

27. Alessandro FILIPPONI - Su una gregarina (*Gregarina larvarum* n. sp.) rinvenuta in larve di *Blaps gibba* ottenute da allevamento (*).

Riassunto. — Larve di *Blaps gibba* nate in allevamento da adulti parassitati esclusivamente da Stilocefalidi sono risultate infette da una gregarina appartenente ad altra famiglia (*Gregarinidae*). Gli adulti hanno effettuato il trasporto passivo delle oocisti del parassita, rimanendo indenni dall'infezione. La responsabilità di ciò è attribuita ad una probabile diversa specificità nel complesso enzimatico intestinale della larva e dell'adulto.

Il parassita, rinvenuto nelle larve, è riferibile ad una nuova specie del genere *Gregarina*, che viene descritta col nome di *Gregarina larvarum*.

Lo studio comparativo del comportamento statistico delle dimensioni degli stadi trofici di *G. larvarum* e di altre *Gregarine* dimostra che nè i valori assoluti delle misure di un esiguo numero di trofozoiti, nè i valori dei loro rapporti sono sufficienti a caratterizzare una *Policistidea*. Tutte le diagnosi di *Policistidee*, di cui siano noti soltanto gli stadi trofici, hanno valore discriminativo solo se basate sulle misure di un campione di individui statisticamente rappresentativo.

G. larvarum, durante il suo periodo trofico, passa attraverso 4 stadi: 1) epicitozoico; 2) enterozoico solitario; 3) enterozoico biassociato; 4) gamonte. La permanenza in ciascuno stadio varia per gli individui di una stessa popolazione ed è regolato da fattori ambientali. Le ampiezze di variazione nelle lunghezze totali degli individui appartenenti a ciascuno stadio sono differenti da specie a specie; esse manifestano diverse norme di reazione, caratteristiche delle singole specie e possono essere utilizzate come criteri sistematici.

Tra le grandezze dei due trofozoiti componenti le biassociazioni esiste una correlazione lineare diretta ma non molto forte, potendo prevalere a volte la grandezza del primito, a volte quella del satellite.

Per i trofozoiti di *G. larvarum* non è dimostrabile un dimorfismo sessuale pari a quello di *Gregarina dimorpha* e *Gigaductus macrospora*.

Résumé. — Des larves de *Blaps gibba* nées en élevage de formes adultes parasitées exclusivement par des stylocephalides sont résultées infectées par une grégarine appartenante à une autre famille (*Gregarinidae*). Les adultes ont effectué le transport passif des oöcystes du parasite en restant indemnes de l'infection. La responsabilité du fait doit être attribuée

(*) Il lavoro è stato in parte eseguito presso l'Istituto di Zoologia dell'Università di Roma.

à une probable différente spécificité du suc intestinal de la larve et de l'adulte.

On peut rapporter le parasite trouvé dans les larves à une nouvelle espèce du genre *Gregarina* laquelle vient d'être décrite avec le nom de *Gregarina larvarum*.

L'étude statistique comparative des dimensions des stades trophiques de *G. larvarum* et d'autres grégarines, prouves que ni les valeurs absolues des mesures d'un petit nombre de trophozoïtes ni les valeurs de leurs rapports sont suffisants à caractériser une Polycystidée. Toutes les diagnoses des Polycystidées, dont uniquement les stades trophiques soient connues, ont une valeur discriminative seulement si elles s'appuient sur les mesures d'un échantillon d'individus statistiquement représentatif.

G. larvarum, pendant son période trophique, passe à travers 4 stades: 1) épicytozoïque; 2) enterozoïque solitaire; 3) enterozoïque biassocié; 4) gamonte. La durée de chaque stade varie selon les individus dans une même population et elle est réglée par de facteurs du milieu.

Les ampleurs des variations des longueurs totales des individus appartenants à chaque stade sont différentes selon les espèces. Elles manifestent des normes de réaction différentes, caractéristiques pour chaque espèce, et peuvent être utilisées comme des caractères systématiques.

Entre les dimensions des deux trophozoïtes qui composent les biassociations a lieu une corrélation linéaire directe mais pas très forte, en pouvant certaines fois prévaloir la grandeur du primitive, autres fois celle du satellite.

Dans les trophozoïtes de *G. larvarum* on ne peut pas démontrer un dimorphisme sexuel égal au dimorphisme de *G. dimorpha* e *Gigaductus macrospora*.

Summary. — Larvae of *Blaps gibba*, born in laboratory breeding cages, from adults parasitized only by *Stylocephalidae* resulted infected by a gregarine belonging to another family (*Gregarinidae*). The adults have passively transported the oocysts of this parasite, remaining uninfected. According to the A. there is probably a difference in the specificity of the intestinal juices in the larvae and in the adults.

The parasite, found in the larvae is referred by the A. to a new species of the genus *Gregarina* which he describes under the name of *Gregarina larvarum*.

The statistical comparative study of the dimensions of the trophic stages of *G. larvarum* and of other gregarines shaws that neither the absolute values of a low number of trophozoites, nor the values of their ratios are sufficient to characterize a *Polycystidea*. Every diagnosis of *Polycystidea*, of which only the trophic stages are known, is discriminating only if based on mesures of a statistically adequate sample of individuals.

G. larvarum during its trophic period, passes through 4 stages: 1) epicytzoic; 2) solitary enterozoic; 3) biassociative enterozoic; 4) gamont's stage. The permanence in each stage varies according to each individual of the same population and is ruled by environmental factors. The ranges of the total lengths of the individuals belonging to each stage are different in the various species; they show a different norm of reaction and may be utilized as systematic criteria.

Between the sizes of the two trophozoites, which form the biassociations there is a direct linear correlation, but not a conspicuous one; and at times the size of the primitive might prevail, at times that of the satellite.

A sexual dimorphism as in *Gregarina dimorpha* and *Gigaductus macrospora* cannot be demonstrated for the trophozoites of *G. larvarum*.

Zusammenfassung. — Gezüchtete *Blaps gibba* - Larven von Imagines, die nur mit *Stylocephalidae* infiziert waren, bargen in ihrem Darm eine einer anderen Familie (*Gregarinidae*) angehörigen Gregarine.

Die Imagines haben passiv die Oöcysten des Parassiten übertragen, ohne von der Infektion betroffen zu werden. Dieses dürfte auf die Verschiedenheit der Verdauungsfermente zwischen Larven und Imagines zurückzuführen sein.

Der in den Larven gefundene Parasit muss einer neuen Art *Gregarina*-Gattung zugeschrieben werden und wird vom Verfasser mit dem Namen *Gregarina larvarum* beschrieben.

Nel marzo del 1945 da tre differenti località della periferia di Roma raccolsi complessivamente 15 esemplari adulti di *Blaps gibba*. Cinque di essi furono sacrificati il giorno successivo alla cattura. Uno soltanto era infetto da Gregarine. Si trattava di 11 tipici trofozoiti di Stilocefalidi.

Presumendo che tra i 10 individui rimasti potesse esservene qualcun altro infetto da Stilocefalidi e nell'intento di favorirne una reinfezione massiva collocai i 10 Tenebrionidi in un piccolo terrario (20 × 40 cm.). Il terriccio destinato al terrario fu previamente passato per qualche minuto su lamina di rame rovente e quindi mescolato a pane grattugiato. Gli insetti furono alimentati con frutta e pane grattugiato.

Dopo un mese il terriccio brulicava di larvette di *Blaps gibba*. Al 4° mese 3 adulti erano morti. Gli altri 7 furono sacrificati. Erano tutti infetti da Stilocefalidi e soltanto da Stilocefalidi. Erano presenti gamonti e trofozoiti di diverse età; più abbondanti gli stadi più giovani. Evidentemente l'infezione si era propagata.

Pensai allora di esaminare le larve. Setacciando il terriccio isolai tutte

le larve presenti: 30 esemplari della lunghezza di 30-35 mm. ed altri 10 di diverse lunghezze inferiori alle precedenti. La dissezione delle prime 10 larve mi diede i risultati seguenti: 5 erano del tutto indenni da parassiti, una era infetta da Stilocefalidi, 4 infine contenevano pochi esemplari di una gregarina ad associazione proipodesmica ⁽¹⁾ e quindi che non aveva nulla a che fare con Stilocefalidi.

A parte il fatto interessante di un reperto di gregarine ad associazione proipodesmica in Tenebrionidi del genere *Blaps* mai per l'addietro segnalato, non ostante che tali insetti abbiano costituito un materiale ampiamente sfruttato per lo studio delle Gregarine, le particolari circostanze in cui queste gregarine erano comparse facevano sorgere una serie di quesiti di importanza parassitologica assai più generale. Attraverso quale via la gregarina era pervenuta ad infettare l'allevamento? Perchè gli adulti non se ne erano infettati? Qual'era l'ospite abituale?

Le 30 larve rimaste furono trattate nella maniera seguente. Cinque furono uccise ed i loro intestini fissati e inclusi. Le altre 25 furono poste a gruppi di 5 individui in capsule Petri per poterne raccogliere ed esaminare le feci. Sul fondo delle capsule aderiva un foglio di carta bibula asciutto; contro il coperchio invece veniva applicata della carta bibula mantenuta opportunamente umida. Per cibo somministravo esili fettine di mela. I singoli elementi fecali erano raccolti ed esaminati quotidianamente al binoculare da dissezione. In 20 giorni potei soltanto raccogliere 3 gamontocisti della gregarina in questione che purtroppo si alterarono nel tentativo di farle sporificare.

Se il nuovo ambiente e l'alimentazione a mele erano molto comodi per l'esame delle feci, erano mal sopportati dalle larve. Appena una larva mostrava sintomi di diminuita vitalità veniva aggredita e divorata dalle altre. In 20 giorni 12 larve erano così scomparse. Nel timore di vedermi presto esaurire il lotto infetto, mi indussi allora a sacrificare le 13 larve rimaste.

Oltre alcuni trofozoiti di Stilocefalidi rinvenni complessivamente 18 biassociazioni e 43 trofozoiti enterozoici solitari tutti riferibili alla stessa gregarina. Così facendo avevo però perduto l'interessante materiale. Infatti nello stesso terrario ed utilizzando lo stesso terriccio di prima posi successivamente, nel corso di 5 anni, oltre 50 esemplari adulti di *Blaps gibba* raccolti dalle tre stesse località di prima e da altre della periferia di Roma. In definitiva ho ripetuto per 5 anni e nelle identiche condizioni l'esperimento che aveva portato alla comparsa della Gregarina nelle larve dell'allevamento. Numerosissime furono le larve ottenute. Ogni tre mesi circa queste venivano sottoposte all'esame delle feci e dissezionate. Ma la Gregarina non è più comparsa. Gli adulti come pure alcune larve contenevano solo Stilocefalidi.

Parimenti infruttuose furono le ricerche effettuate su una ventina di larve di *Blaps* raccolte in natura; nè maggior fortuna ebbi nel ricercare la Gregarina in altri Artropodi catturati presso le tre località.

L'insuccesso avuto nei reiterati tentativi di rintracciare il prezioso materiale è peraltro compensato dall'interesse dei dati raccolti come cercherò di dimostrare nel presente studio.

DESCRIZIONE DEL PARASSITA

I - *Gamontocisti*.

Le gamontocisti sono sferiche, lattescenti, provviste di una duplice membrana: un'endomembrana laminare esile ed un'esomembrana gelatinosa molto spessa. Osservata in soluzione fisiologica (NaCl 0,75%) l'esomembrana appare stratificata, cioè come fosse costituita da tante lamine concentriche, del pari di quanto è stato segnalato da SPRAGUE ⁽²⁾ per *Gregarina blattarum*.

I diametri medi, calcolati entro i limiti dell'endomembrana, nelle tre gamontocisti raccolte sono i seguenti: 176 μ , 210 μ , 233 μ . L'esomembrana aveva rispettivamente i seguenti spessori: 30 μ , 40 μ , 40 μ . Fatte le opportune riserve, dato lo scarso numero di gamontocisti misurate ⁽³⁾, può assumersi come ordine di grandezza dei diametri gamontocistici medi i 200 μ . Come è stato detto, la sporificazione non è stata ottenuta.

2 - *Oocisti*.

Non osservate.

3 - *Trofozoiti*.

A - Primo stadio: Epicitozoico.

Non posseggo invero documenti sufficienti relativi a questo stadio. Numerosi trofozoiti con una lunghezza totale variante da 20 a 30 μ , rinvenuti in uno degli intestini inclusi e sezionati, sono già liberi nel lume intestinale e vanno riferiti allo stadio successivo. Il più piccolo trofozoite osservato ha una lunghezza totale di 18 μ . Esso è staccato dall'epitelio intestinale dello ospite, ma mantiene ancora aderente alla sua porzione apicale un brandello di una cellula epiteliale. L'organulo di attacco (l'*epimerite*), forse già atrofizzato, non è chiaramente identificabile. E' assai presumibile che il giovane trofozoite permanga in questo primo stadio aderente al bordo di una cellula epiteliale (*stadio epicitozoico*). Un fatto incontrovertibile è la durata brevissima di questo stadio. Anche per tale motivo ritengo debba escludersi uno stadio entocitozoico del tipo di quello descritto per i Giga-

ductidi (⁴). I trofozoiti entocitozoici di queste gregarine permangono a lungo nell'interno della cellula parassita fino a raggiungere lunghezze totali di 50 μ . Inoltre per i Gigaductidi in tutti gli intestini degli ospiti infetti, accanto ad altri stadi, si trovano quasi sempre numerosi trofozoiti entocitozoici; mentre nel presente caso su dodici larve infette non se n'è trovato neanche uno.

B - Secondo stadio: Enterozoico solitario.

I trofozoiti che hanno raggiunta una lunghezza totale di 20 μ , come è stato detto, si trovano già liberi nel lume intestinale dell'ospite. Essi sono dicistici, vale a dire, un setto separa l'intero organismo in due porzioni, quella anteriore al setto o *protomerite* e l'altra posteriore o *deutomerite*, contenente il nucleo. Nessuna traccia di epimerite.

L'*epicito* è profondamente solcato da strie longitudinali con decorso parallelo, per cui una sezione trasversa della Gregarina ha l'aspetto di una ruota dentata (Tav. 1, 3). Il *sarcocito* ha uno spessore molto esile. L'*endocito* protomeritico è nettamente e costantemente differenziato da quello deutomeritico sia per la struttura sia per l'affinità ai colori. Qualunque sia il tipo di fissativo usato, l'endocito protomeritico presenta all'osservazione microscopica una struttura reticolare con delle fini granulazioni interposte nelle maglie, quello deutomeritico, al contrario, ha una struttura alveolare e contiene delle granulazioni più grandi. Del pari, con qualunque tipo di colorazione, l'endocito protomeritico si colora con tonalità differenti da quello deutomeritico. Con MALLORY l'endocito assume nel protomerite un colore bleu intenso, nel deutomerite un colore violetto per la presenza di granulazioni basofile. Nella foto della Tav. 1, 2 con opportuno filtro si è trasformata la diversa gamma di colori in differenti tonalità di grigi.

Il nucleo subsferico è del tipo vescicolare. Al centro del carioplasma è immerso invariabilmente un unico grande cariosoma (Tav. 1).

Se l'organizzazione strutturale dei trofozoiti si presenta identica in tutti gli individui, mantenendosi pressochè immutata negli stadi successivi, il loro aspetto morfologico generale ed ancor più i rapporti tra le loro diverse dimensioni sono così variabili da rendere indispensabile una minuta analisi del comportamento biometrico nei singoli individui.

Allo scopo di evitare nella variabilità l'influenza derivante da cause estrinseche di ordine tecnico, sono stati presi in considerazione in questa analisi soltanto i 43 trofozoiti ottenuti dalle ultime 13 larve, i quali furono sottoposti tutti ad un identico trattamento.

Dissezionati gli intestini in soluzione fisiologica (NaCl 0,75%) le gregarine eventualmente presenti venivano accuratamente nettate nella stessa soluzione e quindi fissate in formolo picrico. Tale fissativo dà risultati sod-

disfacenti e serve anche come liquido conservatore. Le misure erano eseguite, il giorno successivo, al microscopio con oculare micrometrico (valore micrometrico di una divisione $4,083 \mu$). Potendosi interpolare agevolmente mezza divisione l'approssimazione nelle misure può considerarsi dell'ordine di 2μ . Per ogni individuo sono state prese le seguenti misure: lunghezza totale (LT), lunghezza del protomerite dal setto all'estremità anteriore (LP), larghezza massima del protomerite (WP), lunghezza del deutomerite dal setto all'estremità posteriore (LD), massima larghezza del deutomerite (WD). Allo scopo di valutare quantitativamente le variazioni di forma della gregarina sono stati calcolati i seguenti rapporti: indice protomeritico (LP:WP), indice deutomeritico (LD:WD), rapporto tra la lunghezza del deutomerite e quella del protomerite (LD:LP), infine il rapporto tra le loro larghezze (WD:WP). I grafici delle figg. 1, 2, 3, 4 rappresentano le variazioni di questi rapporti durante l'accrescimento. A rappresentare le differenti grandezze delle gregarine è stata scelta la lunghezza totale. Le varie lunghezze totali, suddivise in classi con modulo di 20μ sono riportate in ascisse; in ordinate per ogni individuo si dà il valore dei vari rapporti. I valori relativi ai trofozoiti enterozoici solitari sono rappresentati da cerchi pieni.

Esaminiamo il comportamento dell'indice protomeritico (fig. 1). I valori dell'indice variano da un minimo di 0,38 ad un massimo di 1,03. I valori minimi rappresentano quindi il 37% circa dei valori massimi. I valori massimi si ritrovano negli individui più piccoli, i valori minimi, in genere, negli individui più grandi. Ciò significa che durante l'accrescimento l'aumento in larghezza del protomerite supera il suo accrescimento in lunghezza, per cui il protomerite stesso tende, durante lo sviluppo, ad assumere una forma a cupola sempre più schiacciata. Questa affermazione è vera peraltro solo con molta approssimazione. Inoltre l'oscillazione nei valori dell'indice tra gli individui di eguale lunghezza totale può essere rilevante. Ad esempio per gli 8 trofozoiti compresi nella classe di 180μ il valore del rapporto varia da 0,43 a 0,83.

Ancor più irregolare appare il comportamento dell'indice deutomeritico. (fig. 2). Per i trofozoiti enterozoici solitari i valori di questo indice variano da un minimo di 1,25 ad un massimo di 3,35. Sarebbe del tutto vano tentare di individuare in questo caso una legge comunque approssimata di accrescimento. Al valore minimo corrispondente al trofozoite di 32μ di lunghezza totale segue un primo massimo per la classe di 100μ . Per le classi successive ritornano dei valori intermedi ampiamente oscillanti. La classe di 180μ ad esempio, ha valori compresi tra 1,35 e 2,95. In altri termini il deutomerite, a forma subcilindrica, può presentarsi più o meno allungato secondo una vasta gamma di variabilità anche negli individui aventi all'incirca la stessa lunghezza totale.

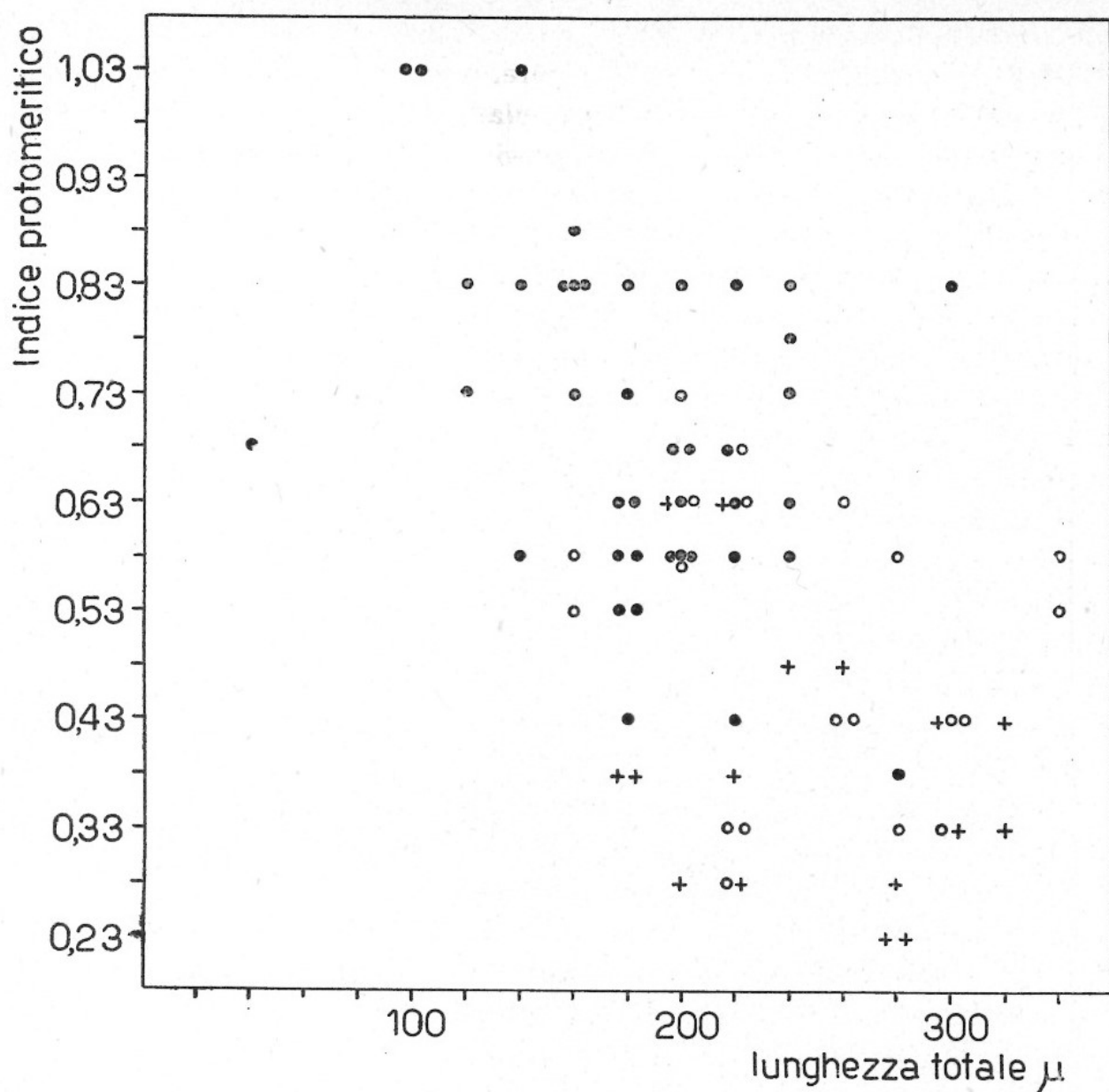


Fig. 1 — Variazioni dell'indice protomeritico (LP/WP) in funzione delle lunghezze totali (LT) in 43 trofozoiti enterozoici solitari (cerchi pieni), 18 primiti (cerchi vuoti) e 18 satelliti (crocette) di *Gregarina larvarum*.

Il rapporto tra lunghezza del protomerite e lunghezza del deutomerite (fig. 3) che ha un'ampiezza di variabilità maggiore dei precedenti, segue invece una legge di variazione in funzione della lunghezza totale abbastanza regolare. L'ampiezza del campo di variabilità è compresa tra un minimo di 3,1 ed un massimo di 8,7. I minimi corrispondono agli individui più piccoli. I valori vanno gradatamente crescendo con l'aumentare delle lunghezze totali fino a raggiungere il massimo negli individui più lunghi. Evidentemente l'accrescimento in lunghezza per il deutomerite avviene con velocità maggiore che per il protomerite (*accrescimento allometrico positivo*). Sul-

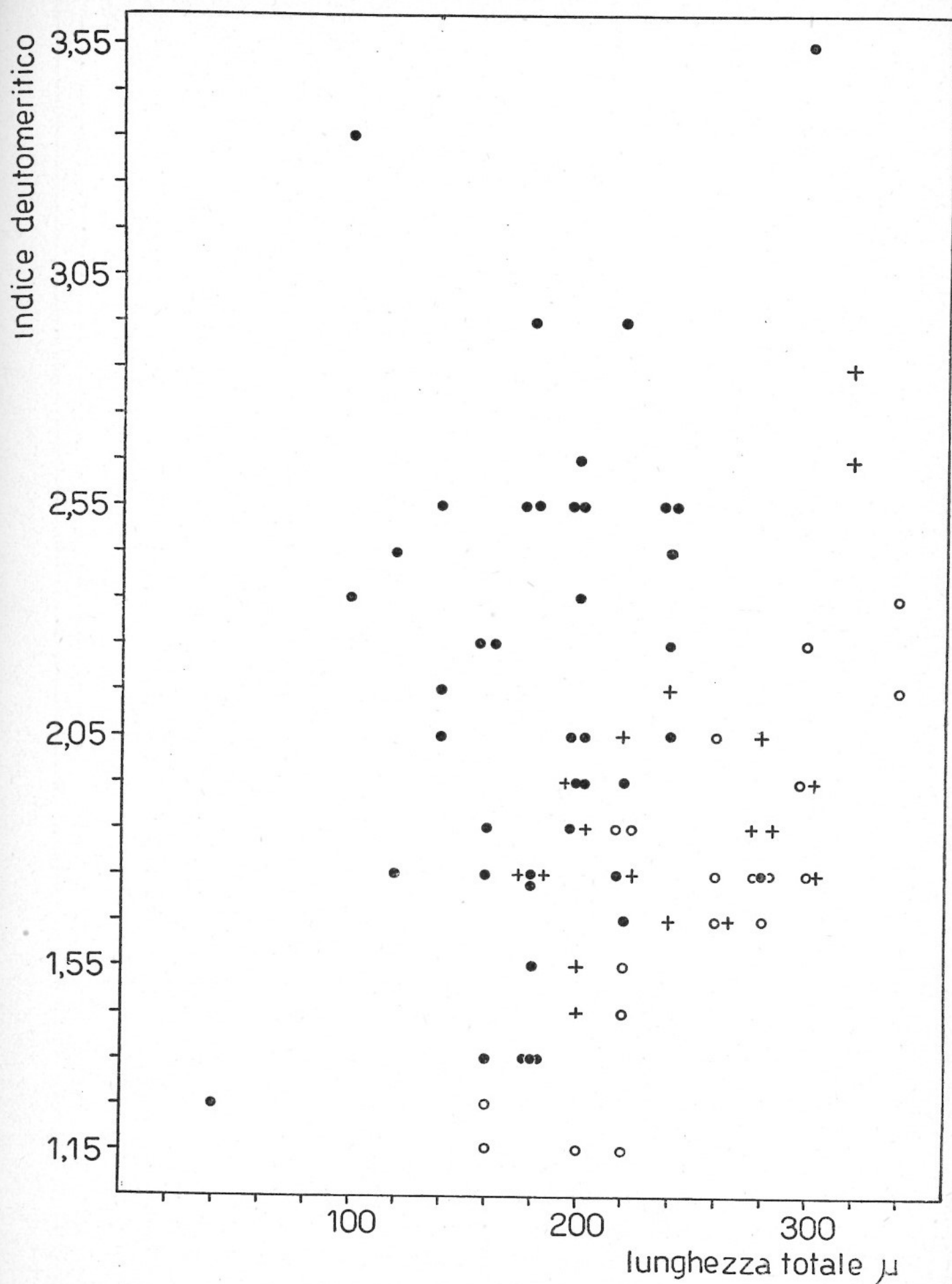


Fig. 2 — Variazioni dell' indice deutomeritico (LD, WD), in funzione delle lunghezze totali (LT) per gli stessi esemplari della Fig. 1.

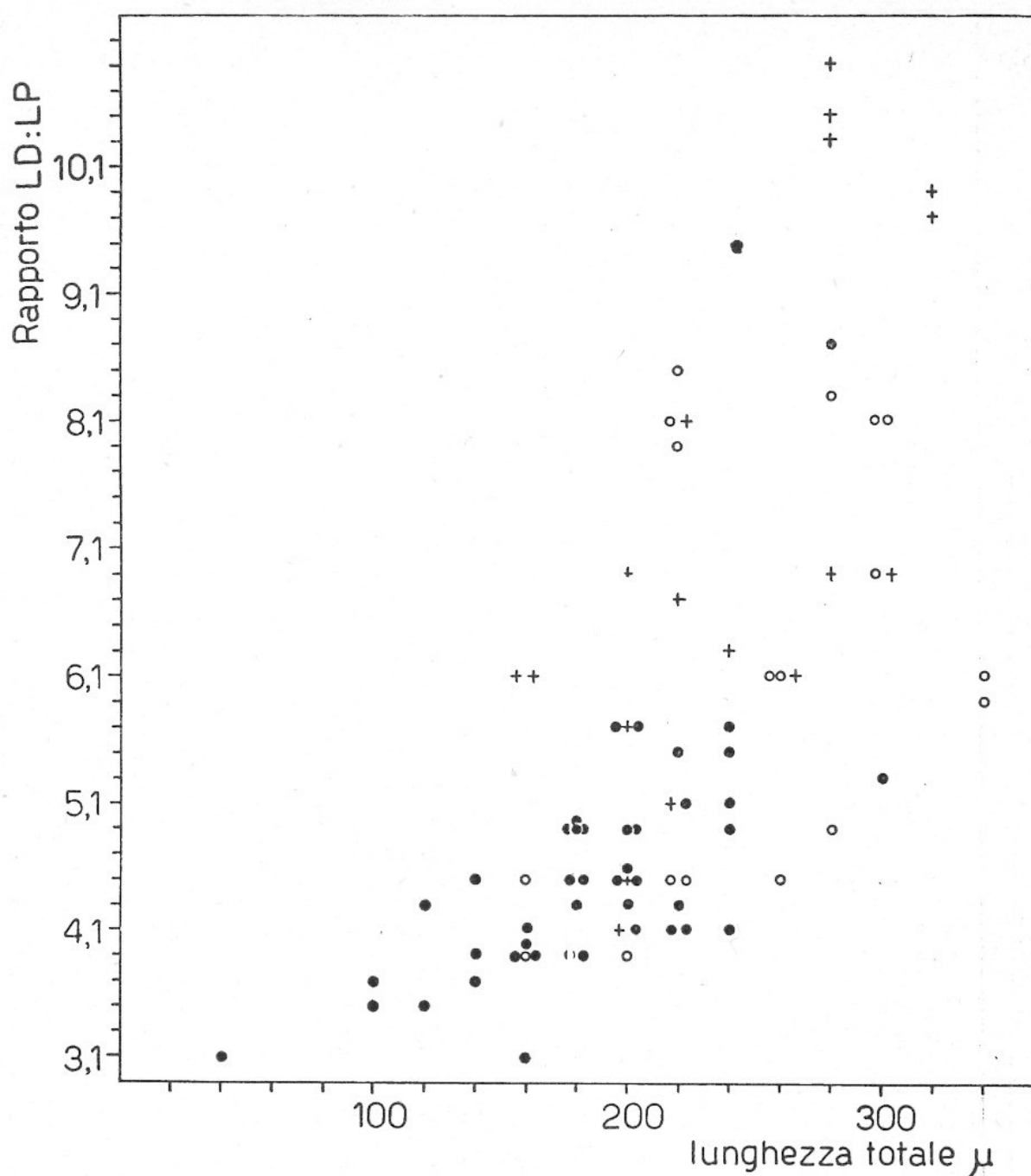


Fig. 3 — Variazioni del rapporto LD:LP in funzione delle lunghezze totali (LT) per gli stessi esemplari della Fig. 1.

l'allungamento totale del trofozoite l'aumento in lunghezza del deutomerite influisce dunque assai di più di quello del protomerite.

I rapporti tra le larghezze delle due porzioni, misurate per entrambi in corrispondenza della larghezza massima, sono i meno variabili (fig. 4). La larghezza del deutomerite è costantemente superiore a quella del rispettivo protomerite non raggiungendo mai il doppio di questa. I valori sono infatti compresi tra un minimo di 1,13 ed un massimo di 1,73. I valori medi di tali rapporti e le rispettive possibili oscillazioni possono ritenersi presso-

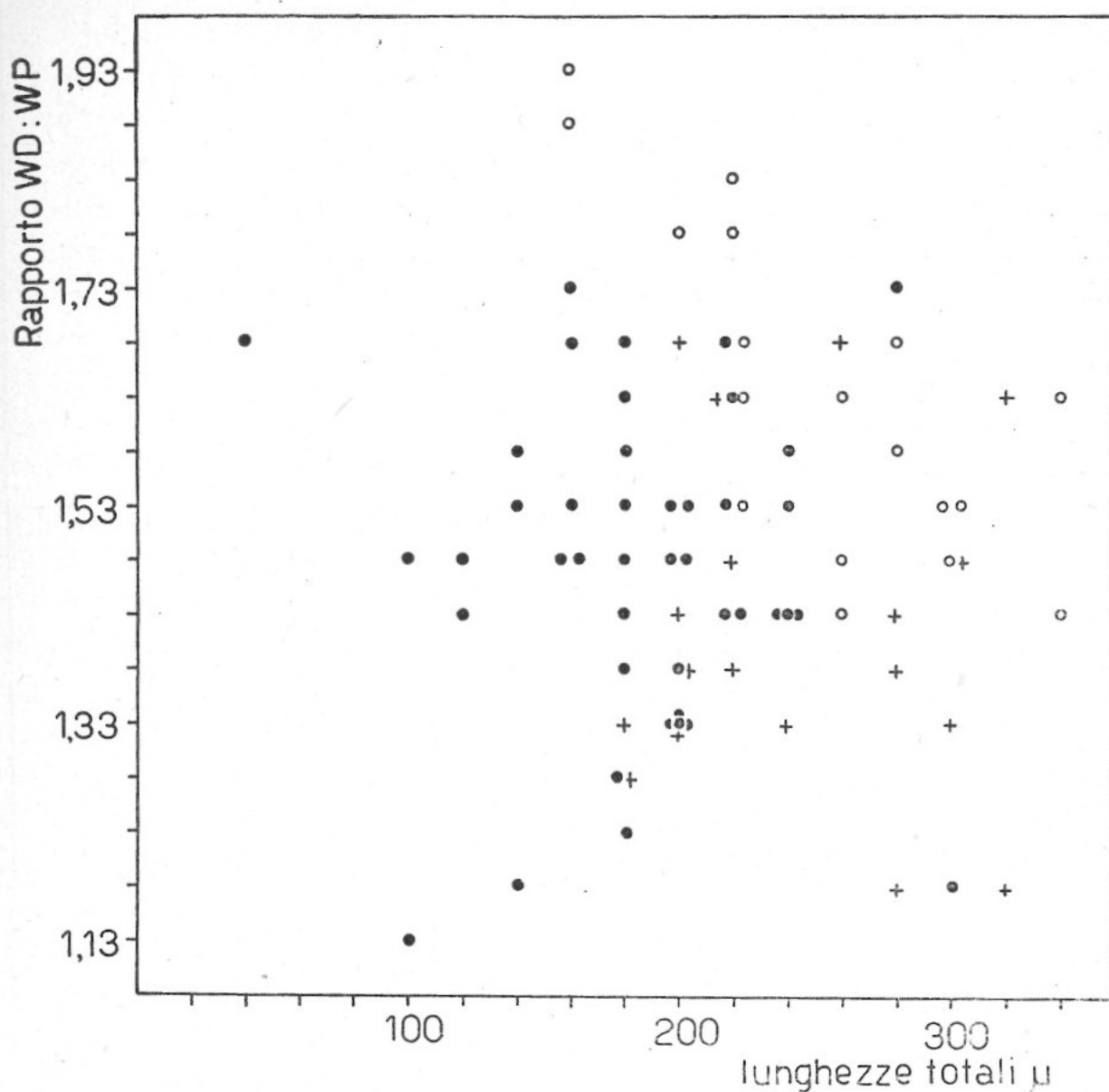


Fig. 4 — Variazioni del rapporto WD:WP in funzione della lunghezza totale (LT) per gli stessi esemplari della Fig. 1.

chè costanti in tutte le diverse classi di lunghezza totale. Vale a dire con l'accrescimento dei trofozoiti larghezza del protomerite e larghezza del deutomerite aumentano all'incirca con la stessa intensità (*accrescimento isometrico*).

C - Terzo stadio: Enterozoico biassociato.

Dopo aver trascorso un certo periodo liberi nel lume intestinale dell'ospite, i trofozoiti si associano a coppie. L'associazione è del tipo proipodesmico e cioè l'estremità anteriore protomeritica di uno di essi (*satellite*) si unisce all'estremità posteriore deutomeritica dell'altro (*primate*). Nessuna particolare conformazione viene elaborata per tale unione. La porzione

anteriore della cupola protomeritica del satellite si affonda semplicemente sulla faccia posteriore del deutomerite del primito che si incava (fig. 5). Ciò non ostante l'unione è molto stabile.

Quando inizia lo stadio biassociativo e qual'è la sua durata? Non possedendo alcun dato diretto circa la durata del periodo trofico e dei suoi vari stadi, possiamo trarne una preziosa indicazione dalle ampiezze di variazione nelle lunghezze totali degli individui appartenenti ai singoli stadi. Nel grafico della fig. 5 parallelamente all'asse delle ascisse su cui sono riportati i valori delle lunghezze totali in μ , sono stati tracciati 4 segmenti compresi tra gli estremi corrispondenti ai valori minimi e massimi degli individui appartenenti a ciascuno stadio. Da questo grafico appare come, mentre alcuni trofozoiti si trovano già associati quando hanno raggiunta la lunghezza totale di 160 μ , altri restino ancora solitari sebbene posseggano una lunghezza totale quasi doppia (306 μ). Evidentemente l'inizio della biassociazione non coincide per tutte le coppie. Esso in genere non è precoce, come avviene in altre specie di Gregarine. L'associazione può verificarsi quando i trofozoiti abbiano raggiunta una lunghezza pari circa alla metà delle lunghezze massime osservate negli stadi trofici, ma può avvenire anche più tardi, fin quando ormai le loro lunghezze totali sono di poco inferiori alle massime osservate. E' importante segnalare per le conclusioni che se ne trarranno nel capitolo successivo che è da escludere assolutamente che i trofozoiti solitari più grandi possano rappresentare primiti o satelliti di biassociazioni, distaccatesi durante le manipolazioni. A parte la massima cautela con cui si è proceduto nella dissezione e nelle successive operazioni di lavaggio, fissaggio e misurazione, trofozoiti solitari dello stesso ordine di grandezza sono stati rinvenuti anche in sezioni di intestini fissati e inclusi *in toto* come quello della Tav. 1, 2.

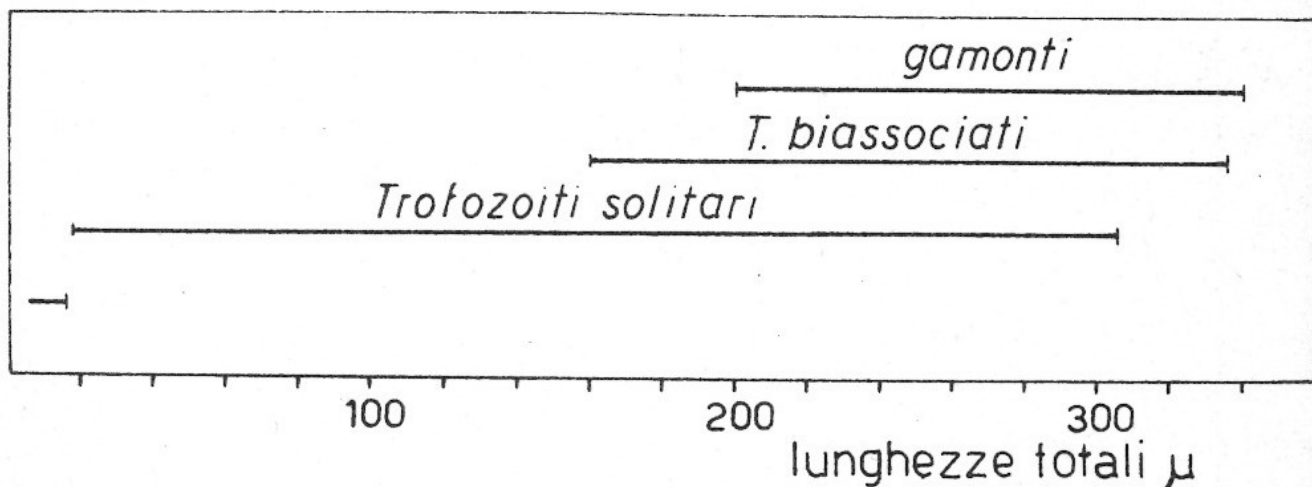


Fig. 5 — Ampiezza di variazione nelle lunghezze totali degli individui appartenenti ai vari stadi.

Un particolare interessante relativo ai rapporti fra dimensioni di primiti e satelliti appartenenti ad una stessa biassociazione può dedursi dal grafico della fig. 6. Questo rappresenta un diagramma di correlazione tra le lunghezze totali del primito (in ascisse) e quelle del rispettivo satellite (in

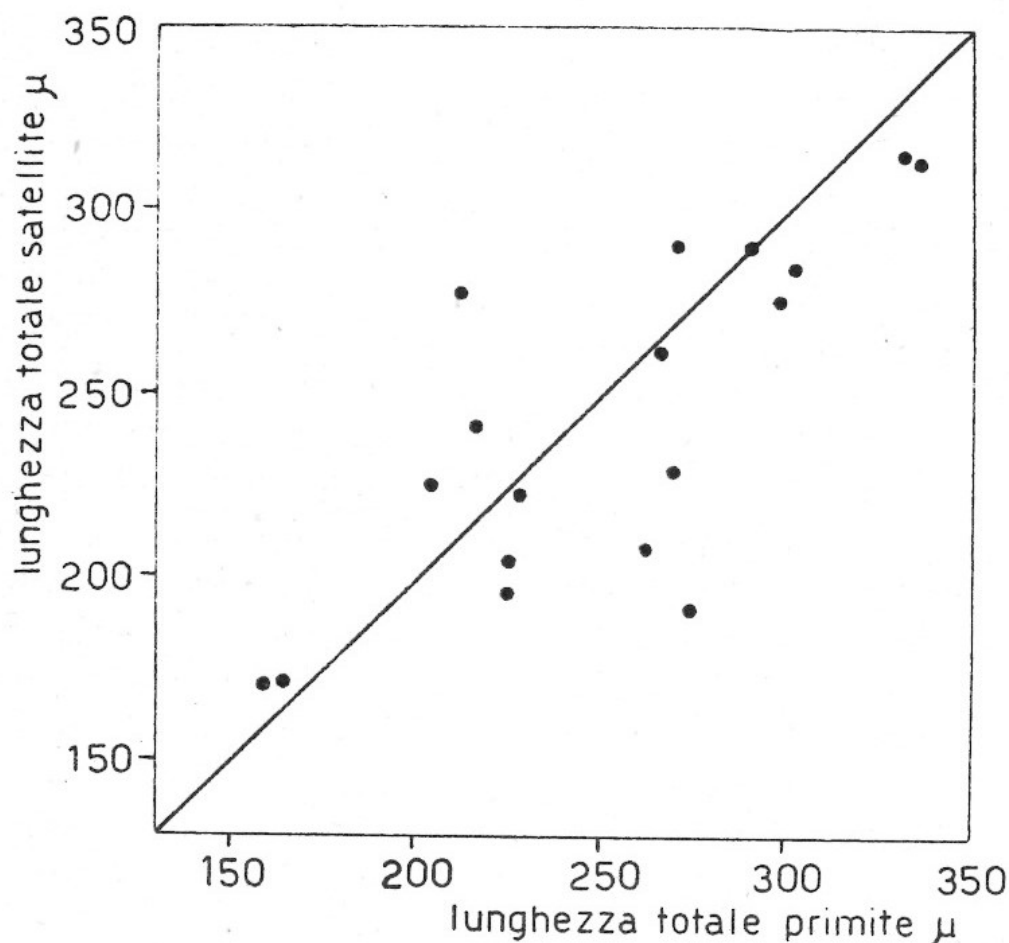


Fig. 6 — Diagramma di correlazione tra le lunghezze totali del primito e del satellite di una stessa biassociazione,

ordinate) per 18 biassociazioni. Il diagramma dimostra come tra le grandezze delle due serie esista una correlazione lineare diretta; che però tale correlazione non è molto forte. In un caso le due lunghezze si eguagliano (punto sulla diagonale); in 6 casi la lunghezza del satellite supera quella del primito (punti a sinistra della diagonale); negli altri 11 casi è invece inferiore (punti a destra della diagonale). Se a rappresentare la differente mole del primito e satellite si assuma, al posto delle lunghezze totali, il prodotto tra questa dimensione e la larghezza massima di ciascun individuo, i risultati mutano alquanto ma non sostanzialmente. In un caso i due prodotti si equivalgono; in 14 casi i valori relativi ai primiti superano quelli dei satelliti; in 3 casi infine sono a questi inferiori. Si può dunque ritenere che in genere si associno trofozoiti, le cui moli non differiscano molto

per ordine di grandezza, potendo prevalere a volte la grandezza del primito a volte quella del satellite.

Per quanto riguarda la durata dello stadio biassociativo vanno tenuti presenti due ordini di considerazioni. Se la durata di tale stadio dovesse essere brevissima la probabilità di imbattersi in una biassociazione su materiale infetto scelto a caso sarebbe evidentemente molto bassa. Orbene per il complesso del materiale esaminato su 48 trofozoiti solitari ne sono stati repertati 36 biassociati. E' logico concludere che dall'istante in cui i trofozoiti si associano alla formazione della gamontocisti debba trascorrere un certo lasso di tempo.

Dall'esame del grafico della fig. 5 si può inoltre dedurre un'ulteriore precisazione. In questo grafico l'estremo destro del segmento rappresentante il campo di variazione delle lunghezze totali degli individui biassociati supera di 34 μ l'estremo corrispondente dei massimi trofozoiti solitari osservati. La frequenza dei trofozoiti solitari nelle ultime classi (280, 300 μ), come risulta ad esempio, dal grafico della fig. 1, è molto bassa nei confronti delle frequenze delle classi precedenti. Il che fa presumere che in media la biassociazione avvenga prima che si siano raggiunte tali lunghezze totali estreme. E' allora legittimo affermare che i primiti e i satelliti delle ultime classi provengano da trofozoiti associatisi quando le loro lunghezze totali erano più piccole di alcuni intervalli di classe, o in altri termini che durante la biassociazione l'accrescimento continua. E poichè l'inizio della biassociazione non coincide con il raggiungimento della maturità risulta chiaro come non sia possibile considerare gamonti indistintamente tutti gli individui biassociati. In realtà le biassociazioni possono essere costituite sia da gregarine in accrescimento (*trofozoiti*) sia da gregarine mature (*gamonti*).

Rimandando al prossimo paragrafo il tentativo di definire entro quali limiti di lunghezze totali oscillino i gamonti, passiamo ad analizzare la morfologia ed il comportamento biometrico di tutti gli individui biassociati a prescindere dalla loro distinzione in trofozoiti e gamonti.

La fig. 7 rappresenta due tipiche biassociazioni della Gregarina in esame fissate in formolo picrico e disegnate alla camera lucida. La biassociazione della Tav. 1, 1 è stata invece fissata e colorata in carminio acetico e montata in balsamo. Poste in soluzione fisiologica le biassociazioni iniziano un lento moto di slittamento. Non ho mai osservato quelle rapide flessioni laterali a scatto caratteristiche, ad esempio, degli Stilocefalidi; tuttavia il profilo del protomerite e del deutomerite, soprattutto nel primito, ma, in minor grado, anche nel satellite subisce lievi modifiche sotto l'azione contrattile dei mionemi del sarcocito. Il formolo picrico non agisce immediatamente. La biassociazione continua a muoversi sempre più lenta-

mente fino a immobilizzarsi. L'azione del carminio acetico è invece assai più rapida. La biassociazione della foto è stata infatti fissata in pieno movimento, onde il suo aspetto dinamico nettamente differente da quello statico presentato al contrario dalle biassociazioni fissate in formolo picrico.

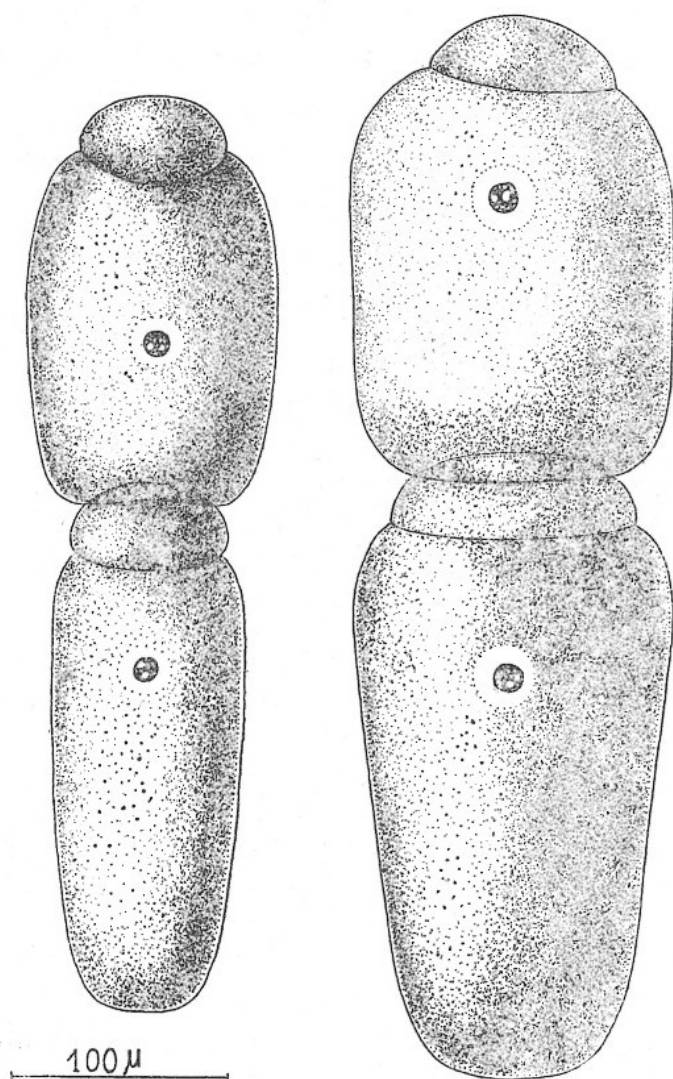


Fig. 7 — Due biassociazioni di *Gregarina larvarum* fissate in formolo picrico e disegnate alla camera lucida.

La descrizione che segue si riferisce esclusivamente a 18 biassociazioni fissate in formolo picrico e misurate secondo la tecnica già illustrata a proposito dei trofozoiti solitari.

Il deutomerite sia nel primate che nel satellite ha un tipico aspetto colonnare. La sua porzione posteriore termina sempre nettamente tronca. E' questo un carattere costante. Variabilissimi al contrario sono i rapporti tra lunghezza e larghezza. Il protomerite è a cupola sia nel primate che nel satellite. Osservando le biassociazioni della fig. 7 ed ancor più quella della Tav. 1, 1 parrebbe scorgere una netta differenza nell'aspetto generale tra

primita e satellite. Vale a dire un dimorfismo analogo a quello da me messo in evidenza in altre gregarine e che ho riferito ad un dimorfismo sessuale (⁵⁻⁶). In realtà per il presente caso attraverso l'indagine statistica un dimorfismo sessuale non è dimostrabile.

Le variazioni dei valori dei rapporti per primiti e satelliti in funzione della lunghezza totale sono riportati negli stessi grafici delle figg. 1, 2, 3, 4. I primiti sono contrassegnati con un cerchio vuoto, i satelliti con una croce. L'indice protomeritico (fig. 1) per i biassociati insieme considerati varia da 0,23 a 0,68. I valori medi più bassi si hanno in genere per gli individui più grandi, cioè i protomeriti tendono a divenire sempre più schiacciati col progredire dell'accrescimento, come già abbiamo visto avvenire per i trofozoiti solitari. Però anche in questo caso le escursioni dei valori dell'indice sono piuttosto ampie nell'ambito della stessa classe di lunghezza totale. Le differenze di comportamento tra primiti e satelliti non sono statisticamente significative.

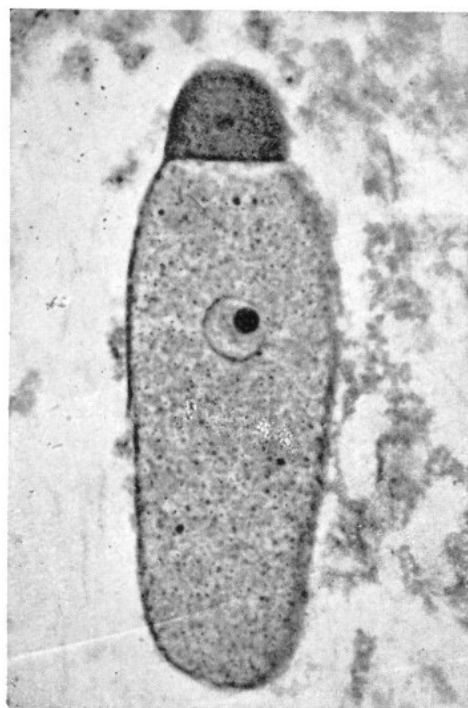
I valori dell'indice deutomeritico (fig. 2), oscillano da 1,15 a 2,85. Contrariamente a quanto si è constatato a proposito dei trofozoiti, i valori medi variano piuttosto regolarmente con l'aumentare delle lunghezze totali. I valori più bassi si hanno nettamente per gli individui più piccoli, quelli più alti per gli individui più grandi. Anche in questo caso però nessuna differenza di comportamento tra primiti e satelliti.

Le massime variazioni le ritroviamo nei rapporti tra lunghezza del deutomerite e quella del protomerite (fig. 3), con un minimo di 3,9 ed un massimo di 10,9. Del pari di quanto è già stato osservato nei trofozoiti solitari i valori di tale rapporto vanno aumentando con l'accrescimento piuttosto regolarmente.

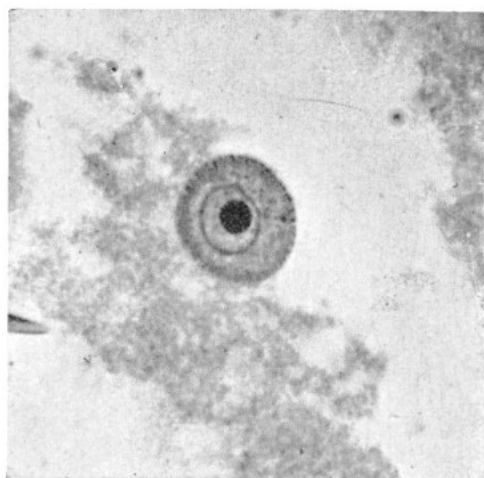
I rapporti tra le due larghezze massime (fig. 4) oscillano da un minimo di 1,18 ad un massimo di 1,93. Per gli individui compresi in una stessa classe di lunghezza totale i massimi sono in genere rappresentati da primiti, i minimi da satelliti. Effettivamente dall'esame del grafico della fig. 4 e in parte anche da quello della fig. 3 risulta una certa differenza di comportamento tra primiti e satelliti. Tale differenza però non è molto netta e comunque non può essere riferita senz'altro ad un dimorfismo sessuale. Il protomerite del satellite aderendo alla parte posteriore del primita può restare più o meno compresso. E' appunto questa compressione che influisce, nei satelliti, sui valori di questi due ultimi rapporti considerati, aumentando il valore del rapporto fra le due lunghezze e diminuendo quello del rapporto tra le due larghezze. Ben altrimenti avviene ad esempio, in *Gregarina dimorpha* Filipponi (⁷) dove protomerite e deutomerite nel primita e nel satellite hanno una forma definita nettamente differenziabile.



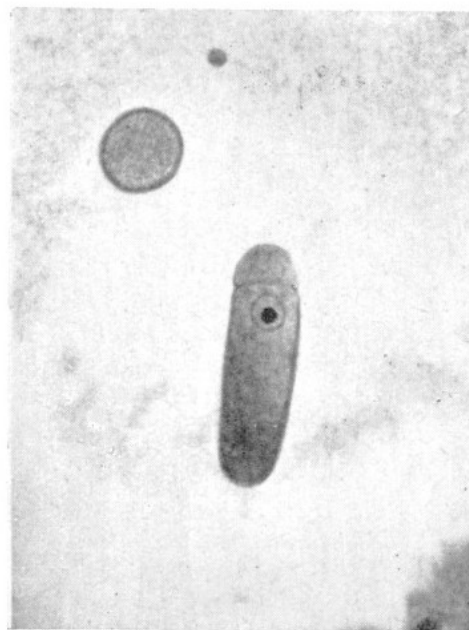
1



2



3



4

Tav. I

1. Biassociazione di *Gregarina larvarum* fissata e colorata in carminio acetico e montata in balsamo (330 x). — 2. Sezione longitudinale di un trofozoite enterozoico solitario, MALLORY (330 x). — 3. Sezione trasversa di trofozoite enterozoico solitario mostrandente il nucleo ed i solchi dell'epicito, MALLORY (720 x). — 4. Trofozoite enterozoico solitario, MALLORY (330 x).

4 - Gamonti.

I gamonti sono anch'essi biassocati ad associazione proipodesmica. Come è stato precedentemente osservato, alcune delle biassociazioni sopra considerate sono costituite da gamonti. Vediamo di stabilire con una certa approssimazione entro quali limiti di lunghezze totali debbano considerarsi compresi i gamonti. Va anzitutto tenuto presente che le tre gamontocisti raccolte provengono dalle stesse larve da cui si sono ottenute le biassociazioni. Nessun dubbio quindi che tali larve contenessero anche individui maturi. In secondo luogo il passaggio dallo stadio trofico a quello riproduttivo non avviene per tutti gli individui quando hanno raggiunta la stessa grandezza. Questa affermazione è stata da me dimostrata con ampia documentazione per 3 specie di Stilocefalidi ⁽⁸⁾; e che sia valevole anche nel presente caso lo prova il fatto della differenza di volume nelle 3 gamontocisti osservate. E' facile quindi prevedere che, analogamente a quanto abbiamo già constatato per il passaggio dallo stadio solitario a quello biassociato, alcune coppie arrestino il loro accrescimento incistandosi, mentre altre continuino ad accrescersi; per cui nel grafico della fig. 5 il segmento compreso fra i valori estremi delle lunghezze totali dei gamonti dovrà in parte sovrapporsi a quello dello stadio precedente. Si tratta appunto di definire tali limiti.

La forma quasi cilindrica della gregarina permette un computo sufficientemente approssimato per il nostro scopo. Consideriamo un cilindro avente per altezza la lunghezza della gregarina e per base un cerchio con diametro pari alla larghezza massima del deutomerite. Tale cilindro ha un volume certamente maggiore di quello della gregarina, sia perchè nella gregarina oltre il restringimento all'altezza del setto esiste uno smussamento in corrispondenza delle basi, sia perchè in effetti la sezione della gregarina non è circolare ma piuttosto ellissoidale, corrispondendo la larghezza misurata all'asse maggiore. Per ottenere una approssimazione maggiore possiamo trascurare completamente il protomerite, assumendo come valore approssimato del volume della gregarina il volume di un cilindro in cui $h = LD$, $r = 1/2 WD$. Una biassociazione incistandosi darà origine ad una gamontocisti il cui volume sarà pressochè eguale alla somma dei volumi del primate e del satellite. Calcoliamo ora per le 18 biassociazioni il diametro della sfera di volume uguale alla somma dei volumi dei rispettivi primiti e satelliti, o, in altri termini, il diametro della gamontocisti cui darebbero origine.

Tali diametri oscillano tra 185 μ per la biassociazione più piccola e 252 μ per quella più grande. I diametri delle tre gamontocisti osservate variano da 176 a 233 μ . I valori calcolati sono dunque abbastanza attendibili; probabilmente essi sono ancora approssimati per eccesso. L'approssimazione peraltro non incide che parzialmente sulle deduzioni che stiamo

per trarre. I valori calcolati ci dicono che ad uno scarto di 67 μ nei diametri delle ipotetiche gamontocisti corrisponde uno scarto nelle lunghezze totali medie dei biassociati di 180 μ (cfr. grafico fig. 6). Escludendo le prime due biassociazioni i valori dei diametri calcolati sarebbero compresi tra 204 e 252 μ con uno scarto di 48 μ corrispondente ad uno scarto nelle lunghezze totali medie dei biassociati di 140 μ . Ora lo scarto tra i diametri delle gamontocisti misurate è di 57 μ ; per cui le differenze tra le lunghezze medie dei gamonti incistati dovrebbero essere comprese tra 140 e 180 μ . Se dunque nel grafico della fig. 6 considerassimo come gamonti massimi quelli costituenti le due biassociazioni maggiori, tutte le biassociazioni precedenti, ad eccezione delle prime due, potrebbero rappresentare dei gamonti. Tenendo presente che i valori calcolati per le ipotetiche gamontocisti sono approssimate per eccesso, nel grafico della fig. 5 potremmo indicare con buona approssimazione come limiti estremi delle lunghezze totali dei gamonti i valori di 200 μ e 340 μ . Tali valori evidentemente sono valevoli solo per la popolazione esaminata.

Come caratteristiche biometriche dei gamonti riporto i valori micrometrici relativi alle 7 biassociazioni maggiori. Per ogni coppia i valori del primite (P) precedono quelli del rispettivo satellite (S).

	LT	LP	LD	WP	WD	LD/LP	WD/WF	LP, WP	LD, WD
P	266	37	229	90	131	6,18	1,45	0,41	1,74
S	262	37	225	80	135	6,08	1,68	0,46	1,66
P	298	33	265	78	118	8,03	1,51	0,42	2,24
S	273	24	249	86	122	10,37	1,41	0,27	2,04
P	302	33	269	98	151	8,15	1,54	0,33	1,78
S	285	24	261	98	135	10,87	1,37	0,24	1,93
P	270	29	241	90	143	8,31	1,58	0,32	1,68
S	290	37	253	110	143	6,83	1,30	0,33	1,76
P	290	37	253	86	127	6,83	1,47	0,43	1,99
S	290	37	256	88	127	6,91	1,44	0,42	2,01
P	335	49	286	86	122	5,83	1,41	0,56	2,34
S	313	29	294	86	102	9,79	1,18	0,33	2,88
P	331	45	286	82	135	6,35	1,64	0,54	2,11
S	315	29	286	65	106	9,86	1,63	0,44	2,69

DISCUSSIONE

I - Posizione sistematica.

L'organizzazione strutturale della gregarina, la sua morfologia complessiva, la presenza di uno stadio ad associazione proipodesmica ed infine la forma della gamontocisti con il tipico alone gelatinoso pluristratificato sono tutti elementi che depongono a favore di una attribuzione della specie

descritta al genere *Gregarina* DUFOUR 1828 ⁽⁹⁾, anche se non sono state osservate le modalità di sporificazione e la forma delle oocisti.

Effettivamente uno stadio ad associazione proipodesmica si ritrova anche presso altre famiglie di Policistidee, come nei *Cephaloidophoridae* KAMM 1922 ⁽¹⁰⁾, nei *Kofoidinidae* HENRY 1923 ⁽¹¹⁾, e nei *Gigaductidae* FILIPPONI 1948 per cui, come io stesso feci notare in un lavoro precedente ⁽¹²⁾ questo elemento non è di per sè sufficiente per una indiscutibile attribuzione di una specie al genere *Gregarina*. Se non chè nel presente caso, l'eventualità di un'appartenenza della specie in esame ad una qualunque delle tre famiglie citate è assolutamente da escludersi non solo per il differente tipo morfologico e strutturale presentato dalla gregarina, ma anche per la mancanza, nel suo ciclo biologico, di un primo stadio entocitozoico di lunga durata caratteristico dei rappresentanti di quelle tre famiglie. La specie descritta va dunque riferita al genere *Gregarina*.

Assai più problematico è invece stabilire la sua identità specifica. Il genere *Gregarina* è senza dubbio il genere più ricco di specie tra tutte le Eugregarine. Se l'elenco da me compilato è completo, ben 110 specie descritte sono state riferite a questo genere, senza tener conto delle specie di dubbia identificazione. Le difficoltà peraltro non provengono già dal numero dei confronti necessari, ma dalla impossibilità di decidere, in alcuni casi, circa l'identità o la diversità delle due specie messe a confronto per l'assoluta insufficienza discriminativa dei dati riferiti. Dal confronto diretto con tutte le specie del genere *Gregarina* per le quali si disponga di dati esaurienti la specie illustrata nel presente lavoro risulta nettamente differente. Che essa debba considerarsi distinta anche dalle altre specie con diagnosi inadeguate è molto probabile, ma a rigore non può essere dimostrato. Tuttavia, essendo utile poterla indicare con un nome, propongo di riferirla provvisoriamente ad una nuova specie con il nome di *Gregarina larvarum*.

2 - Comportamento statistico delle dimensioni degli stadi trofici e loro valore sistematico.

L'accusa di inadeguatezza per le diagnosi di alcune Gregarine, sebbene si colleghi ad altre critiche da me sollevate in lavori precedenti ⁽¹³⁻¹⁴⁾, merita qui una approfondita discussione, anche per giustificare la forma dubitativa con cui si è proposta la nuova specie. L'interesse di tale discussione non può sfuggire a chiunque senta la necessità che, in ogni campo, l'impostazione sistematica venga poggiata su basi critiche più razionali.

Per fornire ai non specialisti dei dati concreti riferirò su un gruppo di specie descritte da un Autore recente, il FOERSTER ⁽¹⁵⁾. In un accurato studio sulle Gregarine degli Insetti della Slesia questo A. ha rinvenuto

17 nuove specie attribuite con sicurezza al genere *Gregarina*. Su 17 specie solo in 6 casi ha osservato gamontocisti: in soli 4 casi le oocisti. La creazione della maggior parte delle nuove specie si basa dunque esclusivamente su reperti di stadi trofici.

Com'è noto, si è soliti caratterizzare gli stadi trofici delle Gregarine mediante i valori assoluti delle loro dimensioni e mediante quelli dei rapporti calcolabili tra queste. Si tratta in sostanza di 4 misure fondamentali e dei loro rapporti, gli stessi, in genere, presi in considerazione nel presente lavoro.

Quanti trofozoiti ha misurato il FOERSTER per ciascuna delle 17 specie? In 5 casi egli ha visto solo trofozoiti solitari: il numero degli individui misurati varia da 4 a 6. In 5 casi ha osservato solo trofozoiti biassociati: numero delle biassociazioni misurate per le singole specie compreso tra 2 e 4; in 2 casi si riferiscono soltanto i valori di due rapporti. Eppure il FOERSTER è uno tra gli AA. più scrupolosi. Per numerosissime altre specie i ragguagli noti sono ancora più scarsi, nè mancano esempi di specie stabilite sulle misure di un'unica biassociazione, come è il caso di *Gregarina monarchia* WATSON 1916 ⁽¹⁶⁾.

Essendo questa una prassi universalmente seguita è indispensabile, mi pare, domandarsi quale sia l'effettivo valore sistematico di queste dimensioni. Va anzitutto ricordato che, scelta una gregarina a caso, noi non conosciamo, al presente, nessun carattere che ci permetta di discriminare un trofozoite da un gamonte (*) per cui l'ipotetica gregarina scelta a caso potrebbe rappresentare un gamonte, come un trofozoite piccolo o medio o grande. Tenendo presente che un trofozoite, durante l'accrescimento, passa da una lunghezza totale dell'ordine di 10 μ a quella dell'ordine di alcune centinaia di μ , potendo in alcuni casi oltrepassare anche il mm., è evidente che i valori assoluti delle dimensioni della unica gregarina non possono assolutamente costituire un carattere diagnostico per l'intera specie.

Scartati i valori assoluti delle dimensioni, prendiamo in esame quelli dei loro rapporti. E' a tutti noto come in un metazoo a morfologia ben definita i rapporti tra le dimensioni di un dato organo o parte di esso varino con l'accrescimento dell'individuo. Le relazioni tra tali rapporti e una grandezza base scelta a rappresentare la diversa mole raggiunta dall'individuo nei successivi stadi di accrescimento possono, in genere, essere espresse con equazioni del tipo $y = bx^\alpha$ in cui b ed α sono delle costanti, y rappresenta il valore del rapporto, x quello della grandezza base ⁽¹⁷⁾. Che qualcosa di analogo possa verificarsi nelle Gregarine non è soltanto presumibile.

(*) Su un'intera popolazione, al contrario, è possibile servirsi in pratica di un criterio statistico, assumendo come gamonti gli individui di dimensioni maggiori. Nel capitolo precedente è stato dato un saggio di come sia possibile individuare, con una certa approssimazione, i limiti entro cui oscillano le grandezze dei gamonti.

Senza entrare in merito al problema se sia possibile in ogni caso nelle Gregarine determinare con esattezza, per ciascun rapporto delle costanti di accrescimento (*) con valore specifico, i dati calcolati da BUSH per *Actinocephalus amphoriformis* e *Gregarinoides locustanae* ⁽¹⁸⁾ e quelli da me resi noti per *Gregarina dimorpha* ⁽¹⁹⁾, *Gigaductus macrospora* ⁽²⁰⁾ ed infine per la specie qui descritta sono più che sufficienti per dimostrare l'esistenza di un *accrescimento relativo* per le dimensioni delle varie parti costituenti la gregarina. E poichè l'ampiezza delle variazioni di alcuni rapporti in funzione dell'accrescimento può essere rilevante, come nel caso del rapporto LD:LP che in *Gregarina larvarum* varia da 3,1 a 10,9 e in *Gregarina dimorpha* varia, nel solo stadio biassociativo, da 2 a 8,5 è necessario concludere che neppure i valori dei rapporti, calcolati per un unico trofozoite scelto a caso, possono caratterizzare una specie.

Le conclusioni non cambiano sostanzialmente se invece di un unico trofozoite se ne scelgano 4 ad esempio od un numero dello stesso ordine di grandezza, secondo l'uso corrente.

Ma i dati relativi a *Gregarina larvarum* suggeriscono un'ulteriore considerazione. Dall'analisi di questi dati è risultato che, qualunque sia il rapporto preso in considerazione, l'oscillazione dei valori per gli individui compresi nella stessa classe di lunghezze totali è enorme, tanto che per un rapporto fondamentale come l'indice deutomeritico l'ampiezza di variazione, in ogni singola classe, finisce per mascherare l'effetto dovuto all'accrescimento relativo, che risulta invece evidentissimo per l'indice deutomeritico di *Gigaductus macrospora* e di *Gregarina dimorpha*. I risultati non sono incriminabili da un punto di vista metodologico in quanto nei tre casi la stessa tecnica è stata impiegata dallo stesso operatore e con la stessa accuratezza. Nè il minor numero di individui misurati nel caso di *Gregarina larvarum* può invalidare le conclusioni: la probabilità di rinvenire valori estremi sempre più discosti tra loro è tanto maggiore quanto maggiore è il numero dei casi osservati. I rilievi ora fatti ammettono dunque un'unica interpretazione. Se è vero, in genere, che gli stadi trofici delle Policistidee hanno una forma ben definita, da specie a specie la stabilità di forma ammette differenti gradi. Alla stessa conclusione potremmo del resto arrivare

(*) L'equazione $y = bx^{\alpha}$ può essere anche scritta:

$$\log y = \alpha \log x + \log b.$$

In coordinate logaritmiche il fenomeno è rappresentato quindi da una retta. Il coefficiente angolare α è la *costante di accrescimento*; b rappresenta il valore di y quando $x = 1$ (*indice all'origine*). Se $\alpha = 1$ si dice che l'*accrescimento* è *isometrico*; se $\alpha > 1$ si parla di *accrescimento allometrico positivo*; se $\alpha < 1$ di *accrescimento allometrico negativo*. Un lavoro statistico inteso a determinare le *costanti di accrescimento* per le varie dimensioni in alcune specie di Stilocefali è in corso di preparazione.

per altra via. La stabilità di forma in una gregarina è assicurata dalla consistenza e dallo spessore delle due differenziazioni periferiche, l'epicito e il sarcocito. E poichè lo studio comparativo strutturale mette in evidenza delle differenze tra specie e specie è chiaro che anche la stabilità nella forma dovrà presentarsi con differenti gradi.

Infine tutte queste osservazioni presuppongono l'uso di un fissativo che uccida la gregarina in stato di distensione; che se al contrario il fissativo, agendo istantaneamente, bloccasse la gregarina in stato più o meno spinto di contrazione le misure considerate finirebbero per perdere all'incirca ogni valore diagnostico.

Concludendo nè le misure di un esiguo numero di trofozoiti, nè i valori dei rapporti da esse calcolabili possono essere assunti da soli a caratterizzare una Policistidea. Le eventuali differenze rilevabili tra specie così individuate saranno tanto più fittizie ed arbitrarie per quanto è più piccolo il numero di individui misurati.

3 - Durata dei successivi stadi trofici come criterio sistematico.

Le pessimistiche conclusioni del paragrafo precedente, se da un lato avvalorano l'importanza diagnostica delle dimensioni oocistiche, qualora la loro scarsa variabilità da me dimostrata per tre specie di Stilocefalidi ⁽²¹⁾ potesse generalizzarsi, dall'altra non vogliono destituire di ogni valore le caratteristiche biometriche degli stadi trofici. Se il raffronto tra due trofozoiti scelti a caso appartenenti a due specie affini non ci autorizza a concludere nè per la loro identità nè per la loro diversità specifica, la comparazione statistica tra due popolazioni di trofozoiti delle due specie ci metterebbe in evidenza una messe di differenze tanto più ricca e incontestabile per quanto più grande è il numero e la varietà degli individui esaminati. Per esempio ad un esame comparativo tra *Gregarina dimorpha* e *G. larvarum* i valori massimi e minimi per ogni rapporto sono diversi nelle due specie, si differenziano le ampiezze di variazione per ogni classe di lunghezza totale; gli stessi valori assoluti delle dimensioni assumono un netto valore diagnostico; infine in ognuna delle due specie i passaggi da uno stadio all'altro del periodo trofico avvengono in tempi diversi e con diverse modalità.

Analizziamo accuratamente quest'ultima caratteristica. Dallo studio del capitolo precedente risulta che *Gregarina larvarum* durante il periodo trofico passa attraverso vari stadi: un primo stadio epicitozoico, un secondo stadio enterozoico solitario, un terzo stadio enterozoico biassociato; finchè cessando di accrescersi, la gregarina si accinge ad incistarsi (stadio di gamonte) per procedere alla sua riproduzione gamica. Risulta ancora che il passaggio da uno stadio al successivo non avviene per tutti gli individui

quando hanno raggiunta la stessa lunghezza totale. Cioè per ciascuno individuo l'inizio e la permanenza in un certo stadio varia, per cui le lunghezze totali presentate da un campione statisticamente rappresentativo di esemplari, appartenenti allo stesso stadio, oscillano nell'ambito di due valori estremi (grafico fig. 5). Il fatto interessante è che nei tre casi esaminati (*Gregarina dimorpha*, *Gigaductus macrospora*, *G. larvarum*) i valori estremi per ogni stadio sono diversi da specie a specie. In altre parole si prospetta la possibilità di usare tra i caratteri differenziali delle singole specie l'ampiezza di variazione nelle lunghezze totali degli individui appartenenti ai successivi stadi del periodo trofico.

Anche se questo indice di variabilità, da un punto di vista statistico non è scevro da critiche, esso potrà sostituire molto vantaggiosamente la qualifica di « gregarine solitarie » e « gregarine biassocitative » attribuita all'intera specie che già altrove ⁽²²⁾ ho dimostrato essere inadeguata e semplicistica.

La diversa durata dei successivi stadi del periodo trofico ha anche un profondo significato biologico. L'esame della variabilità nei volumi delle gamontocisti in tre popolazioni di Stilocefalidi ⁽²³⁾ mi portò a concludere che dovevano esistere dei fattori ambientali capaci di determinare la maturazione in trofozoiti che avevano raggiunto un volume di molto inferiore a quello massimo che avrebbero raggiunto senza l'influenza di tali fattori; inoltre la differente ampiezza nel campo di variazione dei volumi delle gamontocisti delle tre popolazioni faceva supporre che l'istante in cui il trofozoite diviene recettivo all'azione dei suddetti fattori vari da popolazione a popolazione, per cui le differenti ampiezze di variazione nei volumi delle gamontocisti mettevano in evidenza, relativamente a tale comportamento, una differente norma di reazione.

Esaminiamo il grafico della fig. 5. Il quarto segmento in alto (gamonti) rappresenta appunto l'ampiezza di variazione nelle lunghezze massime raggiunte dai trofozoiti prima di arrestare il loro accrescimento e incistarsi. Anche in questo caso quindi se, com'è probabile, si è in presenza di una popolazione genotipicamente piuttosto omogenea, il differente comportamento delle varie coppie può solo spiegarsi ammettendo l'influenza di fattori ambientali; ed ancora, anche in questo caso, la lunghezza di quel segmento può essere assunta a rappresentare la norma di reazione, relativa a questo carattere, propria della specie.

Ma le stesse considerazioni potrebbero farsi per ciascuno dei segmenti rappresentanti gli altri stadi. Perchè in seno alla stessa popolazione alcuni trofozoiti si accoppiano quando hanno raggiunto la lunghezza totale di 160 μ , mentre altri sono ancora isolati avendo raggiunta una lunghezza di 306 μ ? Anche in questo caso è necessario invocare l'influenza di fattori

ambientali per ora non meglio identificati. Il tentativo di individuare i fattori che giocano nel passaggio da uno stadio all'altro nel ciclo biologico di una gregarina appare arduo per il momento, ma potrebbe dischiudere un nuovo capitolo di fisiologia sporozoaia.

Comunque ai fini di questa discussione potremmo concludere che le diverse durate degli stadi che si succedono durante il periodo trofico di una gregarina non solo possono assumersi come utili caratteri diagnostici, ma sono l'espressione di una diversa norma di reazione caratteristica delle varie specie.

4 - *Comparsa del parassita nelle larve dell'allevamento e le sue probabili cause.*

Torniamo infine al problema della comparsa del parassita nelle larve dell'allevamento. Non essendo riuscito, malgrado i reiterati tentativi, a procurarmi oocisti per una infezione sperimentale, i quesiti posti nell'introduzione non potranno per il momento trovare una risposta convalidata dal vaglio dell'esperienza. Tuttavia dei fatti sperimentali esistono e mi pare legittimo tentarne una interpretazione.

La possibilità che le oocisti infettanti possano essere state introdotte con il terriccio è senz'altro da escludersi. Dovremmo in tal caso supporre che oocisti di gregarine possano resistere alla temperatura di una lamina di rame rovente. Del resto con il terriccio prelevato dallo stesso sito e sterilizzato con lo stesso metodo avevo allestito 20 terrari per l'allevamento di altri tenebrionidi, ma in nessuno di essi si è verificato un fenomeno analogo.

Del pari improbabile appare la supposizione che oocisti del parassita siano state portate nel terrario con il cibo somministrato. Questo come fu detto, consisteva in pane grattugiato e frutta. Il pane proveniva da panini freschi, seccati in stufa e grattugiati; la frutta, rappresentata in genere da mele, veniva accuratamente lavata, prima di essere ridotta a fettine. Da 5 anni alimento in questa maniera i Tenebrionidi dei miei allevamenti nè ho mai constatato, all'infuori del presente caso, la comparsa di una gregarina diversa da quelle abituali. Va tenuto presente che le oocisti di gregarine non hanno la resistenza e la facilità di propagarsi delle spore batteriche; anzi in un recente lavoro (²⁴) ho potuto dimostrare che non ostante la prodigiosa fecondità di alcuni di tali Sporozoi la loro propagazione da un ospite all'altro, anche in condizioni ideali di ospiti ad abitudini gregarie, è tutt'altro che facile, essendo impedita da una serie di fattori colà esaminati.

Accettando queste considerazioni non resta che l'ipotesi di un trasporto passivo da parte degli adulti di *Blaps gibba* immessi nel terrario. Qualcuno di tali esemplari avrebbe cioè ingerito a caso delle oocisti della

gregarina, parassita abituale di altro ospite. Le oocisti giunte nell'intestino, non avendo trovato l'enzima capace di provocarne la deiscenza, sarebbero state emesse intatte con le feci, mescolandosi al terriccio. Al sopraggiungere delle larve nate nel terrario stesso le oocisti ancora vitali, sarebbero state ingerite da queste, ed avendo trovato nel loro intestino finalmente le condizioni adatte si sarebbero aperte infettando le larve e successivamente propagandosi ad altre.

Anche se il trasporto iniziale delle oocisti fosse avvenuto invece che per ingestione, per semplice adesione alla superficie esterna del corpo degli adulti, la supposizione fatta sarebbe egualmente indispensabile per poter spiegare l'avvenuta propagazione nelle sole larve e non negli adulti. D'altro canto ognuna delle condizioni presupposte da una simile interpretazione è verosimile. L'alta specificità della sostanza che salda la sutura dell'involucro oocistico nei confronti degli enzimi intestinali dell'ospite è un fatto dimostrato per alcune specie ⁽²⁵⁾. L'esistenza di complessi enzimatici intestinali diversi nelle larve e negli adulti di una stessa specie è presumibile almeno nei numerosi casi in cui larve e adulti hanno un regime alimentare affatto differente. Orbene nel nostro caso il cannibalismo comune nelle larve e non negli adulti; la scarsa resistenza delle larve ad una alimentazione con sole mele, mentre gli adulti non mostrano di risentirne stanno a manifestare esigenze metaboliche differenti, per cui la possibilità di differenze nei complessi enzimatici intestinali non è improbabile. Anzi una simile supposizione potrebbe darci la spiegazione del perchè in vari casi segnalati nella bibliografia delle Gregarine, alcune specie siano state abitualmente rinvenute nelle larve e mai negli adulti. Infine che le oocisti potessero essere ancora vitali quando, dopo circa un mese, comparvero le larve, può essere ammesso senza riserve, tenendo presente che per *Stylocephalus gigas* ho dimostrato ⁽²⁶⁾ che il potere infettante delle oocisti si mantiene per un periodo superiore almeno a 5 mesi.

Se il parassita aveva potuto propagarsi da una larva all'altra verosimilmente il terriccio doveva essersi contaminato con oocisti; perchè mai nei vari tentativi protrattisi per 5 anni le nuove larve nate non si infettarono più? Dal giorno in cui avevo prelevato l'intero lotto di larve infette al primo successivo inizio dell'allevamento erano trascorsi oltre 9 mesi. E' da presumere che durante questo periodo le oocisti eventualmente presenti avessero perduto ogni potere infettante.

Resta infine da affrontare il problema dell'ospite abituale. A rigore il numero di larve di *Blaps* catturate in natura e mostratesi indenni dal parassita è troppo esiguo per poter escludere che l'ospite abituale sia rappresentato proprio dalle larve di *Blaps*. Come è stato detto non sarebbe il primo caso di Gregarine parassite esclusive dello stadio larvale dell'ospite. Se così fosse però la probabilità da parte dell'adulto di ingerire le oocisti del

parassita e di trasportarle passivamente dovrebbe essere maggiore, vivendo larve e adulti nello stesso ambiente, per cui in cinque anni di prove il fenomeno avrebbe dovuto ripetersi. L'ospite abituale potrebbe quindi anche essere rappresentato da un'altra specie di Artropodo. Al momento attuale pertanto il problema dell'ospite resta insoluto.

CONCLUSIONI

1. — Un gruppo di larve di *Blaps gibba* nate in laboratorio da adulti parassitati da Stilocefalidi è apparsa infetta da una Gregarina appartenente ad una differente famiglia. La comparsa nelle larve di questo parassita, incapace di infettare gli adulti, è solo spiegata ammettendo una differente specificità nel complesso enzimatico intestinale della larva e dell'adulto per cui quest'ultimo ha potuto agire da trasportatore passivo delle oocisti rimanendo indenne dall'infezione.

2. — Il parassita rinvenuto nelle larve è riferibile ad una nuova specie del genere *Gregarina*, che è stata descritta con il nome di *Gregarina larvarum*.

3. — Lo studio comparativo del comportamento statistico delle dimensioni degli stati trofici della nuova gregarina e di altre precedentemente descritte, come *Gregarina dimorpha* FILIPPONI 1947 e *Gigaductus macrospora* FILIPPONI 1948 dimostra che nè i valori assoluti delle misure di un esiguo numero di trofozoiti, nè i valori dei rapporti da esse calcolabili possono essere assunti da soli a caratterizzare una Policistidea. Le eventuali differenze rilevabili tra specie così individuate sono da considerarsi tanto più fittizie ed arbitrarie per quanto è più piccolo il numero degli individui misurati.

Ciò dipende dalle seguenti cause: 1) per un esemplare singolo non possiamo nessun criterio per giudicare la sua appartenenza allo stadio adulto piuttostoché ad uno stadio trofico precocissimo; 2) la stabilità della forma nelle Policistidee è relativa, ammettendo da specie a specie tutta una serie di graduazioni in rapporto alla differente consistenza dell'epicito e del sarcocito: lo stesso individuo trattato con fissativi diversi o con lo stesso fissativo in condizioni differenti può presentare misure variabili entro limiti piuttosto ampi; 3) protomerite e deutomerite, durante l'ontogenesi della Policistidea sono soggetti ad un accrescimento relativo ed i valori dei rapporti delle loro misure variano di conseguenza in funzione dell'età, presentando in alcuni casi una estesa ampiezza di variazione.

Ne consegue che tutte le diagnosi di Policistidee di cui siano noti soltanto gli stadi trofici hanno valore discriminativo solo se basate sulle misure di un campione di individui statisticamente rappresentativo.

4. — *Gregarina larvarum*, durante il suo periodo trofico, passa attraverso 4 stadi differenti: 1) stadio epicitozoico, 2) stadio enterozoico solitario, 3) stadio enterozoico biassociato; 4) stadio di gamonte. Calcolando le lunghezze totali di campioni rappresentativi dei singoli stadi si ottengono delle curve di frequenza sovrapposte per larghi tratti. Ciò significa che la permanenza in ciascuno stadio ed il passaggio da uno stadio al successivo varia da un individuo all'altro della stessa popolazione. Sebbene non siano noti i fattori ambientali che influiscono nel passaggio più o meno precoce da uno stadio all'altro, le ampiezze delle curve di frequenza delle lunghezze totali dei singoli stadi sono caratteristiche per ogni specie. Esse manifestano una diversa norma di reazione posseduta dalle varie specie e possono servire come utili criteri sistematici. L'uso dell'indicazione dell'ampiezza di variazione nelle lunghezze totali degli individui appartenenti ai vari stadi, sebbene possa essere criticata da un punto di vista statistico, appare assai più razionale della qualifica di « gregarine solitarie » e « gregarine biassociative » attribuita all'intera specie.

5. — La diagnosi della gregarina descritta può essere così riassunta:

Gregarina larvarum n. sp.

Gregarina dicistica ad associazione proipodesmica.

Gamontocisti: sferiche con esomembrana gelatinosa pluristratificata, Diametro medio 176-233 μ , media 200 μ .

Oocisti: non osservate.

Trofozoiti: cefalinici a tre stadi:

1) Stadio epicitozoico, brevissimo, fino ad una lunghezza totale inferiore a 18 μ .

2) Stadio enterozoico solitario, molto lungo. Esso inizia ad una lunghezza totale variabile da 160 a 306 μ . Indice protomeritico 1,03-0,38; indice deutomeritico 1,25-3,55; LD/LP 3,1-8,7; WD/WP 1,13-1,73.

3) Stadio enterozoico biassociato di durata minore del precedente. Lunghezza totale massima raggiunta dagli individui variabile da 200 μ a 340 μ . Primate con protomerite a cupola e deutomerite subcilindrico indice protomeritico 0,69-0,33; ind. deutomeritico 1,15-2,25; LD/LP 3,9-8,5; WD/WP 1,93-1,43. Satellite con protomerite alquanto depresso e deutomerite subcilindrico: ind. protomeritico 0,63-0,23; ind. deutomeritico 1,45-2,85; LD/LP 4, 1-10,90; WD/WP 1, 68-1,18.

Gamonti: dicistici biassociati con lunghezze totali variabili da 200 μ a 340 μ .

Ospite: occasionale: larve di *Blaps gibba* ottenute in allevamento; abituale: non conosciuto.

Patria: Roma (Italia).

Roma - Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Parassitologia, Dicembre 1950.

B I B L I O G R A F I A

- (¹) FILIPPONI A.: Riv. Parass. 10, 249 (1949).
 - (²) Illinois Biol. Monogr. 18, II, 21 (1941).
 - (³) FILIPPONI A.: Riv. Parass. 11, 115 (1950).
 - (⁴) FILIPPONI A.: Arch. Zool. It. 33, 306 (1948).
 - (⁵) Rend. Acc. Naz. Lincei [8], 2, VI, 861 (1947).
 - (⁶) Arch. Zool. It. 33, 298 (1948).
 - (⁷) Rend. Acc. Naz. Lincei [8], 2, VI, 862 (1947).
 - (⁸) Riv. Parass. 11, 118 (1950).
 - (⁹) Ann. Sci. Nat. [1], 13, 366 (1828).
 - (¹⁰) Trans. Amer. Micr. Soc. 41, 122 (1922).
 - (¹¹) Arch. Protistenkde 80, 101 (1933).
 - (¹²) Arch. Zool. It. 33, 321 (1948).
 - (¹³) Rend. Acc. Naz. Lincei [8], 2, VI, 860 (1947).
 - (¹⁴) Arch. Zool. It. 33, 298 (1948).
 - (¹⁵) Zeitschr. Parasitenkde 10, 157 (1938).
 - (¹⁶) Illinois Biol. Monogr. 2, III, 189 (1916).
 - (¹⁷) HUXLEY J. S.: Problems of relative growth, Methuen, London (1932).
 - (¹⁸) An. Natal. Mus [7], 2, 195 (1933).
 - (¹⁹) Rend. Acc. Naz. Lincei [8], 2, VI, 859 (1947).
 - (²⁰) Arch. Zool. It. 33, 298 (1948).
 - (²¹) Riv. Parass. 11, 121 (1950).
 - (²²) Riv. Parass. 10, 217 (1949).
 - (²³) Riv. Parass. 11, 130 (1950).
 - (²⁴) Riv. Parass. 11, 176 (1950).
 - (²⁵) LÉGER e DUBOSCQ: Arch. Protistenkde 4, 335 (1904).
 - (²⁶) Riv. Parass. 11, 173 (1950).
-