
Dr. DIEGO GIORGI

STUDI SULLA PEBRINA
DEL BOMBYX MORI

Tutti gli esperti in materia di Bachicoltura scientifica sono concordi nel ritenere che il problema della pebrina, nonostante l'enorme numero di ricerche e di ricercatori che ad esso si sono dedicati, è ben lontano ancor oggidì dall'aver raggiunto la sua completa soluzione.

Conosciamo con esattezza il parassita e gli stadi di sviluppo che esso presenta negli organi del Filugello; sappiamo anche che con una selezione microscopica rigorosa, ripetuta però annualmente, si riesce in pratica ad annullare gli effetti sensibili del morbo, ma non si riesce ad annientarlo e a farlo sparire.

Per spiegare questa ricomparsa del *Nosema bombycis* negli allevamenti provenienti da seme microscopicamente selezionato, gli studiosi hanno emesso recentemente l'ipotesi che il Filugello sia un ospite del *Nosema*, ma non sia il solo, e che il parassita possa compiere parti ignorate di un suo ciclo, obbligate o facoltative, in qualche altro animale, che ne sarebbe perciò, per un tempo più o meno lungo, il depositario e ne diventerebbe trasmettitore al sopravvenire della nuova primavera.

I più fondati sospetti furono portati sul *Dermestes lardarius* e altre specie di Dermesti che sono immancabili abitatrici degli stabilimenti di confezione del seme-bachi; spetta al CANDURA (1) il merito d'aver sollevato per il primo la questione e di aver compiuto sull'argomento le prime osservazioni ed espe-

(1) CANDURA GIUSEPPE. - Prima serie di ricerche per conoscere gli ospiti del *Nosema bombycis* che produce l'atrofia parassitaria o pebrina del baco da seta. - Annali di Tecnica Agraria, 1931.

rienze. Ma purtroppo le sue conclusioni non poterono essere definitive, nè le sue esperienze furono probative perchè, come l'autore stesso scrive, furono troppo limitate. Ma in ogni modo la di lui esperienza principale, consistente nel nutrire i Dermesti con materiale pebrinoso (farfalle e uova) riscontrando poi nelle deiezioni del Dermeste la presenza di spore di *Nosema*, poneva indubbiamente il problema in piena luce e faceva intravedere l'importanza grandissima che la conclusione di queste ricerche poteva assumere qualora la dimostrazione positiva della capacità del Dermeste a diffondere la pebrina fosse stata raggiunta.

Ma l'esperimento del *CANDURA* non giunse a determinare se le spore osservate nei caccherelli del Dermeste, dopo aver attraversato il tubo digerente del coleottero, si fossero conservate vive e vitali; egli si limitò alla pura e semplice constatazione della presenza di spore mature.

Ma è chiaro che la possibile trasmissione della malattia attraverso il Dermeste da un anno all'altro è strettamente legata alla sopravvivenza delle spore o di un qualsiasi altro stadio di sviluppo del parassita durante il suo soggiorno nell'intestino del coleottero, perchè, se si dimostrasse che esso è capace di lasciare passare nei suoi caccherelli soltanto spore morte e che nessun altro stadio del parassita trovasi vivo nei caccherelli medesimi, evidentemente il coleottero perderebbe ogni valore come trasmettitore o depositario del *Nosema*.

Più ancora interessante sarebbe stato il constatare se il parassita, supposto che possa mantenersi vivo anche per lungo tempo nel corpo del Dermeste, compia addirittura una qualche fase a noi ancora ignota del suo ciclo, penetrando nelle cellule dell'epitelio intestinale del coleottero, o migrando in altri suoi organi.

Tale essendo lo stato della questione mi proposi:

a) di compiere nuove e ampie osservazioni per confermare se i Dermesti diffondono effettivamente coi loro escrementi le spore del *Nosema*;

b) di accertare se il *Nosema* attacca i tessuti vivi del Dermeste e si comporta, anche con questo ospite, come parassita; e in caso positivo, quali fasi di sviluppo esso presenta.

I. - ESPERIENZE PER CONFERMARE LA PRESENZA DEL *NOSEMA* NEGLI EScrementI DEL DERMESTE.

Per poter lavorare su materiale sicuro, ho allevato i Dermesti, ottenuti dalla cortesia di confezionatori di seme-bachi, sia mantenendone un certo numero isolati individuo per individuo in altrettante capsule di Petri, sia tenendoli riuniti. Negli allevamenti isolati ho potuto constatare che i Dermesti si possono conservare in vita per lungo tempo (fino a 30 giorni), anche tenendoli nel più rigoroso digiuno.

Dagli allevamenti di Dermesti riuniti rilevai che essi, mantenuti digiuni, dopo un certo tempo si abbandonano al cannibalismo, perchè spinti dalla fame.

Per poter stabilire quale sia la lunghezza del periodo di tempo necessario affinché i Dermesti evacuo completamente le sostanze di rifiuto dell'alimento ingerito, cioè, in brevi termini, la durata della digestione, ho istituito la seguente semplice esperienza:

Presi 4 Dermesti che per 6 giorni avevo nutrito con biscotti, e dopo averli isolati ciascuno in una capsula di Petri, propinai loro del biscotto triturato e poi rimpastato con Bleu di metilene. Lasciai a disposizione dei 4 Dermesti siffatto alimento fino a che vidi comparire i primi caccherelli colorati in azzurro. Allora tolsi l'alimento colorato e tornai a somministrare biscotto comune. Costatai allora che entro un termine massimo di 2 giorni i caccherelli dei Dermesti non presentavano più alcuna traccia del colorante.

Allo scopo di confermare la presenza di spore di *Nosema* negli escrementi del Dermeste, disposi i seguenti esperimenti:

A) Dermesti adulti furono alimentati con crisalidi pebrinose;

B) Dermesti adulti furono alimentati con biscotto triturato e inquinato per mezzo di poliglia ottenuta da pestatura di bacolini neonati pebrinosi;

C) Dermesti adulti furono alimentati con biscotto polverizzato e impastato con acqua, nella quale era stato spappolato il meconio di bacolini neonati pebrinosi;

D) Dermesti adulti furono alimentati con larvette neonate pebrinose.

Non ho mai alimentato Dermesti con ovature pebrinose del Filugello, perchè avevo osservato che quando i Dermesti sono così nutriti, i loro organi interni sono difficilmente sezionabili per la presenza dei frammenti del guscio corneo nel contenuto intestinale, frammenti che rendono friabili le sezioni e rendono difficile ottenere buoni preparati.

ESPERIENZA A. — Da un lotto di Dermesti adulti, cortesemente inviati su richiesta da uno stabilimento bacologico di Vittorio Veneto, separai il 9 marzo 8 individui, e li isolai in una capsula di vetro.

Pensando che in libertà, negli stabilimenti di confezione del seme-bachi, i Dermesti mangiano assai spesso, oltre le uova, i corpi delle farfalle racchiusi nelle cellette, vollen somministrare in pasto, agli individui isolati, tre farfalle della stagione bacologica 1933, riscontrate intensamente pebrinose all'analisi microscopica di frammenti d'ali, allo scopo di osservare se i corpuscoli della pebrina contenuti in tale materiale potessero riprodurre l'infezione nei coleotteri in studio. Al momento della somministrazione dell'alimento, i Dermesti erano a digiuno da almeno 5 giorni, tempo intercorso per il viaggio ed il soggiorno in laboratorio.

I Dermesti incominciarono subito a cibarsi dei corpi essiccati delle farfalle e continuarono attivamente a nutrirsene anche nei giorni successivi, tanto che il 16 marzo non restavano che magri avanzi, fra cui le ali, meno appetite.

Potei notare che i Dermesti, accingendosi a mangiare farfalle di baco da seta cominciano dall'addome, ed in esso si adentrano e si nascondono a mano a mano che ingeriscono gli organi contenuti.

Il giorno 16 marzo 1934 esaminai al microscopio, previo spappolamento in acqua, alcuni caccherelli dei Dermesti in osservazione, e potei constatare che il campo appariva letteralmente pieno di spore di *Nosema bombycis* come se gli escrementi fossero costituiti esclusivamente di esse. Tali spore avevano un aspetto del tutto identico a quello delle spore osservate nei frammenti di ali delle farfalle.

Il 22 marzo presi 4 dei dermesti alimentati nel modo sopra-detto e li fissai in liquido di Bouin; dopo mezz'ora di soggiorno nel fissativo tolsi ai coleotteri le elitre e la testa, al fine di favorire meglio la penetrazione del liquido. Ai 4 dermesti rimasti, il 28 dello stesso mese, estrassi l'intestino, essendo questo l'organo di maggior interesse per le osservazioni microscopiche che mi proponevo, e li fissai, 2 in liquido Bouin e 2 in miscela cromoacetica.

Anche ai 4 dermesti fissati in toto, dopo 24 ore di permanenza nel liquido fissativo, estrassi l'intestino.

Per estrarre l'intestino dal corpo del Dermeste, fissavo l'animale su un substrato paraffinato, staccavo con delicatezza le elitre, toglievo quindi le ali, mettendo allo scoperto i tergiti dell'insetto; indi, con un piccolo bisturi, incidevo perifericamente, in senso orizzontale, la parete chitinoso addominale dell'animale, e sollevandola, restavano allo scoperto gli organi contenuti nell'addome, e in mezzo ad essi ben visibile l'intestino.

Manovrando delicatamente con due aghi per troncane i vari legamenti, estraeva l'intero tubo digerente, includendolo poi isolato in paraffina per le sezioni. Delle osservazioni compiute sulle sezioni dirò più avanti.

ESPERIENZA B. — Il 15 marzo 1934, da un lotto di Dermesti adulti, spediti da Vittorio Veneto, isolai in una capsula di vetro 8 individui, ed ammannii loro — dopo un digiuno presumibile di 3 giorni da essi subito in viaggio — del biscotto sfarinato e mescolato col materiale di 5 bacolini neonati pebrinosi, morti e disseccati, dopo averli finemente polverizzati in mortaio.

I Dermesti di questa esperienza si accingono, con assai minor avidità di quelli del lotto A a cibarsi e ancora il 20 marzo mangiano straccamente; i caccherelli sono assai scarsi. Esaminati al microscopio, previo spappolamento in acqua, tradiscono la presenza di spore del *Nosema bombycis*.

Il comportamento anormale dei Dermesti di questo lotto, fece sorgere in me il sospetto che nel modo di somministrazione del cibo risiedesse la causa della anomalità, onde ideai un nuovo metodo di alimentazione di cui dò conto nelle notizie sull'esperienza C.

Il 25 marzo potei notare nei caccherelli dei Dermesti del lotto B, di cui ci occupiamo, alcune apore di *Nosema*. Il 28 marzo fissai, parte in liquido di Bouin e parte in liquido cromacetico, previa estrazione secondo il metodo descritto, l'intestino dei Dermesti già in allevamento. Delle osservazioni microscopiche ottenute dirò più oltre.

ESPERIENZA C. Dal lotto di Dermesti che tengo in allevamento cibandoli con biscotto, alimento che questi Coleotteri appetiscono molto bene, prelevò 8 individui il giorno 16 marzo e li isolò in una capsula di vetro.

Alle ore 18 di detto giorno faccio una piccola pallottola, del diametro di 7-8 mm. pestando 10 bacolini pebrinosi neonati con un pezzetto di biscotto ed aggiungendo una goccia d'acqua per poter impastare l'insieme.

La pallottola così ottenuta vien data in pasto agli 8 Dermesti isolati: già la mattina del giorno successivo noto che i Dermesti hanno attaccata la pallottolina alimentare.

Il 20 marzo i Dermesti continuano a mangiare con avidità; la quantità di caccherelli è abbondante e insieme microscopico di alcuni di essi, previo spappolamento in acqua, rivela la presenza di spore del *Nosema*.

Il 22 marzo ammannisco, sempre per questo lotto di Dermesti, una seconda pallottola di biscotto pure inquinata da 10 larvette pebrinose finemente spappolate, perchè la prima si è alquanto essiccata.

Il giorno successivo noto che anche la seconda pallottola alimentare è già stata attaccata.

Il 29 marzo fisso 3 Dermesti in liquido di Bouin, nello stesso modo già descritto nell'esperienza A; ai restanti estraggo il tubo digerente che fisso parte in liquido Bouin, parte in liquido cromacetico. Dell'osservazione microscopica dirò più innanzi.

ESPERIENZA D. — Dal lotto di Dermesti arrivati da Vittorio Veneto, il giorno 16 marzo prendo 3 individui, li isolo in una capsula di vetro, e somministro loro, come cibo 10 larvette neonate pebrinose vive.

Noto il giorno successivo, ed ancora il 20 marzo e il 22 marzo, che i Dermesti non si cibano di larvette di baco, le quali

intanto sono morte. Il 30 marzo le larvette non sono ancora state intaccate; il 15 aprile i 3 Dermesti sono morti di fame senza essersi cibati delle larve pebrinose.

Prima di passare all'osservazione microscopica degli intestini dei Dermesti alimentati con cibo inquinato da materiale pebrinoso, vollen studiare la struttura istologica dell'intestino di Dermesti sani, onde avere poi con sicurezza un termine di confronto nell'esaminare la struttura dell'intestino di Dermesti infetti e poterne quindi riconoscere le eventuali lesioni prodotte dal *Nosema*.

Studiò intestini di Dermesti sani col metodo delle sezioni ed usando le seguenti colorazioni:

Ematossilina ferrica di Heidenhain, metodo di Giemsa, Ematossilina tricromica di Mallory, Ematossilina Carazzi. Fra tutte queste colorazioni, quella di Giemsa fu sempre la migliore per mettere in evidenza le forme del *Nosema bombycis*.

Essenzialmente l'intestino medio è costituito di un epitelio cilindrico le cui cellule, verso il lume del tubo digerente, mostrano un sottile orlo striato.

L'ufficio di tali cellule è quello della secrezione del succo gastrico; sono cellule ghiandolari a secrezione olocrina. Le singole cellule hanno forma regolare cilindrica quando ancora non sono entrate in fase di secrezione, e assumono poi un aspetto caliciforme quando il succo gastrico è stato secreto in abbondanza.

La cellula, dopo svuotato il secreto, degenera e muore.

La regione anteriore e posteriore dell'intestino medio presentano restringimenti o pliche anulari abbastanza marcate, mentre la regione mediana si presenta quasi cilindrica, pur conservando tracce di pliche anulari assai più tenui.

ESAME DELLE SEZIONI. — Un'accurata osservazione microscopica di circa 2500 sezioni di tubi digerenti, vasi malpighiani, fasci muscolari, dei Dermesti alimentati con materiale

pebrinoso nei modi descritti per le singole esperienze, mi permette di affermare che *mai mi fu possibile rilevare in tali organi lesioni che fossero riconducibili all'azione parassitaria del Nosema bombycis*.

Non solo non ho mai potuto notare la presenza di spore isolate o riunite nei tipici nidi, ma nemmeno l'esistenza, negli organi in esame, di alcuna forma del ciclo del parassita.

Contrariamente, dunque, a quanto aveva interpretato il CANDURA nelle sue esperienze, riportate all'inizio del presente capitolo, i Dermesti non soggiacciono ad una vera infezione pebrinosa, vale a dire il parassita non penetra nelle pareti intestinali del Dermeste che si nutre di alimento infetto, e non attacca menomamente le cellule sane dell'epitelio intestinale, nè passa ad infettare alcun altro organo del Coleottero.

Concluderemo quindi:

a) effettivamente i Dermesti, nutrendosi con materiale infetto, contribuiscono alla diffusione delle spore del *Nosema bombycis*, ma queste passano tali e quali attraverso il loro intestino e si ritrovano negli escrementi.

b) Il meccanismo della diffusione si deve principalmente riconnettere al fatto della polverizzazione dei caccherelli dopo il loro disseccamento, ed alla conseguente loro dispersione nell'atmosfera.

c) Le spore, cadendo sulla foglia che si dà in pasto ai bachi, o direttamente sui bachi stessi, possono certamente diffondere l'infezione negli allevamenti.

d) *E' da escludere che il Nosema bombycis compia nei tessuti del Dermestes lardarius alcuna fase, neppur facoltativa, del suo ciclo. E pertanto questo coleottero non si può riguardare come un vero ospite intermedio nel senso parassitologico, bensì come un semplice trasmettitore operante un trasporto meccanico delle spore mature del parassita.*

e) Benchè l'aspetto delle spore di *Nosema* emesse coi caccherelli dai Dermesti infetti sia del tutto identico a quello che riscontrasi nei tessuti vivi del Filugello, allo stato attuale

delle nostre conoscenze *non possiamo essere certi che il loro passaggio attraverso il tubo digerente del coleottero non abbia minorata o anche annullata la loro vitalità.*

Per rispondere a quest'ultimo importantissimo quesito, avevo intrapreso esperienze di alimentazione di bachi con foglia bagnata mediante soluzioni ottenute stemperando in acqua i caccherelli di Dermesti raccolti nelle esperienze di cui sopra ho fatto cenno. Purtroppo però non mi riuscì di ottenere un rigoroso isolamento di tali allevamenti; e dall'ambiente presumibilmente inquinato l'infezione ricomparve anche nei controlli. Ogni esperto in materia sa quanto sia difficile ottenere un isolamento di tal genere, e quindi queste prove saranno ripetute fino ad ottenere allevamenti comparativi con esito assolutamente dimostrativo.

II. - EFFETTI DELL'INFEZIONE PEBRINOSA NELLE DIVERSE ETÀ LARVALI.

Uno dei punti non ancora chiariti della eziologia della pebrina nei bachi da seta è quello relativo all'importanza che la malattia assume quando sopraggiunga in un lotto di bachi sani nel corso dell'allevamento. In altre parole, il quesito alla cui risoluzione tendono le esperienze da me istituite nella ultima campagna bacologica, in termini ben precisi è il seguente:

« *se ed a partire da quale età della vita larvale del baco da seta nato sano, l'infezione pebrinosa sopravvenuta nel corso dell'allevamento diventa letale alle larve stesse* ».

Questo quesito che allo stato attuale della scienza e della tecnica è del tutto oscuro, e che riveste tuttavia una grande importanza pratica perchè strettamente connesso, all'altro quesito che gli agricoltori muovono ogni anno agli esperti: se cioè un allevamento che fallisce per pebrina deve considerarsi proveniente esclusivamente da seme infetto, e cioè il fatto implichi responsabilità del semaio, oppure il semaio possa ritenersi esente da ogni colpa, perchè l'infezione sopravveniente quasi sempre e quasi ovunque sui comuni allevamenti basta a giustificare la fallanza lamentata.

E' ben noto a tutti i pratici che i bachicultori, dinanzi a fallanze di tal genere, hanno sempre minacciato azioni giudiziarie per risarcimento di danni nei confronti di produttori di quel seme-bachi, ritenuto ereditariamente infetto, che ha dato luogo alla fallanza, ma che in pratica tutte le minacce sono rimaste al semplice stato di minaccia appunto perchè, allo stato attuale delle nostre conoscenze, non vi sono basi scientifiche sufficienti per pronunciare sul difficile argomento un sicuro giudizio di condanna o di assoluzione.

Mi accinsi perciò a un tentativo per risolvere l'importante questione, consigliatovi dal mio Maestro, Prof. Grandori, che ha seguito personalmente l'andamento dei miei esperimenti.

A metà di aprile 1934 misi in incubazione seme-bachi di razze diverse (*Majella, Chinese Oro, Chinese Bianco, Bione, Brianza*). Il seme-bachi mi era stato cortesemente fornito da una reputatissima ditta produttrice del Veneto, e faceva parte della collezione di razze pure da riproduzione della ditta stessa, e pertanto scrupolosamente selezionato. Ciononostante eseguii io stesso un controllo della sanità di questo seme, sia su gruppi di uova direttamente schiacciate ed esaminate al termine dell'incubazione, sia sui bacolini neonati. L'esito di tale controllo fu costantemente negativo, cioè confermò l'assoluta sanità di questo lotto di seme.

L'allevamento principale, che ottenni da questo seme, e dal quale derivai tutti i lotti per le infezioni sperimentali, nonchè un grosso lotto di controllo, fu tenuto in locali rustici dell'Azienda del R. Istituto Superiore Agrario in Monza: sorvegliandolo e proteggendolo con ogni mezzo da possibili inquinamenti esteriori, esso si conservò assolutamente esente da ogni infezione pebrinosa per tutta la sua durata, come fu da me accertato con continue e sistematiche osservazioni microscopiche.

Da tale allevamento eseguii di tanto in tanto prelevamenti di piccoli lotti di bachi, trasportando subito, di volta in volta, i lotti prelevati nei locali del Laboratorio di Milano. Quivi effettuavo l'infezione sperimentale nel modo seguente:

Da ovature intensamente pebrinose deposte nel 1933, nascevano — con ritardi d'incubazione predisposti allo scopo di poter sempre disporre di questi neonati — bacolini intensamente infetti per quasi tutto il mese di maggio 1934. Preso un grup-

po di questi neonati infetti, ne ottenevo una poltiglia spappolandoli in un mortaino. Esaminata al microscopio la poltiglia rivelava intensa infezione. Diluita con acqua sterile tale poltiglia, bagnavo in essa alcune striscioline di fresca foglia di gelsò, e dopo averle lasciate per breve tempo asciugare all'aria su carta bibula, le propinavo in pasto ai bacolini sani prelevati in quel giorno dall'allevamento generale di Monza. Dopo pochi minuti, numerose larvette brucavano le mie striscioline infette; sollevavo allora con una pinza le striscioline e le portavo sotto campana di vetro, completamente chiusa superiormente, e perchè non mancasse l'accesso dell'aria, mantenevo l'orlo della campana sollevato dal piano del tavolo, mediante adatto sostegno. Sotto campana di vetro trasportavo altresì lotti prelevati dall'allevamento di Monza, e che venivano nutriti costantemente con foglia del tutto sana (lotti di controllo). Con tale dispositivo ho voluto semplicemente impedire la caduta del pulviscolo atmosferico sui piccoli allevamenti, ritenendo che il mezzo d'infezione degli allevamenti sani sia rappresentato appunto dalla caduta del pulviscolo atmosferico, e non già dalla foglia di gelsò. Nel caso dei lotti di controllo, tale difesa dalla caduta del pulviscolo era necessaria per ragioni ovvie; nei lotti artificialmente infettati la difesa era necessaria per essere ben certi della data dell'infezione, che era unicamente quella sperimentale, e alla quale non volevo che si sovrapponessero altre eventuali infezioni più tardive provenienti dal pulviscolo atmosferico. Prima di somministrare nuovi pasti ai singoli lotti di bachi infetti, attendevo che essi avessero consumato per intero le striscioline di foglia intrisa di liquido infetto, e poi continuavo a somministrare foglia sana per tutta la durata dell'allevamento.

Le nascite dell'allevamento generale di Monza ebbero luogo tra il 29 aprile e il 3 maggio, a seconda delle razze.

Espongo nella seguente tabella i dati riferentisi ai diversi lotti e alle infezioni praticate su di essi.

Numero del lotto	Data delle nascite	Data dell'infezione sperimentale	Materiale usato per l'infezione	Razza	Età al momento dell'infezione
1	3 maggio	5 maggio	Neonati infetti	Bione	2 giorni
2	29 aprile	8 maggio	Neonati infetti	Majella	9 giorni
3	2 maggio	10 maggio	Neonati infetti	Chinese Bianco	8 giorni
4	2 maggio	12 maggio	Neonati infetti	Chinese Oro	10 giorni
5	2 maggio	14 maggio	Neonati infetti	Chinese Oro	12 giorni
6	29 aprile	14 maggio	Neonati infetti	Majella	15 giorni
7	29 aprile	14 maggio	Neonati infetti	Chinese Bianco	15 giorni
8	2 maggio	16 maggio	Neonati infetti e uova infette	Chinese Bianco	14 giorni
9	2 maggio	19 maggio	Neonati infetti e uova infette	Chinese Bianco	17 giorni
10	29 aprile	19 maggio	Neonati infetti	Majella	20 giorni
11	2 maggio	24 maggio	Neonati infetti	Chinese Bianco	22 giorni
12	29 aprile	24 maggio	Neonati infetti	Majella	25 giorni
13	29 aprile	27 maggio	Neonati infetti	Majella	28 giorni
14	2 maggio	27 maggio	Neonati infetti	Chinese Bianco	25 giorni

Come risulta dall'esame della tabella, l'infezione sperimentale fu praticata a intervalli di 2 a 6 giorni; intervalli non regolari perchè dovevasi aver riguardo ai periodi delle mute.

Da ciascun lotto infettato prelevavo, a distanza di 4-6 giorni dalla data dell'infezione, due o tre bachi per accertare che l'infezione fosse effettivamente attecchita; l'esame microscopico dei bachi spappolati mi diede sempre esito positivo. Nell'andamento di questi piccoli allevamenti sotto campane di vetro si cominciò ben presto a notare un generale ritardo nello sviluppo dei lotti infettati in confronto dei controlli sani, ritardo che si tradusse in una salita al bosco dei bachi infetti posticipata di circa 3 giorni in confronto di quella dei bachi sani. Inoltre, apparve chiara una più o meno accentuata disuguaglianza tra i bachi dei lotti infettati precocemente, mentre tale disuguaglianza era lieve nei lotti infettati verso la metà della vita larvale e diventava del tutto inapprezzabile in quelli infettati tardivamente.

Vedansi le unite fotografie.

Importantissimo il fatto della comparsa di macchie pebrinose soltanto su alcuni bachi del lotto n° 1, cioè quelli infettati nella più precoce età larvale (2 giorni), mentre nessun sintomo esterno si palesò nei bachi infettati in età più avanzata.

La salita al bosco ebbe luogo fra il 2 e il 10 giugno per tutti i lotti infettati.

* * *

Sebbene qualche baco petecchiato si sia perduto nel lotto n° 1, tuttavia il grosso dei bachi, anche in questo lotto, giunse a tessere bozzoli d'aspetto e consistenza normale. Il fatto più importante, come risulta da questo esperimento, è che *in nessuno dei lotti infettati, neppure in quelli che subirono infezioni precocissime, si manifestò la classica moria dei bachi che inevitabilmente si verifica quando l'infezione pebrinosa è ereditaria*. Se qualche perdita si ebbe nel lotto n° 1, di precocissima infezione, occorre tener presente che si tratta di una infezione sperimentalmente procurata, che, per quanto lieve perchè proveniente da spappolamento di pochi bocolini neonati in acqua, è sempre molto più intensa di quella che si verifica in natura; ed è anche più precoce di questa, perchè fu data al secondo giorno di vita dei bocolini, mentre in natura solitamente l'infezione sopravviene più tardi, come discuteremo più avanti.

I miei risultati armonizzano con quelli classici di PASTEUR (1) e della FOÀ (2), nonché con l'andamento dell'infezione pebriosa nella grande pratica agraria. Si hanno cioè esiti sperimentali diversi, a seconda dell'intensità e precocità dell'infezione:

a) Infezione intensa e abbastanza precoce, perchè somministrata con materiale di farfalle infette e subito dopo la prima muta (esperimento di PASTEUR). Esito: forte mortalità.

b) Infezione lieve, benchè precoce, somministrata cioè due giorni dopo la nascita, ma traendo il materiale infetto da baco-
lini o da uova infette, vale a dire somministrazione di una quantità di parassiti incomparabilmente minore che nel caso precedente (esperimento del presente lavoro). Esito: andamento discreto, con qualche baco macchiato e perdite insignificanti.

c) Infezione lievissima che sopravviene in natura da qualche raro corpuscolo che arriva sugli allevamenti sani per mezzo del pulviscolo o per qualsiasi contagio, e per lo più tardivamente. Esito ottimo con raccolto completo, come è dimostrato da altri esperimenti di PASTEUR e dalla grande pratica degli allevamenti da riproduzione dei confezionatori di seme.

Le conclusioni sopraricordate hanno una portata pratica evidentemente notevole, perchè esse risolvono il quesito della possibilità di dare fondamento scientifico e tecnico incontrovertibile ad azioni legali di risarcimento di danni. Il fatto della salita al bosco, senza apprezzabili perdite, da parte di bachi sani e precocemente infettati, contrapposto al fatto universalmente noto della inevitabile fallanza di seme ereditariamente infetto, dimostra all'evidenza che quando la fallanza si verifica essa deve ascriversi soltanto a seme proveniente da progenitori infetti, e quindi implica la responsabilità del confezionatore.

Dal punto di vista scientifico, questa profonda differenza di andamento fra infezione ereditaria e infezione acquisita si spiega in modo del tutto soddisfacente quando si tengano pre-

(1) PASTEUR L. - *Maladies des vers à soie*. - Paris, 1870.

(2) FOÀ ANNA. - *Le spore del Nosema bombycis resistono da un anno all'altro?* - Boll. Staz. Sper. di Bach. e Celvic. - Ascoli Piceno, Anno II, n. 4, 1923.

senti i risultati delle recenti ricerche del PEZZINI (3) il quale per il primo ha dimostrato che il parassita esplica, per un lunghissimo periodo di 9-10 mesi di sviluppo embrionale del Filugello, una deleteria azione su organi vitali dell'embrione, specialmente sui gangli nervosi e sulle pareti intestinali, dimodochè il baco-
lino neonato è già fin dalla nascita menomato nelle sue funzioni essenziali di presa dell'alimento, digestione, assorbimento, ecc. Si comprende quindi come esso, non possa sopravvivere. Al contrario, un'infezione acquisita durante la vita larvale non può esplicare se non una limitata azione distruttrice, alla quale il Filugello ben governato può resistere.

Merita ancora un commento la conclusione riguardante l'arrivo dell'infezione sugli allevamenti sani attraverso l'atmosfera.

E' risaputo da lungo tempo da tutti i confezionatori di seme-bachi che gli allevamenti da riproduzione che essi distribuiscono ai loro coltivatori nella stagione più precoce, forniscono agli stabilimenti di confezione bozzoli sanissimi, mentre, per converso, quanto più tardivi essi sono, tanto più alta percentuale d'infezione presentano i loro bozzoli. Questo fatto generale, che da parecchi decenni è ovunque confermato, e a cui non può negarsi, benchè fatto da semplici pratici dell'industria, il valore di grandissimo esperimento su vasta scala, non può interpretarsi in altro modo se non pensando che in una certa epoca, che deve cadere fra la fine di maggio e i primi di giugno, nelle zone bacheicole incomincia ad essere messa in circolazione una nuova infezione di *Nosema bombycis*. E da quanto fino ad oggi sappiamo sembra assai probabile che principalmente attraverso il pulviscolo atmosferico e solamente a cominciare da un certo momento durante la stagione bacologica il microscopico nemico incomincia a circolare nell'atmosfera.

Ma da quale parte esso viene rimesso in circolazione? E quale può essere la sorgente che a un certo momento lo rimette in libertà?

(3) PEZZINI IRE. - *Ricerche sul comportamento del Nosema bombycis Naeg. nell'uovo del Bombyx mori durante lo sviluppo embrionale*. - Boll. Lab. Zool. Agr., Milano, vol. III, fasc. 2, 1931.

Siffatta domanda si ricollega a un quesito prettamente biologico, a cui finora non è stata data risposta: quanto tempo è necessario affinché, dal momento in cui un baco nato sano si infetta, sia capace di diffondere l'infezione nell'ambiente?

Ho voluto compiere osservazioni anche a questo riguardo; e benchè, per circostanze varie mi sia stato impossibile precisare la durata di tale periodo, posso affermare però che dal momento dell'infezione a quello della comparsa delle spore nei cacherelli corrono parecchi giorni.

Le mie osservazioni saranno ripetute ed estese, per cercare di metterle in rapporto col fatto sopraricordato della sanità degli allevamenti precoci e della crescente infezione di quelli tardivi.

Anche le esperienze sugli effetti dell'infezione acquisita, anche se precoce, in confronto a quella ereditaria saranno ripetute e ampliate, affinché, *provando e riprovando* si possa giungere ad una conferma inoppugnabile di fatti come quelli da me messi in luce e che dovranno avere, io credo, larga ripercussione ed applicazione nel campo industriale.

SPIEGAZIONE DELLE FIGURE

- Fig. 1. — Epitelio dell'intestino medio di *Dermestes lardarius*, in secrezione molto attiva. (Ingr. circa 700 diam.). (Microfotografia).
- Fig. 2. — Lo stesso, in fase di secrezione decrescente. (Ingr. circa 700 diam.). (Microfotografia).
- Fig. 3. — Intestino medio di *Dermestes lardarius* in sezione longitudinale obliqua per mostrare le pliche e restringimenti che corrispondono ad una muscolatura anulare. (Ingr. circa 270 diam.). (Microfotografia).
- Fig. 4. — Baco pelrinoso con chiazze caratteristiche nella 5ª età, proveniente dal lotto n° I infettato al 2º giorno della vita larvale. (Grandezza naturale).
- Fig. 5-9. — Fotografie dei lotti di bachi infettati sperimentalmente in varie età e fotografati tutti il 3 giugno 1934.
- Fig. 5. — Lotto n° I (Nati il 3 maggio, infettati il 5 maggio). Si noti la forte disuguaglianza dei bachi.
- Fig. 6. — Lotto n° 4 (Nati il 2 maggio, infettati il 12 maggio). Non esiste disuguaglianza apprezzabile.
- Fig. 7. — Lotto n° 6 (Nati il 29 aprile, infettati il 14 maggio). Allevamento normale.
- Fig. 8. — Lotto n° 12 (Nati il 29 aprile, infettati il 24 maggio). Aspetto normale.
- Fig. 9. — Lotto n° 13 (Nati il 29 aprile, infettati il 27 maggio). Aspetto normale.