

ATTI  
DELLA  
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCI.

1904

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XIII.

1° SEMESTRE.

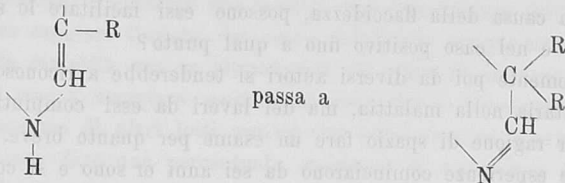


ROMA  
TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

1904

quello



Noi proseguiamo queste ricerche per vedere se sia possibile trasformare questa diclorobase in una clorodimetilchinolina; e per passare da essa alla trimetilindolina ed alla trimetilindolenina, composto fondamentale di cui essa non è che il derivato dialogenico.

**Chimica.** — *Sulla preparazione e sulle trasformazioni di alcuni corpi della serie del tetraidrocarbazolo.* Nota di G. PLANCHER e O. CARRASCO, presentata dal Socio G. CIAMICIAN.

**Chimica biologica.** — *Sulla decomposizione di sali di Selenio per opera dei microorganismi.* Nota del prof. B. GOSIO (1), presentata dal Socio E. PATERNÒ.

Le due Note precedenti saranno pubblicate nel prossimo fascicolo.

**Botanica.** — *Sullo Streptococcus Bombycis, Flügge, e sui rapporti con la vita del filugello.* Nota di CAMILLO ACQUA, presentata dal Socio R. PIROTTA (1).

È cosa comunemente nota che nello studio della flaccidezza, malattia che inferisce assai spesso sugli allevamenti del baco da seta, si è passati per due distinti periodi. Dapprima si ritenne la malattia eminentemente parassitaria e se ne attribuì la causa ai vibrioni ed ai fermenti a coroncina sviluppatissimi nell'intestino della larva. In seguito poi si modificarono radicalmente simili idee nel ritenere lo sviluppo dei micro-organismi un fenomeno semplicemente concomitante con il processo della flaccidezza, il quale in taluni casi poteva anche manifestarsi e seguire il suo corso senza che nel tubo intestinale della larva si avesse sviluppo apprezzabile o proporzionato di micro-organismi.

(1) Presentata nella seduta del 1° maggio 1904.

Tuttavia restava sempre la quistione: pur non essendo i descritti micro-organismi la causa della flaccidezza, possono essi facilitare lo svolgimento del processo e nel caso positivo fino a qual punto?

Recentemente poi da diversi autori si tenderebbe a riconoscere un'origine parassitaria nella malattia, ma dei lavori da essi compiuti non m'è possibile per ragione di spazio fare un esame per quanto breve.

Le mie esperienze cominciarono da sei anni or sono e si continuarono, senza interruzione, fino all'ultima stagione propizia per l'allevamento del filugello. Ho tratto anche giovamento dal fatto che ho sempre avuto a mia disposizione numerosi allevamenti di bachi, cosicchè non mi è mai mancato il materiale di studio, e nelle condizioni normali, nelle quali suol mostrarsi la malattia.

Nella presente nota preventiva espongo i risultati da me finora avuti. Questi diversificano da quelli ottenuti da altri autori. Senza con ciò opporre una smentita, e con la coscienza di avere usato il maggiore rigore nella ricerca sperimentale, queste note potranno avere un qualche valore se dimostreranno la necessità di studi ulteriori e se inviteranno persone di maggiore competenza a ripetere le prove, che passo ad esporre.

Nell'istituire delle esperienze sull'azione del cocco, ho creduto opportuno accostarmi il più che fosse possibile alle condizioni normali di vita del filugello. Così ho creduto bandire il metodo delle iniezioni anali di colture contenenti il cocco, e non sono neanche ricorso ad iniezioni per punture nel corpo della larva, parendomi che con ciò si dovessero troppo alterare le condizioni normali della vita del filugello. Ma ho preferito somministrare e far mangiare alle larve foglia infettata con colture pure.

Ho voluto però portare una variazione, a mio credere sostanziale, al metodo fin qui adoperato da altri sperimentatori.

Io non ho eseguite le mie esperienze su bachi sani e provenienti da allevamenti robusti; poichè in questo caso la resistenza specifica poteva essere bastante a vincere l'azione del cocco. Ho portato invece la mia attenzione su allevamenti, che al principio dell'ultima età cominciavano a presentare i sintomi della flaccidezza. È noto che in questi casi non tutti gli individui sono colpiti da malattia, una parte riesce a filare il bozzolo, compiendo così la metamorfosi da larva in crisalide. E questa parte secondo i casi può essere o la minore o la maggiore dell'intero allevamento. Però tutti gl'individui si trovano in uno stato di predisposizione verso la malattia; infatti ogni allevatore sa per esperienza che allevamenti, nei quali cominciò a manifestarsi la flaccidezza, vogliono essere trattati con la massima cura, se non si vuol perdere l'intero prodotto.

Ora è appunto in questi casi che l'esperienza può trovare le sue migliori condizioni per uno studio decisivo della quistione. Dal momento che

le larve provenienti da allevamenti di tal fatta hanno una predisposizione per la flaccidezza, è evidente che esse ci rappresenteranno dei mezzi *molto sensibili* per saggiare l'azione del cocco. Scegliendo dunque larve non ancora colpite dalla malattia, ma in allevamenti nei quali la malattia si mostrò, e dando ad esse a mangiare quotidianamente foglie inquinate con colture pure, in paragone di altri lotti nutriti con foglia comune, è evidente che le prime dovranno dare una percentuale maggiore di malattia o di morte, se veramente lo streptococco è una delle cause del processo della flaccidezza.

Numerose esperienze furono così fatte per più anni consecutivi. Si adoperarono principalmente larve provenienti da razze gialle indigene, ma fu anche sperimentato su chinesi bianche e dorate.

Le larve furono poi prelevate da allevamenti diversissimi. Cioè a dire o da alcuni nei quali lievemente manifestavasi la flaccidezza e in cui quindi si aveva in condizione normale piccola percentuale di perdite, o da altri nei quali invece il morbo menava strage, talchè alla fine appena un terzo od un quarto dell'intero allevamento riusciva a salire nel bosco.

In tutti questi casi, fatti più lotti con egual numero di bachi, in apparenza tutti sani, si nutriva una metà di detti lotti con foglie normali e l'altra metà con foglie inquinate. Si aveva poi cura che tutti si trovassero in identiche condizioni di luce e di aereazione. Si dava a tutti un egual numero di pasti, e perchè le condizioni fossero rigorosamente identiche, si arrivava a contare il numero delle foglie somministrate per ciascun lotto avendo cura ch'esso fosse uguale e che le foglie provenissero da una stessa pianta e che avessero approssimativamente la stessa età e grandezza.

Quanto poi alla preparazione delle colture, essa era fatta come segue:

In una serie di esperienze lo streptococco era tolto dal contenuto intestinale di bachi morti di recente di flaccidezza. Isolato col metodo delle colture in mezzi di nutrizione solidi, era di poi coltivato in brodo, o in decotto di foglia lievemente alcalinizzato.

Un modo molto semplice per avere una coltura pura dello streptococco è il seguente. È noto che nella metamorfosi dalla larva all'insetto perfetto anche il sistema digerente subisce una profonda modificazione. Quando l'insetto è giunto al suo stato perfetto, detto sistema si riduce principalmente ad un tubo esofageo ed intestinale, alla così detta vescica aerea, al ventricolo ed allavescia cecale. È comunemente affermato che l'umore alcalino di cui è ripiena la vescicola aerea, compiuta l'evoluzione immaginale, è versato in parte dalla bocca ed in parte nel ventricolo, che resta così purgato da ogni incluso. Ora le mie osservazioni modificano alquanto quest'ultimo fatto. Io ho esaminato un numero grandissimo di bolle stomacali di farfalle vive o morte ed ho sempre trovato che in esse si riscontrano al microscopio dei frammenti di foglia. Si badi che l'osservazione fu da me compiuta in partite sceltissime di riproduzione, le quali dettero origine ad un ottimo seme, come comprovò il risultato dell'anno susseguente.



Ma non solo nel ventricolo restano frammenti di foglia, ma si trovano quasi sempre germi dello streptococco. Anche questo fatto l'ho riscontrato nella quasi totalità dei casi e in farfalle appartenenti a sceltissime partite di riproduzione. Quando la farfalla è morta e disseccata, il ventricolo apparisce come una bolla nerastra, resinosa. Si asporta con una forbice tale bolla, che in farfalle robuste è ridotta a minuscole proporzioni, e si tiene con le estremità di una pinza fissa su di un vetrino porta oggetti. Poi con una lama sterilizzata alla fiamma si raschia più volte la bolla, avendo cura ad ogni volta di risterilizzare la lama. Così la bolla stessa è spogliata della sua parte superficiale e lascia scoperto il suo contenuto interno. Allora rapidamente si configge per breve tratto in questo l'ago di platino e si passa tosto in un brodo da coltura. Se l'operazione fu eseguita con rigore ne risulta spesso una coltura *pura* di streptococco. Nel mentre in seguito tornerò sull'importanza di questo fatto, intanto ho voluto accennare anche a questo come a metodo assai spiccio per ottenere la coltura del micro-organismo.

L'esperienza può poi farsi con coltura in pieno sviluppo, o con altre nelle quali l'intorbidamento è cessato e si è formato un deposito denso al fondo del tubo, deposito il quale, agitando il liquido, si diffonde in questo. Se si tratta poi di colture in brodo è buona regola allungare il liquido della metà con acqua distillata e sterilizzata, provando con ciò le larve meno difficoltà ad ingerire le foglie precedentemente cosparse della coltura, le quali prima di essere somministrate alle larve furono fatte asciugare all'ombra.

Così le mie esperienze si possono ridurre a otto gruppi:

1. Somministrazione di coltura in brodo in pieno sviluppo, il che avviene in genere dopo 24 ore dacchè il tubo si trova alla temperatura di circa 30 gradi centigradi;

2. Somministrazione di coltura già esaurita, ossia di coltura vecchia di alcuni giorni e nella quale si formò un deposito al fondo, ritornando limpido il rimanente del liquido;

3. Come la prima, ma in decotto di foglia di gelso;

4. Come la seconda, ma pure in decotto di foglia di gelso.

Infine queste quattro esperienze possono eseguirsi con cocchi provenienti da intestino di larve malate, o provenienti invece da bolle stomacali di farfalle sane. Risultano così otto combinazioni.

Non posso per la ristrettezza dello spazio riportare le tabelle con le annotazioni delle singole esperienze, ma noterò che queste superarono il numero di quaranta, e che i lotti adoperati contenevano non mai meno di cinquanta e fino a duecento larve per lotto.

Si somministravano in genere due pasti inquinati il giorno fino alla maturità della larva. Il risultato costante di tali esperienze fu il seguente: *non fu mai possibile riscontrare un aumento benchè lieve nella mortalità dei lotti sottoposti allo speciale trattamento, in paragone degli altri di controllo.*

*E non fu neanche possibile scorgere differenza nello sviluppo e nella resistenza dei bozzoli prodotti.*

Ora da queste esperienze deriverebbe la conseguenza che lo streptococco non soltanto non rappresenta la causa prima, ma neanche una concomitante nel processo patologico.

Ho già accennato al fatto che dai residui stomacali, i quali dopo la metamorfosi immaginale si riscontrano in forma di una bolla nerastra di apparenza quasi resinosa, si può trarre facilmente — sia la farfalla vivente o anche morta da parecchio tempo, ma in questo caso ben conservata — una coltura spesso pura dello streptococco. Questo fatto dimostra che nello stomaco si trovavano originariamente gli streptococchi e che in seguito alla metamorfosi regressiva, i germi di questi restarono racchiusi nella bolla, ove si conservano lungamente.

La presenza dei cocchi nelle bolle stomacali è un fatto di carattere assolutamente generale, esso riscontrasi in quasi tutte le farfalle di partite anche sceltissime di riproduzione.

Questo fatto conferma l'opinione che lo streptococco del Bombice sia un micro-organismo straordinariamente diffuso, e che possa quindi penetrare facilmente nell'intestino del Bombice medesimo.

Ma, accettato quest'ordine di idee, una domanda si presenta spontanea. Gli allevamenti del baco da seta avvengono soltanto in un periodo molto limitato dell'anno, e, per quanto diffusi, sono pure ristretti a determinate zone. Inoltre nella maggior parte degli allevamenti sani il cocco, pur potendo vivere nell'intestino della larva, non trova però l'opportunità per una copiosa moltiplicazione. Come adunque — essendo relativamente ristretto per quanto è a noi noto — il campo propizio per lo sviluppo dello streptococco, ritroviamo poi questo diffusissimo nell'anno susseguente, tanto da essere pronto a svilupparsi abbondantemente pressochè in ogni larva malata, e riuscendo anche a vivere in tutti gli altri casi di larve sane?

Se il cocco si trasmettesse normalmente per gli ovuli, la domanda potrebbe avere una risposta, ma questo fatto non risulta provato almeno nella generalità dei casi.

Da ciò si presenta la possibilità che il cocco in parola possa avere un'altra più estesa sede di sviluppo oltre l'intestino del filugello, e a questa ipotesi si rannoda anche la possibilità che lo streptococco in questione non sia specie autonoma, ma non rappresenti se non un caso di adattamento di qualche cocco assai diffuso.

Da un esame sommario alle più comuni specie di cocchi risulta una certa analogia tra il cocco del Bombice e quello dell'urea (*Micrococcus ureae* Past.). Tuttavia esistono differenze, tra cui la principale quella che il primo fluidifica la gelatina, mentre il secondo non possiede tale qualità.

Per accertarci se il cocco del Bombice possa vivere nell'urea si procedette alla seguente esperienza. Dieciotto tubi contenenti urina furono sterilizzati col metodo della sterilizzazione frazionata. Non si deve prolungare oltre il necessario l'operazione altrimenti il liquido diviene meno adatto per lo sviluppo dei cocchi. Per assicurarsi poi che la sterilizzazione fu efficace, si mantennero i tubi suddetti per tre giorni in termostato alla temperatura di 30 centigradi.

Non si osservò alcuno sviluppo. Allora si divisero i dieciotto tubi in tre lotti, operando come appresso:

Lotto A. Con l'ansa di platino si fece il trasporto nei sei tubi del cocco del Bombice contenuto in una coltura pura nel brodo.

Lotto B. Si fece come sopra il trasporto nei detti tubi del cocco dell'urea, tratta da una coltura pura parimenti in brodo. L'isolamento del cocco era stato operato con colture su piastre solide.

Lotto C. Controllo. Con questo lotto si volle ricercare se nelle condizioni in cui si operò era possibile che il cocco dell'urea potesse durante le manipolazioni penetrare con l'aria nei tubi di coltura. A questo scopo si eseguirono su questo lotto le stesse operazioni praticate negli altri due, ma invece di immergere l'ansa in un brodo contenente colture, fu immerso in un brodo sterilizzato, di cui si fece il trasporto.

**Risultati:**

*Sviluppo uguale dei cocchi nei lotti A, B. Il lotto C non presentò alcuno sviluppo.*

Dopo due giorni nei due lotti A, B, si osservò in proporzioni uguali il deposito di sali ammoniacali.

Dunque lo streptococco del Bombice vive egualmente bene nell'urina, compiendo anche un'eguale funzione, come il cocco dell'urea.

Queste esperienze possono far supporre ragionevolmente che le concimaie, nelle quali sogliono essere gittati i bachi affetti di flaccidezza rappresentino un terreno propizio per lo sviluppo del micro-organismo.

Se non che a questo punto un'altra obiezione si presenta. Le esperienze suaccennate furono compiute in urina sterilizzata e nella quale mancava la concorrenza di altri micro-organismi. Ora si può chiedere se in presenza del cocco dell'urea quello del Bombice sia capace di vivere e prosperare egualmente, sostenendo la concorrenza del primo.

Se i due cocchi avessero differenze specifiche di forma sarebbe cosa facile sperimentare, facendo simultaneamente dei trasporti dell'uno e dell'altro in un medesimo tubo e lasciando sviluppare la coltura. Ma disgraziatamente non è possibile compiere questo esame stante la somiglianza morfologica dei due micro-organismi.

Tuttavia la chiave per la risoluzione del quesito può essere data dalle specifiche proprietà dei due micro-organismi, per cui, come abbiamo visto, l'uno fluidifica la gelatina e l'altro no.

Facendo il trasporto simultaneo in un tubo contenente urina del cocco dell'urea e del Bombice, la coltura che ne risulta avrà più o meno la facoltà di fluidificare la gelatina secondo che l'ultimo o il primo presero il sopravvento nello sviluppo.

L'esperienza procedè come appresso:

In un tubo contenente urina sterilizzata col metodo frazionato, si fece il trasporto dei due micro-organismi mediante la stessa ansa di platino in modo che una quantità approssimativamente uguale delle due colture venisse trasportata nel nuovo tubo. Avvenuto lo sviluppo, con l'ago di platino si operò il trasporto in tubi di gelatina mediante infissione.

Contemporaneamente in altri tubi, contenenti del pari gelatina, si operò similmente, ma avendo fatto pescare precedentemente l'ago in coltura del cocco del Bombice per un lotto, e in coltura del cocco dell'urea per un altro lotto.

I risultati furono i seguenti:

La gelatina contenente il cocco del Bombice fu prontamente fluidificata. Quella contenente il cocco dell'urea, no. La gelatina poi, nella quale erasi fatto il trasporto della coltura derivante dall'unione dei due micro-organismi, fluidificò, ma per ottenere una fluidificazione pari alla prima *necessità un tempo pressochè doppio*.

Quest'esperienza fu molte volte ripetuta.

Da ciò consegue che i due micro-organismi sono compatibili e si sviluppano egualmente bene l'uno in presenza dell'altro.

Si fecero poi altre esperienze con colture in brodo di cocco dell'urea su bachi, provenienti da partite attaccate da flaccidezza, ma non si riscontrò aumento nella mortalità.

Fra i due micro-organismi restava tuttavia la differenza specifica della fluidificazione della gelatina operata dall'uno e non operata dall'altro.

Ma se noi facciamo le colture con materiale tratto da bolle stomacali di farfalle vecchie di parecchi mesi (p. es. nell'aprile successivo), troviamo che il cocco del Bombice in questo caso *non fluidifica più la gelatina* e si comporta per questo carattere come il cocco dell'urea.

Questa osservazione, anch'essa più volte ripetuta, rende più probabile l'ipotesi *che il cocco del Bombice non sia altra cosa che il comunissimo cocco dell'urea il quale, passando nell'intestino del baco da seta, subirebbe delle modificazioni, ritornando poi con l'invecchiare al tipo primitivo*. Debbo però aggiungere che vecchie colture in brodo non presentarono questa particolarità e mantennero inalterato il primitivo carattere.

Il risultato delle presenti ricerche è il seguente:

Il cocco (o streptococco) del Bombice non ha alcuna azione diretta sul processo della flaccidezza. Esso trae soltanto dal disfacimento dei tessuti l'op-



portunità per moltiplicarsi, senza rendere nocimento all'organismo che lo ospita.

Esso inoltre non è con probabilità specie autonoma, ma rappresenta un caso di adattamento del comune cocco dell'urea, il quale si modificherebbe nel passaggio attraverso l'intestino del baco da seta, ma con tendenza poi a ritornare al tipo primitivo.

Avvertirò infine, che secondo il Sawamura esisterebbero nell'intestino del Bombice più specie di cocchi, dei quali alcuni fluidificherebbero altri no la gelatina.

Ma dopo le osservazioni descritte, sorge abbastanza fondato il dubbio che possa in questi casi trattarsi di stadi diversi della stessa specie.

**Fisiologia.** — *Degenerazione grassa del cuore delle rane in seguito al taglio di ambo i vaghi* (1). Nota del dott. FERDINANDO SOPRANA, presentata dal Corrispondente A. STEFANI.

Nel 1879 Eichhorst (2) osservò che nei colombi, morti in seguito al taglio di ambo i vaghi, le fibre muscolari del cuore si trovavano in stato di degenerazione grassa, e attribuì questa degenerazione alla mancanza di una speciale azione trofica che il vago spiegherebbe sugli elementi muscolari del cuore.

I risultati di Eichhorst furono confermati poco dopo da Zander (3) e da Anrep (4), che sperimentarono pure sui piccioni, e da Wassilief (5) che sperimentò invece sui conigli; ma mentre quest'ultimo accettò le conclusioni di Eichhorst, Zander ed Anrep subordinarono invece le alterazioni, osservate nelle fibre cardiache, ai disordini generali che succedono al taglio dei vaghi, e particolarmente all'inanizione. Ed a simile concetto aderì poi successivamente anche Knoll (6).

Alterazioni degenerative del miocardio dopo il taglio dei vaghi furono

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto di Fisiologia della R. Università di Padova.

(2) Eichhorst, *Die trophischen Beziehungen der Nervi Vagi zum Herzmuskel*. Berlino, 1879. *Dagli*, Jahresb. u. die Fortsch. d. Anat. u. Phys. 1879, e da altre citazioni.

(3) Zander, *Die Folgen der Vagusdurchschneidung bei Vögeln*. Arch. f. d. ges. Physiol., 19, 1879.

(4) Anrep, *Die Ursache des Todes nach Vagusdurchschneidung bei Vögeln*. Würzburger Verhandl., 14. Jahresb. u. d. Fortsch. d. Anat. u. Phys. 1879.

(5) Wassilief, *Beiträge zur Frage über die trophischen Beziehungen des Nervus Vagus zum Herzmuskel*. Zeitschr. f. Klin. Medic., 3, 1881.

(6) Knoll *Ueber Myocarditis u. die übrigen Folgen der Vagusresection bei Tauben*. Prager Zeitschr. f. Heilkunde, 1880. Jahresb. u. d. Fortsch. d. Anat. u. Phys., 1880.