ATTI

DELLA

REALE ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

ANNO CCCXXI

1924

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXXIII.

1° SEMESTRE.

ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA NAZIONALE DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL DOTT. PIO BEFANI

1924

Biologia. — *Sul ciclo morfologico e biologico del Nosema bombycis Nägeli.* Nota di A. Foà, presentata dal Socio B. Grassi [1].

Riassumo i resultati di faticose ricerche, intraprese da tre anni, sul *Nosema bombycis*, che produce la pebrina nel baco da seta.

Il ciclo di questo parassita è estesamente descritto e figurato in un bellissimo lavoro dello Stempell (1909). Questo ciclo è stato però in parte modificato da Ohmori (1910-911), da Kudo (1916), da Hutchinson (1920) e da Pringle Jameson (1922). Affinchè il lettore possa comprendere questa brevissima esposizione delle conclusioni a cui sono arrivata, voglia tener sottocchi tutti questi lavori.

Da essi risulta evidente che non è tutto chiaro nel ciclo del *Nosema bombycis*.

Le mie ricerche furono intraprese da prima sulle uova ibernanti collo scopo di risolvere un problema di indole pratica, che mi sembrava facile: partendo dall'asserzione di Stempell che nell'uovo ibernante i parassiti si trovano allo stato di meronti, accumulati in riposo nella parte centrale dell'uovo, mi proponevo di determinare se per mezzo di preparati a striscio coloriti col metodo Giemsa — assai facile ad eseguirsi — fosse possibile fare il controllo del seme anche in quel periodo di tempo in cui l'esame industriale non dà resultati attendibili per la mancanza delle spore, le sole forme che possano vedersi coi mezzi usati nella pratica bacologica. Sono invece rimasta assai imbarazzata nel trovare, invece dei meronti, una quantità di corpi ovali binucleati, rassomiglianti o a germi ameboidi più allungati o a giovani spore, non accumulati nella parte centrale dell'uovo, ma isolati nelle cellule vitelline. Per comprendere qualche cosa in questo reperto inaspettato ho esteso lo studio ai bachi, alle crisalidi, alle farfalle vive e morte, ho considerato i vari organi separatamente ed infine per seguire possibilmente lo sviluppo del parassita, ho sezionato bachi della prima età infettati artificialmente, tutti interi senza togliere loro nemmeno la testa. Queste sezioni, colorate col metodo di Giemsa, mi sono riuscite superiori all'aspettativa, e mi sono state preziose.

In queste mie ricerche mi sono imbattuta in due gravi ostacoli: I. La discordanza tra le figure delle sezioni mie e quelle di Stempell; II. la discordanza tra le sezioni e gli strisci.

[1] Lavoro eseguito nella R. Scuola Superiore d'Agricoltura di Portici.

La divergenza tra le sezioni mie e quelle di Stempell consiste in ciò, che mentre lo Stempell nelle cellule infette rappresenta lunghe catene di meronti uninucleari e giovani spore rotonde, con un vacuolo ad un estremo contenente uno o due nuclei, io vi trovo invece piccoli meronti uninucleati, e stadi di divisione di questi, poi una grandissima quantità di corpi ovali di varie dimensioni, tutti binucleati ma senza vacuolo, coi nuclei nella parte centrale, e infine spore poco colorate col Giemsa.

Il lavoro di Stempell è così accurato che mi son ben guardata dal dubitare dell'esattezza dei suoi disegni; infine seguitando a riflettere sulle possibili cause di questo contrasto, ho fatta un'osservazione che a mio avviso può spiegarlo.

Le fig. 15, 16, 20 di Stempell che rappresentano sezioni di tessuti infetti con parassiti in varî stadi, ed alcune figure di parassiti isolati, non sono tolte da bachi da seta, ma da larve di Arctia caja *artificialmente infettate con* Nosema bombycis. *Sono appunto queste figure che non corrispondono alle mie. Ritengo perciò che il* N. bombycis *nell'*Arctia caja *non si comporti come nel* B. mori.

Mi appoggia in quest'opinione il confronto colle figure degli altri autori. Kudo non dà sezioni e Hutchinson porta delle microfotografie troppo piccole per riconoscervi la struttura del parassita; Ohmori dà figure di sezioni molto più somiglianti alle mie che a quelle di Stempell, ; nella figura di Pringle Jameson, come nelle mie predominano le spore e le forme ovali binucleate.

Il contrasto tra le mie sezioni e i miei strisci consiste in questo. Negli strisci tutti gli autori trovano (come le trovo anch'io): *a*) grosse forme rotonde con due nuclei allungati paralleli; *b*) grosse forme con quattro ed anche con otto nuclei; *c*) forme a manubrio evidentemente in scissione, con due nuclei ad ogni estremità del manubrio. Interpretano le prime come meronti in divisione (strana divisione paragonabile, come dice Stempell, alla prima segmentazione dell'uovo in cui la forma generale non cambia, il nucleo si divide e poi il protoplasma si spacca in due mezze sfere), le seconde come divisione multipla, le ultime come forme in divisione in cui è già avvenuta una seconda divisione dei nuclei, quando non è ancora terminata la prima nel protoplasma. Questi stadi non si riscontrano nelle sezioni. Dove vanno a finire?

Per risolvere tale quesito ho proceduto così. Approfittando del fatto ben noto che nelle ghiandole della seta in principio l'infezione è limitata a gruppi isolati di cellule, dove può riconoscersi facilmente ad occhio nudo, ho estratto i seritteri di un baco malato, ho scelto nell'uno e nell'altro due punti infetti situati presso a poco allo stesso livello nei due canali di eliminazione; con uno di questi ho fatto degli strisci, coll'altro delle sezioni: in tutti e due i casi fissazione con alcool ed etere, colorazione col

Giemsa. Negli strisci al solito ho trovato tutte le forme sopra descritte; nelle sezioni, in luogo di queste, forme ovali allungate, con due nuclei ora piccoli ora grandi, ora tanto grandi da potersi interpretare come due nuclei ravvicinati, insomma il solito reperto delle sezioni. Evidentemente in un caso o nell'altro è avvenuta un'alterazione. *Ritengo che le forme rotonde degli strisci rappresentino un'alterazione delle forme ovali delle sezioni, tenendo presente che queste ultime sono impiccolite per effetto dell'inclusione in paraffina.*

Osservati nelle sezioni tutti questi corpi ovali non dànno affatto l'impressione di una moltiplicazione vertiginosa, come dovrebbe avvenire se tutte le forme binucleate fossero figure di divisione semplice. Siccome dove trovo questi binucleati non mancano mai le spore, ritengo che la spora derivi appunto da un corpo binucleato che si può chiamare sporonte; questo diventa quadrinucleato e poi si divide in due (le forme a manubrio) dando origine a due sporoblasti binucleati che si trasformano in spore.

Il ciclo dunque è questo:

Il germe ameboide (che secondo me non si divide nelle lacune del corpo) *passa allo stadio di meronte uninucleato il quale dopo essersi diviso in svariati modi dà luogo ad una forma binucleata che ingrandisce* (*sporonte*), *si divide in due* (forse più di una volta) *e dà origine agli sporoblasti binucleati* (due o quattro) *che si trasformano in spore.*

Vediamo come questo ciclo corrisponda a ciò che hanno visto gli altri autori. In primo luogo spiega la peculiare divisione descritta da Ohmori, perchè si trovano a volte negli strisci anche sporonti con 8 nuclei, e nelle sezioni è difficile determinare i limiti delle forme ovalari. L'unico punto che non vi corrisponde è la scissione dei binucleati in uninucleati, mentre invece avviene il passaggio inverso. In secondo luogo se si ammette che le forme ovali delle sezioni rappresentano quelle ricordate degli strisci, gli stadî di sporonte e di sporoblasto si riconoscono in quelli che lo Stempell denomina divisione multipla dei meronti, e che, anche secondo questo A., conducono alla formazione di spore.

Un altro fatto notevole è venuto in luce dalle mie ricerche. Estendendo l'esame delle uova alle prime giornate dopo la deposizione ed al periodo dell'incubazione vi ho trovato delle forme ovali, rossastre nei preparati coloriti col Giemsa, che non sapevo come interpretare. Corrispondono per certi caratteri alle giovani spore perchè il più delle volte hanno due nuclei, ma siccome questi nuclei spesso sono riuniti da un filo cromatico fanno anche pensare a forme di divisione. Studiandole bene si vede che divisione non è, perchè il filo solo in principio congiunge i due nuclei, poi, man mano che si allunga, si distacca da uno di essi, o anche da tutti e due, e tutti e due i nuclei restano nel corpo ovale che non muta di forma nè accenna a dividersi. Accanto a questi corpi ovali, svuotati del contenuto nelle prime gior-

nate d'incubazione ho trovato spesso dei germi ameboidi: ritengo perciò i corpi ovali, spore più semplici e li denomino pseudospore. Siccome nelle uova fintanto che non sono formati i tessuti del baco mancano quelle forme che prima ritenevo meronti e che oggi denomino sporonti, *ritengo che nell'uovo si verifichi un ciclo abbreviato per il quale dagli stadi giovani si origina una spora non completa, o pseudospora che nell'ospite stesso può di nuovo lasciare uscire un germe ameboide che ricomincia il ciclo.*

In appoggio a questo modo di vedere riporto le seguenti citazioni. Lo Stempell dice: « La moltiplicazione dei meronti che si accumulano nell'interno dell'uovo è completamente sospesa durante il riposo invernale dell'uovo e questo costituisce non solo una mirabile coincidenza tra il parassita e l'ospite, ma un'eccezione al comportamento usuale dei parassiti, i quali di solito una volta invasa una cellula la riempiono completamente »; e a proposito di casi in cui prima dell'incubazione le cellule embrionali presentano già una infezione relativamente forte, aggiunge: « questi casi sono interessanti perchè quell'infezione è stata prodotta non da planonti intercellulari, ma solo da meronti ». E l'Hutchinson dice « che non è facile spiegare l'infezione ovarica nè il movimento dei parassiti nell'uovo dal tuorlo all'embrione perchè questo richiede probabilmente non solo una concentrazione dell'enzima che si può solo ottenere come risultato dell'intimo contatto tra il parassita e la parete della cellula del tessuto che deve essere invaso, ma anche una pressione su quest'ultima resultante dall'accumularsi dei meronti nella cellula invasa originariamente: orbene questa condizione non si verifica nell'uovo ».

Queste difficoltà vengono eliminate in seguito alla mia osservazione che nelle uova in incubazione e in quelle appena deposte si trovano i germi ameboidi usciti dalle pseudospore.

Ricordo inoltre che il Debaisieux, per 4 microsporidi differenti la *Thelohania varians*, la *Glugea Danilewski*, la *Glugea Mülleri* e la *Glugea anomala*, da lui studiati, ammette la rigenerazione di stadi giovani da spore non durature e sprovviste di capsula polare, o da spore che si svolgono interamente nel corpo dell'ospite, e non derivanti da sporoblasti, o da sporonti che non si trasformano in spore.

Noto infine che colla formazione delle pseudospore si spiega l'apparente scomparsa dei « corpuscoli » dalle uova infette in certi periodi dell'incubazione.

Credo che le pseudospore si formino non solo nelle uova, ma anche nelle crisalidi, e forse anche in alcuni tessuti del baco.