

8. Alessandro FILIPPONI. — Studi sugli *Stylocephalidae* (Sporozoa):
III. Fecondità dei Parassiti e grado di infezione dei loro ospiti *.

Riassunto. — Dall'esame del grado di infezione da Stilocefalidi presentato da vari lotti di *Blaps gigas* distribuiti su un'area di circa 100 km. di raggio è risultata una vasta gamma di variabilità sia relativamente alla frequenza che all'intensità di infezione.

Allo scopo di determinare le cause di tale distribuzione, l'A. analizza due serie di fattori, gli uni responsabili della diffusione del parassita da un ospite ad un altro dello stesso lotto, gli altri della sua propagazione da un lotto ad un altro.

Nella prima serie egli distingue dei *fattori costanti* (fecondità del parassita, modalità del suo ciclo biologico, resistenza vitale degli sporozoiti, etologia dell'ospite) e dei *fattori variabili* (umidità ambientale, distruzione delle gamontocisti da parte di muffe, età dell'ospite all'istante dell'invasione del parassita, numero di oocisti ingerite, eliminazione di trofozoiti dall'intestino dell'ospite). Il grado di infezione di ogni lotto di ospiti rappresenta la risultante delle varie combinazioni possibili tra questi fattori.

La propagazione del parassita da un lotto ad un altro è invece affidata a cause puramente accidentali.

Sebbene estremamente variabile, un'infezione da Stilocefalidi presenta tuttavia delle caratteristiche costanti, imposte dalla biologia stessa del parassita. Tali caratteristiche permettono di distinguere una infezione da Stilocefalidi da qualunque altra dovuta a Sporozoi con diverso ciclo biologico.

Résumé. — L'examen du degré d'infection par *Stylocephalidae* de plusieurs lots de *Blaps gigas* répandus sur une étendue de 100 km à peu près, a montré une vaste gamme de variabilité, soit pour ce qui se rapporte à la fréquence, soit par rapport à l'intensité de l'infection.

Dans le but de déterminer les causes de cette distribution, l'Auteur a analysé deux séries de facteurs, les uns responsables de la diffusion du parasite d'un hôte à l'autre du même lot, les autres de sa propagation d'un lot à l'autre.

Dans la première série il signale des *facteurs constants* (fécondité du parasite, modalités de son cycle biologique, résistance vitale des sporozoïtes, éthologie des hôtes) et des *facteurs variables* (humidité du milieu, destruction des gamontocystes par l'action de moisissures, âge de l'hôte au moment

(*) Le esperienze sono state eseguite in parte presso l'Istituto di Zoologia della Università di Roma.

de l'invasion du parasite, nombre des oocystes ingérés, élimination de trophozoïtes de l'intestin de l'hôte). Le degré d'infection de chaque lot d'hôtes représente la résultante des différentes combinaisons possibles entre ces facteurs.

La propagation du parasite d'un lot à l'autre est par contre due à des causes purement accidentelles.

Une infection causée par *Stylocephalidae*, bien qu'extrêmement variable, offre toutefois des caractéristiques constantes, imposées par la même biologie du parasite. Ces caractéristiques permettent de distinguer une infection causée par *Stylocephalidae* de tout autre infection due à des Sporozoaires avec un cycle biologique différent.

Summary. — The degree of infection by *Stylocephalidae* presented by various lots of *Blaps gigas* distributed in an area with a radius of about 100 klms, has showed a great range of variability both as regards the frequency and the intensity of infection.

To determine the causes of this distribution the Author has analyzed two sets of factors: one, responsible for the spread of the parasite from one host to another in the same lot, and the other, responsible for its propagation from one lot to another.

In the first set he distinguishes between the *constant factors* (fecundity of the parasite, type of its biological cycle, vital resistance of sporozoites, ethology of the host) and *variable factors* (humidity of the environment, destruction of the gamontocysts by the molds, age of the host at the time of the invasion by parasite, number of oocysts taken in, elimination of trophozoites from the intestine of the host). The degree of infection in each lot of hosts represents the result of the various combinations possible among these factors.

The propagation of the parasite from one lot to another, on the other hand, is entrusted to purely accidental causes.

Although extremely variable, an infection by *Stylocephalidae*, nevertheless, presents some constant features imposed by the very biology of the parasite itself. These features permit to distinguish an infection by *Stylocephalidae* from the infection due to *Sporozoa* with a different biological cycle.

Zusammenfassung. — Aus der Prüfung des Infektionsgrades durch *Stylocephalidae* auf populationen von *Blaps gigas* die in einer Ausdehnung von etwa 100 km verstreut waren haben sich in Bezug auf Infektionsstärke und prozentsatz verschiedene Resultate ergeben. Um die Ursachen dieser Verschiedenartigkeit zu klären hat Verf. zwei Reihen von Faktoren untersucht, eine Reihe, die für die Verbreitung des Parasiten von einem Wirtstiere zum anderen am gleichen Ort verantwortlich ist, die andere, der die Verbrei-

tung von einem Ort zum anderen zuzuschreiben ist. Unter den Faktoren der ersten Reihe unterscheidet Verf. die *konstanten Faktoren* (Fortpflanzungsvermögen des Parasiten, sein biologischer Zyklus, die Widerstandskraft der Sporozoiten, die Ethologie des Wirtstiere) und die *veränderlichen Faktoren* (Feuchtigkeit der Umgebung, Zerstörung der Gamontencysten durch Pilze, Alter des Wirtstiere zur Zeit des Anfalls durch den Parasiten, Anzahl der in den Darm eingeführten Oocysten und Entfernung der Trophozoiten durch den Darm des Wirtstiere). Der infektionsgrad einer jeden dieser *Blaps gigas* populationen stellen das Ergebnis der verschiedenen Kombinationsmöglichkeiten dieser Faktoren dar. Hingegen ist die Fortpflanzung des parasiten von einer population zur anderen auf den Zufall angewiesen.

Wenn auch die Infektionssymptome durch *Stylocephalidae* sehr verschieden sein können, weist diese Infektion dennoch konstante Kennzeichen auf die mit der Biologie des Parasiten in Zusammenhang stehen. Diese Merkmale gestatten es eine *Stylocephalidae*-Infektion von jeder anderen durch Sporozoen mit verschiedenem biologischen Zyklus zu unterscheiden.

Nella presente nota vengono definite, da un punto di vista quantitativo, le caratteristiche di un'infezione da Stilocefalidi e vengono determinate le cause responsabili.

I dati appresso riportati si riferiscono prevalentemente ad un'unica specie, *Stylocephalus gigas* FILIPPONI ⁽¹⁾, che può essere presa, anche sotto questo punto di vista, come tipica rappresentante di tale gruppo di Sporozoi.

L'indagine comprende i seguenti punti: (1) valutazione della fecondità del parassita, mediante computo delle oocisti derivate da un'unica coppia gamontica; (2) esame del grado di infezione presentato da lotti di ospiti di provenienza diversa; (3) individuazione di alcuni fattori favorevoli e sfavorevoli alla propagazione del parassita; (4) analisi delle combinazioni dei vari fattori e caratteristiche fondamentali di un'infezione da Stilocefalidi.

1. - FECONDITÀ DEL PARASSITA.

Ad eccezione dei dati riferiti da WESCHENFELDER ⁽²⁾ relativi ad *Actinocephalus parvus* non esistono, per quanto mi consta, in tutta la bibliografia delle Gregarine altri ragguagli precisi circa il numero di oocisti derivate da un'unica coppia gamontica, limitandosi gli AA. ad espressioni generiche.

Il conteggio è stato eseguito sulle oocisti provenienti da una gamontocisti di *S. gigas* di 1014 μ di diametro. Poichè il valore medio di tale grandezza

in un campione sufficientemente rappresentativo di *S. gigas* è di μ 856,87132 $\pm$ 2,402 con valori minimi di 600 μ e valori massimi di 1080 μ , la gamontocisti in questione dev'essere considerata piuttosto grande ma non massima.

La gamontocisti appena sporificata è stata immersa in una goccia di olio di oliva. Tale accorgimento si è dimostrato utilissimo, eliminando il pericolo della perdita delle oocisti durante le manipolazioni per il conteggio. Operando al binoculare da dissezione, si distaccavano con microspilli brevi frammenti di catenelle oocistiche della lunghezza di 100-200 μ . Ciascuno di questi frammenti veniva quindi posto su vetrino portaoggetto su cui si era spalmata una piccola goccia di olio, e le singole oocisti venivano contate direttamente al microscopio ad un ingrandimento opportuno (*).

Il numero delle oocisti è risultato pari a 93972. L'approssimazione può considerarsi dell'ordine di grandezza di 100 unità. Poichè la lunghezza media delle oocisti è di μ 15,876574 $\pm$ 0,00703, la catena di oocisti (**) raggiunge la sorprendente lunghezza di circa m. 1,50. Contenendo ogni oocisti 8 sporozoit, un insetto ingerendo il contenuto di una tale gamontocisti introdurrà all'incirca 800.000 parassiti.

Il numero di oocisti in gamontocisti di diverso volume, già ad una semplice valutazione ad occhio appare differente. Per ragioni comprensibili si è dovuto rinunciare ad un controllo numerico. Del resto WESCHENFENDER ⁽⁵⁾ su materiale meno prolifico, *Actinocephalus parvus*, aveva già dimostrato che il numero di oocisti è « grosso modo » proporzionale al volume della gamontocisti (474 oocisti per una gamontocisti di 62 μ di diametro, 1902 oocisti per una gamontocisti di 112 μ di diametro). Inoltre, per quanto riguarda *S. gigas*, avendo dimostrato in altro lavoro ⁽⁶⁾ che non esiste correlazione tra volume delle gamontocisti e dimensioni delle oocisti, è verosimile che una certa

(*) Il metodo per sè dà la massima garanzia, limitando le cause di errore unicamente alle condizioni di stanchezza dell'operatore. Ad evitarle si operava per circa mezz'ora al giorno. Il conteggio si è protratto per oltre due mesi ed è stato possibile soltanto grazie alla collaborazione del dott. MARIA D'AMBROSI, che qui vivamente ringrazio.

(**) La catena oocistica è avvolta a spirale. Tuttavia, dipanandola, non si ottiene un unico filamento, in quanto di tratto in tratto una stessa gocciolina di sostanza cementante tien saldate non due ma quattro oocisti. Ne risulta, districando il groviglio « um einen Spiralfaden und nicht, wie LÉGER angibt, um Einzelfäden und geschlossene » in modo da assumere l'aspetto di piccoli anelli.

GRELL ⁽³⁾, a proposito delle catene oocistiche di *S. longicollis*, sostiene trattarsi « um einen Spiralfaden und nicht, wie LÉGER angibt, um Einzelfäden und geschlossene Ringe ». In realtà, a me sembra, LÉGER ⁽⁴⁾ afferma fondamentalmente la stessa cosa da me constatata. Dice infatti « la chaîne s'incurve et forme une hélice ou parfois même un anneau ». In sostanza il filamento è a spirale ma poichè ripetutamente si interseca, nei punti di incrocio si salda. Come caso limite la saldatura può avvenire tra le oocisti corrispondenti di due spirali consecutive; da qui derivano gli anelli.

correlazione debba esistere invece tra volume della gamontocisti e numero delle oocisti.

Il conteggio delle oocisti ci permette anche di valutare il numero di divisioni progamiche. Poichè $2^{17} > 93972 > 2^{16}$, sia per il gamonte ♀ che per il gamonte ♂ bisogna ammettere almeno 17 divisioni. Lo scarto tra il numero di oocisti prodottesi e quello dei gameti teoricamente prevedibile ($2^{17} = 151072$) può trovare spiegazione nel fatto che non tutti i gameti si sono copulati. E' noto infatti (7) che negli Stilocefalidi si formano due sorta di androgameti, gli uni fertili gli altri, meno abbondanti dei primi, sterili. Evidentemente, anche nel caso che nei gamonti dei due sessi (i quali erano all'incirca delle stesse dimensioni) si fosse verificato un egual numero di divisioni progamiche, il numero degli zigoti possibili sarebbe stato limitato dal numero di androgameti fertili.

2. - GRADO DI INFEZIONE DELL'OSPITE.

Quantitativamente due *elementi* possiamo distinguere in una infezione: la *frequenza* e l'*intensità*.

Allo scopo di valutare l'entità dell'una e dell'altra sono state effettuate le seguenti osservazioni ed esperienze.

1) Trenta esemplari di *Blaps gigas*, catturati nel settembre 1948 in una cantina di Castel S. Pietro (Lazio) furono sacrificati subito dopo la cattura ed i loro intestini dissezionati. Solo 7 erano infetti ed il numero di parassiti presenti in ciascuno di essi, tutti riferibili a *S. gigas*, oscillava da poche unità ad un centinaio.

2) Nel marzo dell'anno successivo nella stalla di una casa colonica non molto distante dalla precedente località furono raccolti 42 esemplari dell'ospite. Il lotto fu diviso in due gruppi di 21 individui. Il primo fu trattato come nel primo caso. Tutti gli esemplari risultarono abbondantemente parassitati, ciascuno con un numero di Stilocefalidi non inferiore al centinaio e spesso di molto superiore. I parassiti si presentavano a gruppetti di grandezze ed età differenti, tra loro discontinue, corrispondenti a distinte ingestioni di oocisti. Il secondo gruppo di insetti fu invece posto in gabbia di raccolta (8) e le gamontocisti emesse controllate accuratamente fino ad esaurimento (*). Furono raccolte complessivamente 300 gamontocisti di *S. gigas* con un numero medio di 15 gamontocisti per ospite (cioè 15 coppie gamontiche). Poichè la scelta degli individui per la separazione nei due gruppi era

(*) Le ultime gamontocisti furono emesse dopo 7 mesi. Essendo assolutamente da escludersi la possibilità di reinfezione nella gabbia di raccolta bisogna ammettere che lo sviluppo trofico in *S. gigas* possa protrarsi anche per un periodo superiore a 7 mesi.

stata fatta a caso, è presumibile che inizialmente gli esemplari del secondo gruppo possedessero eguale frequenza ed intensità di infezione di quella constatata direttamente nel primo gruppo. Il numero più basso di parassiti rinvenuti in questo secondo caso fa dunque supporre che molti di essi, a parte l'eventuale disparità tra i due sessi presenti nello stesso ospite, periscano prima di raggiungere la maturità sessuale.

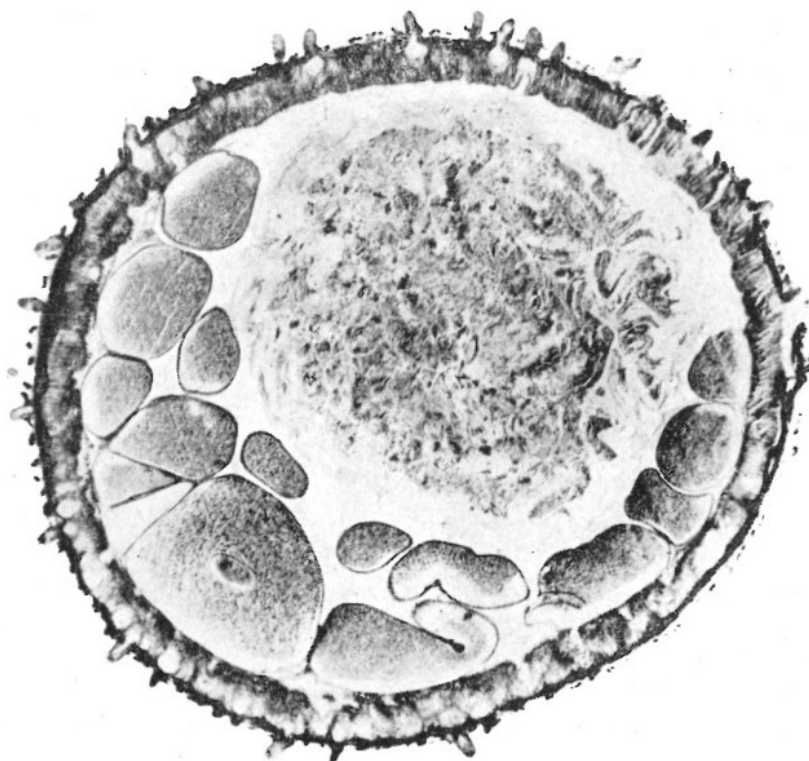


Fig. 1

Sezione trasversa di intestino medio di *Blaps gigas*.
L'ospite contiene soltanto gamonti prossimi a
incistarsi (40 ×).

3) Un lotto di 15 esemplari rinvenuti contemporaneamente ai precedenti in un'altra stalla della stessa zona presentavano un'infezione mista. Dopo sei mesi gli insetti avevano deposto 90 gamontocisti di *S. gigas* e 66 gamontocisti di *S. reticulatus*.

4) Nel dicembre 1949 furono catturati al Colosseo (Roma) 110 esemplari di *Blaps gigas* e posti in gabbia di raccolta. In 5 mesi sono state complessivamente raccolte 520 gamontocisti di *S. reticulatus* e solo 15 gamontocisti di *S. gigas*.

5) Da un androne sito al 10° km. dell'Appia antica, appartenente ai ruderi di una antica villa romana ed attualmente adibito a ricovero occa-

sionale di animali domestici, furono raccolti a più riprese nel corso di due anni un centinaio di esemplari di *Blaps gigas*. Nessuno di essi apparve mai infetto da Stilocefalidi.

6) Infine alcuni esemplari di *Blaps gigas* furono infettati sperimentalmente. Dopo qualche giorno di digiuno, ciascun insetto veniva isolato e costretto a mangiare un pezzettino di mela contaminato con i filamenti oocistici di tre diverse gamontocisti di *S. gigas* (all'incirca 1.500.000 parassiti). Si controllava che l'ingestione fosse completa. Ciò fu ripetuto di settimana in settimana per 10 volte consecutive, con un complesso quindi di 15 milioni di parassiti ingeriti. A tempi diversi dall'ultima ingestione i singoli insetti furono sacrificati ed i loro intestini in parte inclusi, in parte dissezionati per un esame diretto. Il *mesenteron* di questi insetti per almeno tre quarti era letteralmente infarcito di parassiti delle varie età con un complesso valutabile ad alcune migliaia. Un numero quindi enormemente superiore a quello in ogni caso riscontrato in natura, ma anche di gran lunga inferiore al numero di parassiti ingeriti.

Dalle osservazioni ed esperienze riferite possiamo dedurre le seguenti constatazioni.

1) La frequenza di infezione varia moltissimo a seconda della località di provenienza dei lotti esaminati, potendo raggiungere in alcuni casi la totalità degli individui.

2) Parimenti estremamente fluttuante si presenta l'intensità di infezione nei singoli individui infetti. Il numero medio più frequente è dell'ordine di alcune decine. Il numero massimo da me osservato in natura è di alcune centinaia. Mediante infezione sperimentale si possono raggiungere alcune migliaia senza compromettere la vitalità dell'ospite.

3) L'*omopoliparassitismo* è una condizione normale. Solo in tre casi tra le molte centinaia di *Blaps gigas* dissezionate mi è occorso di osservare un unico gamonte in esemplari mantenuti in gabbia di raccolta. Si trattava però evidentemente di individui che si erano già scaricati degli altri parassiti e a cui era stato d'altro canto preclusa la possibilità di reinfettarsi.

4) Esistono in natura lotti di *Blaps gigas* esclusivamente infetti da *S. gigas*, altri infetti soltanto da *S. reticulatus*, altri ad infezione mista con prevalenza dell'una o dell'altra specie o con rapporti pressochè identici tra le due specie. Infine esistono lotti completamente indenni da Stilocefalidi, sebbene provengano da località situate in vicinanza di altre infette.

5) Molti parassiti vengono eliminati prima che raggiungano la maturità sessuale.

6) Gli insetti infetti presentano in genere gruppi di parassiti di varie età tra loro discontinue corrispondenti ai diversi intervalli di tempo intercorsi tra una ingestione e l'altra di oocisti, i quali sono ovviamente regolati dal puro caso.

3. - FATTORI FAVOREVOLI E SFAVOREVOLI ALLA PROPAGAZIONE DEL PARASSITA.

Poichè l'infezione da Stilocefalidi viene contratta mediante ingestione di oocisti da parte dell'ospite, si tratta nel nostro caso di una *propagazione puramente passiva*. Quali cause entrano in gioco nel determinare una distribuzione del parassita così varia qual'è quella risultata dall'analisi del paragrafo precedente?

1) *Fattori favorevoli.*

Esiste un primo fattore biologico favorevole alla propagazione del parassita ed è la sua prodigiosa fecondità. Il numero di oocisti prodotto da un'unica coppia gamontica di *S. gigas* non rappresenta soltanto il caso di massima fecondità fin'ora segnalato per le Policistidee, ma può essere considerato eccezionale per l'intero gruppo di Protozoi limitatamente, s'intende, alla riproduzione gamica.

Un secondo fattore biologico anch'esso relativo al parassita e favorevole alla sua propagazione è rappresentato dalla resistenza vitale degli sporozoti all'interno delle oocisti.

Gruppi di oocisti provenienti da diverse gamontocisti sporificate contemporaneamente, furono sottoposte per i primi 5 giorni consecutivi e successivamente di 10 in 10 giorni all'azione del complesso enzimatico intestinale dell'ospite. Le oocisti furono mantenute a secco ed a temperatura ambiente. Dal 2° giorno dalla sporificazione fino ad oggi (160° giorno) tutte le prove sono risultate positive, vale a dire, con apertura delle oocisti e fuoriuscita di sporozoi vitali. Ho anche sperimentato su oocisti di varie gamontocisti che conservavo in laboratorio da circa 2 anni, ma con esito negativo, e cioè, immediata apertura della parete oocistica ma senza fuoriuscita di sporozoi. Le oocisti di *S. gigas* permangono dunque infettanti per un periodo almeno superiore a 5 mesi.

Un terzo fattore favorevole riguarda invece l'etologia dell'ospite. I Tenebrionidi del genere *Blaps* i quali vivono in ambienti già di per sé confinati come cantine, ripostigli, androni oscuri sono soliti, nell'interno di questi, ad aggregarsi in numero piuttosto elevato sotto la stessa pietra o tavola o nella stessa spaccatura. Da una fessura murale del Colosseo si estrassero in una sola volta 68 *Blaps gigas* e 74 *Blaps mucronata*. Evidentemente tali abitudini gregarie dell'ospite agevolano il propagarsi del parassita da un individuo all'altro dello stesso lotto.

2) *Fattori limitanti la frequenza d'infezione.*

Data l'esistenza dei fattori sopra considerati, una volta che il parassita abbia raggiunto un certo lotto di *Blaps* sarebbe da attendersi la completa estensione dell'infezione a tutti gli esemplari. Ciò in effetti si verifica ma solo in qualche caso. Negli altri casi quali fattori intervengono a limitare la diffusione del parassita?

Cerchiamo anzitutto di valutare quale percentuale delle gamontocisti emesse raggiunga in natura la sporificazione.

Ho reso noto in un lavoro precedente ⁽⁹⁾ come sterilizzando con bagno in alcool le gamontocisti prima di porle a sporificare in camera umida sterile si può ottenere la sporificazione praticamente della totalità delle gamontocisti. Al contrario, omettendo la sterilizzazione si raggiunge nel più favorevole dei casi l'1 o 2% di sporificazioni. La quasi totale distruzione delle gamontocisti è causata dalle muffe, come è chiaramente dimostrato anche dalla seguente esperienza. Una serie di gamontocisti dal bagno in alcool vengono direttamente passate in provetta su terreno culturale sterile all'agar carota. Dopo due giorni anneriscono e nel termine di una settimana tutte le gamontocisti hanno sporificato. Una seconda serie, dopo lavaggio in soluzione fisiologica, senza bagno in alcool vengono poste su identico terreno culturale. Nessun annerimento dopo due giorni. Dall'involucro di ciascuna gamontocisti si ergono delle ife miceliche che in pochi giorni distruggono completamente le gamontocisti, invadendo l'intero terreno culturale. Con ogni verosimiglianza la stessa sorte all'incirca toccherà alle gamontocisti deposte dagli insetti negli androni oscuri ed umidi in cui abitualmente vivono. Anzi in tal caso la percentuale delle gamontocisti distrutte potrebbe essere aumentata da quelle meccanicamente schiacciate dagli insetti nei loro movimenti.

Una pressochè identica falcidia è riservata alle gamontocisti eventualmente deposte dalle *Blaps* nelle loro escursioni notturne in cerca di cibo. Qui oltre varie cause accidentali gioca essenzialmente il disseccamento diurno (*).

(*) Circa l'influenza dell'umidità sullo sviluppo delle gamontocisti di Gregarine esistono dati discordanti nella Bibliografia. A proposito di *Actinocephalus parvus* WESCHENFELDER ⁽¹⁰⁾ osserva: « die Cysten müssen in der Natur in lufttrockner Umgebung ihre Entwicklung vollziehen; sie sind vor Austrocknung durch ihre starke Membran geschützt. Es ist deshalb unnötig, sie in Feuchtkammern zu bringen ». Al contrario ALLEGRE ⁽¹¹⁾, avendo messo a sporificare gamontocisti di *Gregarina rigida* in una serie di camere a diverso grado di umidità avrebbe constatato che, affinché la sporificazione avvenga, è necessaria un'umidità relativa compresa tra il 50 e il 90 %; al di sopra e al di sotto di tali valori essa non avviene. Ho eseguito esperienze analoghe per *S. gigas* con i seguenti risultati. Se le gamontocisti sono state previamente sterilizzate anche al 100 % di umidità relativa si sviluppano totalmente. In camera perfettamente secca arrestano tutte il loro sviluppo, se poste ivi subito dopo l'emis-

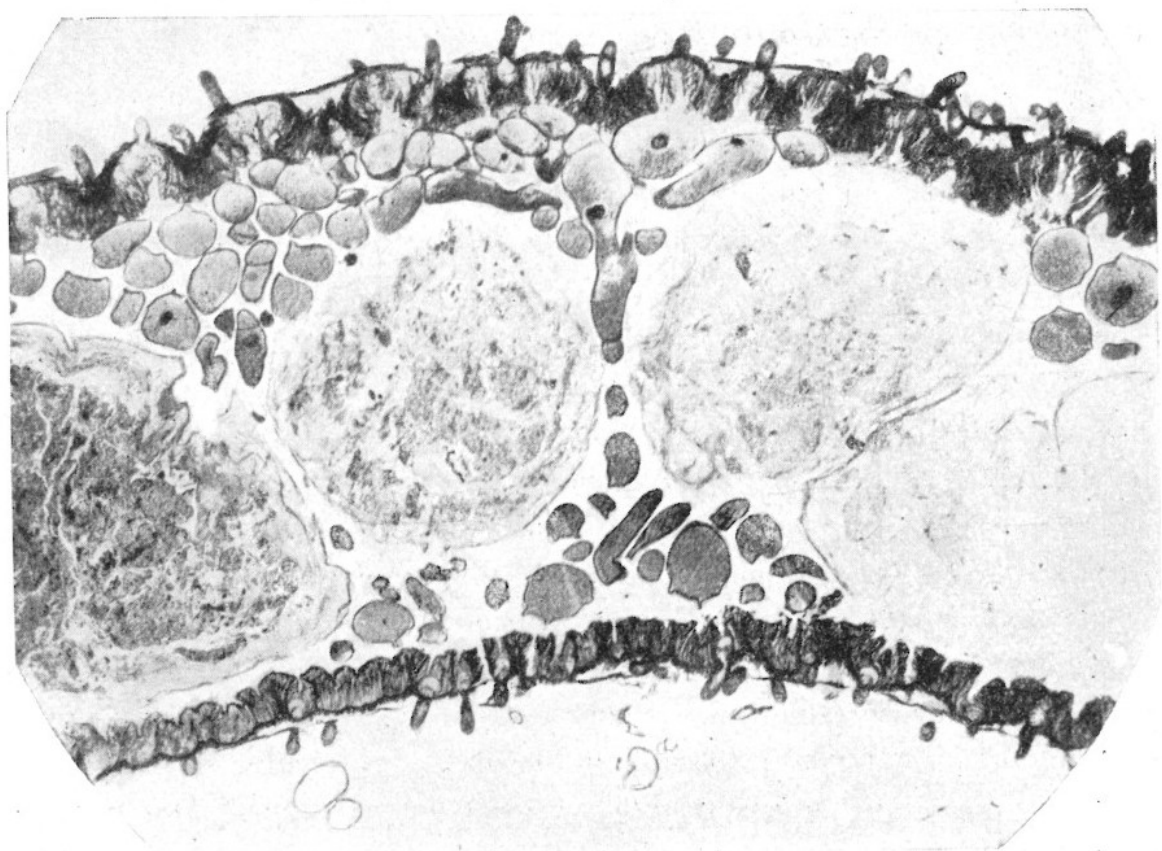


Fig. 2

Sezione longitudinale di intestino medio di *Blaps mucronata* infetto da Stilocefalidi. Sono presenti trofozoiti enterozoici di varie età. Osservare la caratteristica distribuz. dei parassiti nelle zone fluidificate del bolo alimentare (40×)

Poichè la combinazione dei fattori favorevoli e sfavorevoli allo sviluppo delle gamontocisti può essere diverso da luogo a luogo è evidente che tali fattori potranno incidere in grado diverso sulla propagazione del parassita a seconda dei casi.

Altra causa che, sebbene in grado minore, può influire, limitandola, sulla diffusione del parassita è l'età dell'insetto al momento dell'invasione del parassita. Una immagine di *Blaps gigas*, mantenuta in condizioni otti-

sione dall'insetto. Se invece antecedentemente vengono mantenute per un certo periodo in camera umida e quindi poste a secco, una piccola percentuale di gamontocisti continua la maturazione già dopo un solo giorno di permanenza in camera umida. La percentuale aumenta col prolungarsi di tale periodo; dopo 4 giorni di camera umida praticamente tutte le gamontocisti proseguono nel loro sviluppo.

L'interpretazione mi pare ovvia. Le gamontocisti per svilupparsi hanno bisogno di un ambiente umido, finchè almeno la consistenza della parete non sia in grado di impedire il disseccamento. Le gamontocisti di *Actinocephalus parvus*, munite tra l'altro di un alone gelatinoso, possono anche resistere alla siccità subito dopo la loro emissione dall'insetto; in altre specie invece (Stilocefalidi ad esempio) occorre un certo periodo prima che la parete si consolidi. I reperti di ALLEGRE su *Gregarina rigida* rappresentano probabilmente il risultato di due fattori diversi, l'umidità e lo sviluppo di muffe.

mali, può vivere anche per 9 anni ⁽¹²⁾; ma la durata media della vita, in condizioni naturali, è senza dubbio di molto inferiore. La durata del periodo trofico di *S. gigas*, secondo quanto è stato precedentemente osservato, può anche superare i 7 mesi. Poichè una volta penetrato, mediante oocisti, nell'intestino del suo ospite il parassita non potrà ulteriormente propagarsi se non al termine del suo periodo trofico, l'eventuale morte dell'ospite prima di questo periodo arresterà il propagarsi del parassita. Il seguente dato può fornire un'idea dell'entità delle perdite di Stilocefalidi per tale causa. Su 120 individui morti nei miei allevamenti oltre l'80% conteneva un numero vario di stadi trofici di Stilocefalidi delle diverse età. Il numero a volte esiguo di parassiti presenti faceva assolutamente escludere che la morte dell'insetto fosse causata dall'infezione stessa.

3) *Fattori limitanti l'intensità d'infezione.*

I fattori fin'ora esaminati, se possono limitare in diverso grado la frequenza di infezione, non hanno alcun effetto sulla sua intensità. Se ora una *Blaps* ingerendo le oocisti di una sola gamontocisti può introdurre ben 800.000 parassiti, come spiegare un numero medio di parassiti molto esiguo?

Anzitutto l'ingestione di tutte le oocisti di una gamontocisti da parte dell'insetto non dev'essere facile a verificarsi in natura. A sporificazione avvenuta i filamenti di oocisti facilmente si spezzano e si disperdono. Basta aprire con poca cautela una capsula contenente gamontocisti già sporificate per vedere, nel caso che la capsula non sia più bagnata, volar via leggeri i ciuffi di oocisti. La dispersione dei filamenti oocistici è senza dubbio in natura il caso più frequente.

In secondo luogo molti parassiti vengono ulteriormente eliminati dopo aver raggiunto l'intestino dell'ospite.

Nel caso dell'infezione sperimentale sopra citato è chiaro che 15 milioni di Stilocefalidi a completo sviluppo non potrebbero neppure materialmente essere contenuti nell'intestino medio dell'ospite. Le esigenze trofiche del parassita e l'equilibrio biologico tra parassita e ospite debbono limitare ad un valore ancora di gran lunga inferiore il numero massimo consentito.

Ma come risulta dalle esperienze sopra riferite una certa eliminazione di parassiti avviene anche in casi di infezioni non eccessivamente intense. Il fatto trova conferma nelle due seguenti constatazioni. Nelle sezioni di intestini infetti è facile osservare dei giovani trofozoiti epicitozoici (*), provvisti ancora del loro epimerite, completamente distaccati dall'epitelio

(*) Aderenti all'epitelio intestinale dell'ospite mediante l'epimerite ⁽¹³⁾.

intestinale dell'ospite. E' assai verosimile che tali trofozoiti non possano continuare in simili condizioni il loro sviluppo e vengano eliminati. Inoltre, esaminando quotidianamente le feci di un lotto tenuto in gabbia di raccolta, di tanto in tanto si constata l'emissione di gruppetti di trofozoiti enterozoici morti (**). Il fenomeno si verifica anche in un caso di infezione poco intensa e non è in rapporto con l'inanizione dell'ospite. Avendo diviso un lotto di *Blaps* infette in due gruppi di cui uno a digiuno per un mese e l'altro a nutrizione normale, non si è notata differenza alcuna tra i due gruppi circa l'emissione di trofozoiti morti. Il fatto è stato osservato anche in altre Gregarine, come ad esempio in *Gregarina blattarum* da SPRAGUE (15). Si tratta in entrambi i casi di una eliminazione provocata dalla reazione dell'ospite? e attraverso quale meccanismo? Non posseggo al momento elementi sufficienti per rispondere a tali quesiti.

4. - COMBINAZIONI TRA I VARI FATTORI E CARATTERISTICHE FONDAMENTALI DI UN'INFEZIONE DA STILOCEFALIDI.

Allo scopo di chiarire il complesso gioco di cause responsabili della vasta gamma di variabilità nel grado di infezione da Stilocefalidi riscontrata in lotti di *Blaps gigas* distribuiti su un'area di appena 100 km. di raggio, quale è quella da me esaminata, occorre analizzare distintamente due ordini di fatti: la diffusione del parassita da un ospite all'altro dello stesso lotto e la propagazione di esso da un lotto ad un altro.

Una volta che il parassita abbia raggiunto un certo lotto di *Blaps gigas*, data l'abitudine gregaria di questi tenderà a diffondersi sempre più tra i vari individui. Teoricamente il limite massimo del grado di infezione è solo imposto dalle esigenze trofiche dei parassiti e dall'equilibrio biologico tra parassita e ospite.

Una condizione simile può ottenersi in laboratorio mediante infezione sperimentale o, come aveva già fatto SCHNEIDER (16) conservando a lungo in un terrario un lotto di ospiti infetti.

In natura però ciò non si verifica. Il grado maggiore o minore nella frequenza e nella intensità di infezione è funzione di volta in volta di un complesso di fattori biologici, etologici, ambientali interessanti sia il parassita che l'ospite.

Alcuni di questi fattori, ai fini della propagazione del parassita, possiamo considerarli *costanti*, quali, ad esempio, la fecondità del parassita, il suo

(**) Liberi nel lume intestinale dopo il distacco dall'epitelio (14).

ciclo biologico, la resistenza vitale degli sporozoiti, l'etologia dell'ospite; altri fattori quali l'umidità, la distruzione delle gamontocisti da parte di muffe, l'età dell'ospite all'istante dell'invasione del parassita, il numero di oocisti ingerite, l'eliminazione di stadi trofici dall'intestino dell'ospite, sono *variabili* e possono presentarsi nella loro forma *favorevole* o *sfavorevole*. Ne risulterà un numero rilevante di combinazioni possibili che giustifica l'estrema variabilità dei dati riscontrati in natura.

L'analisi ora fatta non è peraltro sufficiente a spiegarci perchè mai ad esempio nel lotto « *Colosseo* » il rapporto tra *S. reticulatus* e *S. gigas* sia di 100 : 3. Infatti, a parità di condizioni, la fecondità di *S. reticulatus* è inferiore a quella di *S. gigas*, per cui il rapporto dovrebbe essere a vantaggio di quest'ultimo. Nè si può invocare l'intervento di una concorrenza vitale tra le due specie parassite, favorevole a *S. reticulatus*, in quanto in altri lotti ad infezione mista il rapporto è circa eguale all'unità o raggiunge valori inferiori.

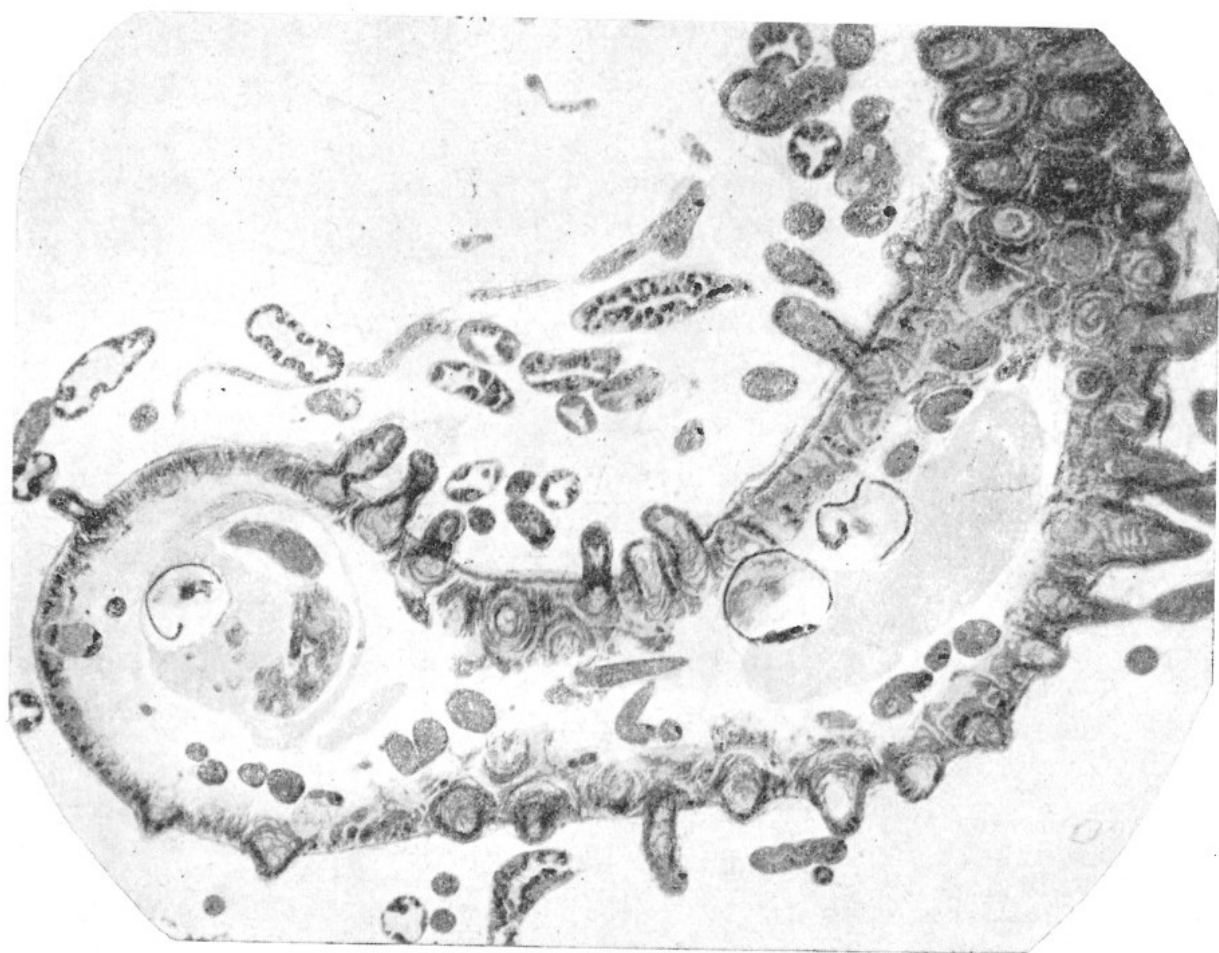


Fig. 3

Sezione longitudinale di intestino medio di *Laemostenus algerinus* infetto da *Actinocephalus histolyticus*. Sono contemporaneamente presenti gamontocisti, gamonti, trofozoiti enterozoici e trofozoiti epicytozoici. Tipica la discontinuità tra i vari stadi (40×).

Parimenti inspiegabile resterebbe la presenza di un lotto di *Blaps gigas* mostratosi per il periodo di due anni costantemente indenne da Stilocefalidi, sebbene situato a breve distanza da un altro infetto ed in pressoché identiche condizioni ambientali.

La ragione di ciò va ricercata in un secondo ordine di cause che interferendo con le precedenti regolano la propagazione del parassita da un lotto ad un altro.

I Tenebrionidi del genere *Blaps* sono insetti piuttosto sedentari. Probabilmente, non ostante la loro longevità, permangono nel luogo di origine, semprechè perdurino in queste propizie condizioni di vita. Ne risulta la tendenza a costituire degli aggregati, isolati gli uni dagli altri, di cui gli androni sotterranei dei ruderi monumentali dell'antica Roma ci forniscono dei classici esempi.

In tali condizioni la propagazione del parassita da un lotto ad un altro resterà affidata a cause puramente accidentali. Potremmo prendere in considerazione tra queste il trasporto passivo delle oocisti da parte di altri Artropodi (*) e la migrazione forzata dell'ospite per le mutate condizioni della località di origine (**).

Sulla base di queste considerazioni mi pare sia facile rendersi conto della possibile esistenza di lotti di *Blaps gigas* affatto indenni da Stilocefalidi o in cui l'importazione di una delle due specie sia avvenuta soltanto di recente per cui non si è ancora sufficientemente propagata, come è lecito supporre, nel caso del lotto « Colosseo », per *S. gigas*.

Per quanto estremamente fluttuante possa presentarsi in natura il grado di un'infezione da Stilocefalidi, esistono tuttavia dei limiti costantemente rispettati imposti dalla biologia stessa dei parassiti. Ed è appunto nell'ambito di questi limiti che è possibile individuare delle caratteristiche peculiari che ci permettano di discriminare un'infezione da Stilocefalidi da quella dovuta ad altri Sporozoi con differente ciclo biologico. Esse possono ridursi a tre:

1) I parassiti, almeno negli stadi giovanili, non sono mai isolati, vale a dire l'omopoliparassitismo è di norma. Questa caratteristica, comune del

(*) Il fenomeno è reso possibile dall'alta specificità della sostanza che salda l'involucro oocistico lungo la linea di sutura nei confronti degli enzimi intestinali del proprio ospite, per cui le oocisti per caso ingerite da altri artropodi saranno, in genere, rimesse intatte con le feci di questi. Il trasporto può essere anche effettuato senza ingestione per semplice adesione dei filamenti oocistici a qualche appendice esterna dell'artropodo stesso. Effettivamente ho potuto osservare in natura l'una e l'altra modalità di trasporto, sebbene per altre Gregarine.

(**) Ad esempio gli androni del Colosseo costituivano una autentica « riserva » di Tenebrionidi. Tra *Blaps gigas* e *B. mucronata* mi hanno fornito in due anni quasi un migliaio di esemplari, sebbene mi fossi sempre preoccupato di non provocare un depauperamento eccessivo. Dopo le accurate pulizie effettuate in occasione dell'Anno Santo sono restati temporaneamente pressoché defaunati.

resto a tutte le Gregarine e che suggerì ai primi ricercatori tale termine, deriva dal fatto che una sola oocisti assicura la presenza di 8 parassiti; inoltre l'ingestione di più oocisti è il caso più frequente in natura. L'affermazione, a rigore, vale solo per l'inizio dell'infezione, in quanto, come è stato precedentemente osservato, verso la fine del periodo trofico possono anche rinvenirsi esemplari isolati; tuttavia ciò avviene di rado.

2) Il numero di parassiti, anche in stadi avanzati dell'infezione, può variare da poche unità a qualche migliaio. Questa seconda caratteristica è conseguente all'assenza di riproduzioni schizogoniche, per cui il numero di parassiti presenti dipenderà unicamente dal numero di oocisti ingerite. Al contrario, nel caso di altri Sporozoi, nel cui ciclo vitale compaiono riproduzioni schizogoniche, l'infezione tende in genere a divenire massiva, a meno che non intervengano reazioni efficaci da parte dell'ospite.

3) Se sono presenti parassiti di diversa età, come più comunemente avviene, gli intervalli tra queste, in condizioni naturali, sono tipicamente irregolari, essendo evidentemente altamente improbabile che in natura si verifichi una successione regolarmente continua di ingestioni di oocisti.

Così enunciate le caratteristiche di un'infezione di *Stilococefalidi* sono nettamente contrapponibili a quelle riscontrabili in un'infezione da *Schizogregarine* o da *Coccidomorfi* e dovrebbero essere attribuibili ad ogni infezione da *Policistidee*. Ciò infatti generalmente avviene, come risulta anche dalle figure qui riprodotte. Ma se in qualche famiglia di *Policistidee* ciò non si verificasse, dovremmo necessariamente ricercarne la causa in un differente comportamento biologico.

5. - CONCLUSIONI.

1) Una sola coppia gamontica di *Stylocephalus gigas* può produrre nella sporificazione circa 100.000 oocisti. Con ciò *S. gigas* ci offre l'esempio di massima fecondità fin'ora segnalato nelle *Policistidee*; e, rappresentando le oocisti il prodotto di un'unica riproduzione gamica, può inserirsi a buon diritto tra i casi eccezionali di prolificità dell'intera scala zoologica.

2) La catena di oocisti raggiunge la lunghezza di m. 1,50. Essa costituisce un lungo filamento avvolto a spirale e più volte intersecantesi. Il filo si salda nei punti di incrocio, per cui dipanando la spirale si ottengono delle anse più o meno ampie. Come caso limite la saldatura avviene tra le oocisti corrispondenti di due spirali consecutive, dando origine a degli anelli.

3) Il numero delle oocisti prodotte è correlato al volume della gamontocisti. Nella gamontocisti esaminata la formazione dei gameti è stata preceduta da 17 divisioni.

4) La resistenza vitale degli sporozoiti nell'interno delle oocisti conservate a secco e a temperatura ambiente si protrae per un periodo superiore a 5 mesi, ma inferiore a due anni.

5) La durata dello sviluppo trofico di *Stylocephalus gigas* può oltrepassare i 7 mesi.

6) La percentuale di gamontocisti di Stilicefalidi che raggiunge nell'ambiente esterno la sporificazione è subordinata all'influenza di due fattori, l'umidità e lo sviluppo di muffe. In ambiente perfettamente secco lo sviluppo della gamontocisti si arresta, a meno che la siccità non intervenga dopo un giorno almeno dalla deposizione. In ambiente umido le gamontocisti vengono falcidiate dalle muffe. Sterilizzando le gamontocisti, lo sviluppo prosegue indisturbato anche in ambiente saturo di vapor d'acqua.

7) L'esame della distribuzione di *S. gigas* in lotti differenti di *Blaps gigas* distribuiti su di un'area di circa 100 km. di raggio ha messo in evidenza una vasta gamma di variabilità sia rispetto alla frequenza che alla intensità d'infezione.

Tale distribuzione è la risultante di due ordini di cause responsabili le une della diffusione del parassita da un individuo all'altro dello stesso lotto, le altre della sua propagazione da un lotto ad un altro.

La distribuzione del parassita nell'ambito di un lotto di ospiti è determinato di volta in volta dalla combinazione di un gruppo di *fattori costanti* (fecondità del parassita, modalità del suo ciclo biologico, resistenza vitale degli sporozoiti, etologia dell'ospite) e la doppia alternativa *favorevole* o *sfavorevole* con cui può presentarsi un altro gruppo di *fattori variabili* (umidità ambiente, distruzione del parassita da parte di muffe, età dell'ospite all'istante dell'invasione del parassita, numero di oocisti ingerite, eliminazione di stadi trofici del parassita dall'intestino dell'ospite).

La propagazione da un lotto ad un altro è invece affidata a cause puramente accidentali, come possono essere il trasporto passivo di oocisti soprattutto da parte di altri Artropodi o l'emigrazione forzata delle *Blaps* per le mutate condizioni della località frequentata.

8) Comunque, pur nella estrema variabilità del grado di infezione, è possibile individuare delle caratteristiche peculiari costantemente rispettate. Esse possono ridursi a tre: 1) i parassiti, almeno negli stadi giovanili, non sono mai isolati; 2) il numero dei parassiti presenti anche in stadi avanzati dell'infezione può variare da poche unità a qualche migliaio; 3) se sono presenti parassiti di diverse età, gli intervalli tra queste sono tipicamente irregolari.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) Riv. Parass. 10, 205 (1949).
 - (²) Arch. Protistenkde 91, 36 (1938).
 - (³) Arch. Protistenkde 94, 180 (1940).
 - (⁴) Arch. Protistendkde 3, 324 (1904).
 - (⁵) Arch. Protistenkde 91, 37 (1938).
 - (⁶) Riv. Parass. 11, 127 (1930).
 - (⁷) LÉGER L., Arch. Protistenkde, 3, 319 (1904); GRELL K. G., Arch. Protistenkde 94, 177 (1940).
 - (⁸) FILIPPONI A., Riv. Parass. 10, 209 (1949).
 - (⁹) FILIPPONI A., Riv. Parass. 10, 211 (1949).
 - (¹⁰) Arch. Protistenkde 91, 2 (1938).
 - (¹¹) Trans. Am. Microsc. Soc., 67, 222 (1948).
 - (¹²) LABITTE A., Bull. Mus. Nat. Hist. Natur. 2, 105 (1916).
 - (¹³) FILIPPONI A., Parass. 10, 247 (1949).
 - (¹⁴) Id.
 - (¹⁵) Illinois Biol. Monogr. 18, 10 (1941)
 - (¹⁶) Arch. Zool. Expér. 4, 496 (1875).
-