

Possibilità di allevamento di Insetti entomofagi parassiti su diete artificiali (1).

(Ricerche eseguite col contributo del C.N.R.)

I. - INTRODUZIONE.

Nel passato trentennio, e soprattutto in questi ultimi anni, i fisiologi degli Insetti hanno mostrato un notevole interesse per i problemi nutrizionali di questi organismi; ciò in campo pratico ha condotto alla formulazione di alcune centinaia di diete artificiali di ogni tipo, chimicamente definite o meno (2), valide per l'accrescimento, lo sviluppo e la riproduzione di numerose specie aventi i regimi dietetici più svariati (3). Così l'uso delle diete artificiali va sempre più generalizzandosi e in vari casi tende a soppiantare, per i notevolissimi vantaggi che esso comporta, i metodi di allevamento tradizionale, sia per Insetti di laboratorio, assicurando loro con una base trofica costante per tutto l'anno una maggiore omogeneità, sia per Insetti da produrre in massa e distribuire a vari scopi in natura (ad es. tecnica del maschio sterile) o da cui estrarre ormoni e feromoni, o su cui moltiplicare agenti patogeni, per l'economicità della propagazione su simili diete.

Oggetto di indagine sotto questo profilo sono stati anche, per quanto in misura comparativamente assai limitata, gli Insetti entomofagi. Pure per questi Esapodi lo scopo delle ricerche è ad un tempo scientifico e pratico; da un lato si vogliono conoscere meglio le necessità dietetiche e certi meccanismi fisiologici delle loro larve e dall'altro ottenerli con facilità e poca spesa in grandi masse da utilizzare per scopi di lotta biologica (4).

(1) Dedico questo lavoro alla prof. Lucia Musconi, che nel lontano 1940 mi avviò allo studio della Natura e che di poi ha continuato ad aiutarmi con affettuosa amicizia.

(2) Le prime sono dette olidiche o sintetiche perchè i loro costituenti hanno tutti, escluso i materiali inerti purificati, una struttura chimica esattamente conosciuta, almeno prima della loro mescolanza. Le seconde possono essere meridiche o semisintetiche, quando sono formate da una base olidica alla quale vengono aggiunte una o più sostanze di struttura ignota o di purezza incerta, ovvero oligidiche quando contengono in prevalenza prodotti naturali grezzi. Qui ci atterremo con Singh (1972) a queste definizioni, precisando che la terminologia usata dai vari Autori per descrivere le diete artificiali degli Insetti è estremamente confusa.

(3) Tali diete sono state riunite in una sorta di utilissimo ricettario da House (1967), House et alii (1971), Singh (1974).

(4) Alla moltiplicazione dei parassitoidi su substrati inerti avevo già brevemente accennato una quindicina di anni or sono (Mellini, 1961), quando le ricerche erano in piena fase pionieristica. Riprendo ora l'argomento in considerazione dei notevoli progressi conseguiti e delle prospettive pratiche che si affacciano sempre più concrete all'orizzonte.

In realtà le possibilità di applicazione di questi metodi, in particolare di quelli tradizionali basati sull'uso di Insetti entomofagi, hanno sempre urtato contro difficoltà di ordine economico. Infatti accanto al parassita o al predatore, che è l'organismo che ci interessa, è necessario allevare altresì il fitofago che ne è la vittima, nonchè la relativa pianta nutrice. Certamente notevoli passi innanzi sono stati compiuti allevando, anzichè l'ospite naturale, un ospite di sostituzione più facile da manipolare e questo, magari, su di un pabulum artificiale. In ogni caso però la moltiplicazione in massa della specie vittima in ambiente confinato, a parte il resto, può favorire la diffusione di malattie infettive con notevole rischio per l'esito del lavoro ed ulteriore aggravio di operazioni. È evidente quindi che il passo decisivo sarà davvero compiuto qualora si riesca ad allevare l'entomofago direttamente su dieta artificiale, eliminando in un sol colpo gli altri due termini di questa simbiosi a tre simbiotici. In questo modo l'allevamento degli entomofagi da eccessivamente oneroso può divenire addirittura economicamente conveniente ⁽¹⁾ e la pratica di distribuire i nemici naturali degli Esapodi dannosi potrebbe diventare una usanza relativamente comune, com'è da molte parti auspicato, visti i gravi effetti collaterali provocati dagli insetticidi di uso più generalizzato. La disponibilità di entomofagi a buon mercato sarebbe poi assai utile nei programmi di lotta integrata e specialmente in quelli contro gli Insetti delle colture erbacee, dove esistono maggiori difficoltà per l'insediamento di una popolazione stabile di entomofagi (Rajendram e Hagen, 1974).

In riguardo ai parassiti, il primo grave ostacolo, di ordine teorico, da superare nel percorrere questa strada, è dato dal fatto che essi si evolvono in natura a spese di animali vivi, per cui è innanzitutto necessario verificare la loro possibilità di sviluppo fuori dell'ambiente vivente ⁽²⁾. Premesso che secondo l'opinione corrente, i parassiti sono derivati da forme libere, si tratta di stabilire se, e fino a che punto, essi, o meglio le loro larve, sono in grado, sia pure in condizioni sperimentali di laboratorio, di ritornare alle origini, giacchè la dieta artificiale priva di vita corrisponde per loro, grosso modo, al pabulum ancestrale, e cioè di compiere una sorta di marcia a ritroso nell'evoluzione.

In certi casi si è veduto che il parassitoide può effettivamente compiere tutto l'accrescimento in ospiti morti; per alcuni Calcidoidei oofagi del genere *Trichogramma* Westw. (*T. evanescens* Westw.) si è infatti ottenuto (cfr., ad

⁽¹⁾ Così le diete artificiali, che già offrono per l'allevamento della generalità degli Insetti numerosi e notevoli vantaggi rispetto all'alimentazione naturale, nel caso degli entomofagi diventano addirittura doppiamente proficue.

⁽²⁾ Un altro metodo, per così dire intermedio tra l'allevamento tradizionale su ospiti e quello su diete artificiali, certamente costoso ma che presenterebbe vantaggi, potrebbe essere quello di moltiplicare gli entomofagi su colture di organi e tessuti di Insetti come si fa per i Virus entomopatogeni da utilizzare nella lotta microbiologica.

esempio, Bonnemaïson, 1972) lo sviluppo normale⁽¹⁾ in uova dell'ospite (*Mamestra brassicae* L.) previamente uccise mediante il calore (59 °C per 10 minuti di esposizione)⁽²⁾ e parimenti dicasi per gli Ictoneumonidi ectoparassiti *Ephialtes caudatus* Ratz. e *Cryptus sexannulatus* Grav. che si evolvono, fino a dare adulti fertili, in larve di Lepidotteri uccise mediante immersione in acqua calda (Simmonds, 1944), nonchè per il confamiliare *Exeristes robotator* (Fabr.) allevato su larve dell'ultima età « bollite » di Gelechidi per studiare il metabolismo degli aminoacidi in questo ectoparassita (Thompson, 1974), e come controllo per le diete artificiali sperimentate (Thompson, 1975).

Significative al riguardo sono anche le esperienze di Bouletreau (1968, 1972) che è riuscito ad allevare il Calcidoideo *Pteromalus puparum* L. in gocce pendenti di emolinfa prelevata da crisalidi di *Pieris brassicae* L. che è l'ospite, e quindi fuori dall'ambiente vivente ma con pabulum naturale⁽³⁾, nonchè quelle di Hoffman et alii (1973) che, oltre a ripetere praticamente le esperienze di Bouletreau su *P. puparum* L., hanno allevato con successo la forma oofaga *Trichogramma pretiosum* Riley in uova artificiali contenenti plasma sanguigno della specie ospite (Hoffman et alii, 1975), e pertanto non solo su materiale non vivente ma anche diverso da quello abitualmente ingerito dal parassita. Del resto anche in natura le larve di certi parassitoidi, come norma, finiscono con l'evolversi completamente, o quasi, in ospiti morti, come ad esempio l'Ictoneumone *Pimpla instigator* F. le cui vittime (crisalidi di *Pieris brassicae* L.) soccombono rapidamente dopo la deposizione delle uova da parte della femmina del parassita (Claret, 1973).

Comunque, generalmente, proprio in condizioni naturali i parassiti entomofagi svolgono una prima parte, sovente lunga, della loro vita larvale in ospiti vivi e una seconda parte, di solito breve, nei medesimi ospiti una volta morti. È vero che certe specie completano lo sviluppo in ospiti viventi, ma di regola, ed è questa la caratteristica generale dei parassitoidi, un periodo più o meno lungo della loro vita larvale viene trascorso nell'ospite che essi stessi hanno ucciso, anzi di solito la maggior parte dell'accrescimento viene proprio compiuta in vittime oramai inerti. Con le diete artificiali si tratterebbe quindi, semplicemente, di prolungare, per così dire, questa fase zoonecrofaga e zoosaprofaga per tutto l'arco della loro vita larvale.

Fin dal 1944 Simmonds, del Commonwealth Institute of biological Control, dopo aver illustrato le possibilità ed i vantaggi derivanti dall'impiego di ospiti di sostituzione auspicava la preparazione di substrati trofici artificiali per

(1) A parte un leggero aumento della durata nello sviluppo larvale e pupale.

(2) Per la verità la pratica di allevare siffatti parassiti in uova morte è relativamente comune e risale ai primi decenni di questo secolo; oltre al calore, per uccidere le uova sono stati via via impiegati il freddo, le radiazioni ultraviolette, i raggi gamma e sostanze chemiosterilizzanti. Per una esauriente rassegna dell'argomento si consulti il lavoro di Voegelé et alii (1974). Bjegovic (1972), riferendosi a *Ooencyrtus kuwanae* How. parassita di *Lymantria dispar* L., mette in rilievo che gli adulti ottenuti da uova uccise mediante radiazioni raggiungono dimensioni maggiori di quelli sfarfallati da uova vitali.

(3) L'Autore precisa che in queste condizioni l'entomofago segue praticamente, sia pure con qualche variazione, il ritmo di accrescimento che si manifesta nell'ospite in toto.

l'allevamento massivo delle larve parassite, benchè allora l'uso delle diete artificiali per la moltiplicazione degli Insetti fosse appena agli inizi. I suoi tentativi, peraltro appena abbozzati, con gli Ictoneumonidi *Cryptus sexannulatus* Grav. ed *Ephialtes caudatus* Ratz. ectoparassiti delle larve imbozzolate di *Carpocapsa pomonella* L., fallirono: su gelatina nutritiva e su carne cruda di bue le larvette si nutrivano e crebbero alquanto, ma solo una (sul secondo pabulum) riuscì a compiere la I muta.

Soltanto 5 anni dopo House e Traer (1949) (cfr. anche House, 1951) ottennero il primo successo allevando su dieta oligidica a base di fegato di maiale e pesce, il dittero *Agria housei* Shewell (= *Pseudosarcophaga affinis* Fall) (1). Nel 1954 House riuscì addirittura ad allevare questo Sarcofagide su una dieta chimicamente definita e cioè non solo fuori dell'ambiente vivente, ma anche senza materiali di diretta origine animale (2). Si trattava però di una specie a scarsa specializzazione parassitaria evolventesi ai danni di crisalidi di Lepidotteri Tortricidi, ma in grado di svilupparsi in natura, al pari della generalità dei confamiliari, anche a spese di Vertebrati morti; il caso pertanto non appariva molto significativo. Finalmente 3 anni dopo Bronskill e House (1957) riuscirono ad allevare integralmente su un « grossolano » substrato trofico, costituito da un omogeneizzato di fegato di maiale e soluzione acquosa allo 0,8% di NaCl in parti uguali, l'Ictoneumide *Pimpla turionellae* L. nemico di pupe di Lepidotteri, e quindi un « vero » parassitoide notevolmente evoluto. La strada era così definitivamente aperta.

Da allora fino ad oggi sono stati allevati con vario successo circa una decina di parassiti, parte su diete chimicamente definite, parte su diete a composizione chimica largamente ignota. La maggioranza di queste ricerche è stata compiuta in Canada nei laboratori di Belleville, sotto la guida del dr. H. L. House specialista nei problemi nutrizionali degli Insetti. Recentemente hanno portato il loro contributo anche ricercatori francesi e degli Stati Uniti del Nord America, ma in ogni caso è mancata la collaborazione di studiosi con profonda competenza nell'aspetto più propriamente parassitario del problema. Certo il lavoro finora svolto è decisamente modesto di fronte alle incombenti necessità, ma è largamente sufficiente a dimostrare la reale possibilità di allevare in massa molti parassiti in maniera economica su substrati privi di vita. Non ci nascondiamo tuttavia che seri problemi restano ancora aperti sull'effettiva utilizzazione pratica di questi entomofagi, poichè rimane in gran parte ancora da verificare la validità operativa di tali Insetti, allevati in maniera tanto innaturale, una volta liberati in campagna.

(1) Essi giunsero a formulare tale pabulum attraverso varie constatazioni successive: a) l'ospite normale soccombe dopo un giorno soltanto dall'avvenuta parassitizzazione, b) il parassita si accresce anche su pupe frantumate dell'ospite, c) il parassita si sviluppa su una grande varietà di larve e di pupe di Lepidotteri nonché di altri ordini. Tutto ciò dimostrava che questo entomofago non era legato nè a determinate vittime nè alla loro vita, sicchè il passo per tentare di allevarlo su organi di altri animali appariva breve.

(2) L'accrescimento larvale su dieta olidica e in assenza di microrganismi è apparso alquanto più lento che sull'insetto ospite e sulla dieta artificiale di origine animale.

Dell'importanza pratica si è detto. Per quanto riguarda l'aspetto più propriamente teorico i risultati finora conseguiti indicano in modo chiaro che gli ospiti non svolgono necessariamente un ruolo speciale in natura, oltre a quello di fornire al parassita un attraente e idoneo ambiente ricco di normali sostanze nutritive (1). Di fatto, in vari casi, essi finiscono poi con il condizionare, assai probabilmente attraverso un meccanismo ormonale (Mellini, 1975), il ritmo di sviluppo dell'antagonista fino a legarlo a se nel corso delle generazioni e degli anni. E proprio l'uso delle diete artificiali, che pone la larva entomofaga fuori da ogni influenza dell'ambiente vivo, potrà consentire, in via sperimentale, l'approfondimento dello studio di quell'interessantissimo capitolo del parasitismo che è rappresentato dalle influenze reciproche esercitate tra vittime e parassiti e di chiarire il ruolo degli ormoni nel loro determinismo.

II. — CONSIDERAZIONI GENERALI SULLE DIETE PER INSETTI ENTOMOFAGI.

Le necessità nutrizionali degli Insetti parassiti entomofagi e la loro biochimica sono, come sottolineò fin dal 1958 House e recentemente Thompson (1974), del tutto paragonabili a quelle degli altri Esapodi aventi i regimi dietetici più svariati (2), e più in generale simili, specialmente in riguardo agli aminoacidi essenziali ed alle vitamine del gruppo B, a quelle dell'intero mondo animale. Secondo House (1958) le richieste dietetiche fondamentali di tutti gli Insetti finora studiati a questo riguardo sono dunque molto simili e comprendono all'incirca una trentina di sostanze; ciò che varia invece, secondo le specie, sono le proporzioni dei vari elementi nutritivi (3). Nel caso dei parassiti non vi sono dunque necessità dietetiche peculiari proprie di questa

(1) Il parassitoide non è dunque obbligatoriamente legato alla vita dell'ospite in generale nè a sue particolari manifestazioni vitali; probabilmente lo speciale vantaggio che gli deriva dal fatto di nutrirsi su un animale vivente consiste nella garanzia, per le larve ancora giovani e delicate, di disporre di un substrato trofico non soggetto ad alterazioni putrefattive. Thompson (1974), riferendosi agli Imenotteri Terebranti, ritiene che il loro tipo di parassitismo rappresenti una sorta di adattamento da parte di predatori specializzati, piuttosto che un modo di vita raggiunto attraverso una « perdita genetica », che è la caratteristica dei veri parassiti. In tale modo si è potuto mantenere uno stadio adulto in grado di vivere liberamente.

(2) House (1966) fa notare che sebbene una ipotetica dieta universale (ne è stata addirittura formulata una valida, contemporaneamente, per certi microrganismi, piante, Insetti, Uccelli e Mammiferi) non garantisca una nutrizione ottimale per le varie specie, in molti casi sono state allevate specie diverse su diete artificiali pressochè identiche.

(3) E infatti molti Autori insistono sul principio che in un pabulum non soltanto debbono comparire tutte le sostanze trofiche indispensabili, ma che esse devono anche essere bilanciate, e cioè presenti nelle giuste proporzioni. Interessanti sono al riguardo le ricerche di House (1970, 1971) su *Agria housei* Shewell, le cui larve scelgono, su due substrati trofici posti in alternativa, quello per loro più confacente. Così tra varie diete olidiche caratterizzate da rapporti diversi tra i quantitativi di aminoacidi e di glucosio presenti, le diete scelte dalle larve corrispondono a quelle in cui esse si sviluppano meglio.

speciale categoria di entomati ⁽¹⁾ da soddisfare, ma piuttosto esigenze per così dire comportamentali cui venire incontro. Certi endofagi infatti vivono, almeno per un certo tempo, localizzati in questo o in quell'organo, ovvero inducono la formazione di imbuti respiratori, per cui le proprietà fisiche della dieta artificiale, già tanto importanti per le diete in genere, sembrano assumere in questi casi un ruolo eccezionale. Ovviamente, come per tutti i substrati trofici, devono essere inoltre presenti ed operanti gli stimoli che inducono la risposta nutritiva, giacchè il cibo oltre che completo dal punto di vista nutrizionale deve anche essere gradito all'insetto ⁽²⁾.

Certamente, in ogni caso, una differenza fondamentale tra il pabulum offerto dall'ospite e la dieta artificiale risiede nel fatto che mentre quest'ultima mantiene grosso modo costante nel tempo le sue caratteristiche fisiche e chimiche, la vittima le varia notevolmente secondo gli organi che vengono attaccati (le larve del parassitoide di norma sono prima plasmofaghe e poi sarcofaghe) e inoltre continuamente, nel tempo, col suo incessante biochimismo. Se tale comportamento trofico differenziato delle larve costituisce una necessità assoluta per i suddetti parassiti, ne consegue che l'allevamento su diete standard sarà possibile solo per quelle specie che presentano una attività trofica uniforme durante le varie età; a meno che non si provveda ad allestire diete diverse per i vari stadi, perdendo con ciò parte dei vantaggi economici dell'allevamento su pabulum artificiale, ovvero si riesca a formulare una dieta unica tale da soddisfare ad un tempo e le necessità delle larve giovanissime e quelle delle larve più sviluppate. Certo è che le diete per entomofagi finora allestite sono valide per tutti gli stadi larvali.

Sotto questo profilo, pertanto, sembrerebbero più facilmente allevabili le forme ectofaghe rispetto alle endofaghe e, tra queste ultime, quelle che non contraggono particolari rapporti anatomici con l'ospite piuttosto che quelle viventi più o meno a lungo confinate in particolari visceri, secondo le specie. Tuttavia, a questo proposito, bisogna ricordare che tali localizzazioni riguardano di solito larve di I età e di taglia eccezionalmente minuta (derivate da uova microtipiche), per cui il confinamento entro particolari organi della vit-

⁽¹⁾ Il parassitismo esplicato dagli Insetti entomofagi appare dunque come una specializzazione che coinvolge più il comportamento delle femmine prolificanti che non le esigenze trofiche delle loro larve; inoltre poichè questi parassiti nella stragrande maggioranza rientrano nell'ordine dei Ditteri e nel sottordine degli Imenotteri Apocriti, tutti caratterizzati da larve apode, gli stadi preimmaginali attivi esibiscono già in partenza gli adattamenti morfologici di base a tale modo di vita.

⁽²⁾ Secondo House (1966) le maggiori difficoltà nella dietetica degli Esapodi in genere risiedono nell'indurli a nutrirsi di alimenti per loro insoliti. Talora questo problema può essere risolto modificando semplicemente le proprietà fisiche della dieta, ma spesso si rende necessario includervi qualche sostanza fagostimolante che deve essere riconosciuta ed isolata dall'alimento naturale. Infatti la scelta del cibo e la sua specificità sono determinate per gli Insetti quasi esclusivamente da fattori *non* nutrizionali; sono principalmente questi infatti, assieme alle caratteristiche fisiche, che diversificano le diete le quali, ripetiamo, per quanto riguarda invece i principi nutritivi sono assai simili. In certi casi tuttavia le diete artificiali possono essere prontamente accettate così come sono.

tima pare serva a sottrarre la minuscola larveta ai processi di incapsulamento emocitario cui andrebbe incontro se soggiornasse nel lacunoma, piuttosto che ad appagare speciali necessità dietetiche, visto anche che durante questo periodo, non di rado assai lungo, l'accrescimento è modestissimo ⁽¹⁾. Se così stanno le cose il problema nelle diete non sussiste, non manifestando queste, ovviamente, reazioni di difesa, e pertanto il comportamento del parassita ne risulta semplificato. Non è detto quindi che le specie con larve aventi complicati rapporti con l'ospite siano più difficili delle altre da allevare su dieta artificiale, poichè tali rapporti, per quanto complessi, non soddisfano particolari esigenze di natura trofica, ma rappresentano soltanto un adattamento all'ambiente vivente dettato dall'ospite stesso; ragion per cui, avulse le larve da questo contesto, i suddetti rapporti non hanno più ragione di essere ⁽²⁾.

E parimenti sembrerebbero più facili da moltiplicare « in vitro » gli entomofagi meno dipendenti fisiologicamente dalle loro vittime, e cioè quelli i cui ritmi di sviluppo, diapause, ecc. non appaiono direttamente legati all'ospite. Ma poichè, a quanto pare, tali influenze derivano dal bilancio ormonale dell'ospite, si potrebbe rimediare ad eventuali carenze endocrinologiche degli entomofagi aggiungendo opportune dosi di ormoni alla dieta, come già suggerito da Mellini (1975) ⁽³⁾.

Almeno teoricamente sembrano poi più adatte ad essere allevate su dieta artificiale le specie polifaghe che, solo per questo fatto, mostrano di avere esigenze meno specifiche; anche se in realtà a limitare la cerchia degli ospiti

(1) Certo ci sono parassiti altamente specializzati che sembra assai arduo poter allevare su dieta artificiale. Mi riferisco agli Encirtidi poliembrionici che differenziano il trofamnios e certi Braconidi (le Euphorinae) le cui larve si nutrono esclusivamente delle cellule giganti derivate dalla dissociazione della sierosa originata dal blastoderma extraembrionale. Tuttavia se è vero che fino ad oggi non è stato allevato su pabulum artificiale nessun Braconide fino allo sfarfallamento, è altrettanto vero che si è invece riusciti a completare, partendo da catene embrionali estratte dalle vittime, lo sviluppo larvale, su dieta meridica, dell'Encirtide *Ageniaspis fuscicollis* Dalm. (Nenon, 1972).

(2) Anche l'imbuto respiratorio dei Ditteri Larvevoridi non è indispensabile alle loro larve, che in ogni caso si provvedono dell'aria necessaria ponendo gli stigmi posteriori a contatto di lacerazioni appositamente praticate nel tegumento o nelle trachee; sono i conseguenti processi di cicatrizzazione della ferita e la reazione emocitaria, messi in atto dall'ospite, che finiscono poi col condurre alla formazione dell'imbuto attorno alla estremità caudale dell'endofago, il quale, ripetiamo, potrebbe benissimo farne a meno.

(3) Ad esclusione di Nenon (1972) nessun Autore immette ormoni nelle diete dei parassiti; di solito ci si limita ad aggiungere colesterolo, partendo dal quale, in realtà, può essere sintetizzato l'ecdisona. Certi entomofagi si arrestano nella dieta allo stadio di larva giovane, proprio come accade nell'ospite normale; ma mentre nel primo caso l'arresto è definitivo, nel secondo è temporaneo. Evidentemente nell'ospite, quindi in situazione dinamica, ad un certo momento vengono a verificarsi le condizioni indispensabili per la crescita del parassita, mentre la situazione non «matura» nella dieta artificiale che è inerte e statica. Senza dubbio nell'ospite che si sviluppa cambiano tante cose, ma fattori che variano e che rivestono una importanza primordiale sono gli ormoni, per cui si può prospettare l'ipotesi che, almeno in certi casi, il mancato sviluppo dell'entomofago nella dieta possa attribuirsi alla loro assenza.

di un determinato parassita non sono soltanto fattori di ordine trofico, ma anche di altra natura, quali innanzitutto il comportamento delle femmine prolificanti e in seguito i fenomeni di reazione emocitaria messi in atto dall'ospite.

Ed ancora, considerata la vita promiscua ⁽¹⁾ che le larve vengono a condurre sul pabulum, sembrano più consone a questo tipo di allevamento le forme gregarie rispetto a quelle solitarie, nella lecita supposizione che gli atteggiamenti cannibalistici di queste ultime possano manifestarsi anche fuori dal vivente ⁽²⁾ e visto che non sarebbe conveniente, con le attuali tecniche, allevare le larve isolatamente.

Particolarmente adatte ad essere moltiplicate su diete artificiali sembrerebbero poi le forme oofaghe, le quali possono evolversi anche in assenza di sviluppo embrionale (come ha constatato, ad esempio, Bonnemaïson, 1972, per *Trichogramma cacoeciae* March. in uova di *Mamestra brassicae* L. deposte da femmine accoppiatesi con maschi chimicamente sterilizzati) e quindi su substrati non organizzati in cellule e tessuti e pertanto, sotto certi aspetti, simili ai substrati trofici artificiali.

Ma le possibilità adattative delle larve entomofaghe si rivelano non di rado notevoli. Per certe forme si può addirittura sopprimere, senza gravi danni, la fase sarcofaga, come hanno dimostrato Ferran e Laforge (1974) per *Phanerotoma flavitestacea* Fischer. Le larve di questo Braconide attraversano 3 stadi: durante i primi due sono endofaghe e plasmofaghe, nel terzo sono sarcofaghe ed ectofaghe; orbene, allontanando la larva dall'ospite appena ne fuoriesce, essa finisce con l'impuparsi e col dare poi adulti vitali, anche se alquanto più piccoli e meno fecondi ⁽³⁾. Più in generale si è visto che la fase zoonecrofaga e zoosaprofaga, attraversata dalla gran massa delle larve parassite nell'ultimo periodo della loro vita può essere, entro certi limiti, allungata in via sperimentale, ed anche in condizioni naturali, quando, ad esempio, l'ospite soccombe precocemente per malattie od altre cause, senza che per questo ne derivino danni sensibili al parassitoide oltre ad una certa tendenza verso la nanizzazione (per i Larvevoridi *Sturmia bella* Meig. nonchè *Phryxe secunda* B. B. e *Ctenophorocera pavida* Meig. si confrontino rispettivamente Mellini, 1956 e Biliotti, 1955). Senza contare, infine, che il campo trofico di un parassitoide è ben più ampio di quanto può apparire dalla semplice lista dei suoi ospiti noti, che sono solo una frazione di quelli reali (in natura) e che inoltre in laboratorio possiamo ottenere lo sviluppo di un parassita su forme che in libertà per ragioni ecologiche o fenologiche non possono essere aggredite. Così, ad esempio, sulle larve del Lepidottero *Galleria*

⁽¹⁾ Ad esempio House e Traer (1949) allevano le larve di *Agria housei* Shewell in gruppi di 100 individui per ciascun contenitore.

⁽²⁾ In *Sarcophaga aldrichi* Park. si è appurato (Arthur e Coppel, 1953) che i comportamenti cannibalistici si verificano soltanto tra le larve che non hanno ancora cominciato a nutrirsi, mentre scompaiono appena queste ultime hanno iniziato ad attaccare il pabulum.

⁽³⁾ Per il vero la III età, a 21 °C, dura soltanto 24 ore.

mellonella L., che si evolvono all'interno degli alveari e che non contano nessun nemico tra i Ditteri, sono state allevate in questi ultimi tempi poco meno di una decina di specie di Larvevoridi, cui del tutto recentemente vanno aggiunte altre 5 forme sperimentate con successo nel nostro Istituto (dati in parte pubblicati da Campadelli, 1975). Le necessità alimentari delle larve dei parassitoidi non sono dunque così specifiche come può risultare dall'esame della cerchia più o meno ristretta dei loro ospiti naturali, per cui sembra ragionevole inferire che nella composizione delle diete artificiali possa essere consentita una larga tolleranza.

Se per certi aspetti i substrati artificiali sembrano nel complesso offrire ai parassiti un ambiente di vita di qualità inferiore rispetto a quello presentato dalle vittime, in riguardo ad altri mostrano caratteristiche vantaggiose. Innanzitutto nella dieta ovviamente non si manifestano quei meccanismi di difesa che l'endofago fatalmente incontra invece nell'ospite vivo e che deve in qualche modo superare pena il suo insuccesso; poi non si trova costretto a soggiacere al ritmo di sviluppo di un partner che lo condiziona in svariata misura e a diversi livelli. Certo, accanto a questi lati positivi e non di poco conto, propri della dieta, vi possono essere non pochi e gravi svantaggi quali un inadatto equilibrio dei vari elementi nutritivi e la eventuale carenza di certe sostanze che, magari presenti in dosi minime nell'ospite, possono condizionare aspetti importanti della biologia del parassita e quindi in loro assenza compromettere, a breve o alungo termine, funzioni basilari. D'altro canto poi, come già detto, anche lo stesso ospite naturale non garantisce in assoluto il perfetto sviluppo del parassita, potendo variare, ed anche enormemente, la sua idoneità in relazione a svariati fattori, tra cui in primo luogo la pianta nutrice ⁽¹⁾ o, in termini più generali, il cibo di cui si è nutrito ⁽²⁾. Ad ogni modo, dei numerosi fattori che in natura concorrono a determinare la specificità parassitaria, e che in laboratorio possono essere notevolmente ridotti utilizzando ospiti naturali o di sostituzione nonché tecniche di contaminazione artificiale, nel caso di propagazione del parassitoide su dieta artificiale ne resta operante praticamente una categoria soltanto, cioè quella dei fattori nutrizionali, che pure hanno tanta importanza nel determinare la lista degli ospiti possibili, come ha dimostrato recentemente anche Bouletreau (1975) in riguardo al Calcidoideo *Pteromalus puparum* L.

⁽¹⁾ Ad esempio Shapiro (1956) ha notato che i Larvevoridi *Parasetigena silvestris* R. D. e *Sturmia scutellata* R.D. subiscono una notevole diminuzione della longevità, peso e adipogenesi se il Lepidottero ospite *Limantria dispar* L. veniva allevato su Quercia anziché su Melo.

⁽²⁾ Dimostrative al riguardo sono le esperienze di House e Barlow (1961) i quali, variando le percentuali di aminoacidi e di destrosio nella dieta di *Agria housei* Shew., hanno riscontrato notevoli ripercussioni sullo sviluppo del Braconide *Aphaereta pallipes* (Say) nemico delle sue larve.

III. — FORMULAZIONE DELLE DIETE ARTIFICIALI PER I PARASSITOIDI.

Generalità.

Come per gli altri Insetti, le diete artificiali per gli entomofagi possono essere chimicamente definite oppure no.

Le prime, ivi comprese le meridiche, servono fundamentalmente per ricerche di base, hanno cioè uno scopo eminentemente scientifico; sono dispendiose per l'alto costo dei prodotti chimici ad altissima purezza che vengono impiegati; la loro formulazione è sovente basata sull'analisi degli idrolizzati totali degli ospiti naturali ovvero su quella dello stesso entomofago da allevare ⁽¹⁾; sono laboriose da preparare e richiedono cure complesse, dovendo l'allevamento procedere in condizioni di assoluta asepsi (la dieta sintetica può infatti funzionare come terreno di coltura per vari microrganismi) al fine di impedire alterazioni e trasformazioni di ordine chimico, ad opera dei suddetti, che svisterebbero i dati sulle necessità nutrizionali dell'entomofago. Già in partenza, oltre al pabulum (trattato in autoclave a 120 °C per un quarto d'ora, escluse le vitamine nonché altre sostanze termolabili che, ove necessario, sono invece sottoposte a filtrazione), vengono sterilizzate le uova o le larvette neonate del parassita mediante immersione in soluzione disinfettante, e durante l'accrescimento il pabulum viene mantenuto scrupolosamente sterile magari con l'aggiunta di antifermentativi, antisettici e antibiotici quale solfato di streptomina (Yazgan, 1972). Un esempio di tali tecniche ci è offerto dai numerosi lavori di House sul Sarcofagide *Agria housei* Shewell. ⁽²⁾ Diete artificiali chimicamente definite hanno avuto successo nell'allevamento di Ictoneuridi tanto ectoparassiti, come *Exeristes roborator* Fabr. (Thompson, 1975), che endoparassiti come *Itopectis conquisitor* Say (Yazgan e House, 1970; Yazgan, 1972).

Le seconde sono fundamentalmente composte da prodotti naturali grezzi sia di origine animale che vegetale; nella loro formulazione si procede in modo empirico cercando di imitare il cibo naturale ⁽³⁾; vengono impiegate per l'allevamento

(1) Trattando delle diete in generale Davis (1972), premesso che per sviluppare una dieta sintetica soddisfacente bisogna prendere in considerazione la composizione dell'alimento naturale, dichiara che una analisi approssimativa di quest'ultimo spesso fornisce una base sufficiente per formulare una dieta artificiale, nella quale devono essere rispettate innanzitutto le proporzioni dei protidi, glucidi, lipidi e sali minerali che caratterizzano il cibo normale.

(2) Nel caso di *A. housei*, almeno fino al 1958, si era registrata una elevata mortalità pupale, ma, fatto ancor più grave, gli accoppiamenti non davano uova fertili. Si poteva però rimediare a quest'ultimo inconveniente accoppiando l'uno o l'altro sesso con individui allevati su dieta a base di fegato.

(3) Si variano certe sostanze aggiuntive fino ad avere alcune decine di substrati trofici; il migliore è giudicato in base a vari parametri tra cui: durata dello sviluppo preimmaginale, % di impupamento, % di sfarfallamento, peso delle pupe, numero di uova deposte, % di schiusa. Per le diete infatti meno che mai vale il cosiddetto principio del tutto o nulla; anche fra quelle idonee (come del resto per gli ospiti naturali o di sostituzione) esiste una notevole variabilità di efficacia e di rendimento.

vamento di massa; sono facili da preparare e poco costose (1); non richiedono necessariamente condizioni di assoluta asepsi (2) e servono in definitiva per scopi pratici e cioè per ottenere entomofagi a basso prezzo da impiegare in natura per la lotta contro gli Insetti dannosi. Tolto il gravoso impegno di duplicare, per quanto possibile, la composizione chimica dell'ospite (3) e di realizzare situazioni di rigorosa asepsi, restano purtuttavia da risolvere i problemi di attuare idonee condizioni fisiche per le larvette parassite e di indurre le medesime a nutrirsi di un siffatto cibo. Esempi estremi di questi substrati semplificati sono le diete a base di fegato di maiale (particolarmente ricco di principi nutritivi) utilizzate da Bronskill e House (1957) per l'allevamento dell'Icneumonide *Pimpla turionellae* L. e, sempre negli stessi laboratori di Belleville, da House e Traer (1949), Arthur e Coppel (1953) e Smith (1958) rispettivamente per i Sarcofagidi *Agria housei* Shewell, *Sarcophaga aldrichi* Park. e *Kellymyia kellyi* Ald.

Un principio basilare nell'allestimento delle diete per Insetti parassiti di Insetti, di scarsa o nulla importanza per gli altri Esapodi, è quello di impiegare, nella misura più larga possibile, componenti digeribili ed altamente utilizzabili, onde ridurre al minimo le scorie, tenuto conto che le larve entomofaghe di regola non defecano durante la fase trofica, evitando così, nel caso degli endofagi, l'inquinamento del loro stesso pabulum. L'espulsione delle feci avviene infatti tutta in una volta, allorchè, raggiunta la maturità, l'insetto si prepara ad impupare. Onde impedire un abnorme ingrossamento del mesentero bisogna dunque evitare, o limitare al massimo, l'uso di certi prodotti indigeribili quali l'agar, la cellulosa ecc. che peraltro, in molti casi, si rendono indispensabili al fine di conferire una certa consistenza al pabulum stesso, dato che per i parassiti endofagi la dieta deve costituire non soltanto una base trofica ma altresì un ambiente di vita.

Per quanto concerne lo stato fisico della dieta, pare lecito supporre che i substrati liquidi bene si prestino per l'allevamento di forme plasmofaghe che dal sangue traggono in larga misura, oltre che il nutrimento, l'ossigeno

(1) Inoltre, almeno in certi casi, vedi ad esempio il più volte citato Sarcofagide *Agria housei* Shewell nemico di Lepidotteri ed il Calliforide *Cochliomyia hominivorax* Coq. parassita di Mammiferi (Gingrich, 1972), danno risultati migliori rispetto alle diete olidiche e meridiche.

(2) Ad esempio, le larve di *Agria housei* Shewell allevate da House e Traer (1949) su fegato di maiale sopportano bene, a detta degli Autori, fenomeni putrefattivi anche vistosi; occorre però ricordare che in questo caso si tratta di un Sarcofagide parassita in grado di svilupparsi pure su carogne. Comunque in alcune diete oligidiche per Insetti parassiti viene aggiunta, come batteriostatico, formalina allo 0,1% (cfr. ad es., Banegas, 1968).

(3) Davis (1972) fa rilevare che in generale gli Insetti sono da annoverare tra gli organismi che hanno avuto maggiore successo e tra i più adattabili. Con notevole rapidità parecchi possono modificare il loro metabolismo per svilupparsi su diete subottimali e addirittura per usare agenti tossici come composti metabolicamente utili; essi sono dunque in grado di svilupparsi in modo normale, indipendentemente dall'origine dei composti che formano la dieta.

necessario, avendo per tutta o gran parte della loro vita larvale, l'apparato tracheale apneustico; mentre le diete semisolide appaiono indispensabili per quelle specie, come la generalità dei Larvevoridi, le cui larve metapneustiche o anfipneustiche si provvedono quasi esclusivamente di aria atmosferica (o tracheale), connettendosi con l'esterno (o con le trachee dell'ospite) mediante i cosiddetti imbuti respiratori; nei pabulum di una certa consistenza esse avranno così modo di scavarsi gallerie, lungo le quali potranno disporre dell'aria di cui abbisognano, ovvero mantenere in superficie gli spiracoli tracheali posteriori. Tuttavia è possibile conferire questi requisiti anche alle diete liquide facendole semplicemente assorbire da cotone idrofilo. In tal modo si possono esaudire contemporaneamente le richieste trofiche delle larve giovani, che sono plasmofaghe, e quelle respiratorie delle larve a sviluppo più avanzato, che hanno stigmi aperti e funzionanti.

Sia sull'uno che sull'altro tipo di dieta, e tanto per le forme endofaghe che per quelle ectofaghe, gli allevamenti vengono di solito effettuati in condizioni di oscurità; le temperature addottate si aggirano sui 22-23 °C e l'U.R. sul 60-65%. La temperatura ha una notevole importanza poichè, come ha dimostrato House (1972) in riguardo ad *Agria housei* Shewell, la validità di una dieta sintetica varia col grado termico a cui viene allevato il parassitoide; così il valore nutritivo di due diete può invertirsi nel senso che mentre ad alte temperature è superiore l'una, a basse è superiore l'altra.

Per gli Insetti in generale, e quindi anche per gli entomofagi, si raccomanda di frazionare convenientemente in piccoli gruppi le popolazioni da allevare, onde evitare possibili fenomeni di cannibalismo e limitare le perdite in caso di gravi epizoozie. Choumakov (1970) ritiene addirittura che le condizioni ideali sarebbero garantite da dispositivi simili ai favi delle Api, che consentano cioè l'allevamento degli individui in altrettante celle isolate provviste, ognuna, della massa di cibo necessaria per l'intero sviluppo larvale. Di solito il pabulum viene invece somministrato poco per volta, man mano viene consumato; ciò se da un lato assicura una sua maggiore freschezza, evitando le alterazioni soprattutto in condizioni non asettiche, dall'altro porta ad un aggravio delle operazioni di manutenzione. Comunque per il controllo dei microrganismi, che si rivelano particolarmente nefasti per le larve giovani, possono essere incorporati nelle diete, come già detto, appositi preparati. Alcuni Autori, però, fanno notare che la presenza di tali prodotti nelle diete può provocare conseguenze anche gravi alle larve in allevamento.

Gli organismi da allevare possono essere ottenuti da femmine appositamente dissezionate nel caso di forme ovovivipare e vivipare che, ammassando tutte le uova nell'ovidutto impari mostruosamente dilatato ed allungato ove si completa lo sviluppo embrionale, consentono, se « aperte » al momento opportuno, uno sfruttamento pressochè integrale della loro prole. Nel caso invece di specie ovipare (escluse quelle deponenti uova microtipiche⁽¹⁾), in

(¹) Le quali, al pari delle forme ovovivipare, tengono stipate le uova nelle vie genitali fino al termine dello sviluppo embrionale.

cui il sacrificio della madre generalmente porterebbe solo all'utilizzazione di una modestissima aliquota dei suoi «germi», si applica invece una tecnica assai più laboriosa consistente nel fare superparassitizzare in alto grado, laddove possibile, ospiti normali o di sostituzione e nel successivo prelievo dei germi al loro interno previa dissezione; le uova vengono lasciate sgusciare in soluzione salina e a questo punto le larvette neonate sono trasferite sul pabulum. Oggi si sta tentando di semplificare queste tecniche facendo in modo che la femmina prolificante deponga direttamente sul substrato trofico i suoi germi, come sarà detto più avanti.

Diete chimicamente definite.

Per la formulazione delle diete sintetiche si tiene conto dei dati *quantitativi* sulla composizione biochimica dei tessuti e degli organi degli Insetti, in generale, e in particolare, se disponibili, delle specie ospiti del parassitoide che si vuole allevare, o anche dello stesso parassitoide.

Contengono normalmente, in condizioni di estrema purezza, le seguenti sostanze, che sono poi quelle basilari per l'accrescimento della generalità degli animali: *a*) miscele di vari aminoacidi per soddisfare il bisogno di proteine (1); *b*) glucosio in rappresentanza degli idrati di carbonio; *c*) vari acidi grassi, oltre a colesterolo (2), per le richieste in lipidi; *d*) complessi vitaminici; *e*) miscela di sali inorganici.

A questi prodotti, che esaudiscono le necessità nutrizionali dell'insetto, vanno aggiunti diluenti inerti (cioè non aventi valore nutritivo) quali agar, necessari non solo per conferire la consistenza più opportuna al substrato trofico, ma altresì per mantenere gli ingredienti distribuiti in modo uniforme nella massa (3). Spesso vengono impiegati anche agenti emulsionanti (come il monoleato del polioossimetilene sorbitano) necessari per dividere finemente

(1) Di solito nelle diete olidiche per gli Insetti la richiesta di prodotti quaternari viene soddisfatta mediante l'immissione di proteine che gli Esapodi sono in grado di scindere in composti più semplici per poi riunirli in proteine loro specifiche. Per le larve entomofaghe, che almeno inizialmente si nutrono tutte di emolinfa e quindi a spese di un ricco deposito di aminoacidi liberi, si ritiene più opportuno somministrare direttamente questi ultimi. In certe specie parassite poi, come nel Larvevoride *Phryxe caudata* Rond., si è accertato che le larve di I età mancano di attività enzimatiche proteolitiche (Bonnot e Delobel, 1970) per cui si troverebbero addirittura nell'impossibilità di utilizzare direttamente le proteine. I suddetti Autori fanno anzi risalire il mancato sviluppo del parassita in certi stadi dell'ospite all'assenza di particolare aminoacidi in quegli stadi.

(2) Gli Insetti mancano della capacità di biosintetizzare il nucleo degli steroidi, che pure sono indispensabili per il loro sviluppo. Essi pertanto debbono ricorrere, a meno che non ne siano riforniti da eventuali endosimbionti, ad una fonte esogena. Certi steroli infatti sono considerati quali precursori dell'ecdisona. Orbene, salvo rarissime eccezioni, questo critico bisogno di sterolo può essere appagato aggiungendo colesterolo alla dieta (Svoboda et alii, 1975).

(3) Come chiarisce Vanderzant (1969), le proprietà fisiche delle diete artificiali, e cioè loro struttura, durezza, omogeneità e contenuto idrico, sono regolate dall'aggiunta, oltre che di agar, di gomme di polisaccaridi, di cellulosa e di altre grandi molecole.

e sospendere il colesterolo e gli acidi grassi, onde prevenire il loro accumulo alla superficie del cibo e quindi sulle larve. Anche l'aggiunta di appropriati stabilizzatori è opportuna, per proteggere i principi nutritivi e mantenerli mescolati in modo omogeneo. Conveniente è pure l'addizione di idonei prodotti (per un loro elenco si consulti il lavoro di Singh e House, 1970) atti ad ostacolare lo sviluppo di batteri, di muffe e di lieviti che possono, alterando la dieta, compromettere l'allevamento. È indispensabile però trovare il preparato e la dose giusta, perchè sovente essi risultano nocivi agli Insetti, specie poi a quelli alberganti endosimbionti ⁽¹⁾. Talora viene indicata la necessità di aggiungere fagostimolanti specifici per indurre le larve a nutrirsi di un cibo che non è loro familiare, per quanto si sia constatato come, in vari casi, siano certi principi nutritivi comuni, già presenti nelle diete, ad esercitare una sufficiente azione fagostimolatrice ⁽²⁾.

La preparazione della dieta è alquanto complicata non solo per la presenza di varie decine di composti ma anche per la sequenza delle varie fasi del suo allestimento al fine di non causare precipitazioni dei vari ingredienti od altri guai. A questo riguardo (House, 1958) sottolinea che il successo di una dieta dipende non soltanto dalla presenza di tutti gli elementi necessari, ma anche dalle tecniche e dai procedimenti seguiti nella sua preparazione.

Gli Autori si preoccupano anche di regolare la pressione osmotica e il pH del pabulum, come Yazgan (1972) che, mediante l'aggiunta di idrato e fosfato di potassio, stabilizza la dieta di *Itoplectis conquisitor* (Say) sul 6,5.

Diete non chimicamente definite.

Sono costituite in più o meno larga misura, oltre che da prodotti chimicamente noti, da materiali organici di complessa e indefinita costituzione chimica. Sono stati così utilizzati come si può rilevare dalla tabella a p. 272, siero fetale di bovino, substrati trofici per colture in vitro di cellule e di tessuti (sia di Insetti che di altri animali), gelatina reale di Api, pesce e fegato di maiale. Particolarmente adatto si è poi dimostrato quest'ultimo, senz'altro in relazione alla eccezionale ricchezza e varietà di metaboliti presenti in questa sorta di « laboratorio chimico » dei Vertebrati. Del resto Yazgan e House (1970),

⁽¹⁾ Singh e House (1970), che si sono preoccupati di individuare pratici « livelli di sicurezza » per vari preparati antimicrobici, cioè di indicare le dosi che possono essere impiegate nella dieta per controllare i microrganismi senza nel contempo danneggiare gli Esapodi, hanno messo in evidenza come, tra l'altro, tali preparati esercitino in varia misura un effetto nanizzante, dovuto forse ad una loro azione fagoinibitrice esercitata attraverso stimoli olfattivi e gustativi.

⁽²⁾ Considerato che nell'ospite sono ovviamente presenti i fattori fagostimolanti per le larve del parassita, come lo erano, a monte, quelli inducenti la contaminazione da parte delle femmine prolificanti, sembra possibile rendere appetibile la dieta oligidica mediante l'addizione di piccoli quantitativi dei medesimi ovvero, più semplicemente, di estratti totali o di organi della vittima. Analogamente si opera, in vari casi, per gli Insetti fitofagi, addizionando ai substrati artificiali polveri ottenute dalla macinazione degli organi vegetali consumati in natura.

che sono riusciti ad allevare l'Inceumonide endoparassita *Itoplectis conquisitor* Say su dieta chimicamente definita, sottolineano che il miscuglio di aminoacidi impiegati era quantitativamente e qualitativamente simile a una proteina del fegato.

La preparazione delle diete a base di fegato è assai semplice: pezzetti di questo organo e soluzioni acquose di cloruro di sodio allo 0,8% in parti uguali vengono finemente omogeneizzati; per diminuire la viscosità del mezzo si preferisce, laddove necessario, usare fegato bollito. Particolari difficoltà non presentano nemmeno le altre, solo che per ora, in molti casi, si opera in condizioni asettiche e si nutrono le larve separatamente, perdendo con ciò molti dei vantaggi pratici che le diete oligidiche offrono rispetto alle olidiche.

Anche con le diete chimicamente non definite sono stati allevati con successo vari parassiti, sia Imenotteri Inceumonidi e Calcidoidei che Ditteri Sarcofagidi. Non si sono invece allevati, come del resto con le diete olidiche, Larvevoridi.

IV. — DISCUSSIONE DEI RISULTATI OTTENUTI.

Nella tabella a pagina seguente sono riuniti in forma schematica i dati essenziali sui tentativi di allevamento, pienamente o parzialmente riusciti, di Insetti parassiti di Insetti su dieta artificiale. Si noti come delle varie famiglie di parassitoidi ve ne figurino solo alcune, mentre ne mancano altre anche di grande estensione ed importanza. Colpisce poi il fatto che si sia colto il successo con vari Terebranti notevolmente specializzati e non si sia invece riusciti ad allevare Ditteri Larvevoridi che, per la loro stretta parentela con le famiglie dei Sarcofagidi e dei Calliforidi, parrebbero offrire difficoltà addirittura minori per lo sviluppo delle loro larve fuori dall'ambiente vivente; ma con molta probabilità ciò dipende semplicemente dal fatto che i tentativi con questi entomofagi sono stati assai scarsi.

Del resto nel trentennio successivo ai primi occasionali tentativi di Simmonds (1944) è stato fatto relativamente poco in tutto questo settore. Complessivamente infatti sono state allevate finora con esito positivo meno di una decina di specie. Probabilmente queste tecniche non hanno progredito come era auspicabile, causa la mancata collaborazione tra dietologi e parassitologi; in realtà sono i primi che più hanno lavorato in questo settore e che hanno raccolto i maggiori successi, ma sovente nei loro gruppi di ricerca sono mancate competenze profonde nel campo del parassitismo degli Insetti entomofagi.

Oggi, poi, con la ricerca di mezzi di lotta alternativi a quelli chimici, che tanti gravi problemi hanno suscitato, la richiesta di parassiti e di predatori nei programmi di lotta biologica e di lotta integrata è divenuta impellente e solo le diete artificiali di tipo oligidico possono fornire i suddetti organismi a prezzi convenienti e rendere così il loro uso addirittura economicamente competitivo rispetto alla lotta chimica. Il basso costo degli entomofagi, ottenuti attraverso una simile produzione a carattere industriale, renderà possibile la

TABELLA I. - Insetti entomofagi parassiti allevati, con vario successo, su dieta artificiale.

Specie allevata	Parassiti			Ospiti			Dieta	Risultati	Autori
	Gruppo sistematico	Larve	Gruppo sistematico	Gruppo sistematico	Stadio distrutto	Dieta			
<i>Cryptus sexannulatus</i> Grav.	Hym.	ecto-	Lep.	larve	oligidica	esperimento fallito	Simmonds, 1944		
<i>Ephialtes caudatus</i> Ratz.	»	»	»	»	»	»	»		
<i>Ezeristes roborator</i> (Fabr.)	»	»	»	»	olidica	♀ feconde	Thompson, 1975		
<i>Itopectis conquisitor</i> (Say)	»	endo-	»	crisalidi	»	17% di adulti	Yazgan e House, 1970		
»	—	—	—	—	»	62% di adulti, fecondi	Yazgan, 1972		
<i>Pimpla turionellae</i> (L.)	»	»	»	»	oligidica	7% di adulti	Bronskill e House, 1957		
<i>Opius concolor</i> Szépl.	»	»	Dipt.	pupe	oligidica	fino a L _{III}	Cals-Usciatì, 1970		
<i>Ageniaspis fuscicollis</i> Dalm.	»	»	»	larve	meridica	eopupe	Nenon, 1972		
<i>Dalbominus fuscipennis</i> Zett.	»	ecto-	Hym.	larve	oligidica	larve varia età	House, 1958		
<i>Pteromalus puparum</i> (L.)	»	endo-	Lep.	crisalidi	»	pupe	Hoffman et alii, 1973		
»	—	—	—	—	»	12% di adulti, fecondi	Hoffman e Ignoffo, 1974		
<i>Trichogramma pretiosum</i> Ril.	»	endo-	Lep.	uovo	»	pupe	Hoffman et alii, 1975		
<i>Kellymyia kellyi</i> (Ald.)	Dipt. Sarc.	»	Orth.	ninfe e adulti	»	40 generazioni	Smith, 1958		
<i>Agria housei</i> Shewell	»	»	Lep.	crisalidi	»	adulti fecondi	House e Traer, 1949; House, 1951		
»	—	—	—	—	olidica	» non fecondi	House, 1954		
<i>Sarcophaga aldrichi</i> Park.	»	»	»	pupe	oligidica	» fecondi	Arthur e Coppel, 1953		
<i>Phryxe caudata</i> Rond.	»	»	»	larve	olidica	L _{III} iniziali	Grenier et alii, 1974 e 1975		

liberazione in campagna di masse tali di parassiti e di predatori da esercitare un effetto diretto (e cioè largamente indipendente dal concorso dei nemici naturali presenti in quel biotopo) e immediato (cioè non a lunga scadenza come nelle applicazioni tradizionali) sulle popolazioni degli Insetti dannosi, così come auspicato da Knipling fin dal 1966. Oltre a ciò, visto che certi entomofagi allevati su dieta si presentano sotto alcuni aspetti superiori a quelli ottenuti su ospiti naturali, sarà forse addirittura possibile, secondo House (1966), migliorare le loro caratteristiche variando opportunamente il substrato trofico ed operando una selezione genetica ⁽¹⁾ come si usa con i comuni animali domestici. Si potrebbero così allevare particolari ceppi in cui la longevità, la fecondità e altre caratteristiche desiderabili siano superiori; questi, una volta liberati in gran numero in campagna, finirebbero con l'arricchire anche qualitativamente le popolazioni originali. A parte questi programmi ambiziosi per il futuro, c'è da rilevare che in realtà, a quanto ci risulta, fino ad oggi non sono ancora state fatte applicazioni pratiche di un certo rilievo. Secondo Thompson (1975) il fatto è che procedimenti pratici di allevamento in massa attendono ancora ulteriori ricerche e miglioramenti tecnici.

Confronto tra la vita dei parassitoidi evolventisi nelle diete artificiali e quelli in ospiti naturali.

La situazione del parassita su dieta artificiale è enormemente semplificata. Innanzitutto esso non soggiace a quei fenomeni di difesa che in natura spesso lo compromettono gravemente; infatti l'ospite non solo può ostacolarlo a livello cellulare mediante reazioni emocitarie, una volta che sia penetrato nel suo lacunoma, ma addirittura per attacco diretto quando ancora i germi, uova o larvette che siano, giacciono esternamente sul suo tegumento ⁽²⁾.

Poi, il parassita su dieta viene a trovarsi in una situazione in cui non è necessario dispiegare un'attività trofica differenziata secondo i vari stadi larvali, come accade nelle vittime ove la distruzione degli organi vitali viene di norma procrastinata di modo che esse restano in vita per un certo tempo.

Infine cade, ovviamente, tutto l'importantissimo settore concernente le influenze esercitate dall'ospite sul parassita, per cui il ritmo di sviluppo di quest'ultimo, posto fuori dal contesto vivente ⁽³⁾ e quindi da un habitat caratterizzato da un incessante dinamismo biochimico, dipenderà, in condizioni ambientali favorevoli, dieta compresa, unicamente da fattori intrinseci. Se

⁽¹⁾ Così House (1967) nell'arco di una ventina di anni, allevando per 200 generazioni su dieta artificiale *Agria housei* Shewell, specie praticamente monovoltina, è giunto, pure non operando di proposito una selezione, ad eliminare completamente la diapausa « obbligatoria » da questo Sarcófagide parassita; sembra però che nel contempo sia diminuita la resistenza alle basse temperature.

⁽²⁾ Nel caso di ospiti gregari talvolta addirittura accade che i vari individui si liberino vicendevolmente di uova incollate sul loro corpo o di larvette in procinto di penetrare.

⁽³⁾ Per inciso faccio notare che anche il condizionamento messo in atto dall'ospite cade qualora esso venga ucciso. L'oofago *Trichogramma cacoeciae* March., ad esempio, che entra in diapausa in uova che si trovano in tale stato, prosegue invece nello sviluppo se l'uovo è stato previamente portato a morte mediante il calore (cfr. Wigglesworth, 1972).

per parassiti poco evoluti, e cioè fisiologicamente poco integrati con le vittime, le differenze dei loro cicli su ospiti, da un lato, e su diete artificiali, dall'altro, saranno minime ⁽¹⁾, per entomofagi ad elevata specializzazione parassitaria tali differenze potranno rivelarsi enormi; in particolare il voltinismo, che è frenato e dipendente da quello dell'ospite, potrà, su dieta, raggiungere valori elevati ⁽²⁾.

Con la dieta artificiale si annullano dunque tutti i condizionamenti che vengono esercitati dall'ospite vivo. Ora c'è da chiedersi fino a che punto il parassita è in grado di approfittare di una simile improvvisa libertà, riacquistata dopo tempi immemorabili, e cioè in quale misura la lunga dipendenza dall'ospite ha inciso sulla sua fisiologia. Da questi primi risultati sembrerebbe assai poco, visto che dei parassiti finora allevati su diete inerte vari si sviluppano abbastanza facilmente. Ma allora all'entomofago non resta proprio nulla dell'antica connessione con l'ospite? la lunga simbiosi non ha dunque lasciato nessun segno? È noto che le larvette neopenetrate del parassita generalmente non procedono nello sviluppo, o solo a rilento, fino a quando l'ospite non ha raggiunto un determinato stadio. Per spiegare il meccanismo di questa e di altre influenze esercitate dalle vittime sui parassiti, recentemente Mellini (1975) ha emesso l'ipotesi di interferenze a livello endocrino tra i due partners ed ha accennato ad una probabile riduzione, anatomica o funzionale, del sistema endocrino nelle larve parassite come adattamento a tale modo di vita. Se, in conclusione, la vita parassitaria ha compromesso l'entomofago nella sfera endocrinologica in vari casi si renderà indispensabile avvalorare il substrato inerte con opportune dosi di ormoni.

Variabilità biochimica dei parassiti.

È per certi aspetti davvero notevole e in funzione del substrato sul quale gli entomofagi si sono evoluti. Bracken e Barlow (1967) hanno osservato che l'Icneumonide ectoparassita *Exeristes comstockii* (Cresson) non mostra una propria e caratteristica composizione di acidi grassi, bensì una mera duplicazione di quella degli ospiti, pure se appartenenti a ordini diversi ⁽³⁾. Thompson e Barlow (1970) hanno rilevato lo stesso fatto imitativo in un altro Icneu-

(1) È questo, ad esempio, il caso di *Sarcophaga aldrichi* Park., dittero che in natura si evolve tanto su Insetti vivi che su carogne, il quale compie una sola generazione annuale sia sui Lepidotteri ospiti che su diete oligidica.

(2) Ecco un altro aspetto vantaggioso delle diete che merita di essere segnalato in campo pratico; infatti, assieme all'ospite, vengono altresì eliminati tutti i relativi freni che rallentano o arrestano lo sviluppo del parassita il quale pertanto in molti casi potrà essere allevato senza interruzioni.

(3) Tuttavia mentre da *Galleria mellonella* L. hanno ottenuto un regolare sfarfallamento del suddetto Terebrante, che in natura è appunto parassita di Lepidotteri, da *Lucilia sericata* (Meig.), che è un Dittero, si sono avuti soltanto pochi adulti e in *Neodiprion sertifer* Geoff., che è un Imenottero, l'entomofago non è andato oltre la II età larvale. Per la discussione dei meccanismi che portano all'esatta sovrapposizione del cromatogramma degli acidi grassi del parassita su quelli degli ospiti confronta anche Barlow (1972).

monide, ma endoparassita, l'*Itopectis conquisitor* (Say) e ritengono che il fenomeno abbia una portata generale. Successivamente gli stessi Autori (Thompson e Barlow, 1974) fanno notare che in generale ciò è esatto dal punto di vista qualitativo, ma che da quello quantitativo la composizione in acidi grassi nei parassiti può apparire in qualche misura differente da quella degli ospiti. Essi sottolineano inoltre che il « modello » di acidi grassi ricevuto dall'ospite viene conservato attraverso l'impupamento e lo sfarfallamento, per cui non si ha il ritorno, sia pure alla fine dell'ontogenesi, ad un ipotetico modello caratteristico di quella specie di parassitoide. Una peculiarità di questi entomofagi sarebbe dunque quella di non possedere, o solo in parte, un meccanismo di regolazione dei livelli di acidi grassi, che è invece operante nella maggioranza degli Insetti (Thompson e Barlow, 1972).

Viceversa, in base a studi fatti da Thompson (1974) sull'Icneumonide *Exeristes roborator* Fabr., apparirebbe minima la variabilità dell'aminoacidemia in funzione della specie ospite (1); più precisamente la variabilità quantitativa (cioè le percentuali dei principali aminoacidi presenti), che è notevole nell'ambito della Classe, non quella qualitativa, dato che la composizione di aminoacidi liberi è simile in tutti gli Insetti finora studiati a questo riguardo (2) e persino simile a quella della maggioranza degli animali. Gli elettroferogrammi delle proteine dei due simbionti antagonisti sono poi differenti; tuttavia si notano cambiamenti quantitativi nella composizione proteica del parassita qualora allevato su ospiti alternativi. Secondo House (1970) invece gli aminoacidi nella emolinfa delle larve del Sarcofagide *Agria housei* Shewell possono essere influenzati quantitativamente da quelli contenuti nella dieta. Anche variazioni quantitative del tenore in zuccheri nella medesima danno per risultato un cambiamento corrispondente nel sangue di questo Dittero.

I lavori sulla biochimica dei parassiti in relazione all'ospite sono molto importanti e, sebbene siano ancora nelle fasi iniziali, inducono a qualche considerazione. Infatti se da un lato questa adattabilità del parassita in certi aspetti del suo biochimismo può apparire come un fatto positivo per la riuscita degli allevamenti su dieta artificiale, consentendo una larghissima tolleranza nella sua composizione (3), dall'altro potrebbe rivelarsi un elemento

(1) Per i Terebranti gli aminoacidi dell'ospite rivestono una grande importanza anche in riguardo agli adulti al momento della parassitizzazione. Arthur et alii (1972) hanno appurato che la femmina di *Itopectis conquisitor* Say è indotta a ovideporre dopo aver captato, con l'ovopositore infisso nel corpo dell'ospite, la presenza di certi aminoacidi, compresa la leucina, nella sua emolinfa. Fisher e Ganesalingam (1970) hanno addirittura suggerito che *Devorgilla canescens* Grav. riesce a distinguere gli ospiti parassitizzati da quelli sani avvertendo alterazioni nel livello di certi aminoacidi emolinfatici, in particolare della suddetta leucina che scompare dopo la parassitizzazione.

(2) Thompson (1974) fa notare che sebbene gli aspetti fondamentali del metabolismo degli aminoacidi nei parassiti siano simili a quelli di parecchi Insetti a vita libera, essi giocano tuttavia un ruolo importante nell'adattamento parassitario degli Imenotteri.

(3) Per cui sussiste anche la possibilità di migliorare certe caratteristiche biologiche dell'insetto da allevare. Ad esempio, manipolando gli acidi grassi della dieta si può modificare la struttura del corpo adiposo e di conseguenza la tolleranza verso il calore.

negativo, allontanando troppo il parassita da una situazione biochimica di base, con probabili conseguenti difetti di funzionalità e magari non solo a livello fisiologico ma anche a quello etologico (1).

Validità dei parassiti allevati su dieta artificiale.

Deve essere valutata molto attentamente. È noto infatti che le caratteristiche biologiche di un parassita variano notevolmente secondo la specie ospite e, per la stessa specie, secondo la pianta nutrice e persino in relazione allo stadio attaccato. Si è accertato infatti che fitofagi perfettamente idonei per un dato parassita diventano inadatti qualora si evolvano su altre varietà o specie di piante, a spese delle quali riescono pure a svolgere regolarmente le loro generazioni, e parimenti fitofagi pienamente idonei risultano in varia misura inadatti se penetrati dal parassita in determinati stadi (Mellini e Baronio, 1972). Nel paragrafo precedente abbiamo inoltre visto come il biochimismo del parassita cambi, anche notevolmente, col mutare della specie vittima.

Venendo alle diete artificiali il primo interrogativo che si affaccia è se le femmine dei parassiti così allevati, oltre che normalmente feconde, sono in grado di cercare, riconoscere ed attaccare gli ospiti naturali. Questa stessa domanda si era posta Simmonds fin dal 1944 in riguardo ai parassiti ottenuti da ospiti di sostituzione: dopo varie generazioni evolute in laboratorio su tali vittime, è la femmina dell'entomofago capace di attaccare l'ospite naturale o non piuttosto in natura continua a perseguire soltanto l'ospite sul quale si è sviluppata? Dopo un'ampia discussione, allargata anche ai fitofagi, Simmonds conclude che se l'allevamento procede senza che si verifichino elevate percentuali di mortalità, che starebbero ad indicare la selezione di razze particolari, il pericolo di interferenze sull'efficacia del parassita una volta liberato in pieno campo è remoto. Recentemente Ashley et alii (1973), considerato che, più in generale, la maggioranza degli organismi usati nei programmi di lotta biologica sono moltiplicati per periodi più o meno lunghi in laboratorio, fanno notare che tali condizioni possono deprimere l'efficacia di questi agenti di controllo. Alcuni Autori hanno infatti sottolineato le conseguenze che l'allevamento in massa degli Insetti può determinare sul loro comportamento nonché a livello genetico (2), anche se finora sono poche le ricerche intraprese per determinare in quale misura le condizioni di allevamento in cattività possano compromettere le capacità di questi Insetti una volta che siano liberati in campagna.

(1) A questo proposito c'è da chiedersi che cosa avverrebbe in quella delicatissima fase del ciclo di un parassitoide che è la ricerca della vittima. Infatti, sebbene i dati non siano concordanti, sembra che la femmina del parassita tenda a colpire la stessa specie di vittima a spese della quale si è evoluta; ora, alla stregua di questo principio, non si correrebbe il rischio che essa finisca con lo specializzarsi a ricercare il pabulum del laboratorio!?

(2) Friend (1968), posta in rilievo l'elevata plasticità delle attività metaboliche nelle larve dei Ditteri, fa notare che molti ricercatori impegnati nella loro moltiplicazione su diete artificiali hanno trovato che mediante la selezione si possono ottenere, sí, ceppi ben adattati alle condizioni dell'allevamento, però assai diversi dalle popolazioni selvatiche.

Ma situazioni negative possono manifestarsi ancor prima. Etienne (1973), ad esempio, che ha propagato il Larvevoride *Lixophaga diatraeae* (Townsend) sull'ospite di sostituzione *Galleria mellonella* L., ha notato, nel corso delle generazioni, una progressiva incapacità dei maschi ad accoppiarsi ed una minore fertilità delle femmine, fenomeni che hanno condotto alla scomparsa del ceppo già alla VI generazione.

Se dunque l'allevamento continuato in laboratorio sugli ospiti di sostituzione, e perfino su quelli naturali, può abbassare l'efficienza dei parassiti, a maggior ragione c'è da attendersi che lo stesso fenomeno, e magari aggravato, possa verificarsi per gli entomofagi allevati su diete artificiali, spesso completamente diverse per l'origine dei costituenti da quelle naturali, ed in cui le carenze trofiche possono essere assai più pesanti. Pertanto più che mai in questi casi non bisogna accontentarsi dei risultati a breve termine, che non sono in grado di rivelare l'insufficienza del substrato; certi piccoli difetti, ma dalle conseguenze gravi, emergono con l'andare del tempo, per cui una dieta può ritenersi « idonea » (1) dopo che il parassita è stato allevato con successo per varie generazioni e senza che si notino flessioni nei parametri vitali (2).

Comunque qualche dato sulla validità di siffatti parassiti è già disponibile. Ad esempio Thompson (1975), in riguardo ad *Exeristes roborator* Fabr. allevato su dieta olidica, precisa che le femmine così ottenute ovidepongono normalmente sulle larve degli ospiti naturali.

Rendimento delle diete artificiali.

In vari casi le diete artificiali per entomofagi fino ad oggi formulate, forse perchè non bene azzeccate (House, 1967, ha scritto che il loro allestimento è ad un tempo opera d'arte e di scienza), danno risultati inferiori a quelli conseguibili con gli ospiti naturali. Su di esse, tra l'altro, anche ammesso che siano idonee, la durata dell'accrescimento e dello sviluppo del parassita può infatti apparire considerevolmente allungata e la mole notevolmente ridotta con relativo forte abbassamento della fecondità nelle femmine. Talora invece i substrati trofici artificiali hanno dato per certi aspetti, una riuscita superiore a quella conseguibile con gli ospiti normali. Così Thompson (1975), in riguardo all'Iceneumonide *Exeristes roborator* (Fabr.) allevato su dieta oli-

(1) Applichiamo alle diete artificiali, per quanto semplificato, il concetto di idoneità già formulato da Salt (1938) per le vittime degli Imenotteri parassiti.

(2) Una volta che l'entomofago evolventesi su dieta è riuscito a raggiungere lo stato adulto, è soprattutto in occasione della fase riproduttiva che si manifestano le eventuali deficienze del pabulum larvale; infatti in molti parassiti, in particolare nei Ditteri, le sostanze necessarie per la maturazione delle gonadi sono assunte dalle larve, limitandosi le forme immaginali a nutrirsi di liquidi zuccherini a funzione prevalentemente dinamogena.

Le femmine adulte dei Terebranti, invece, sovente ottengono i materiali nutritivi per la produzione delle uova cibandosi dell'emolinfa dell'ospite, previa puntura del loro tegumento mediante la terebra, oltre che assumendo polline ed essudati dalle piante. In questi casi dunque gli adulti possono « rifarsi » ma è indispensabile fornire loro, oltre ai soliti carboidrati, anche sostanze quaternarie, specialmente aminoacidi (cfr., ad es., Bracken, 1966).

dica ha constatato che le percentuali di sfarfallamento degli adulti sono più elevate che negli ospiti naturali e che la sex ratio è largamente a favore delle femmine, all'opposto di quanto si verifica nei Lepidotteri ospiti. Parimenti Yazgan (1972) sull'Iceneumonide *Itopectis conquisitor* Say ottiene, pure con dieta chimicamente definita, un rendimento più elevato, con il 73% di larve neonate che riescono a raggiungere lo stadio immaginale (contro il 37% negli ospiti) (1); ma in questo caso gli adulti sono notevolmente più piccoli, pari, in peso, ad 1/3 soltanto di quelli sfarfallati dalle vittime normali.

Anche su diete « grossolane », tipo quelle a base di fegato di porco e di pesce impiegate da House e Traer (1949), si possono conseguire risultati migliori di quelli raggiungibili con le vittime; infatti gli adulti di *Agria housei* Shewell da loro ottenuti in questo modo sono più grossi e le percentuali di sfarfallamento più elevate (88% contro il 37,5%). Si deve però rilevare che in questo caso si tratta di un Dittero Sarcofagide, quindi di una specie a costumi parassitari cenogenetici, per cui il ritorno agli atavici costumi zoonecrofagi, peraltro non ancora del tutto abbandonati in natura, può rappresentare addirittura un miglioramento delle sue condizioni di vita.

In conclusione dunque con le diete artificiali non solo è possibile uguagliare i risultati conseguibili su vittime normali, ma perfino superarli, migliorando quindi il rendimento degli allevamenti.

Se a ciò si aggiunge che in vari casi viene specificato che le femmine così ottenute sono perfettamente vitali, che producono prole fertile e ovidepongono sugli ospiti normali, balza evidente che gli entomofagi moltiplicati su dieta possono essere proficuamente impiegati in lotta biologica per la quale si vogliono massivamente allevare.

V. — POSSIBILITÀ DI PROLIFICAZIONE DEI PARASSITI SULLE DIETE ARTIFICIALI.

Altamente auspicabile, per semplificare ulteriormente le operazioni di allevamento dei parassitoidi, sarebbe l'ottenere la deposizione dei « germi » da parte delle femmine prolificanti direttamente sui terreni di coltura. Senza dubbio conseguire questo risultato non sarà facile (quando se ne escludono certi Sarcofagidi a scarsa specializzazione parassitaria) (2), visto quanto è complesso e delicato tutto quel settore comportamentale che concerne la contaminazione dell'ospite.

Per parassiti che attaccano stadi immobili, come uova e pupe, il problema appare semplificato. Così con le femmine di certi *Trichogramma* Westw., che come è noto tentano di ovideporre in piccoli oggetti di forma sferica, e nelle quali pertanto gli stimoli visivi sono determinanti, si è riusciti ad ottenere l'ovi-

(1) In entrambe le suddette specie la fecondità, poi, si mantiene invariata.

(2) Le specie di questa famiglia allevate a Belleville larvidepongono infatti con facilità sulla dieta a base di fegato.

deposizione in uova artificiali consistenti in capsule di paraffina riempite con sostanze liquide disparate, ivi comprese semplici soluzioni saline. Tali uova si sono rivelate molto efficaci ed in esse si verificano comunemente fenomeni di superparassitizzazione che di solito in natura sono evitati (Rajendram e Hagen, 1974). Ulteriori ricerche effettuate da Hoffman et alii (1975) hanno condotto alla costruzione di uova artificiali idonee non solo per l'ovideposizione ma anche per lo sviluppo delle larve; tali uova, da cui sono poi regolarmente sfarfallati gli adulti del *Trichogramma pretiosum* Riley, sono formate da un involucro di cera mista a resina e internamente da plasma sanguigno proveniente da larve del lepidottero *Heliothis zea* (Boddie).

Per le specie che depongono negli ambienti frequentati dagli ospiti, ovvero sul loro pabulum, la contaminazione diretta della dieta artificiale può essere ottenuta abbastanza facilmente. Per il primo gruppo infatti si è trovato che la femmina entomofaga è dapprima attratta, e quindi stimolata a deporre, dalla presenza di tracce odorose lasciate dall'ospite. Così, ad esempio, il Larvevoride *Lydella thompsoni* Hert., nemico del Piralide *Ostrinia nubilalis* Hbn., è orientato da particolari sostanze presenti nelle feci emesse dalle larve, sostanze prodotte dal metabolismo dell'ospite e solubili in etanolo ed acqua (Hsiao et alii, 1966). In altri casi si è addirittura riusciti ad isolare il principio attrattivo, per cui Yazgan e House (1970) intravedono la possibilità di rendere recettive alla contaminazione le diete artificiali mediante l'aggiunta dei fattori chimici che in natura la inducono (¹). L'importanza degli stimoli olfattivi in questa categoria di parassitoidi è stata confermata da vari Autori, tra cui recentemente Nettles e Burks (1975) che hanno isolato, oltre che dagli escrementi, dall'emolinfa e da estratti dell'intero corpo di larve, crisalidi e adulti neosfarfallati di *Heliothis virescens* (F.) e di altri Nottuidi, una proteina capace di indurre la larvideposizione nelle femmine del Larvevoride *Archytas marmoratus* (Town.)

Per i parassiti invece che aggrediscono direttamente stadi attivi, e per i quali i movimenti dell'ospite hanno una importanza fondamentale nello scatenare le manovre d'attacco, sembra assai problematico ottenere la deposizione dei germi su quel substrato inerte che è la dieta artificiale.

In verità per molti Terebranti, le cui femmine sono indotte ad attaccare, oltre che da stimoli visivi, soprattutto da stimolazioni olfattive, le moderne ricerche forniscono motivi per bene sperare. Arthur et alii (1969) sono infatti riusciti ad isolare dall'emolinfa di *Galleria mellonella* (L.) un componente di natura proteica, forse un polipeptide, fisiologicamente attivo, capace di indurre l'ovideposizione da parte delle femmine dell'Icneumonide *Itoplectis conquistator* Say. Ulteriori studi della suddetta frazione hanno mostrato trattarsi

(¹) Per una più ampia disamina dell'argomento confronta Hendry et alii (1973) nonché Jones et alii (1973) i quali includono queste sostanze attrattive nella categoria dei kairomoni, definiti come messaggeri chimici che, emessi da una specie, inducono una risposta comportamentale in un'altra specie, la quale ne trae vantaggio.

principalmente di un miscuglio di aminoacidi, la cui presenza viene captata dai chemiorecettori dell'ovopositore al momento della perforazione della cuticola dell'ospite. Sulla base di questi dati Arthur et alii (1972) riescono a preparare un substrato sintetico, chimicamente definito, atto a stimolare le femmine del suddetto terebrante ad ovideporre. Il mezzo contiene serina, arginina, leucina e cloruro di magnesio (1) ed è più efficace della stessa emolinfa dell'ospite nel provocare l'ovideposizione. È chiaro che l'uso diretto di tale substrato liquido per la raccolta delle uova facilita enormemente l'allevamento del parassita su dieta artificiale.

Ma vi sono anche altri fattori chimici, fuori dall'emolinfa, che possono avere un ruolo determinante nel dare il via al meccanismo dell'ovideposizione nelle femmine degli entomofagi. Corbet (1971) ha infatti trovato che nelle larve del Piralide *Anagasta kühniella* Zell. è il secreto delle ghiandole mandibolari che scatena i movimenti di ovideposizione nell'Ichneumonide *Nemeritis canescens* Grav. Ed infine si è constatato che possono funzionare come kairomoni per il parassita i feromoni di attrazione sessuale emessi dalle femmine della specie ospite, in particolare quando si tratta di vittime poco mobili ed i cui stadi preimmaginali vivono con gli adulti nello stesso ambiente.

Questi lavori rivestono una notevole importanza in riguardo all'argomento qui trattato perchè, ripetiamo, con la scoperta dei fattori chimici che inducono la ovi- o la larvideposizione da parte delle femmine parassite, sarà possibile, addizionando in piccole dosi le sostanze attrattive nel pabulum, ottenerne direttamente l'infestazione e così eliminare tutte le operazioni di prelievo dei germi, particolarmente gravose, poi, nel caso di entomofagi ovipari.

VI. — ALLEVAMENTO DI ALTRI INSETTI SIMBIONTI ANTAGONISTI SU DIETE ARTIFICIALI.

Riteniamo utile ricordare, in questa sorta di appendice, che, oltre a quella dei parassitoidi, si è tentata, in diverse occasioni e con vario successo, anche la moltiplicazione, con tali tecniche, di altri Esapodi viventi a spese di rappresentanti del regno animale.

Insetti predatori di Insetti.

Data la grossolanità dei rapporti intercorrenti tra questi organismi potrebbe sembrare, almeno teoricamente, che l'allevamento dei predatori su diete artificiali sia, in linea di massima, più facilmente realizzabile (2) che non quella dei parassiti per i quali, oltre ai problemi nutrizionali, dobbiamo risolvere quelli relativi all'ambiente di vita delle loro larve sovente endo-

(1) Successivamente Hegdekar e Arthur (1973) definiscono l'importanza delle percentuali relative dei vari aminoacidi presenti e suggeriscono il probabile effetto sinergico dei carboidrati emolinfatici.

(2) Simmonds (1944) ricorda un vecchio reperto di una larva di II età del Coccinellide *Adalia bipunctata* Muls. allevata, fino allo sfarfallamento dell'immagine, semplicemente con polvere di datteri che già si era rivelata idonea per l'alimentazione degli adulti.

faghe. In realtà, però, i successi finora ottenuti sono alquanto modesti e riguardano soprattutto la possibilità di mantenere attivi per lungo tempo gli adulti, stadi questi che non presentano particolari difficoltà nemmeno per i parassiti.

Tra i Coleotteri predatori, finora, si è tentato di allevare, per quanto mi risulta, solo i Coccinellidi. Smirnof (1958) su una dieta oligidica comprendente tra l'altro, in modesta percentuale, polveri derivate dalla macinazione delle normali prede disseccate (evidentemente con funzione fagostimolante), ha nutrito gli adulti di circa una ventina di specie, sia afidifaghe che coccidifaghe, registrando una longevità di gran lunga superiore che non sulle vittime abituali; purtroppo non è altrettanto esplicito sui risultati conseguiti nell'allevamento delle larve, per le quali si limita a riferire che la dieta va integrata con gelatina di bue e con un ulteriore supplemento di pappa reale ⁽¹⁾. Atallah e Newsom (1966) che hanno saggiato l'efficacia di 16 diete oligidiche per lo sviluppo di *Coleomegilla maculata* De Geer, forma predatrice che conserva ancora la tendenza a nutrirsi di polline e di spore, ne indicano solo una come soddisfacente per la moltiplicazione continuata in laboratorio e per di più non adatta per altri confamiliari. Più recentemente Iperti et alii (1972), esaminata la bibliografia sull'argomento, hanno ripiegato, come del resto si usa con i parassitoidi, su vittime di sostituzione, in particolare sulle uova del Piralide *Anagasta kuehniella* Z. ottenibili facilmente in grande quantità, per moltiplicare forme afidifaghe e coccidifaghe, raggiungendo peraltro il pieno successo solo con alcune specie (Iperti e Trepanier-Blais, 1972). Ferran e Laforge (1975), fatto un bilancio dei risultati ottenuti dai vari Autori nella propagazione di specie predatrici con diete artificiali, provano, con modesti risultati, diete oligidiche per forme nemiche di Afidi. In conclusione dunque, anche in base a dati bibliografici riferiti dai suddetti ricercatori, con i substrati trofici finora saggiati per i Coccinellidi, generalmente o lo sviluppo larvale si è rivelato incompleto o gli adulti sono poi apparsi infecondi ⁽²⁾.

Tra i Neurotteri le ricerche hanno riguardato i Crisopidi. Hagen e Tassan (1965 e 1966) sono riusciti ad ottenere gli adulti di *Chrysopa carnea* Stephens, alimentando fin dalla nascita le larve con goccioline di liquidi nutritivi racchiuse in un sottile involucri di paraffina ⁽³⁾ che viene perforato con le branche del forcipe; la durata dello sviluppo larvale risultò più lunga e le dimensioni raggiunte minori rispetto agli individui alimentati con Afidi, tuttavia gli adulti

⁽¹⁾ I risultati raggiunti da questo Autore, che suscitò davvero grandi speranze per soluzioni a breve scadenza, purtroppo non sono stati in seguito confermati (cfr. Ferran e Laforge, 1975).

⁽²⁾ Nel caso di *Adonia 11-notata* Schn. la dieta artificiale (a base di polvere di fegato, di caseina idrolizzata e lievito di birra) deve essere integrata in qualche misura, tanto per gli stadi preimmaginali che immaginali, con quella naturale a base di Afidi; per ora il suo vantaggio pratico consiste soltanto nel mantenere in vita per lungo tempo grandi masse di adulti senza ricorrere alle normali prede (Ferran e Laforge, 1975).

⁽³⁾ Successi parziali sono stati raggiunti somministrando tali sferule anche a larve predatrici di Coccinellidi.

si mostrarono fecondi. Questo metodo, se pure valido, non è tuttavia pratico. Per semplificare almeno in parte le tecniche, Vanderzant (1969) include i liquidi nutritizi destinati alle larve (ma anche agli adulti) in pezzetti di spugna di cellulosa, cambiati 1-2 volte al giorno e in tal modo ha potuto propagare l'insetto per varie generazioni; la durata della vita larvale è raddoppiata rispetto al testimone (allevato su uova del Gelechiide *Sitotroga cerealella* Oliv.), mentre il peso delle pupe è apparso leggermente superiore; i risultati migliori sono stati raggiunti cambiando il cibo più di frequente.

Altre indicazioni bibliografiche relative agli allevamenti dei Crisopidi e dei Coccinellidi su diete artificiali sono reperibili nel citato lavoro di Ferran e Laforge (1975); in questa sede è sufficiente rilevare che, per quanto concerne gli Insetti predatori, gli studi hanno interessato principalmente queste due famiglie e che ben poco è stato fatto, e con scarso successo, in riguardo ad altri gruppi come i Rincoti, che pure comprendono numerose forme predatrici (per certi Antocoridi cfr. Bronnimann, 1964; Chu, 1969; Mukherjee e Som Choudhry, 1971), e che finora non sono state realizzate applicazioni pratiche.

Ditteri parassiti di Vertebrati.

Il caso più noto di allevamento su dieta artificiale è quello di *Cochliomyia hominivorax* (Coq.), parassita obbligatorio di Vertebrati omeotermi, che è stata moltiplicata con grande facilità, su un substrato costituito da carne di Cavallo e da sangue, in masse tali ⁽¹⁾ da consentire un pieno successo nella lotta contro questo Calliforide mediante la tecnica del maschio sterile. La formulazione di quel pabulum ha rappresentato fin dall'inizio un caso davvero fortunato, perchè successive prove, effettuate con carne di altri animali di costo inferiore, non hanno condotto a risultati altrettanto soddisfacenti. In relazione a ciò Gingrich (1964) ha tentato di realizzare dapprima diete olidiche in condizioni di asepsi, allo scopo di conoscere le reali necessità nutrizionali di queste larve ed in seguito (Gingrich et alii, 1971) diete oligidiche economicamente competitive con quelle a base di carne di Cavallo. Assai efficaci si sono mostrate le diete liquide con cui vengono impregnati adatti substrati di cotone idrofilo, per conferire una certa consistenza alla massa; a parte alcune difficoltà tecniche relative alla conduzione dell'allevamento, tali diete sono apparse molto promettenti sia in riguardo alla riduzione dei costi che al miglioramento qualitativo degli Insetti allevati ⁽²⁾. In conclusione l'imponente lavoro condotto su *C. hominivorax* (Coq.) dimostra chiaramente che non soltanto si possono allevare certi parassiti su svariate diete artificiali, ma che è anche possibile migliorare notevolmente le diete stesse sia dal punto di vista economico che per le caratteristiche degli individui prodotti ⁽³⁾.

(1) Fino al 1972 erano stati prodotti 75 miliardi di individui (Gingrich, 1972).

(2) Viene altresì prospettata la possibilità di variare la dieta in relazione all'età delle larve, mostrando, queste, necessità alquanto diverse nel corso dello sviluppo.

(3) La grande esperienza maturata nel lavoro svolto per affinare le tecniche di allevamento in massa di *Cochliomyia* non sembra sia stata adeguatamente considerata nei tentativi di moltiplicazione su diete artificiali dei parassitoidi; è vero che il suddetto Calliforide si sviluppa a spese di Vertebrati, ma almeno in riguardo ai Ditteri affini, essa appare di notevole utilità.

Anche per un altro Dittero, il Cuterebride *Dermatobia hominis* (L.Jr.) che parimenti determina miasi nel bestiame domestico nell'America centrale e che, come *Cochliomyia*, si vorrebbe combattere con la tecnica del maschio sterile, si è tentato l'allevamento in massa su diete artificiali, rivelatesi però scarsamente efficaci (Banegas, 1968). Per gli Estridi *Hypoderma bovis* L. (Kloft, 1968) e *H. lineatum* Villers (Chamberlain, 1970) che, al contrario delle due specie precedenti, svolgono cicli complicati con lunghe migrazioni nel corpo dei Mammiferi ospiti, si sono avuti solo successi parziali.

Da ultimo mi limito a ricordare che sono stati allevati su diete artificiali anche Metazoi parassiti non compresi nella classe degli Insetti. In conclusione, questa rapida scorsa, pure se non strettamente pertinente all'argomento discusso nel presente lavoro e ben lungi dall'essere completa, serve a sottolineare ulteriormente la larga disponibilità dei parassiti ad essere allevati fuori dagli organismi viventi.

RIASSUNTO

I notevoli progressi compiuti nello studio dei problemi nutrizionali degli Insetti hanno consentito la formulazione di alcune centinaia di diete artificiali, sia olidiche che oligidiche, per l'accrescimento e lo sviluppo di specie aventi i più svariati regimi alimentari. In campo applicato i vantaggi offerti dall'uso di simili substrati trofici sono enormi poichè essi rendono possibile, in breve tempo ed a costo assai basso, la produzione di masse sterminate di entomati da utilizzare per gli scopi più vari.

Nel presente lavoro vengono riuniti e discussi i dati relativi alla moltiplicazione, con tali tecniche, degli Insetti parassiti di altri Esapodi. Finora sono state allevate con vario successo circa una decina di specie tra cui non soltanto entomofagi primitivi poco specializzati, quali i Sarcofagidi, ma anche forme evolute come Iceneumonidi e Calcidoidei; non si è però ancora passati ad applicazioni pratiche di un certo rilievo. Tuttavia l'importanza dell'allevamento dei parassitoidi, nonchè dei predatori, su diete artificiali è eccezionale nei riguardi della lotta biologica ed integrata, per la generalizzazione dei cui programmi è necessaria la disponibilità di masse imponenti di entomofagi a buon mercato e addirittura concorrenziali rispetto agli insetticidi.

La pregiudiziale per la propagazione di questi parassiti su substrati inerti è che le loro larve possano vivere e svilupparsi fuori dall'ambiente vivente. Ciò, oltre ad essere stato verificato in alcuni casi in laboratorio, accade in varia misura anche in natura poichè la generalità dei parassitoidi porta a morte gli ospiti assai prima di avere completato lo sviluppo, e talora fin dagli inizi, così che le loro larve si comportano, per periodi più o meno lunghi, da zoonecrofaghe e da zoosaprofaghe; con le diete artificiali si tratterebbe quindi, semplicemente, di prolungare queste fasi per tutto l'arco della loro vita. Con l'uso di diete olidiche è stato per di più dimostrato che tali larve non hanno esigenze trofiche particolari bensì uguali, praticamente, a quelle della generalità degli Insetti. Inoltre la scoperta e l'individuazione chimica dei kairomoni emessi dall'ospite consente, tramite la loro immissione nella dieta, la contaminazione diretta della stessa da parte delle femmine prolificanti dell'entomofago.

Si ritiene che sia possibile allevare su diete artificiali la generalità delle larve dei parassitoidi, anche quelle che presentano complessi legami con la vittima, dato che tali rapporti non sembrano rispondere ad esigenze specifiche del parassita ma appaiono invece imposti dall'ospite in quanto organismo vivente che reagisce. Le difficoltà non risiedono tanto nel-

l'ottenere lo sfarfallamento di questi entomofagi da siffatti substrati, quanto piuttosto nel ricavare, fin dagli inizi, adulti normalmente fecondi e che conservino intatta la capacità di trovare e parassitizzare le vittime in natura.

Le diete artificiali rappresentano per i parassiti un improvviso balzo all'indietro nell'evoluzione. La vita delle loro larve in questi substrati inerti risulta, specie nelle prime età sulle quali maggiormente si scarica la pressione esercitata dall'ospite, enormemente semplificata, cadendo di colpo tutti i condizionamenti e gli adattamenti derivanti dalla vita parassitaria. Innanzitutto il pabulum, a differenza degli ospiti, caratterizzato da un incessante dinamismo fisiologico, mantiene grosso modo costanti le sue caratteristiche chimiche; poi, *in vitro*, non vi sono da superare quelle reazioni di difesa che *in vivo* spesso compromettono gravemente il parassita ed inoltre il ritmo di sviluppo non sarà vincolato come avviene negli ospiti dal bilancio ormonale di questi ultimi. Se per parassiti poco evoluti, e cioè fisiologicamente poco integrati con le vittime, le differenze dei loro cicli su ospiti, da una parte, e su diete artificiali dall'altra, saranno modeste, per entomofagi ad elevata specializzazione parassitaria tali differenze potranno rivelarsi enormi; in particolare il voltinismo, che è spesso frenato e dipendente da quello dell'ospite, potrà su dieta raggiungere valori elevati. Pertanto al vantaggio primario delle diete per entomofagi, che consiste nella soppressione dell'allevamento del partner, si aggiunge quello di ottenere cicli più rapidi; inoltre, poichè gli ingredienti possono essere facilmente variati, è possibile perfezionare una dieta già idonea adattandola alle richieste specifiche di quelle larve, col risultato di migliorare notevolmente l'efficienza dei relativi adulti.

Possibilities of rearing parasitic entomophagous insects on artificial diets.

S U M M A R Y

The remarkable progress made in the study concerning nutritional problems of insects has permitted the formulation of several hundred artificial diets, both olidic and oligidic, for the growth and development of species with the most diversified feeding habits. In practice, the advantages offered by the use of this type of trophic substrata are enormous since they permit, in brief periods and at low costs, the production of unlimited masses of insects for the most varied purposes.

In this paper the data regarding the multiplication, using these techniques, of insect parasites of other Esapods, are collected and discussed. To date about ten species have been reared with different degrees of success, among which not only primitive, scarcely specialized entomophages, such as Sarcophagidae, but also other more evolved types such as Ichneumonidae and Chalcidoidea; however, large-scale practical applications till has not been tried. In any case, the importance of rearing the parasites, and also predatory insects, on artificial diets is immense with regard to the biological and integrated control. In order to be able to generalize these programs, imposing masses of entomophages at low and even competitive costs compared to insecticides are necessary.

The problem involved in rearing these parasites on inert substrata is that their larvae can live and develop outside the living environment. Besides having verified this in some cases in the laboratory, it also occurs in various ways in nature, since most of the parasites cause their host's death long before having completed their development, and sometimes even from the beginning, so that their larvae behave as zoonecrophagous and zoosaprophagous, for more or less long periods; therefore with the artificial diets it would just be a question of prolonging similar feeding habits throughout their whole life cycle. The use of olidic diets also showed that these larvae did not have any particular trophic requirements, but were practically equal to most insects. Besides the discovery and the chemical identification of the kairomones delivered by the host permits, by their immission into the diets, direct contamination of the latter by the entomophages' proliferating females.

It appears to be possible to rear most of the parasitoid larvae on artificial diets, even those who present complicated relationships with their victim. These relationships, in fact, do not seem to relate to specific requirements of the parasite, but seem to be imposed by the host since this latter is a living organism which reacts. The difficulties do not lie in the development of these entomophages from this type of substratum, but rather in obtaining normally fecund adults, capable of maintaining their ability to find and parasitize their victims in nature.

The artificial diets, represent a sudden leap back in the parasite's evolution. The life of their larvae in these inert substrata (especially during the first stages on which the host exerts its main pressure) proves to be enormously simplified and all the conditionings and adaptations deriving from parasitic life disappear suddenly. First of all the pabulum, in contrast to the hosts, characterized by incessant physiological dynamism, on the whole maintains its chemical characteristics constant. Also, in vitro, it is not necessary to overcome those defence reactions, which, in vivo, often seriously compromise the parasite. Moreover, the development rate would not be bound, as occurs in the hosts by the hormonal balance of the latter. For the not very evolved parasites, i.e. those showing low physiological integration with the victims, the differences in their cycles on the hosts, on one hand, and in the artificial diets, on the other, will be small. On the contrary, for the highly specialized parasitic entomophages, these differences would prove to be enormous. In particular the voltinism, which is often slowed down by the hosts, will be likely to reach high values on a diet. Therefore, the diets for entomophagous insects not only avoid us rearing the partner, but also quicken the life-cycle; also, since the ingredients can be varied easily, it is possible to perfect an already suitable diet, adapting it to the specific requirements of the larvae, with the result of considerably improving the efficiency of the relative adults.

BIBLIOGRAFIA CITATA

- ARTHUR A. P., COPPEL H. C., 1953. — Studies on dipterous of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). - *Can. J. Zool.*, 31: 374-391.
- ARTHUR A. P., HEGDEKAR B. M., ROLLINS L., 1969. — Component of the host haemolymph that induces oviposition in a parasitic insect. - *Nature*, 223: 966-967.
- ARTHUR A. P., HEGDEKAR B. M., BATSCH W. W., 1972. — A chemically defined, synthetic medium that induces oviposition in the parasite *Itoplectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). - *Can. Ent.*, 104: 1251-1258.
- ASHLEY T. R., GONZALES D., LEIGH T. F., 1973. — Reduction in effectiveness of laboratory-reared *Trichogramma*. - *Environ. Ent.*, 2: 1069-1073.
- ATALLAH Y. H., NEWSOM L. D., 1966. — Ecological and nutritional studies on *Coleomegilla maculata* De Geer (Coleoptera: Coccinellidae). I. The development of an artificial diet and a laboratory rearing technique. - *J. econ. Ent.*, 59: 1173-1179.
- BANEGAS A. D., 1968. — Progress report on the rearing of torsalo larvae *Dermatobia hominis* (Diptera: Cuterebridae). - In: *Radiation, radioisotopes and rearing methods in the control of insect pests*, F.A.O./I.A.E.A., Vienna, pp. 7-18.
- BARLOW J. S., 1972. — Some host parasite relationships in fatty acid metabolism. - In: *Insect and mite nutrition*, Amsterdam, pp. 437-451.
- BILIOTTI E., 1955. — Survie des larves endophages des Tachinaires à une mort prématurée de leur hôte par maladie. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, 240: 1021-1023.
- BJEGOVIC P., 1972. — Reproduction of *Ooencyrtus kuwanae* Howard in the killed gypsy moth eggs with radiation. - *Zast. bilja*, 23: 3-6.
- BONNEMAISON L., 1972. — Diapause et superparasitisme chez *Trichogramma evanescens* Westwood. - *Bull. Soc. ent. France*, 77: 122-132.

- BONNOT G., 1970. — Aspects de la nutrition protidique de *Phryxe caudata*. - *Communications du Groupe de Travail « Relations hôte-parasite »*, Versailles, pp. 1-2.
- BONNOT G., DELOBEL B., 1970. — Etude de la nutrition azotée de *Phryxe caudata* R. tachinaire parasite de *Thaumetopoea pityocampa*. I. Comparaison des amino-acidémies de deux hôtes possibles: « *T. pityocampa* » et « *G. mellonella* » a différents stades physiologiques. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 2: 595-605.
- BOULETREAU M., 1968. — Premiers résultats de l'élevage des larves d'un hyménoptère chalcidien (*Pteromalus puparum* L.) sur hémolymphe de lépidoptère. - *Entomophaga*, 13: 217-222.
- , 1972. — Développement et croissance larvaires en conditions semi-artificielles chez un Hyménoptère entomophage: *Pteromalus puparum* L. (Chalc.). - *Entomophaga*, 17: 265-273.
- , 1975. — Aspects nutritionnels de la spécificité parasitaire chez *Pteromalus puparum* (Hym.: Chalcididae). - *Entomophaga*, 20: 193-199.
- BRACKEN G. K., 1965. — Effects of dietary components on fecundity of the parasitoid *Exeristes comstockii* (Cress.) (Hymenoptera: Ichneumonidae). - *Can. Ent.*, 97: 1037-1041.
- BRACKEN G. K., BARLOW J. S., 1967. — Fatty acid composition of *Exeristes comstockii* (Cress.) reared on different hosts. - *Can. J. Zool.*, 45: 57-61.
- BRONNIMANN H., 1964. — Rearing anthocorids on an artificial medium. - *Comm. Inst. biol. Control techn. Bull.*, 4: 147-150.
- BRONSKILL J. F., HOUSE H. L., 1957. — Notes on rearing a pupal endoparasite, *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae), on unnatural food. - *Can. Ent.*, 89: 483
- CALS-USCIATI, J., 1970. — Effets réciproques entre le développement de l'hôte, *Ceratitis capitata* et celui de son parasite, *Opius concolor*. - *Communications du Groupe de Travail « Relations hôte-parasite »*, Versailles, pp. 11-15.
- CAMPADELLI G., 1975. — *Galleria mellonella* L. quale ospite di sostituzione per i Ditteri Larvevoridi. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 32: 203-213.
- CHAMBERLAIN W. F., 1970. — In vitro culture of the common cattle grub for six weeks after hatching. - *Ann. ent. Soc. America*, 63: 1465-1466.
- CHOUMAKOV E. M., 1970. — Problèmes essentiels posés par les élevages de masse, en laboratoire, d'insectes utilisés pour la lutte biologique. - In: *Colloque franco-sovietique sur l'utilisation des entomophages*, Antibes (1968), pp. 9-16.
- CHU Y. I., 1969. — On the bionomics of *Lycotocoris beneficus* (Hiura) and *Xylocoris galactinus* (Fieber) (Anthocoridae, Heteroptera). - *J. Fac. Agr. Kyushu Univ.*, 15: 1-136
- CLARET J., 1973. — Le domaine de la photosensibilité du parasite *Pimpla instigator* F. (Hyménoptère Ichneumonide) lors de l'entrée et de la levée photoperiodiques de la diapause. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, 276: 3163-3166.
- CORBET S. A., 1971. — Mandibular-gland secretion of larvae of the flour moth *Anagasta kuehniella*, contains an epideictic pheromone and elicits oviposition movements in a hymenopteran parasite. - *Nature*, 232: 481-484.
- DAVIS G. R. F., 1972. — Application of insect nutrition in solving general nutrition problems. - In: *Insect and mite nutrition*, Amsterdam, pp. 33-39.
- , 1972. — Refining diets for optimal performance. - In: *Insect and mite nutrition*, Amsterdam, pp. 171-181.
- ETIENNE J., 1973. — Conséquences de l'élevage continu de *Lixophaga diatraeae* (Dipt. Tachinidae) sur l'hôte de remplacement *Galleria mellonella* (Lep. Galleridae). - *Entomophaga*, 18: 195-203.
- FERRAN A., LAFORGE J. P., 1974. — Influence de la suppression de la phase sarcophage dans l'alimentation larvaire de *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (Hym. Bracnidae) sur la morphologie et le potentiel de reproduction des adultes. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 6: 503-509.

- , 1975. — L'alimentation artificielle des larves de la coccinelle aphidiphage *Adonia 11-notata* Schn. (Col. Coccinellidae). I. Étude préliminaire sur le rôle de la fraction azotée (protéines et acides aminés). - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 7: 1-12.
- 1975. — L'alimentation artificielle des larves de la coccinelle aphidiphage *Adonia 11-notata* Schn. (Col. Coccinellidae). II. Influence de différents aliments azotés sur le développement post-embryonnaire. - *Ann. Zool.-Écol. anim.*, 7: 311-319.
- FISHER R. C., GANESALINGAM V. K., 1970. — Changes in the composition of host haemolymph after attack by an insect parasitoid. - *Nature*, 227: 191-192.
- FRIEND W. G., 1968. — The nutritional requirements of Diptera. - In: *Radiation, radioisotopes and rearing methods in the control of insect pests*, I.A.E.A., Vienna, pp. 41-57.
- GINGRICH R. E., 1964. — Nutritional studies on screw-worm larvae with chemically defined media. - *Ann. ent. Soc. America*, 57: 351-360.
- GINGRICH R. E., 1972. — Nutritional studies: their bearing on the development of practical oligidic diets for mass rearing larvae of the screw-worm *Cochliomyia hominivorax*. - In: *Insect and mite nutrition*, Amsterdam, pp. 257-268.
- GINGRICH R. E., GRAHAM A. J., HIGHTOWER B. G., 1971. — Media containing liquefied nutrients for mass-rearing larvae of the screw-worm. - *J. econ. Ent.*, 64: 678-683.
- GRENIER S., BONNOT G., DELOBEL B., 1974. — Définition et mise au point de milieux artificiels pour l'élevage in vitro de *Phryxe caudata* Rond. (Diptera Tachinidae). I. Survie du parasitoïde sur milieux dont la composition est basée sur celle de l'hémolymph de l'hôte. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 6: 511-520.
- , 1975. — Définition et mise au point de milieux artificiels pour l'élevage in vitro de *Phryxe caudata* Rond. (Diptera Tachinidae). II. Croissance et mues larvaires du parasitoïde en milieux définis. - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 7: 13-25.
- HAGEN K. S., TASSAN R. L., 1965. — A method of providing artificial diets to *Chrysopa* larvae. - *J. econ. Ent.*, 58: 999-1000.
- , 1966. — A method of coating droplets of artificial diets with paraffin for feeding *Chrysopa* larvae. - In: *Ecology of aphidiphagous Insects*, Praga, pp. 89-90.
- HEGDEKAR B. M., ARTHUR A. P., 1973. — Host hemolymph chemicals that induce oviposition in the parasite *Itoplectis conquisitor* (Hymenoptera: Ichneumonidae). - *Can. Ent.*, 105: 787-793.
- HENDRY L. B., GREANY P. D., GILL R. J., 1973. — Kairomone mediated host-finding behavior in the parasitic wasp *Orgilus lepidus*. - *Ent. exp. & appl.*, 16: 471-477.
- HOFFMAN J. D., IGNOFFO C. M., LONG S. H., 1973. — In vitro cultivation of an endoparasitic wasp, *Pteromalus puparum*. - *Ann. ent. Soc. America*, 66: 633-634.
- HOFFMAN J. D., IGNOFFO C. M., 1974. — Growth of *Pteromalus puparum* in a semi-synthetic medium. - *Ann. ent. Soc. America*, 67: 524-525.
- HOFFMAN J. D., IGNOFFO C. M., DICKERSON W. A., 1975. — In vitro rearing of the endoparasitic wasp, *Trichogramma pretiosum*. - *Ann. ent. Soc. America*, 68: 335-336.
- HOUSE H. L., 1951, — Notes on the laboratory propagation of *Pseudosarcophaga affinis* (Fall.), a sarcophagid parasite of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). - *31-st Rep. Quebec Soc. Prot. Plant*, 1948-49, pp. 134-137.
- , 1954. — Nutritional studies with *Pseudosarcophaga affinis* (Fall.), a dipterous parasite of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem.). I. A chemically defined medium and aseptic-culture technique. - *Can. J. Zool.*, 32: 331-341.
- , 1958. — Nutritional requirement of Insects associated with animal parasitism. - *Exp. Paras.*, 7: 555-609.

- , 1958. — The nutrition of insects with particular reference to entomophagous parasites. - *Proc. 10-th int. Congr. Ent.*, 2: 139-143.
- , 1966. — The role of nutritional principles in biological control. - *Can. Ent.*, 98: 1121-1134.
- , 1967. — The decreasing occurrence of diapause in the fly *Pseudosarcophaga affinis* through laboratory-reared generations. - *Can. J. Zool.*, 45: 149-153.
- , 1967. — Artificial diets for Insects: a compilation of references with abstracts. - *Inform. Bull. Res. Inst. Canada Dept. Agr.*, 5: 1-163.
- , 1970. — Choice of food by larvae of the fly, *Agria affinis*, related to dietary proportions of nutrients. - *J. Insect Physiol.*, 16: 2041-2050.
- , 1971. — Relations between dietary proportions of nutrients, growth rate, and choice of food in the fly larva *Agria affinis*. - *J. Insect Physiol.*, 17: 1225-1238.
- , 1972. — Inversion in the order of food superiority between temperatures effected by nutrient balance in the fly larva *Agria housei* (Diptera: Sarcophagidae). - *Can. Ent.*, 104: 1559-1564.
- HOUSE H. L., TRAER M. G., 1949. — An artificial food for rearing *Pseudosarcophaga affinis* (Fall.), a parasite of the spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.). - *79-th Ann. Rep. ent. Soc. Ontario* (1948), pp. 1-4.
- HOUSE H. L., BARLOW J. S., 1961. — Effects of different diets of a host, *Agria affinis* (Fall.) (Diptera: Sarcophagidae), on the development of a parasitoid, *Aphaereta pallipes* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). - *Can. Ent.*, 93: 1041-1044.
- HOUSE H. L., SINGH P., BATSCH W. W., 1971. — Artificial diets for insects: a compilation of references with abstracts. - *Inform. Bull. Res. Inst. Canada Dept. Agr.*, 7: 1-156.
- HSIAO T. H., HOLDAWAY F. G., CHIANG H. C., 1966. — Ecological and physiological adaptations in insect parasitism. - *Ent exp. & appl.*, 9: 113-123.
- IPERTI G., TREPANIER-BLAIS N., 1972. — Valeur alimentaire des oeufs d'*Anagasta kuehniella* Z. (Lepid.: Pyralidae) pour une coccinelle aphidiphage: *Adonia 11-notata* Schn. (Col. Coccinellidae), - *Entomophaga*, 17: 437-442.
- IPERTI G., BRUN J., DAUMAL J., 1972. — Possibilité de multiplication des coccinelles coccidiphages et aphidiphages (Coleopt. Coccinellidae) a l'aide d'oeufs d'*Anagasta kuehniella* Z. (Lepidopt. Pyralidae). - *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 4: 555-567.
- JONES R. L., LEWIS W. J., BEROZA M., BIERL B. A., SPARKS A. N., 1973. — Host-seeking stimulants (kairomones) for the egg parasite, *Trichogramma evanescens*. - *Environ. Ent.*, 2: 593-596.
- KLOFT W., 1968. — Physiology of myiasis flies including *Hypoderma bovis*. — In: *Control of livestock insect pests by the sterile-male technique*, Vienna, pp. 75-76.
- KNIPLING E. F., 1966. — Introduction. — In: *Insect colonization and mass production*, Acad. Press, New York, pp. 1-12.
- MELLINI E., 1957. — Studi sui Ditteri Larvevoridi. III. *Sturmia bella* Meig. su *Inachis io* L. (Lepidoptera Nymphalidae). - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 22: 69-98.
- 1961. — Orientamenti e progressi negli studi sul parassitismo degli Insetti entomofagi. - *Atti Acc. Naz. It. Entom., Rendiconti*, 8: 62-85.
- , 1975. — Studi sui Ditteri Larvevoridi. XXV. Sul determinismo ormonale delle influenze esercitate dagli ospiti sui loro parassiti. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 31: 165-203.
- MELLINI E., BARONIO P., 1972. — Ulteriori indagini sulle dimensioni raggiunte dal parassita in rapporto allo stadio in cui l'ospite viene attaccato. - *Boll. Ist. Ent. Univ. Bologna*, 30: 189-204.
- MUKHERJEE A. B., SOM CHOUDHURY A. K., 1971. — Artificial diets for rearing of *Xylocoris flaviceps* (Reuter), a predator on some pests of stored cereals. - *Indian J. Ent.*, 33: 356-358.

- NENON J. P., 1972. — Culture in vitro des embryons d'un hyménoptère endoparasite polyembryonnaire: *Ageniaspis fuscicollis* (= *Encyrtus fuscicollis*). Rôle des hormones de synthèse. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, 274: 3299-3302.
- , 1972. — Culture in vitro des larves d'un Hyménoptère endoparasite polyembryonnaire: *Ageniaspis fuscicollis*. Rôle des hormones de synthèse. - *C.R. Acad. Sc. Paris*, 274: 3409-3412.
- NETTLES W. C., BURKS M. L., 1975. — A substance from *Heliothis virescens* larvae stimulating larviposition by females of the tachinid, *Archytas marmoratus*. - *J. Insect Physiol.*, 21: 965-978.
- RAJENDRAM G. F., HAGEN K. S., 1974. — *Trichogramma* oviposition into artificial substrates. - *Environ. Ent.*, 3, 399-401.
- SALT G., 1938. — Experimental studies in insect parasitism. VI. Host suitability. - *Bull. ent. Res.*, 29: 223-246.
- SHAPIRO V. A., 1956. — The influence of the nutritional regimen of the host on the growth of certain insects parasites. - *Z. Obsch. Biol.*, 17: 218-227.
- SIMMONDS F. J., 1944. — The propagation of insect parasites on unnatural hosts. - *Bull. ent. Res.*, 35: 219-226.
- SINGH P., 1972. — Bibliography of artificial diets for insects and mites. - *New Zealand Dept. sci. & ind. Res., Bull. n. 209*: 3-75.
- , 1974. — Artificial diets for Insects. - *New Zealand Dept. sci. & ind. Res., Bull. n. 214*: 5-96.
- SINGH P., HOUSE H. L., 1970. — Antimicrobial agents: their detrimental effects on size of an insect, *Agria affinis*. - *Can. Ent.*, 102: 1340-1344.
- , 1970. — Antimicrobials: « safe » levels in a synthetic diet of an insect, *Agria affinis*. - *J. Insect Physiol.*, 16: 1769-1782.
- SMIRNOFF W. A., 1958. — An artificial diet for rearing coccinellid beetles. - *Can. Ent.*, 90: 563-565.
- SMITH R. W., 1958. — Parasites of nymphal and adult grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) in western Canada. - *Can. J. Zool.*, 36: 217-262.
- SVOBODA J. A., KAPLANIS J. N., ROBBINS W. E., THOMPSON M. J., 1975. — Recent developments in insect steroid metabolism. - *Ann. Rev. Ent.*, 20: 205-220.
- THOMPSON S. N., 1974. — Aspects of amino acid metabolism and nutrition in the ectoparasitoid wasp, *Exeristes roborator*. - *J. Insect Physiol.*, 20: 1515-1528.
- , 1975. — Defined meridic and holidic diets and aseptic feeding procedures for artificially rearing the ectoparasitoid *Exeristes roborator* (Fabricius). - *Ann. ent. Soc. America*, 68: 220-226.
- THOMPSON S. N., BARLOW J. S., 1970. — The change in fatty acid pattern of *Itopectis conquisitor* (Say) reared on different hosts. - *J. Parasitol.*, 56: 845-846.
- 1972. — Influence of host fatty acid composition on that of Ichneumonoid and Chalcidoid wasps. - *J. Parasit.*, 58: 836-839.
- 1972. — Synthesis of fatty acids by the parasite *Exeristes comstockii* (Hymenopt.) and two hosts, *Galleria mellonella* (Lep.) and *Lucilia sericata* (Dip.). - *Can. J. Zool.*, 50: 1105-1110.
- , 1973. — The inconsistent phospholipid fatty acid composition in an insect parasitoid, *Itopectis conquisitor* (Say) (Hymenoptera: Ichneumonidae). - *Comp. Biochem. Physiol.*, 44: 59-64.
- , 1974. — The fatty acid composition of parasitic Hymenoptera and its possible biological significance. - *Ann. ent. Soc. America*, 67: 627-632.
- VANDERZANT E. S., 1969. — Physical aspects of artificial diets. - *Ent. exp. & appl.*, 12: 642-650.
- , 1969. — An artificial diet for larvae and adults of *Chrysopa carnea*, an insect predator of crop pests. - *J. econ. Ent.*, 62: 256-257.

- VOEGELE J., DAUMAL J., BRUN PH., ONILLON J., 1974. - Action du traitement au froid et aux ultraviolets de l'oeuf d'*Ephestia kuehniella* (Pyralidae) sur le taux de multiplication de *Trichogramma evanescens* et *T. brasiliensis* (Hymenoptera: Trichogrammatidae). - *Entomophaga*, 19: 341-348.
- WIGGLESWORTH V. B., 1972. - The principles of insect physiology. - *Chapman & Hall*, London, 827 pp., 412 figg.
- YAZGAN S., 1972. - A chemically defined synthetic diet and larval nutritional requirements of the endoparasitoid *Itopectis conquisitor* (Hymenoptera). - *J. Insect Physiol.*, 18: 2123-2141.
- YAZGAN S., HOUSE H. L., 1970. - An hymenopterous insect, the parasitoid *Itopectis conquisitor*, reared axenically on a chemically-defined synthetic diet. - *Can. Ent.*, 102: 1304-1306.