

## Esperimenti sulla propagazione della pebrina attraverso il pulviscolo atmosferico

Gli esperimenti condotti nella campagna bacologica 1935 da me e dai miei collaboratori intorno agli effetti di somministrazioni di estratti larvali a bachi sani (1) richiedevano come condizione fondamentale la sicurezza che le partite di bachi destinate a ricevere tali somministrazioni si fossero mantenute sane fino al momento dell'esperimento, che si effettuava subito dopo la 3<sup>a</sup> muta, e che si mantenessero sane anche fino alla salita al bosco. Più ancora tale necessità si rendeva assoluta nei tentativi di vaccinazione, fatta su bachi di 4<sup>a</sup> età, ai quali si somministrava, dopo il vaccino, una infezione pebrinosa artificiale; occorreva essere assolutamente certi che nessun baco fosse infetto prima dell'infezione artificiale, nè a questa si sovrapponesse più tardi una nuova infezione proveniente dall'ambiente.

È noto dalle classiche ricerche di PASTEUR (2) che il contagio della pebrina può avvenire anche a distanze notevoli, da una cascina all'altra, e che esso è immanicabile, come egli afferma, quando l'allevamento sano e quello infetto siano tenuti nello stesso locale o in locali diversi di uno stesso caseggiato. « Ponete in un bigattiera bachi sanissimi su una tavola « lontana da quelle dell'allevamento principale, e prendete le cure necessarie perchè non vi sia mai mescolanza fra le due sorta di bachi. Se « l'allevamento principale è malato, siate sicuri che i vostri bachi sani al- « l'origine s'infetteranno tutti. È impossibile non attribuire il contagio « che avviene in queste circostanze alle polveri in sospensione nell'aria ».

(1) GRANDORI R. e L. — *Effetti di estratti larvali sulla crescita delle larve del Filugello e sul loro prodotto in seta* - Milano, Architipografia, 1936.

GRANDORI R. e L. — *Effetti di estratti larvali sulla crescita dei bachi da seta* — La Ricerca Scientifica, serie II, Anno VI, vol. II, n. 5-6, Roma, 1936.

GRANDORI R. e L., PROVASOLI L., GIORGI D. — *Effetti di estratti larvali e di altre sostanze sulla crescita delle larve del Filugello* — La Ricerca Scientifica, serie II, anno VII, vol. II, n. 9-10, Roma, 1936.

GRANDORI R. e L., PROVASOLI L., GIORGI D. — *Studi sperimentali intorno agli effetti di sostanze varie sulla crescita del Baco da seta*. — Bollettino di Zool. Agr. e Bachicoltura, vol. VII, Milano, 1936.

(2) PASTEUR L. — *Études sur la maladie des Vers-à-soie* — Paris, 1870.

Ed è rimasta famosa la profezia del Pasteur, da lui stesso narrata, sull'esito che avrebbe avuto un allevamento di seme sanissimo condotto nella stessa camera con un altro infetto. Egli profetizzò che tutto l'allevamento proveniente da seme infetto sarebbe perito, e avrebbe comunicato l'infezione a quello sano senza però comprometterlo. Difatti l'allevamento infetto perì, e le crisalidi di quello originariamente sano furono trovate tutte infette, pur dando ottimi bozzoli. Una mezza oncia dello stesso seme sano, allevata in una cascina molto lontana, ebbe tutte crisalidi sane.

L'esperienza di 70 anni di studi e di osservazioni, e tutta la vasta sperimentazione accumulata dagli industriali confezionatori di semebachi nei loro allevamenti da riproduzione, hanno confermato le conclusioni dell'illustre biologo francese con una ampiezza e costanza che raramente si possono raggiungere nell'esperimento scientifico.

Per poter dunque condurre i nostri esperimenti in modo che riuscissero assolutamente probativi era necessario difenderli da qualsiasi possibile inquinamento che potesse sopravvenire dall'ambiente, e soprattutto dall'atmosfera, giacchè il veicolo *foglia* ha importanza trascurabile, come afferma lo stesso Pasteur, specialmente quando — come nel mio caso — si può raccogliarla in località lontana da ogni allevamento, somministrarla freschissima, tagliarla con coltelli sterilizzati, usare guanti di gomma e cuffiette sterilizzate per le operatrici, e tutte le altre precauzioni atte a mantenere l'alimento esente da infezione.

Accertata la sanità assoluta del seme negli ultimi giorni dell'incubazione e poi quella dei neonati, si allevarono i singoli lotti, composti di un numero variabile di bachi da 10 a 100, sotto una speciale copertura da me ideata per proteggere i letti e i bachi dalla caduta del pulviscolo atmosferico. Essa consisteva in semplicissime campane di cellofane sostenute da due cerchi di grosso filo di ferro su cui il cellofane era disteso in superficie cilindrica dell'altezza di 20 c. m.; tale porzione cilindrica si continuava poi in alto, senza alcuna soluzione di continuità, con un cappello conico che costituiva una copertura completa. L'orlo inferiore della parete cilindrica di cellofane non toccava il piano della tavola, ma ne rimaneva sollevato circa 4-5 cm., per lasciar passaggio ad un sufficiente ricambio d'aria. Nessuna benchè minima apertura venne praticata su tutta la parete cilindrico-conica della campana. Nel momento del pasto, veniva sollevata la campana per pochissimi secondi e subito rimessa a posto. Il cambio del letto veniva fatto il più possibile in copertura.

Tale sistema sarebbe stato certamente insufficiente per una protezione da bacteri, sia per lo spazio lasciato fra l'orlo inferiore del cellofane e il tavolo, sia perchè la campana doveva essere rimossa ad ogni pasto,

sia pure per pochi secondi; ma che esso fosse sufficiente a proteggere i bachi da infezioni di pebrina che possono sopravvenire dall'ambiente è dimostrato dal seguente risultato: nei locali della filanda Gallese in Bernareggio al primo piano si allevavano in copertura di cellofane molti lotti di bachi sani, mentre al piano superiore, nel locale materialmente soprastante, e separato dal sottostante per mezzo di un semplice assito, si allevavano molti lotti intensamente infetti; ebbene, neppure un solo baco dei lotti sani s'infettò di pebrina.

Ma oltre ad applicare tale metodo alla difesa dei nostri allevamenti sperimentali, volli anche istituire esperimenti appositi, rivolti ad accertare entro quali limiti la difesa dalla semplice caduta del pulviscolo atmosferico è efficace, anche quando, vicino ad allevamenti sani, si conducano allevamenti infettissimi; e se, a vari gradi di perfezione della protezione meccanica corrispondono gradi di difesa diversi.

Destinai allo scopo una stanza del Laboratorio di Milano, un angolo della quale è occupato da una cabina in legno e vetro perfettamente chiusa per operazioni batteriologiche; nella cabina si accede mediante due porte, una dopo l'altra, con una piccola anticamera interposta. In questa cabina pensai che la protezione dal pulviscolo, e quindi dalla infezione pebrinosa, dovesse essere perfetta, ed ivi si allevò un lotto di bachi di razza *Bione* sanissimi trasportandoveli al 2° giorno dopo la 1ª muta; fino ad allora essi avevano soggiornato in un grande termostato, e quindi in protezione completa (Lotto I).

A 2 metri di distanza dalla porta della cabina, nel bel mezzo della stanza fu collocato un tavolo, e su di esso fu portato al 2° giorno dopo la prima muta un altro lotto di razza *Bione* della stessa covata del precedente, e fu subito coperto con campana di cellofane e allevato sotto copertura (Lotto II).

Sullo stesso tavolo fu posto — a circa 1 metro di distanza dal precedente — un altro lotto di bachi della stessa razza, età, e provenienza dei due precedenti, e fu allevato senza alcuna copertura (Lotto III).

Sullo stesso tavolo furono portati subito dopo la 3ª muta altri bachi di razza *Oro Chinese*, ed allevati ad 1 metro di distanza dal Lotto III, senza nessuna copertura (Lotto V).

Su un altro tavolo posto a distanza di 1 metro dalla cabina e di 2 metri da quello dei tre lotti ora descritti, fu allevato, a partire dalla 2ª muta e senza nessuna copertura, un lotto di bachi di razza *Gialla indigena* non precisata, ottenuto da ovature infette, cortesemente forniteci dalla R. Stazione Bacologica di Padova (Lotto IV).

Su questo stesso tavolo del lotto infetto si allevò, mantenendolo a 50 centimetri dal lotto pebrinoso e senza nessuna copertura, un lotto di bachi di razza bivoltina *Awoijku* a partire dalla 3ª muta (Lotto VI).

Del governo di questi allevamenti fu incaricato un inserviente già esperto, e che usò le seguenti precauzioni:

a) Non spazzare il pavimento per tutta la durata dell'allevamento;

b) Iniziare la distribuzione della foglia dai lotti I e II, poi ai lotti III, V, VI, e da ultimo al lotto IV che era quello infetto;

c) lavarsi accuratamente le mani prima e dopo ciascuna distribuzione;

d) non gettar mai nulla dei vecchi letti in terra, ma portare tutto fuori del locale, trasportando subito tutto questo materiale di rifiuto ad un deposito lontano circa 100 metri dall'edificio;

e) non far mai soggiornare nel locale di allevamento la foglia da distribuire, bensì spicarla fresca dagli alberi del cortile, tagliarla e somministrarla subito;

f) non aprire mai le finestre del locale per tutta la durata dell'allevamento.

Al termine dell'allevamento fu compiuto l'esame microscopico delle farfalle ottenute da tutti i lotti, eccettuato il lotto IV, per il quale l'esame microscopico era stato condotto durante l'allevamento man mano che i bachi morivano o venivano pestati, e in piccola parte sulle poche farfalle ottenute.

L'esito dell'esperimento è riassunto nei dati della tabella qui annessa. I bachi in cabina rimasero tutti sani, e così pure quelli allevati sotto la campana di cellofane. Fra quelli allevati senza copertura, l'esito è stato diverso nei diversi lotti: i bachi del lotto III, che erano stati portati nel locale subito dopo la 2<sup>a</sup> muta il 6 maggio, s'infettarono — nonostante le precauzioni usate — ma in percentuale molto lieve (6,4%); invece i lotti V e VI, che furono introdotti nel locale dopo la 3<sup>a</sup> muta il 13 maggio, non si infettarono affatto. Quello che è più sorprendente è il fatto della sanità assoluta conservatasi nei bachi del lotto VI, allevati a piccolissima distanza dall'allevamento infettissimo: 50 centimetri sullo stesso tavolo.

Risulta dunque dimostrato sperimentalmente che:

1<sup>o</sup>) se non vi sono movimenti convettivi vivaci nell'aria della bigattiera, e se i materiali infettanti dei letti non vengono sciorinati sul pavimento, la pebrina si propaga con grandissima difficoltà da allevamento infetto ad allevamento sano, anche nel medesimo locale;

2<sup>o</sup>) l'infezione si propaga attraverso il pulviscolo atmosferico del quale vanno a far parte le spore del *Nosema* provenienti evidentemente dalle deiezioni disseccate dei bachi infetti;

3<sup>o</sup>) una protezione meccanica atta ad impedire la caduta verticale del pulviscolo sui bachi e sui loro letti basta ad impedire la trasmissione della malattia.

PASTEUR (1), la FOÀ (2), MONTANARO (3) riferiscono di molti loro esperimenti intorno ai limiti di vitalità dei corpuscoli del *Nosema bombycis* nell'ambiente, esperimenti tutti che riuscirono dubbî o di impossibile interpretazione perchè s'infettarono anche gli allevamenti di controllo. Sembra strano che, pur ammettendo tutti che le spore del *Nosema* si propaghino attraverso l'atmosfera, a nessuno sia mai venuto in mente di impedire l'arrivo del pulviscolo atmosferico sui bachi. Col metodo da me usato è fuori di dubbio che si può bandire quando si voglia dai nostri allevamenti — almeno in condizioni sperimentali — quel fattore che ha turbato finora o reso contraddittorio e inesplicabile l'esito di tanti esperimenti.

(1) Opera citata.

(2) FOÀ A. — *Influenza del maschio nella trasmissione della pebrina nel baco da seta* — Bollett. Lab. Zool. Gen. e Agr. Portici, vol. XV, 1921.

(3) MONTANARO N. — *Osservazioni e ricerche intorno alle cause per le quali nonostante la selezione del seme, è ancora diffusa la pebrina* — Informaz. Seriche, Anno IX, n. 3, Roma, 1922.

Esperimento intorno all'efficacia della protezione

N. distintivo dei lotti	N. dei bachi all'inizio dell'allevamento	N. individui incrisalidati	N. individui perduti durante l'allevamento	Bachi pestati per infettare altri lotti, dopo constatata l'infezione
I <sup>o</sup> Bachi in cabina sterile	100	88	12	—
II <sup>o</sup> Bachi sotto campana di cellofane	100	83	17	—
III <sup>o</sup> Bachi su tavolo, scoperti	100	77	23	—
IV <sup>o</sup> Ereditariamente infetti, su tavolo scoperti	82	14	43 morti di pebrina	25
V <sup>o</sup> Su tavolo, scoperti	63	63	—	—
VI <sup>o</sup> Su tavolo, scoperti	81	81	—	—

meccanica dalla caduta del pulviscolo atmosferico

Risultati dall'esame microscopico per la pebrina:			Osservazioni
sani	infetti	%	
88	—	0	I bachi furono introdotti in cabina sterile al 2 <sup>o</sup> giorno dopo la 1. <sup>a</sup> muta e ivi allevati fino alla salita al bosco (razza Bione).
83	—	0	Posti su tavolo a 2 metri dalla cabina al 2 <sup>o</sup> giorno dopo la 1. <sup>a</sup> muta e allevati sotto la campana di cellofane fino alla salita al bosco (razza Bione).
72	5	6,4	Come il lotto precedente, senza copertura alcuna (razza Bione).
1	81	98,7	Allevati dopo la 2. <sup>a</sup> muta, fino alla salita al bosco su tavolo a 1 metro dalla cabina e a 2 metri dal tavolo dei Lotti II, III, V, (razza Gialla Indigena).
63	—	0	Allevati dalla 3. <sup>a</sup> muta alla salita al bosco, scoperti, su tavolo a 2 metri da quello degli infetti (razza Chinese Oro).
81	—	0	Allevati dalla 3. <sup>a</sup> muta alla salita al bosco, scoperti, sullo stesso tavolo degli infetti, a 50 cm. da questi (razza Bivoltina A-wojku).