibilmente impoverito con lobi assai meno turgidi di quelli degli individui indenni.

Nell'ultimo periodo della II età la larva di *Meigenia* comincia a divorare direttamente il corpo adiposo, com'è dimostrato dalla progressiva sparizione dei relativi lobi nella regione del corpo dell'ospite prospiciente agli uncini boccali del parassita, che è fissato con gli ultimi uriti al tegumento della vittima mediante l'imbuto respiratorio. Orbene anche con l'instaurarsi della fase steatofaga, di solito, almeno nei primi tempi l'emolinfa dell'ospite non denuncia segni di alterazione.

Durante le prime fasi della III età la larva di *Meigenia* continua a nutrirsi di tessuto adiposo, ma poi, gradualmente, i muscoli e i visceri ⁽²⁾ dell'ospite perdono la loro consistenza, disgregandosi in una sorta di magma che la larva parassita finisce col divorare quasi integralmente, mentre l'ospite nel frattempo soccombe. In questo lasso di tempo tutte le bande degli elettroferogrammi gradualmente si affievoliscono e scompaiono. Dapprima spariscono le bande più leggere poi le più scure [l'ultima infatti a dileguarsi è la terza banda (Tav. I: A, 6; D, 12), quella predominante]. Ciò significa che il progressivo impoverimento del contenuto proteico è fondamentalmente quantitativo e non qualitativo, vale a dire non avviene a spese dell'una o dell'altra frazione ma a carico di tutte contemporaneamente. In tal modo nel denso liquame in cui i visceri della vittima si sono spappolati, il primitivo contenuto proteico dell'emolinfa scende a zero, mentre compare una proteina nuova più mobile verso l'anodo (Tav. I: A, 5; B, 3; D, 2).

Il disfacimento degli organi interni della vittima viene dagli Autori (vedasi sull'argomento la sintesi fatta da Herting, 1960, nel suo manuale) attribuito ad una azione enzimatica operata dalla larva parassita; questa insomma in fasi avanzate di sviluppo opererebbe una vera e propria dige-

(1) Non sono state effettuate apposite misurazioni sul volume totale del sangue degli individui sani e di quelli parassitizzati da larve di I e di II età; ma almeno in base alle nostre esperienze di prelievo non sono emerse differenze apprezzabili.

(2) Soltanto l'apparato tracheale e il canale alimentare non vengono disgregati. Quest'ultimo, per quanto striminzito, svuotato del suo contenuto liquido e schiacciato contro le pareti del corpo conserva la sua individualità.

stione extraintestinale. Ora questa posizione, in base ai risultati delle nostre ricerche, merita di essere riveduta. Poichè, come si è detto, è facile che i campioni di sangue restino in qualche misura contaminati dal rigurgito stomodeale dell'ospite, si è indagato in quale misura tale vomito influisca sui risultati dell'elettroforesi dell'emolinfa. Orbene il sangue di larve mature di *Chrysomela*, indenni da parassiti, se mescolato a modeste quantità di liquido vomitato dagli stessi individui, mostra quadri elettroforetici identici (sia in riguardo alla scomparsa di varie bande che alla apparizione della banda nuova verso l'anodo) a quelli di larve consimili parassitizzate da larve di *Meigenia* nelle prime fasi della III età (Tav. I: D, 13). Parimenti campioni di sangue da larve con parassiti alla II età (Tav. I: C, 13) o da larve indenni (Tav. I: D, 7), prelevati in corrispondenza dello spillo anteriore di fissaggio dell'ospite al supporto, e quindi contenenti una certa quantità di liquido stomodeale, presentano elettroferogrammi pressochè uguali a quelli di larve con parassiti alla III età. Questi fatti, congiuntamente alla considerazione che le larve di alcune specie di Larvevoridi certamente non emettono enzimi nel lacunoma dell'ospite, dal momento che questo sopravvive al loro esodo, ci portano a concludere che nella distruzione enzimatica degli organi della vittima ha sicuramente molta importanza, se non esclusiva, la vittima stessa; questa cioè finisce per autodigerirsi in seguito alla fuoriuscita dei succhi contenuti nel suo stesso canale alimentare, causa le alterazioni apportate nelle sue pareti dalla larva parassita durante la sua attività nel III stadio. Tale azione enzimatica, poi, viene certamente favorita dall'azione meccanica esercitata dalla larva parassita coi suoi movimenti e con gli uncini buccali.

In questo modo verrebbe superato il dualismo nel comportamento dei Larvevoridi tra le specie le cui larve non presentano digestione extraintestinale, e che quindi non uccidono necessariamente l'ospite, e le specie con larve che invece rigurgitano enzimi e portano perciò ineluttabilmente la vittima a morte. I Larvevoridi non emetterebbero enzimi in nessun caso. La lisi dei visceri dell'ospite risulterebbe così un fenomeno del tutto automatico: se il canale alimentare viene in qualche modo leso, l'ospite finisce con l'autodigerirsi, se invece detto canale non subisce alterazioni l'ospite conserva i suoi organi integri e il parassita non passa dalla fase steatofaga a quella sarcofaga.

RIASSUNTO

Utilizzando le tecniche elettroforetiche su gel di amido, è stata studiata comparativamente la proteinemia di larve mature di *Chrysomela herbacea* Duft. indenni da parassiti e quella di larve mature parassitizzate da larve di *Meigenia mutabilis* Fall. in varie fasi di sviluppo.

Finchè la larva parassita si trova nella I e nella II età non compaiono differenze tra gli elettroferogrammi dell'emolinfa di larve parassitizzate e quelli di larve sane. Soltanto quando l'entomofago è ormai passato alla III ed ultima età larvale i quadri elettroforetici appaiono

alterati: le varie frazioni proteiche dell'emolinfa della vittima gradualmente e contemporaneamente si rarefanno e quindi scompaiono, mentre compare una frazione nuova più mobile in direzione dell'anodo.

I dati forniti dalla elettroforesi vengono poi discussi in relazione all'attività trofica svolta dalla larva parassita. L'abbassamento del livello proteico nel liquido emocelico dell'ospite ha inizio quando il parassita, abbandonate le diete ematofaga e steatofaga, che caratterizzano la sua I e II età larvale, passa, durante la III età, alla cosiddetta fase sarcofaga, accompagnata dallo spappolamento della maggior parte dei visceri della vittima in un liquido più o meno denso misto a detriti di organi e tessuti. La distruzione enzimatica dei visceri dell'ospite, la quale secondo gli Autori viene causata dal parassita, che opererebbe una sorta di digestione extraintestinale, pare invece determinata, o per lo meno grandemente favorita, dai succhi digestivi della stessa vittima fuoriusciti dal suo canale alimentare leso dalla larva parassita durante la III età.

Alla conclusione che sostanzialmente sia la vittima che si autodigerisce, si è pervenuti constatando la identità tra gli elettroferogrammi del liquido emocelico di individui parassitizzati da larve di III età e quelli di individui sani il cui sangue sia stato mescolato al loro stesso rigurgito stomodeale, nonchè in base ad altre considerazioni.

Researches on Diptera Larvaevoridae. XVIII. An electrophoretic analysis of the haemoproteins of the larvae of *Chrysomela herbacea* Duft. (Col. Chrysomelidae) parasitized by *Meigenia mutabilis* Fall.

SUMMARY

A comparative study of the proteinaemia of full-grown larvae of *Chrysomela herbacea* Duft. not injured by parasites and that of full-grown larvae parasitized by larvae of *Meigenia mutabilis* Fall. in various developmental stages, has been carried out, employing the electrophoretic techniques on starch gel.

No difference is remarked between the electropherograms of the haemolymph of parasitized larvae and those of uninjured larvae as long as the parasitic larva is in the 1st and 2nd stages. The electrophoretic patterns become upset only when the parasite has already reached the 3rd and last larval stage: the various protein fractions of the victim haemolymph gradually and simultaneously rarefy, and then disappear, while a new fraction which moves more easily to the anode appears.

Then, the data furnished by the electrophoresis are discussed in connection with the feeding activity of the parasitic larva. The protein level in the haemocoelic fluid of the host begins to decrease when the parasite, having left the hematophagous and steatophagous diets which characterize its 1st and 2nd larval stages, passes during the 3rd stage to the so-called sarcophagous phase, accompanied with the disintegration of the most part of the victim internal organs in a more or less thick fluid mixed with fragments of organs and tissues. The enzymatic destruction of the internal organs of the host, which according to the Authors is caused by parasite (it would perform a kind of extraintestinal digestion), on the contrary, appears to be caused, or at least greatly aided, by the digestive juices of the victim itself, which have flowed out of its alimentary canal injured by the parasitic larva during the 3rd stage.

The conclusion that, substantially, it is the victim which digests itself, has been reached by remarking that the electropherograms of the haemocoelic fluid of individuals parasitized by larvae in the 3rd stage are exactly alike to the electropherograms of uninjured individuals, the blood of which has been mixed with their own stomodeal regurgitation, as well as on the ground of other considerations.

PUBBLICAZIONI CITATE

- BARLOW J. S., 1962. - An effect of parasitism on haemolymph electropherograms. - *J. Insect Path.*, 4: 274-275, 1 fig.
- BENNETT G. A., SHOTWELL O. L., HALL H. H., 1968. - Hemolymph proteins of healthy and diseased larvae of the japanese beetle, *Popillia japonica*. - *J. Inv. Path.*, 11: 112-118, 5 figg.
- HERTING B., 1960. - Biologie der westpaläarktischen Raupenfliegen. Dipt., Tachinidae. - *Monogr. angew. Ent.* 16: 188 pp., 12 figg.
- LAPPA N. V., 1967. - Use of histopathology indices of haemolymph for the prognosis of mass propagation of pests. - *Proc. Int. Coll. Ins. Path. Micr. Control*, Wageningen 1966, 264-265.
- MELLINI E., 1954. - Studi sui Ditteri Larvevoridi. II. *Meigenia mutabilis* Fall. su *Agelastica alni* L. (Coleoptera Chrysomelidae). - *Rivista di Parassitologia*, 15: 489-512, 9 figg.
- MELLINI E., 1962. - Studi sui Ditteri Larvevoridi. VIII. *Strobliomyia tibialis* R. D. su *Lithosia complana* L. (Lepidoptera Arctiidae) e generalità sulla sopravvivenza degli Insetti ospiti all'esodo dei parassitoidi. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 26: 103-129, 5 figg.
- MELLINI E., CALLEGARINI C., 1967. - Ricerche elettroforetiche sulle proteine dell'emolinfia di *Anagasta kuehniella* Zell. (Lep. Pyralidae) parassitizzate da *Devorgilla canescens* (Grav.) (Hym. Ichneumonidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 28: 241-252, 1 tav.
- MILANACCIO G. E., 1959. - Contributo alla conoscenza della *Chrysomela menthastri* Suffr. - *Annali Fac. Agr. Univ. Catt. S. Cuore*, Milano, 7: 235-242, 5 figg.
- ORMEROD W. E., 1967. - The effect of *Trypanosoma rangeli* on the concentration of amino acids in the hemolymph of *Rhodnius prolixus*. - *J. Inv. Path.*, 9: 247-255, 5 figg.
- VAN DER GEEST L. P. S., CRAIG R., 1967. - Biochemical changes in the larvae of the variegated cutworm, *Peridroma saucia*, after infection with nuclear polyhedrosis Virus. - *J. Inv. Path.*, 9: 43-54, 3 figg.
- WATANABE H., 1967. - Electrophoretic separation of the hemolymph proteins in the fall webworm, *Hyphantria cunea*, infected with a nuclear-polyhedrosis Virus. - *J. Inv. Path.*, 9: 570-571, 2 figg.

SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

Elettroferogrammi dell'emolinfa di 52 larve mature di *Chrysomela herbacea* Duft.

A. - Individui non parassitizzati: 8, 9, 11.

Individui parassitizzati da larve di *Meigenia mutabilis* Fall. in vari stadi di sviluppo ovvero di *Macquartia tenebricosa* Meig., laddove indicato: 1, parassitizzato da larva della III età agli inizi; 2, da larva di III età, circa a metà sviluppo; 3, da larva di II età, circa a metà sviluppo, nonchè da larva di I età; 4, da due planidi repleti (fine della I età) di *M. tenebricosa* Meig.; 5 e 6 da larva di III età nella seconda metà dello sviluppo (l'ospite è ancora vivo); 7, da larva di II età, circa a metà sviluppo, di *M. tenebricosa* Meig.; 10, da larva di II età nella seconda metà dello sviluppo; 12, come l'individuo n. 7; 8, linea di partenza.

B. - Individui non parassitizzati: 4*, 7, 8, 9, 10, 11.

Individui parassitizzati: 1, da larva di II età nelle fasi iniziali; 2, da larva di II età, circa a metà sviluppo, e da larva di I età, entrambe di *M. tenebricosa* Meig.; 3, da larva di III età quasi matura (l'ospite è morto); 5, da larva di II età in muta; 6, da larva di II età, circa a metà sviluppo; 12, da larva di II età, circa a metà sviluppo, di *M. tenebricosa* Meig.

* Campione di emolinfa scarso.

C. - Individui non parassitizzati: 5, 7, 8, 10, 11, 12, 14.

Individui parassitizzati: 1, da larva di II età nella seconda metà dello sviluppo, nonchè da larva di I età (campione di emolinfa assai scarso per difficoltà di prelievo); 2, da larva di II età, nelle fasi iniziali, di *M. tenebricosa* Meig., nonchè di I età di *Meigenia*; 3, da due larve di I età nella seconda metà dello sviluppo; 4, come l'individuo n. 2; 6, come gli individui n. 2 e n. 4; 9, da larva di I età circa a metà sviluppo; 13, da larva di II età, circa a metà sviluppo, di *M. tenebricosa* Meig. (il campione di emolinfa è stato prelevato in corrispondenza dello spillo che fissa anteriormente la larva di *Chrysomela* al supporto; lo spillo ha perforato il canale alimentare e pertanto il sangue è misto a succhi digestivi).

D. - Individui non parassitizzati: 1, 7*, 8, 9, 10, 11, 13**, 14.

Individui parassitizzati: 2, da larva di III età, nella seconda metà dello sviluppo (l'ospite è inerte ma vivo; se stimolato muove debolmente appendici boccali e zampe); 3, da larva di I età nella seconda metà dello sviluppo; 4, da larva di II età circa a metà sviluppo; 5, da larva di III età quasi matura (l'ospite è morto); 6, da larva di II età, nella prima metà dello sviluppo, di *M. tenebricosa* Meig.; 12, da larva di III età, nella prima metà dello sviluppo, di *M. tenebricosa* Meig.

* L'emolinfa di questo campione si è mescolata con quella fuoriuscente dallo spillo anteriore di fissaggio perforante lo stomodeo.

** L'emolinfa è stata mescolata a rigurgito stomodeale.

