

nute necessarie allo sviluppo del fungo. E precisamente: si curò che l'aria fosse immobile mantenendo chiuse la porta e la finestra; si collocò un igrometro registratore nel locale, avendo cura di spargere acqua su pavimento, dimodochè l'igrometro segnò sempre per un grado igrometrico da 85 a 95%; mediante termometri si osservò sempre l'andamento della temperatura che si mantenne sempre oscillante fra 26° e 28° C.

Le stesse condizioni regnavano nell'altro stanzino, dove si continuò l'allevamento del primo lotto stropicciato con bachi calcolati virulenti e che morirono dal primo all'ultimo.

Oltre all'esito sopra riferito delle prove di Laboratorio e di quelle fatte nell'ambiente agrario ha importanza notevole il fatto che il nuovo disinfettante è capace di agire efficacemente e specificamente contro il calcino in un tempo notevolmente più breve di quelli che sono attualmente di uso corrente. Difatti, mentre è noto che l'anidride solforosa e l'aldeide formica usata da sola debbono lasciarsi agire negli ambienti chiusi per quarantotto ore, se si vuole essere assolutamente certi della loro completa azione, questo preparato agisce con piena efficacia in sole 5 ore.

Non occorrono altre parole per mettere in evidenza la grande portata pratica di questo vantaggio. Tutti sanno infatti che una delle più potenti ragioni per le quali il coltivatore è restio a praticare le disinfezioni che rendono per un paio di giorni inabitabili i suoi locali ed obbligano la famiglia a grave disagio, consiste appunto nel lungo periodo di tempo durante il quale è necessario sleggiare dai locali stessi, spesso miseri ed angusti e appena sufficienti ad albergare numerose famiglie.

Non resta perciò che da augurare la larga diffusione di questo prodotto che la Ditta intende denominare *Calcino*, e del quale a me non è nota, per ora, la composizione chimica, ma che sarà poi in seguito messo in commercio con le norme del caso.

Microrganismi simbiotici nell'uovo di *Pieris brassicae* L.

In una Nota preliminare da me pubblicata parecchi anni or sono (1), descrivevo sommariamente i microrganismi simbiotici da me scoperti nelle uova di *Pieris brassicae* L. ed affermavo la assoluta costanza della loro presenza nelle uova di questo lepidottero, accertato dallo studio di numerosi preparati di quattro stadi principali dello sviluppo embrionale: stadio di blastoderma completo, di stria germinale con ectoderma e mesoderma metamerico, di blastocinesi compiuta, di embrione prossimo a nascita.

Accennavo anche in detta Nota alla grandissima somiglianza che questi simbiotici della *Pieris* presentano con quelli del *Bombyx mori*, pure da me scoperti (2) e poco più tardi ampiamente illustrati (3).

Scopo della presente Nota è di illustrare le forme libere di questo simbiotico quali si presentano nel vitello dell'uovo nello stadio di stria germinale con ectoderma e mesoderma presentanti una distinta metameria.

Come già rilevavo nella nota citata (3), in questo stadio i simbiotici sono divenuti più scarsi che non nel primo periodo della segmentazione dell'uovo. A parte il loro numero e la loro distribuzione, che è egualmente diffusa nel vitello e nei foglietti embrionali, qui ho voluto illustrare la forma e il processo riprodut-

(1) R. GRANDORI, *Microrganismi simbiotici in "Pieris brassicae"* e "Apanoteles glomeratus ..." Rend. Accad. Lincei, vol. XXIX, serie 5, 1° sem., fasc. 8, Roma, 1920.

(2) R. GRANDORI, *La simbiosi ereditaria nel "Bombyx mori"* - "Atti Reale Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti", t. LXXIX, parte II, Venezia, 1919.

(3) R. GRANDORI, *La simbiosi ereditaria del Filagello* (con 4 tav. litografiche). "Atti Reale Ist. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti", t. LXXIX, parte II, 1919.

tivo del simbiote nella sua forma libera entro le sfere vitelline. Come mostra la fig. 1 *a*, la forma caudata del simbiote della *Pieride* non differisce da quella corrispondente del simbiote bombicino. Esso è una cellula completa, con nucleo nettamente distinto e intensamente colorabile, e che nelle forme libere migranti è collocato in posizione sempre periferica; possiede intorno al nucleo un alone chiaro costituito da plasma pochissimo colorabile, e un territorio di denso citoplasma, per lo più asimmetrico, che assorbe debolmente i colori basici di anilina, ma in parte anche i coloranti acidi (Rosso Congo, Eosina, Orange G).

Chiamo *caudate* queste forme libere e migranti per distinguerle da quelle endogranulari, le quali abitano cioè nei granuli del vitello (riscontrate e descritte nella citata Memoria sui simbioti bombicini, ma che nella *Pieris* non ho potuto ancora dimostrare), e che non posseggono un territorio citoplasmatico differenziabile coi mezzi tecnici consueti.

Alla periferia delle sfere vitelline dell'uovo di *Pieris*, che sono assai più nettamente organizzate che nell'uovo di *Bombyx mori*, come dimostrano le amesse figure, e che sono anche qui cellule complete ed attivissime, ricchissime di granuli di tuorlo assai più piccoli di quelli delle sfere vitelline del bionice del gelso, si notano qua e là forme caudate del simbiote che sono con tutta evidenza in atto di penetrare entro la cellula vitellina medesima (fig. 1 *b*). Tali simbioti in atto di penetrare posseggono nucleo notevolmente accresciuto e rigonfio, un territorio citoplasmatico slargato e asimmetrico al lato antinucleare, assottigliato in un collo verso il nucleo.

Penetrato che sia, e divenuto endocellulare nella sfera vitellina, il simbiote subisce una fase di accrescimento, come mostra la fig. 1 *f*; accrescimento che conduce la massa di citoplasma ad un aumento di volume sempre più notevole fino a 4-5 volte quello primitivo (fig. 1 *e*). Successivamente si hanno fasi che preludono ad una riproduzione del microrganismo per un processo di vera contomia. Come mostra la fig. 1 *d*, il territorio di citoplasma presenta contorno frastagliato, insenature e lobi; il nucleo presenta fasi di frammentazione in parecchie masserelle cromatiche, accompagnata da vacuolizzazione del citoplasma (vacuolizzazione che non esiste mai nelle piccole forme libere caudate); ed infine, come mostra con tutta evidenza la fig. 1 *h*, il territorio citoplasmatico si suddivide in parecchi piccoli territori separati, ciascuno dei

quali possiede uno dei nuclei figli. Il processo mi sembra sostanzialmente identico alla riproduzione contomica dei parassiti malarici nelle emazie umane.

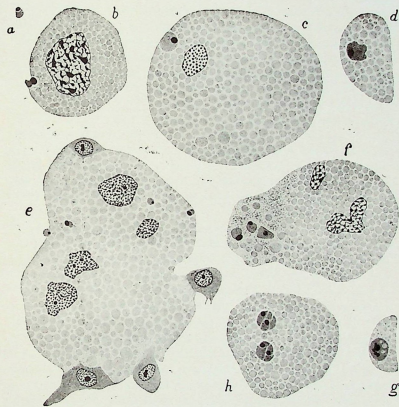


Fig. 1. - Sfere vitelline e loro simbioti, in *Pieris brassicae*. — *a*, simbiote libero negli spazi fra le sfere vitelline (forma caudata) - *b*, simbiote caudato in atto di penetrare in una sfera vitellina - *c*, simbiote già penetrato, in via di accrescimento - *d*, come il precedente, e che prelude già ad una riproduzione contomica - *e*, sfera vitellina con 4 simbioti liberi; la sfera possiede 4 nuclei, e ha originato 4 cellule figlie migranti fuori di essa - *f*, sfera vitellina contenente 3 simbioti in via di accrescimento - *g*, simbiote entro una sfera, con nucleo che dà origine a parecchi nuclei figli - *h*, sfera vitellina che contiene due simbioti in divisione contomica.

Tutte le figure sono disegnate ad ingrandimento di 1100 diametri.

La grande sfera vitellina di fig. 1 e, che contiene parecchi simbioti caudati in una sola sezione (nelle sezioni vicine se ne contano altri 3 oltre quelli ivi raffigurati) dimostra come dopo l'avvenuta coniotomia i mononti figli si allontanano e divengono liberi o migranti.

Tale, per sommi capi, il modo di riproduzione delle forme caudate del simbiote, in perfetta analogia con quello già da me dettagliatamente illustrato per il simbiote del baco da seta.

I caratteri morfologici sopra descritti ed il modo di riproduzione del microrganismo mi inducono a concludere che si tratta anche in questa specie di uno sporozoo simbiotico. La sua immancabile presenza in tutte le uova di *Pieris brassicae*, la sua penetrazione e attivissima moltiplicazione nelle cellule vitelline, nonché nei foglietti embrionali e in alcuni organi embrionali negli stadi successivi alla blastocinesi, mi inducono, come per il simbiote bombicino, a ritenere che si tratta di microrganismi la cui presenza e attività è necessaria e strettamente collegata col normale svolgimento dell'embriogenesi, e precisamente di un fattore morfogenetico necessario.

Ricerche in corso, eseguite dai miei assistenti, di cui è imminente una pubblicazione preliminare, renderanno conto dell'importante reperto di simbioti vitellini in uova di altre specie (ragni, afidi); cosicchè sarà sempre più ampiamente dimostrato che il vitello dell'uovo di parecchie specie di Artropodi non è quella sostanza morta che fino a pochi anni fa si riteneva, bensì è la sede di una meravigliosa ed intensa attività di miriadi di microrganismi necessari allo sviluppo dell'essere nuovo.

Ma l'attività della massa vitellina si esplica, oltrechè con le colonie di simbioti che la abitano (e probabilmente la modificano a vantaggio dell'embrione), anche con una proliferazione continua delle stesse cellule-sfere vitelline. Le quali, nella *Pieris brassicae* mostrano, assai più evidente che nel *Bombyx mori*, una continua proliferazione cellulare che produce sempre nuove cellule figlie, a citoplasma denso, che migrando fuori delle sfere (fig. 1 e) vanno direttamente a costruire foglietti ed organi embrionali. Nella *Pieris*, essendo l'embriogenesi assai rapida (5 giorni nella stagione estiva), il fenomeno è molto accentuato e assai più chiaro di quanto non sia nei bombicini. I nuclei delle sfere vitelline si moltiplicano continuamente per divisione diretta (mai è dato osservare in esse alcuna figura cariocinetica); e i nuclei figli, in-

torno ai quali si aduna una certa quantità di citoplasma della cellula madre, formano le *cellule migranti* che fuoriescono dalla sfera madre e affluiscono all'embrione.

I materiali che concorrono a dimostrare questo concetto dell'impertanza morfogenetica del vitello e dei suoi simbioti aumentano di continuo quanto più ci addentriamo nello studio minuzioso dell'uovo e quanto più estendiamo le nostre ricerche a numerose specie. Io e i miei scolari pensiamo di poter raggiungere prove abbastanza vaste e segnalare fatti abbastanza evidenti e numerosi per concludere che le simbiosi vitelline sono una realtà estesissima e di grande valore nei fenomeni dello sviluppo embrionale.