



*comunicato
Prof. Rossi*



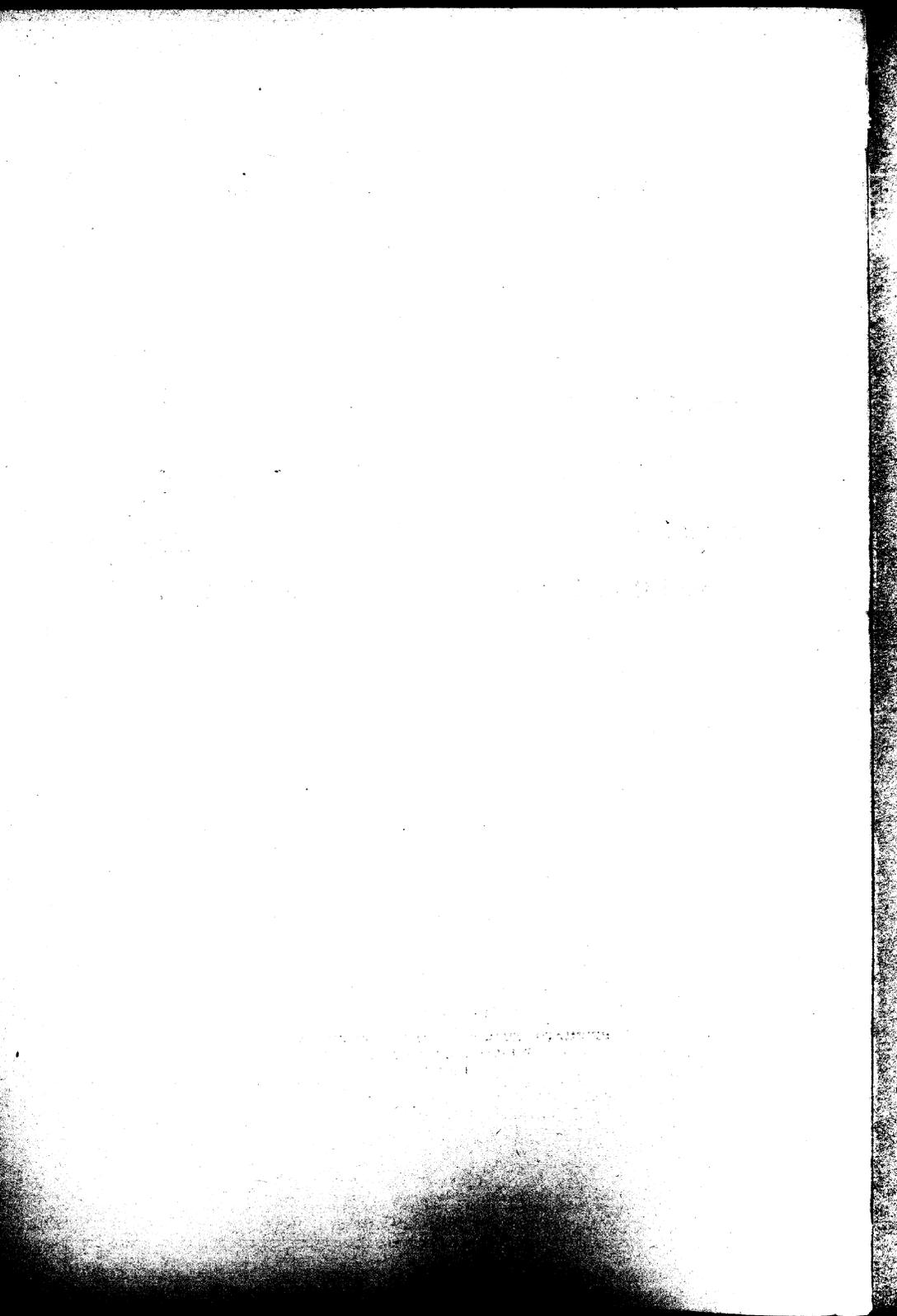
ISTITUTO DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
della R. Scuola Super. di Agric. in Portici

Misc. 2 3/24

— Sulla Etiologia della Gommosi degli
alberi da frutta. Ricerche critiche e speri-
mentali del Prof. Giacomo Rossi, direttore, e dei
Signori Dott. Giosuè Naso e Dott. Bartolo Majmone.



PORTICI
PREMIATO STAB. TIPOGRAFICO VESUVIANO
del Comm. E. Della Torre
1911



ISTITUTO DI BATTERIOLOGIA AGRARIA
della R. Scuola Super. di Agric. in Portici

— Sulla Etiologia della Gommosi degli
alberi da frutta. Ricerche critiche e speri-
mentali del Prof. Giacomo Rossi, direttore, e dei
Signori Dott. Giosuè Naso e Dott. Bartolo Majmone.



PORTICI

PREMIATO STAB. TIPOGRAFICO VESUVIANO
del Comm. E. Della Torre

1911

Man B 1911

Estratto dagli Annali della R. Scuola Sup. d'Agricoltura di Portici, Vol. X

I.

Le attuali conoscenze sulla etiologia e patogenesi delle « gommosi ».

Le manifestazioni gommosi delle piante da frutta sono state, in ogni tempo, oggetto di osservazioni e di studi, sia per il loro frequente apparire (spesse volte sotto forma di vere epidemie) sia perchè seguite quasi sempre da rapido o lento deperimento e da morte delle piante che ne sono colpite.

Nel passato queste manifestazioni sono state ritenute pressochè esclusive delle *aurantiacee* e delle *amigdalee*, forse perchè in queste piante, macroscopicamente, si presenta veramente la produzione di una sostanza che per i suoi caratteri organolettici (colore, lucentezza, consistenza ecc.) da ognuno si riconosce come quella comunemente chiamata gomma, mentre nella « gommosi » di altre piante la sostanza che si forma non rientra così agevolmente in quelle che siamo abituati a considerare gomma.

Però COMES fin dal 1882 considerò quali « manifestazioni gommosi » le emissioni e le degenerazioni parenchimatose, che si hanno: nel *mal nero della vite* (1), nel *marciume delle*

(1) Per ciò che riguarda l'identità del *mal nero della vite* colla gommosi della stessa pianta, ricorderemo che, secondo il Comes, e molti altri, queste alterazioni non sono che due stadi della stessa malattia. Nel primo stadio si avrebbe semplicemente produzione di gomma, e quindi gommosi, nel secondo stadio la gomma prodottasi, ristagnando nei tessuti della pianta ammalata, ed assorbendo, come una spugna, le sostanze tanniche in circolazione nella

radici della vite, nel mal della cagna degli agrumi; nella pinguedine del fico, dell'ulivo, e del noce; nella malattia dell'inchiostro dei castagni, nel mal del fulchetto del gelso, ecc. ecc.; ed accomunò tutte queste malattie in un tipo unico di processo patologico che chiamò gommosi.

Ed è innegabile che, poco alla volta, questo concetto unitario, almeno nelle due linee generali, si sia fatto strada in patologia; e mentre CAVARA, in un suo lavoro sulla batteriosi del fico, è portato a raffrontare questa affezione con quella del gelso e della vite (mal nero) che crede identiche anche nell'agente etiologico, SAVASTANO nel suo recente trattato di *Patologia Arborea*, basandosi anche su osservazioni proprie, allarga e completa il concetto di COMES istituendo, nello studio delle malattie batteriacee, il gruppo delle gommosi o *discrasie linfatiche*. Questo gruppo è suddiviso in tanti sottogruppi comprendenti la gommosi degli *agrumi*, della *vite*, delle *pomacee*, delle *amentacee*, del *fico*, del *gelso*, dell'*ulivo*, del *pioppo*, e di molti *silvani*.

Non è però a credersi che i patologi vegetali saranno per accettare con molto vantaggio la nuova denominazione del SAVASTANO, di discrasia linfatica: poichè, a mio credere, in questo modo, non si fa che usare, per indicare entità morbose non assolutamente definite, una parola incerta e vuota di significato. Senza contare che l'ammettere una malattia della *linfa* ripugna certamente da ogni concetto della patologia moderna che è essenzialmente *cellulare*.

Comunque è certo che la gran maggioranza dei patologi non rifiuta di ammettere l'esistenza di un gruppo di malattie delle piante da frutto denominato *gommosi*, il quale al par di ogni entità morbosa, dovrebbe essere caratterizzato da quattro gruppi di criteri e cioè:

- 1) Criteri anatomo-patologici, quali potrebbero derivare dall'esame sistematico delle alterazioni dei tessuti.
- 2) Criteri etiologici e patogenetici, derivanti dall'eguaglianza delle cause efficienti o dall'analogia della loro natura.

linfa, darebbe origine all'imbrunimento dei tessuti medesimi, e quindi al *male nero*.

Vi è però anche qualche autore moderno, p. es. G. SMITH, che tiene distinti i due processi.

3) Criteri sintomatologici, derivanti dal fatto che i sintomi fossero uguali od analoghi.

E fra i sintomi occorre anche porre la produzione di sostanze chimiche uguali od analoghe.

4) Criteri terapeutici, ove la stessa cura portasse in tutti i casi agli stessi risultati, onde si potesse parlare di *cura specifica*.

Non è mia competenza né intenzione il vagliare l'esistenza di unità dei criteri anatomi-patologici, clinici e terapeutici per le gommosi degli alberi da frutta: io mi contento di vedere fino a qual punto si possa oggigiorno parlare di unità di reperto etiologicalo e patogenico.

In altri termini vedere se abbiamo noi delle ragioni per ritenere, la gommosi, una malattia o un gruppo di malattie infettive.

Ma anzitutto come si deve oggigiorno interpretare il concetto del fattore etiologicalo parassitario, microrganico, in patologia vegetale?

Per rispondere a questa domanda occorre anzitutto che ci facciamo una idea ben chiara di quello che i patologi oggigiorno chiamano malattia infettiva. Così il LIEBERMEISTER diceva (a proposito della polmonite fibrinosa umana) che il dire se questa malattia è o no infettiva, *dipende solo dalla definizione che vogliamo dare di malattia infettiva*. Se noi, egli scrive, come tale « intendiamo ogni malattia nella quale si abbia « presenza di microrganismi patogeni, allora, senza alcun dubbio, « la maggior parte delle polmoniti appartiene alle malattie infet- « tive: soltanto che allora, *all'infuori degli avvelenamenti, dei « traumi diretti e delle lesioni meccaniche, chimiche e termiche, « ogni malattia sarebbe infettiva*, in modo che tale concetto per- « derebbe il suo senso particolare. Ma se noi al termine malattia « infettiva vogliamo dare il suo vero significato, allora dovremo « limitarlo a quelle malattie che, come il colera, la peste, l'ileo- « tifo, il tifo ricorrente, la morva, il carbonchio, la difterite e « probabilmente anche gli esantemi acuti, compreso il tifo esan- « tematico, *sono provocate da un solo microrganismo e sempre « da quello*. E allora la polmonite non appartiene alle malattie « infettive, poichè può essere prodotta da differenti microrganismi « e si può produrre anche senza la loro compartecipazione. Il « giorno in cui riuscissimo a separare, dal punto di vista etiologicalo, le differenti forme di polmonite, allora ci comporteremmo

« diversamente; e se tra queste ne trovassimo una o più le quali fossero provocate da un agente patogeno particolarmente specifico e solo da questo, assegneremo queste forme alle vere malattie infettive, cangiando in tal modo il concetto che sulla polmonite fin qui abbiamo avuto. »

Ed inoltre occorre tener presente che, anche quando ci decidessimo a ritenere la gommosi una malattia infettiva *sensu strictiori*, la cosa, agli effetti delle circostanze intrinseche ed estrinseche che possono determinare il morbo, non è certamente semplice, e dobbiamo ricordarci che perchè un microbo riesca patogeno rispetto ad un organismo si devono sempre verificare le seguenti circostanze :

- 1) L'organismo anzitutto deve essere sprovvisto d'*immunità* naturale o acquisita verso il microrganismo.
- 2) L'organismo si deve trovare in uno stato di recettività.
- 3) Il microrganismo patogeno si deve trovare in uno stato sufficiente di virulenza.
- 4) Il microrganismo patogeno si deve introdurre dall'esterno od essere già contenuto nell'organismo.

Di modo che quando si parla di etiologia e di patogenesi occorre sempre pensare che spesso i due momenti si sovrappongono, si completano e si annullano. Onde nella determinazione di un morbo in un vegetale, possiamo ripetere, *mutatis mutandis*, quello che A. LUSTIG scrive a proposito della etiologia delle malattie animali ed umane, e più precisamente a proposito delle cause morbose *dirette* od *occasional*i e delle *predisponenti*, le quali rendono l'organismo meno resistente di fronte alle prime.

« Non è sempre possibile distinguere e delimitare precisamente le une dalle altre; si che meglio si divideranno le cause di malattia in *necessarie* o *dirette* o *efficienti* o *operanti*, ed in *coadiuvanti*: e tra queste ultime si comprenderanno le *predisponenti*.

« L'esperienza c'insegna che le cause dirette si trovano comunemente al di fuori del corpo, e perciò vengono anche dette cause esterne, mentre le altre, che sono la risultante della organizzazione particolare del corpo e sono piuttosto di natura predisponente, diconsi cause interne.

« Le cause necessarie non sempre sono sufficienti a produrre una malattia; quando agiscono insieme con una causa coadiuvante, allora la malattia è cagionata da cause associate.

« Le cause necessarie o operanti o dirette o efficienti consistono talvolta in agenti chimici o fisici, tal'altra in esseri parassitari, tal'altra ancora nella mancanza o nella soppressione di un organo.

« Le cause coadiuvanti possono riferirsi all'eredità, allo sviluppo dell'organismo, alla costituzione e alla nutrizione, all'età, al sesso, alla razza, al clima ecc. Talvolta anche certi agenti, meccanici, fisici e chimici, possono agire come cause coadiuvanti ».

Anche l'esempio che egli cita a illustrare la distinzione è per noi assai istruttivo e rispecchia esattamente le nostre nozioni in proposito.

« Il bacillo di Koch è la causa necessaria della tubercolosi, ma non sempre è sufficiente a determinare lo sviluppo della malattia, poichè esso, per quanto virulento, introdotto in un organismo refrattario alla tubercolosi non può esercitare la sua azione distruttrice. Se, per altro, questo organismo, naturalmente refrattario, o per una insufficiente nutrizione o per altra causa, venga a perdere la sua forza di resistenza, allora può soggiacere al batterio e ammalare di tubercolosi; ed allora si può dire che la infezione è avvenuta per il concorso di due cause (cause associate), di cui una necessaria, rappresentata dal bacillo di Koch, un'altra coadiuvante o predisponente, risultante dalla insufficiente nutrizione o da altri fattori ».

Posto così il concetto di malattia infettiva, vediamo ora anzitutto i reperti osservativi e sperimentali dei vari sperimentatori in ordine al contenuto microrganico delle « gommosi » degli alberi da frutto.

I primi ad osservare dei microrganismi nei processi gommosi furono GAROVAGLIO e CATTANEO i quali dissero che nel « Mal nero della vite » buon numero di vasi, massime i rigati, si trovano infarciti di una sostanza che a mò di tappo ne ottura l'interna cavità » e che « questa sostanza dassi a conoscere formata di vescichette zeppe di dentro e attorniate di fuori di migliaia e di migliaia di batteri ».

Lo stesso GAROVAGLIO riaffermò, nelle viti affette da Mal nero, la presenza di batteri, che costituiscono, secondo lui, il vero carattere patognomonico della malattia.

Il DAILLE avendo riscontrato l'*Uredo viticeda* sui tessuti necrosati della vite affetta da Mal nero, la designò come causa oc-

casionale della malattia, ma in seguito ne disconobbe la natura parassitaria.

Il CUGINI fece uno studio più particolareggiato su questo stesso argomento; egli, dopo aver descritto minuziosamente tutti i caratteri che presenta il morbo in parola, ne ricercò la causa in una forma fungina affine alla *Sphaeropsis Peckiana* TH., ed la *Phoma vitis* BOX. In seguito, in altra sua pubblicazione, egli rinunciò all'idea della natura parassitaria del male, e finalmente pare ne ricercasse la causa in un microrganismo quando, nel 1892, in una sua memoria finiva concludendo così:

« Rimane così dimostrato essere questa la prima volta che « si parla, con qualche precisione di fatti, di un microrganismo « esistente nei tessuti delle viti affette da Mal nero, e causa probabile di questa malattia, e credo che nessuno, in base ai lavori pubblicati, possa contestarmi la priorità della scoperta ».

O. COMES, che ha avuto largo modo di studiare il Mal nero, riscontrandosi esso ad ogni piè sospinto nei vigneti della regione napoletana, la ritenne finalmente e senza ambagi, causato da un microrganismo a cui diede il nome di *Bacterium gracile* nel 1880 e di *B. gummi* nel 1884. Escluse l'azione parassitaria di miceli fungini e dimostrò anche la contagiosità della gomma in sé.

Alla scoperta del COMES, segui la conferma data alla stessa da PRILLIEUX e DELACROIX, come pure seguirono gli studi di BACCARINI e MACCHIATI sul *B. viticorus* e sul *B. Baccarinii*.

E mi sembra superfluo oggigiorno fermarmi a dimostrare che tutti questi autori hanno, senza che ciò faccia loro torto, dato lo stato della batteriologia ai loro tempi, lavorato sempre con culture impure.

Di modo che, per quanto il MIGULA abbia creduto bene (unificando il *B. gummi* agli altri due) introdurli nel suo « *System der Bakterien* » secondo me, degli studi del COMES, del BACCARINI, del MACCHIATI e di PRILLIEUX e DELACROIX non può restare oggigiorno che la geniale osservazione che nelle « gommosi », e soprattutto nel Mal nero della vite, vi sono dei batteri i quali forse sono parte integrante del processo. E siamo assolutamente impossibilitati ad identificare una delle specie che noi siamo in grado di maneggiare oggigiorno con quelle da esse studiate.

Un grado di precisione maggiore cominciamo ad avere con CAVARA quando questi descrive i batteri ritrovati nel Mal nero della vite e nella batteriosi del gelso, poichè non solo è oramai

in qualche modo possibile identificare le specie descritte, ma anche perchè i reperti cominciano spesso a diventare uniformi, o quasi, per tutti gli sperimentatori: e menano anzitutto alla constatazione che nei « processi gommosi » vi è costante, o quasi, la presenza di un piccolo batterio cromogeno giallo, mobile, con tendenza a formare delle zooglee o altri ammassi analoghi.

E infatti simili batteri sono stati ritrovati da:

1) CAVARA, nel Mal nero e nella « batteriosi del fico » (*Bacterium fici*).

2) PETRI, nella « batteriosi del fico ».

3) E. SMITH, nella gommosi della canna da zucchero (*Ascobacillus Sacchari*).

4) G. SMITH, del quale è possibile ricondurre a questa specie il *B. Acaciae* ed il *B. metarabimum*.

5) G. NASO, secondo il lavoro che segue a queste righe, nel Mal nero.

6) B. MAJMONI, nonostante che il batterio da lui isolato non faccia delle zooglee (*B. commiphilum*).

E questa specie, stando al PETRI, sarebbe da identificarsi coll'*Ascobacterium luteum* di BABÈS, coll'*Ascobacillus citreus* di UNNA e TOMMASOLI ed inoltre: col *B. capsulatus trifolii* del PETRI stesso, con quelli isolati dal PÉGLION nelle batteriosi del gelso e della canapa (*Bacterium Mori* BOYER et LAMBERT e *B. cubonianus* MACCHIATI) e nella rogna dell'ulivo: in parte col *B. Oleae* di SAVASTANO e coi bacilli trovati da E. SMITH e A. BERLESE nelle batteriosi dell'olivo. E forse si tratterà di un ubiquitario, identico al *B. herbicola* di BURRI e DÜGGELI già chiamato dal BELJERINK *B. anglomerans*, facente parte della flora normale delle piante.

Inoltre sono state trovate nei « processi gommosi » le seguenti specie:

Bacterium persicae, isolato da G. SMITH nel flusso gommoso della *Cedrela australis*, del ciliegio e del mandorlo, affine al *Bac. mucosus* ZIMM., ed al *B. glutinosum* KERN, certamente differenti dagli altri sopra nominati perchè sporigeni al pari del

B. levaniformans, trovato da G. SMITH nella gomma del succo della canna da zucchero ed in varie specie gommose.

B. parabinum, trovato nella *Sterculia diversifolia* ecc. ed affine al *B. gelatinosum Betae* FRITZ GLASER.

B. spongiosus, trovato da ADERHOLD e RUIHLAND, nei cilieg, e non descritto.

Inoltre RANT, tra i funghi dei processi gommosi indica il *Clasterosporium carpophilum*; il *Coryneum Beijerinckii*; la *Cytophora leucostoma*; la *Monilia cinerea*; la *Monilia fructigena*, la *Monilia laxa*; la *Botrytis cinerea*.

Molto incerto è poi il valore che si può attribuire a tutte queste specie.

COMES ritiene « infettivo » il suo *B. gummi*: infatti egli dice :

« Ritengo che la infettività della malattia sia dovuta esclusivamente alla gomma, e non già ai miceli delle erittogame, « che occorre incontrare negli organi aerei e sotterranei della « pianta. Ho potuto indurre nei tralci di viti sane le pustole caratteristiche dell'antracnosi inocolandovi: 1) pustole d'antracnosi; « 2) gomma di vite; 3) gomma di ciliegio; 4) gomma di fico; 5) tessuti alterati (per gommosi) appartenenti sia al ceppo, che alle « radici della vite. »

BACCARINI ritiene il parassitismo del suo *B. viticorus* come la causa di tutto il processo patologico profondo e complesso del « Mal nero ».

PRILLIEUX e DELACROIX anch'essi hanno ottenuto esito positivo da inocolazione del loro bacillo.

CAVARA non ebbe esito positivo dalle inoculazioni col *B. fici* mentre che a PETRI riuscirono positive.

ADERHOLD e RUHLAND ebbero esito positivo, col *B. spongiosus*, nei ciliegi

BELJERINK e RANT ebbe esito negativo con tutti i batteri isolati ed esito positivo col *Coryneum* e cogli altri funghi nominati.

R. GREIG SMITH, fin dal 1902, partendo dal concetto che nello studio delle malattie infettive dei vegetali, con le inoculazioni di riprova riesce difficile aversi una garanzia assoluta della specificità del microrganismo che si esperimenta date le facili infezioni dall'esterno, e la impossibilità di eliminare i traumi, con una serie di ricerche originali ha cercato di avere, per così dire, « la riprova in vitro » del potere gummigeno dei microrganismi da lui studiati, e quindi la certezza della specificità dei medesimi nella patogenesi delle gommosi. Il suo metodo essenzialmente consiste: nell'isolare dai tessuti ammalati di gommosi le specie microbiche contenutevi, nel coltivare queste specie su di un terreno speciale sul quale possono dare produzione di gomma, nel sottoporre la gomma così ottenuta e quella prodotta patologicamente dalla pianta ad idrolisi, e nello studiare i prodotti dell'idro-

lisi delle due gomme, per vedere se sono identici; nel qual caso, secondo l'A., resta dimostrata la specificità del microrganismo nel produrre quella data gomma.

GREIG SMITH, con queste ricerche, avendo dalla gomma di *Acacia binervata* ottenuto in cultura pura il *Bacterium Acaciae* n. sp.; dalla gomma di *Acacia penninervis* il *B. Acaciae* ed il *Bacterium metarabinum*; dalla gommosi dei tralci di vite (che, secondo lui, non sarebbe il *mal nero*) il *B. Acaciae* ed il *B. metarabinum*; dalla gomma di *Cedrela australis*, il *B. Acaciae* ed il *Bacterium Persicae*; dalla gomma di una specie giapponese appartenente probabilmente al genere *Dyospyros*, il *B. levani-formans*, ed il *B. Acaciae* (ed attribuisce la gomma a quest'ultimo); dalla gomma della *Sterculia diversifolia* (composta, secondo lui, da un miscuglio di arabina e parabina) il *B. Acaciae* ed il *Bacterium parabinum*: ha coltivati tutti questi microrganismi sul suo speciale terreno di cultura dove produssero gomma, che, chimicamente, risultò identica a quella da cui furono isolati.

In base a questi risultati, GREIG SMITH si sente autorizzato a ritenere le specie suddette come la vera causa delle diverse gommosi da lui studiate. Con una larga sperimentazione chimica, inoltre, esclude che la gomma possa avere origine dalla cellulosa, e dimostra invece che deve ritenersi prodotta dall'azione dei batteri sul levulosio e sul maltosio, che sono gli zuccheri migranti di BROWN e MORRIS.

Riguardo alle *cause abiologiche* GAROVAGLIO e CATTANEO credettero il « Mal nero » dato da una « viziata assimilazione ».

COMES mentre, come abbiamo visto, ritiene la gomma infettiva, assegna importanza massima agli sbalzi di temperatura nella provocazione della malattia.

FRANK (citato da Comes) fin dal 1884, è portato a considerare la produzione della gomma come un processo vitale comune nelle piante legnose, ed avente l'ufficio di proteggere il legno sano.

VESQUE, pressocchè contemporaneamente, emette l'ipotesi che la gomma come anche i tilli, possono essere causati dall'irritazione che i prodotti di secrezione dei batteri esercitano sul parenchima non lignificato.

SAVASTANO, nello stesso turno di tempo, richiama l'attenzione sulla frequenza con cui si mostra la gomma sui diversi alberi in seguito a traumi (schianti, lacerazioni, tagli, innesti ecc. ecc.) esercitati su di una parte qualsiasi della pianta, e, nello studio che

fa delle cicatrizzazioni, indica quali sono i traumi più frequentemente seguiti da gomma.

Il WIESNER (contraddetto ultimamente da REINITZER) ritiene che la gomma sia prodotta, anzichè da un fermento microbico, da un fermento non figurato della classe delle amilasi, il quale, trasformando l'amido in destrina, impedirebbe al fermento saccharificante di trasformarlo in zucchero.

BEIJERINK e RANT fanno osservare che le ferite, e quindi i traumi, per la loro azione meccanica irritante sono capaci di provocare, nei tessuti colpiti, uno sviluppo anormale che si traduce in gomma. Fanno osservare anche che azione irritante analoga alle ferite possono esercitarla certi veleni (es. il sublimato corrosivo) quando uccidono le cellule del cambio; ed alcuni funghi parassiti che con i veleni del loro ricambio materiale si comportano in modo analogo.

Secondo questi autori, funghi puramente saprofiti e batteri, sviluppandosi sulle ferite, favoriscono la necrobiosi, fanno giungere a maggiore distanza l'irritazione proveniente dalle ferite stesse, e quindi possono provocare ed intensificare la secrezione di gomma. Circa la natura della gommosi gli A. A. si sentono autorizzati ad emettere l'ipotesi che la pianta normalmente genera delle sostanze citolitiche che si diffondono nel legno e vengono riasorbite, e che, in seguito a necrobiosi, si ha una iperproduzione di questo sostanze citolitiche che si manifestano all'esterno sotto forma di essudato gommoso.

MIKOSCH conferma la teoria secondo la quale la gomma è dovuta ad un fenomeno di eteroplasia (KUSTER) e che quindi essa, può essere considerata o come un prodotto di metamorfosi delle pareti cellulari, o come un prodotto direttamente elaborato dal plasma.

ADERHOLD e RUHLAND osservano che non sempre dove, in seguito a ferite, si forma della gomma, si trovano batteri; né quando si trovano, nella pluralità dei casi, si può attribuire ad essi la formazione di gomma. Quindi la gommosi per essi non è malattia prettamente batterica.

RUHLAND combatte la teoria formulata da BEIJERINCK e RANT sulla formazione della gomma, ed emette l'ipotesi che questa sia dovuta all'azione dell'ossigeno dell'aria sugli idrati di carbonio destinati alla formazione delle membrane cellulari. La penetra-

zione dell'ossigeno atmosferico nei tessuti della pianta sarebbe determinata o favorita dalle ferite.

FOEX, trattando della gommosi del pesco, raggruppa le cause che possono provocarla in tre categorie: condizioni dell'ambiente, azioni traumatiche, parassiti (animali, vegetali). Nella trattazione dà più importanza alle sfavorevoli condizioni d'ambiente, ed alle azioni traumatiche, anzichè ai parassiti.

MAJMONÉ, recentemente, ha studiato due casi di gomma da necrobiosi traumatica sui rami e sul fusto del *Citrus Limonum*, confermando il fatto che si può avere della gomma in seguito a traumi senza l'intervento di alcuno microrganismo.

R. SMITH ed O. BUTLER escludono in modo assoluto che le manifestazioni gommose delle piante appartenenti al genere *Citrus* siano da addebitarsi ad organismi parassitari, e sono del parere che debbono ascrivere a perturbazioni nei processi fisiologici della pianta. Come causa di questa perturbazione gli A. A. invocano principalmente le influenze nocive del suolo, ma non escludono che, nella maggior parte dei casi, la causa determinante resti molto oscura ad intravedersi, anche perchè non esiste una immediata correlazione fra causa ed effetto.

Nella pubblicazione in parola gli A. A. dichiarano che le loro ricerche microbiologiche sono state fatte per la durata di tre anni nel Laboratorio di WHITTIER ma non espongono come sono state condotte le medesime e per escludere la natura infettiva delle gommosi si limitano ad asserire « senza entrare qui « in estese discussioni possiamo dire che in nessun caso abbiamo « potuto riconoscere e dimostrare la presenza di un qualche fungo, « bacterio, od altro organismo parassitario, come causa di qualche forma di gommosi del *Citrus* ».

Da questa rapida rassegna bibliografica, che, come tutte le rassegne, non può essere completa, parmi a buon diritto di possa concludere:

- 1) La flora microrganica delle piante affette da « gommosi » non dà sempre reperto uniforme.
- 2) Nella flora microrganica delle piante affette da « gommosi », si trovano tanto schizomiceti, quanto ifomiceti.
- 3) Se fra i rappresentanti della flora delle piante affette da gommosi si trovano specie che appartengono alla flora comune delle piante sane, sembra non manchino specie caratteristiche del processo gommoso.

4) La « gommosi » è certamente spesso contagiosa.

5) Se si dovesse considerare la gommosi come una malattia infettiva si potrebbe fare tal cosa solo in senso largo. Non è insomma ancora stato isolato un microrganismo specifico unico per la « gommosi ».

6) Fino ad ora mancano prove certe che per determinare la « gommosi » bastino sempre microrganismi dotati di sufficiente virulenza, e non siano necessarie altre speciali condizioni per il loro attecchimento.

In altri termini, dal punto di vista etiologico e patogenetico, l'unità di criteri per creare il gruppo delle « gommosi » degli alberi da frutto manca assolutamente. E per risolvere tale questione occorre intensificare non solo, da un lato, le ricerche microbiologiche e anatomo-patologiche, ma anche non trascurare, dall'altro, un fatto di capitale importanza (come è stato fatto dalla maggior parte degli sperimentatori), e cioè occorre chiedere alla chimica di precisare meglio che cosa s'intende per gomma. Poichè i trattati, anche i più moderni, non fanno che registrare fatti contraddittori ed incerti a questo proposito e le ricerche di G. SMITH, il solo forse che abbia messo il problema nei termini necessari per risolverlo, attendono ancora conferma.

I lavori che seguono non sono che ricerche obbiettive; ed i fatti posti in rilievo non possono essere che dei documenti da aggiungere agli altri che già sono noti su questo importante ed interessante argomento.

II.

Ricerche sulla etiologia del « mal nero » della vite (1).

§ I. — Osservazione diretta al microscopio.

Prima di procedere a tentativi di cultura dei microrganismi della gomma nei mezzi nutritivi ordinari, abbiamo voluto vedere quello che si osserva negli ammassi gommosi della vite.

A tal uopo, prendendo dei tralci ammalati e scegliendo quelli che da lesioni esterne facevano fuoriuscire una maggiore quantità di gomma, praticavamo un taglio longitudinale con un bisturi, fino ad arrivare allo strato gommoso, che generalmente era il midollo e porzione del legno periferico ad esso.

Facevamo pescare nella gomma un'ansa di platino, ed estrattane una piccola quantità, si diluiva in una gocciolina d'acqua sopra un vetrino portaoggetti, quindi si copriva con un coprioggetti, e, fatto così il preparato per schiacciamento, osservavamo al microscopio con l'obbiettivo N. 8 e 9 (Koristka).

Questa serie di osservazioni ebbe esito poco felice in quanto che, poche, fra le tante volte, ci è stato dato di vedere degli ammassi di schizomiceti perfettamente immobili, della lunghezza di pochi μ . Solamente 3 o 4 volte abbiamo potuto osservare delle zooglee, forse quelle di cui hanno parlato, oltre al Comès, anche il Baccarini, il Cugini ed altri.

(1) Queste ricerche furono eseguite più specialmente dal Dott. G. Naso.

Generalmente questi microrganismi si presentavano sotto forma di cocci (diplococchi) mentre una sola volta li abbiamo potuti osservare sotto forma di veri diplobacilli, anche essi perfettamente immobili come i precedenti.

Nella gomma in esame non mancavano mai dei miceli fungini, talvolta isolati, tale altra costituenti delle fitte reti. Probabilmente si trattava delle ife dell'*Oidium Ludvigii* Hansen, studiato da Holtz (1) come uno degli ordinari abitatori della linfa.

§ II. — Esperienze culturali.

Nella speranza di ottenere risultati migliori siamo passati ai tentativi di cultura nei mezzi nutritivi artificiali.

Incominciammo col brodo e ne eseguiamo gli inquinamenti nel seguente modo.

Delle fettoline di legno tratte, con bisturi previamente sterilizzato alla fiamma, dai punti ove l'annerimento e la gomma si appalesavano più accentuati, venivano introdotti nei tubetti contenenti il brodo sterile, e portati in termostato. Dopo un paio di giorni il brodo incominciava a intorbidarsi, e, fatti allora dei preparati semplici, al microscopio si mostrava abitato da una flora batterica straordinariamente numerosa. Si osservava però che le culture erano quasi sempre impure, perchè formate da diverse forme di microrganismi, quali batterii, bacilli, cocci, e qualche volta anche da blastomiceti, come risulta chiaramente dalla seguente tabella in cui sono registrati i risultati dell'esame microscopico delle culture medesime.

(1) Beitrag zur Kenntnis der Baumflüsse und einiger ihrer Bewohner
Centralblatt für Bakteriologie, Parte II, Vol. VII, pag. 113.

N. della vite	N. dell'osservazione	Materiale adoperato e suo luogo di origine	Risultato della coltura
1	1	Legno: parte basilare del tralcio.	Cultura impura. Bacilli piccoli e grossi.
"	2	Legno: parte media del tralcio.	Cultura impura. Batteri numerosi, blastomiceti scarsi.
"	3	Legno: parte apicale del tralcio.	Cultura impurissima.
"	4	Midollo: parte basilare del tralcio.	Cultura impura. Batteri e bacilli.
"	5	Radice.	Forme streptobacilliche, trocefaliche, clostridiche.
"	6	Legno: parte basilare del tralcio, zona sottocorticale.	Cultura impura. Batteri e bacilli.
"	7	Legno: parte basilare del tralcio, zona media.	Streptobacilli grandi e piccoli.
"	8	Legno: parte basilare del tralcio, zona centrale e midollare.	Cultura impurissima. Forme clostridiche.
"	9	Legno: zona sottocorticale, parte media del tralcio.	Bacilli e blastomiceti. Cultura impura.
2	10	Legno: zona media, parte centrale del tralcio.	Cultura pura (?) Batteri corti con estremità appuntite.
"	11	Midollo: parte media del tralcio.	Cultura pura (<i>Sottile?</i>).
"	12	Legno: zona sottocorticale, parte apicale del tralcio.	Cultura impurissima.
"	13	Legno: parte apicale del tralcio, zona media.	Bacilli corti con qualcuno lungo. Cultura pura (?).
"	14	Legno: zona centrale e midollare: parte apicale del tralcio.	Cultura impura formata da coccobatteri e qualche streptobacillo.
"	15	Radice.	Streptobacilli. Cultura pura (?).
3	16	Legno: zona sottocorticale: parte basilare del tralcio.	Batterio polimorfo. Cultura pura (?).

N. della vite	N. dell'osservazione	Materiale adoperato e suo luogo di origine	Risultato della coltura
3	17	Legno: zona media, parte basilare del tralcio.	Cultura pura. Batteri corti sporigeni.
"	18	Legno: zona centrale, parte basilare del tralcio.	Cultura pura (<i>Sottile?</i>).
"	19	Legno: zona sottocorticale, parte media del tralcio.	Bacilli polimorfi. Cultura pura(?).
"	20	Legno: zona media, parte media del tralcio.	Cultura impurissima.
"	21	Legno: zona centrale, parte media del tralcio.	Batt. e bacilli sporificati. Cultura impura
"	22	Legno: zona sottocorticale, parte apicale del tralcio.	Cultura impura; predominano batteri; qualche raro streptobacillo.
"	23	Legno: zona media, parte apicale del tralcio.	Cultura impurissima.
"	24	Legno: zona centrale, parte apicale del tralcio.	Cultura impurissima.
4	25	Legno: zona sottocorticale, parte basilare del tralcio.	Cultura pura (?), batterio sporigeno.
"	26	Legno: zona media, parte basilare del tralcio.	Cultura pura (?), batterio sporigeno.
"	27	Legno: zona centrale, parte basilare del tralcio.	Cultura pura (?), batteri.
"	28	Legno: zona sottocorticale, parte media del tralcio.	Cultura impurissima.
"	29	Legno: zona media, parte media del tralcio.	Cultura impura.
"	30	Legno: zona centrale, parte media del tralcio.	Cultura impurissima.
"	31	Legno: zona sottocorticale, parte apicale del tralcio.	Cultura quasi pura. Bacilli (<i>Sottile?</i>), qualche batterio.

N. della vite	N. dell'osservazione	Materiale adoperato e suo luogo di origine	Risultato della coltura
3	32	Legno: zona media, parte apicale del tralcio.	Cultura impura. Blastomiceti. Batteri.
"	33	Legno: zona centrale, parte apicale del tralcio.	Cultura impurissima.
"	34	Radice: zona sottoepidermica.	Cultura pura (?). Bacilli.
4	35	Radice: zona media.	Cult. impuriss. Batt. e bacilli.
"	36	Radice: zona centrale.	Bacilli (<i>Sottile?</i>). Cultura pura (?).
"	37	Legno: zona sottocorticale, parte basilare del tralcio.	Cultura pura di un bacillo corto, sporificato.
"	38	Legno: zona media, parte basilare del tralcio.	Cultura impurissima.
"	39	Legno: zona centrale, parte basilare del tralcio.	Cultura impurissima.
"	40	Legno: zona sottocorticale, parte media del tralcio.	Cultura impura. Bacilli grossi e piccoli.
"	41	Legno: zona media, parte media del tralcio.	Cultura impura. Batteri e bacilli.
"	42	Legno: zona cent., parte med. del tralcio.	Cultura impurissima.
5	43	Legno: zona sottocorticale, parte apicale del tralcio.	Batteri. Cultura pura (?).
"	44	Legno: zona media, parte apicale del tralcio.	Cultura pura (?). Batteri.
"	45	Legno: zona centrale, parte apicale del tralcio.	Cultura impura. Blastomiceti. Bacilli.
"	46	Radice: zona sottoepidermica.	Cultura impurissima. Bacilli moltissimi, batteri, cocchi.
"	47	Radice: zona media.	Cult. impura. Batt. lunghi e corti.
"	48	Radice: zona centrale.	Cultura impura. Bacilli lunghi e corti con vacuoli o spore.

Come ben si osserva dalle riportate tabelle, noi avevamo tentato di vedere se nelle culture in brodo l'istesso tralcio ci dava gli stessi microrganismi, traendo il materiale che serviva ad inquinare, non solo da punti diversi dell'istesso tralcio (parte basilare, parte media, parte apicale) ma ancora dalle diverse zone legnose dell'istesso punto (zona sottocorticale, zona media, zona centrale).

Talvolta abbiamo fatto anche così per la radice, ma tanto nell'uno quanto nell'altro caso, avendo ottenuto dei risultati disparatissimi e delle culture quasi sempre impure, non siano andati più oltre.

Accadeva talvolta che il brodo, a lungo andare di tempo, in generale dopo due o tre mesi, assumesse una colorazione bruna. Da principio abbiamo sospettato si trattasse dell'annerimento riscontrato dal Baccarini (1) nel liquido derivante dalla fluidificazione della gelatina inquinata con fettoline di legno ammalato, e al quale carattere egli dà tanta importanza nella diagnosi del batterio, ma in seguito, non avendo noi ottenuto lo stesso, nè avendo riprodotto l'annerimento in altro brodo inquinato non già con fettoline di legno, ma con microrganismi in cultura pura ricavati da quei tubi che presentavano l'annerimento caratteristico, ci siamo dovuti convincere che la colorazione bruna doveva essere data con molta probabilità, più che dal microrganismo in sé, dalle sostanze tanniche che si trovano nel legno.

E fin qui, non avevamo fatto altro che rifare, coi criterii della sperimentazione moderna, il metodo eseguito dal Comes fin dal 1884 ed anche prima, in conformità di quanto leggesi in una nota a pag. 11 della sua memoria « Sulla Gommosi dei fichi ».

Siamo passati quindi a sperimentare con mezzi nutritivi solidi facendo delle culture per striscio in agar a becco di clarino e in patata, ed altre per infissione in agar glucosato.

Il materiale inquinante era la gomma, che ricavavamo dall'interno dei tralci mercé un'ansa di platino previamente sterilizzata alla fiamma. Le culture, conservate in termostato, dopo pochi giorni diedero i risultati segnati nelle tavole seguenti:

(1) Il Mal nero della vite, pag. 496. Staz. Sper. Agrarie Ital., Anno 1893.

Esame macroscopico delle culture

N. delle vite	Agar glucosato	Agar semplice	Patata
1	Colonie gialle	Colonie gialle	Muffe
2	Muffe	Sterile	Muffe
3	Muffe	Sterile	Muffe
4	Muffe	Muffe	Muffe
5	(1)	(1)	(1)
6	Muffe	Colonie gialle	Colonie gialle
7	Colonie bianche	Colonie bianche	Colonie bianche
8	Muffe	Sterile	Sterile
9	Muffe	Sterile	Sterile
10	Colonie gialle	Colonie gialle	Colonie gialle
11	Colonie gialle	Colonie gialle	" "
12	" biancastre	" biancastre	" bianche
13	" giallognole	Sterile	Muffe
14	" gialle	Colonie gialle	Muffe
15	Sterile	Muffe	Sterile
16 1° Esp.	Colonie bianche	Colonie bianche	Muffe
16 2° Esp.	Colonie gialle	Colonie gialle	Colonie gialle
17 1° Esp.	Muffe	Muffe	Muffe
17 2° Esp.	Muffe	Muffe	Muffe
18	Muffe	Muffe	Colonie gialle
19 1° Esp.	Colonie bianche	Colonie bianche	Colonie bianche
19 2° Esp.	" gialle	" gialle	" gialle
20	Colonie biancastre fluorescenti	Muffe	Muffe

(1) La vite N. 5 essendo stata spiantata, non si poterono fare esperimenti di cultura con la sua gomma.

Di alcune viti abbiamo fatto doppia serie di esperimenti per vedere se la loro gomma ci dava, nelle diverse volte, sempre gli stessi risultati.

Esame microscopico delle culture

N. delle vite	Agar glucosato	Agar semplice	Patata
1	Bacilli corti e sottili.	Schizomiceta piccolissimo, difficile a dire se batterio o cocco.	— — —
6	Coccobatteri con zooglee.	Coccobatteri con zooglee.	Batteri piccolissimi.
7	Batteri corti e tozzi.	Coccobatteri.	Batteri piccoli ad estremità arrotondate.
10	Batteri piccolissimi e sottilissimi.	Batteri sottilissimi e piccolissimi.	Batteri piccoli e corti.
11	Bacilli minutissimi con zooglee.	Bacilli minutissimi con zooglee.	Bacilli minutissimi con zooglee.
12	Bacilli minutissimi con zooglee.	Bacilli minutissimi con zooglee.	Bacilli minutissimi con zooglee.
13	Coccobatteri grossissimi.	— — —	— — —
14	Batteri grossi con molte zooglee.	Batteri grossi con molte zooglee.	— — —
16 1° Esp.	Batteri e bacilli.	Batteri e bacilli.	— — —
16 2° Esp.	Batteri lunghi e corti.	Batteri lunghi e corti.	Batteri lunghi e corti.
18	— — —	— — —	Batteri grossi e tozzi.
19 1° Esp.	Batteri corti e tozzi.	Batteri corti e tozzi.	Batteri corti e tozzi.
19 2° Esp.	Batteri piccoli con zooglee.	Batteri piccoli con zooglee.	Batteri piccoli con zooglee.
20	(1)	— — —	— — —

(1) Tralasciata di studiare perchè molto impura.

Come si vede dalle tabelle precedenti, sopra 19 viti esaminate, la gomma di 8 si dimostrò o sterile o abitata da muffe, e quella delle rimanenti diede per risultato l'esistenza di schizomiceti in cultura apparentemente pura. E diciamo apparentemente perchè molto spesso, in secondo tempo, culture, che in origine sembravano pure, mostravano, successivamente, permanendo più tempo in termostato, inquinamenti o con altri schizomiceti o con muffe.

Delle specie microrganiche schizomicetiche così isolate noi ne studiammo 14 derivate dalle viti indicate dalle tabelle suddette ai N. 1-2-6-7-10-11-12-13-14-16 (1° esperimento) — 16 (2° esperimento) — 18-19 (1° esperimento) — 19 (2° esperimento).

Le 14 specie isolate o le ottenemmo originariamente in cultura pura, e le purificammo con passaggi successivi, ricorrendo anche, ove occorse, a culture isolanti diluite. In questo ultimo caso si sceglieva naturalmente la specie predominante, la quale era, probabilmente, la specie originariamente dominante alla sua volta nella gomma.

Quando le culture originarie finirono per manifestarsi molto impure, in modo che, pur mediante la cultura isolante diluita, restava difficile il dire quale era la specie predominante, si preferì di trascurarle (es., cultura della vite N. 20), onde in definitiva il nostro studio si ridusse, come si è detto, a sole 14 specie.

La sola eccezione a questo modo di derivazione fu rappresentata dal microrganismo N. 2, il quale derivò invece da culture isolanti fatte col brodo inquinato con materiale legnoso della vite N. 2 (1), che presentò l'annerimento descritto precedentemente.

Passando queste 14 specie nei vari terreni culturali, facendo delle piastre in agar e in gelatina, e sottoponendole tutte alle usuali operazioni diagnostiche, non facemmo gran fatica a mettere in rilievo che delle 14 unità microrganiche studiate, 8, a cui abbiamo dato l'appellativo di *batteri tipici*, si potevano riferire con sicurezza alla stessa specie, e le altre 6, che abbiamo chiamato *batteri atipici*, differivano certamente dalle prime, ma non è escluso che, alla lor volta, alcune di esso almeno, si potessero identificare fra di loro.

(1) Per non generare confusione abbiamo dato a ciascun microrganismo lo stesso numero della vite da cui ha derivato.

Ecco la descrizione sommaria del microrganismo « tipico » ossia della specie più frequente, vale a dire, in quella che si presentò su 19 viti studiate complessivamente, in 8, ed anzi nella maggior parte delle viti che diedero flora schizomicetica, le quali, come abbiamo visto, furono 11 sopra 19.

Aspetto microscopico. — Nelle culture giovani si presenta a bastoncini allungati con le estremità arrotondate, isolati, accoppiati a due o anche disposti a catena. Grandezza variabile da μ . 0,9 a 1,4, spessore μ 0,4-0,8.

Nelle culture vecchie (3-6 mesi) si presenta molto più piccolo e molto più sottile e non è esclusa la presenza di forme ramificate. Molto spesso si presenta ammassato in zooglee rotondegianti o della forma di semiluna con corna arrotondate. Mobile, per ciglia peritriche abbastanza allungate.

Colorabilità. — Buona, tanto con le soluzioni acquose alcoliche semplici dei colori di anilina quando con le soluzioni Ehrlich e Ziehl. Resiste al Gram ed è probabilmente un acidofilo.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Anaerobico facoltativo.

Comportamento rispetto alla temperatura ed ai terreni nutritivi. — Cresce lentissimamente alla temperatura ambiente ed anche in termostato. Più rapidamente in agar e in patata.

Piastre in gelatina ordinaria. — Si vedano per questo le figure annesse che rappresentano colonie di tre giorni di sviluppo. Aggiungiamo che le colonie, che ordinariamente si presentano bianco-grigiastre, vanno assumendo man mano un colore giallocitrino caratteristico. Dopo alcuni giorni la gelatina viene fluidificata e la colonia galleggia lungamente sul liquido.

Infissione in gelatina. — Crescita superficiale uguale alle colonie descritte, canale d'infissione granuloso, fluidificazione cilindrica più o meno rapida (da pochi giorni fino ad un mese). Anche qui la capocchia superficiale galleggia nel liquido fluidificato.

Infissione in gelatina glucosata. — Caratteri uguali ai precedenti.

Strisciamento in agar. — Patina bianco giallastra non troppo abbondante, lucente, a bordi netti, poco rilevati. Acqua di condensazione torbida, incolore.

Dopo un tempo variabile da 10 a 15 giorni la superficie dell'agar diventa opalescente, come avviene anche nell'infissione in gelatina quando la fluidificazione ritarda.

Cultura in brodo. — Liquido più o meno torbido con depositi filanti in fondo.

Cultura in patata. — Coltivandolo in patate sterilizzate alla stufa di Koch un'ora al giorno e per quattro giorni successivi si ha una patina di un giallo più o meno carico, più o meno rilevata, splendente, a bordi regolari.

Attività chimiche. — Non coagula il latte; non produce nè idrogeno solforato nè indolo; non sviluppa gas dagli idrati di carbonio.

Sporificazione. — È probabilmente dotato della facoltà di emettere delle spore piccolissime nelle vecchie culture.

Riguardo ai rimanenti microbi isolati possiamo dare soltanto descrizione delle culture in patata e pochi altri caratteri riassunti nella seguente tabella; ciò varrà però, a buon conto, a dimostrarne la diversità col microorganismo precedentemente descritto.

Proprietà dei batteri « atipici ».

N. del micr.	Mobilità	Sporif.	Comport. coll'O.	Color. Gran.	Fluidif. gelatina	Coag. latte	Prod. gas	Prod. H ₂ S	Indolo	Pigmenti
2	+	-	Anaerobico facoltativo	+	+	-	-	-	-	bianco-sporco
7	+	-	Id.	+	+	-	-	-	-	bruno-lucente
13	+	-	Id.	+	+	-	-	-	-	bianco-sporco
13bis	+	-	Id.	+	+	-	-	-	-	bianco-sporco
16	+	-	Id.	+	-	-	-	-	-	bruno-lucente
18	+	-	Id.	+	+	-	-	-	-	giallo-opaco

La vite 7 e la 16 (1° esperimento) diedero culture di color grigio-sporco, con lucentezza grassa e bordi regolari.

La vite 2 diede un microrganismo la cui coltura in patata si presentò di un color bianco-sporco, con lucentezza opaca e bordi di color crema a margine crenato.

La vite 18 diede un microrganismo che si presentò in coltura su patata di un color giallo molto opaco, a bordi irregolari: l'intera coltura si elevava poco sulla patata.

La vite 13 (nelle due sue colture 13 e 13 bis, ricavate da due colonie diverse di due piastre isolanti) diede un microrganismo che cresceva male in patata e si presentava di un color bianco-sporco.

§ III. — Esperienze d'infezione.

Arrivato a tal punto il nostro studio, tentammo di farci un'idea dell'importanza dei germi isolati rispetto alla malattia in questione. A tal uopo praticammo diverse esperienze d'inoculazione su viti perfettamente sane, vegetanti nel Giardino Botanico di questa Regia Scuola. Facemmo una prima serie su tralci di un anno, una seconda su tralci novelli.

Nella prima si eseguirono:

1). Inoculazioni con gomma ricavata dalle viti affette da Mal nero ed oggetto del nostro studio, e ciò per saggiare la contagiosità originale del materiale d'onde avevamo isolati i germi.

2). Inoculazioni coi microrganismi ottenuti.

3). Semplici tagli settici per saggiare fino a che punto i microbi vegetanti sulla vite normale possono essere causa di gommosi.

4). Semplici tagli asettici per saggiare se un semplice taglio in condizioni asettiche produce o no gomma.

Nella seconda serie si eseguirono:

1). Inoculazioni coi microrganismi;

2). Semplici tagli settici,

3). Semplici tagli asettici (1).

Le esperienze d'infezione con gomma furono fatte così: con un bisturi previamente sterilizzato alla fiamma si praticava un'in-

(1) Mancano, come si vede, in questa serie, le infezioni con gomma, che dovemmo tralasciare di rifare per non arrecare molto danno alle altre viti da cui ce la dovevamo ricavare, essendo esse già state potate (e quindi deficienti in tralci) ed in vegetazione molto avanzata.

cisione in un nodo fino a metà del suo diametro; s' introduceva nella ferita, della gomma, tratta, con un'ansa di platino sterile, da uno dei tralci ammalati, si metteva il numero di riconoscimento e si lasciava il tralcio a sè (avendo cura di coprire la ferita con una laminetta di zinco) fino a quando si volevano raccogliere i risultati, nel qual giorno si tagliava il tutto e si procedeva alle osservazioni.

Le esperienze d'infezione coi microrganismi procedevano in modo alquanto diverso.

Siccome ci dovevamo mettere in condizioni tali da aver a che fare esclusivamente con l'azione dei microrganismi da noi ottenuti, dovevamo prescindere rigorosamente da quella degli altri microbi banali che per caso si potevamo trovare sul tralcio nel punto in cui volevamo praticare l'infezione. Per evitare ciò, sul punto scelto, facevamo un impacco con cotone idrofilo inzuppato in una soluzione all'1 ‰ di sublimato corrosivo, lo coprivamo con un pezzo di guttaperca in fogli sottili, fasciavamo il tutto, e, lasciatolo per 48 ore, dopo averlo sfasciato e lavato con acqua sterile, praticavamo la ferita con bisturi sterilizzato alla fiamma, e quindi inoculavamo il microrganismo, avvolgendo sempre la ferita in cotone idrofilo, con ogni precauzione asettica. Le cose rimanevano in tal guisa fino al giorno in cui si doveva esaminare lo stato dei tessuti (1).

Nell'istesso modo si operava con i semplici tagli asettici, la cui differenza, s'intende, consisteva nel fatto che la ferita, invece di essere infettata coi microrganismi, si lasciava sterile.

I tagli settici invece si praticavano con bisturi, passato soltanto due o tre volte alla fiamma, su dei nodi che non erano stati sterilizzati col sublimato.

Diamo qui appresso i risultati di tutt'e due le serie di esperimenti eseguiti, avvertendo che, nel riassumerli in tavole, comprenderemo, per maggiore semplicità, in una sola categoria (positiva) tanto i casi di accennata quanto di avanzata e completa cicatrizzazione della ferita.

(1) Dal 27 aprile al 13 giugno per la prima serie di esperimenti; dal 15 giugno al 10 luglio 1905 per la seconda.

SERIE PRIMA

Risultati delle infezioni con gomma.

Gomma della vite 1. — Ferita senza cicatrizzazione, ma con accenno di gomma. Necrosi radiale e midollare. Midollo con gomma. Annerimento dell'alburno periferico.

Gomma della vite 2. — Ferita con tessuto di cicatrice con necrosi diametrale.

Gomma della vite 3. — Ferita senza accenno di cicatrizzazione con necrosi diametrale, midollo gommoso, alburno periferico annerito a partire dalla ferita.

Gomma della vite 6. — Ferita senza accenno di cicatrizzazione. Necrosi radiale fino al midollo e annerimento dell'alburno periferico.

Gomma della vite 7. — Ferita senza traccia di tessuto cicatriziale con necrosi diametrale profonda.

Gomma della vite 8. — Ferita senza callo di cicatrice. Necrosi estesa, radiale, grave.

Gomma della vite 10. — Ferita senza cicatrizzazione. Necrosi diametrale e midollare con gomma midollare, con annerimento incipiente di tutto l'alburno periferico.

Gomma della vite 12. — Ferita senza tessuto di cicatrice. Necrosi diametrale e midollare con gomma midollare, con annerimento incipiente di tutto l'alburno periferico.

Gomma della vite 16. — Ferita con accenno di cicatrizzazione. Necrosi diametrale, con annerimento parziale dell'alburno presso la ferita.

Gomma della vite 17. — Ferita senza cicatrizzazione. Necrosi radiale con annerimento dell'alburno periferico.

Gomma della vite 18. — Ferita senza traccia di tessuto cicatriziale. Necrosi diametrale estesa anche con diffusione nell'alburno periferico.

Gomma della vite 19. — Ferita senza cicatrice. Necrosi radiale con infezione dell'alburno periferico.

Risultati delle esperienze d'infezione coi « microrganismi tipici ».

Microrganismo N. 1. — Ferita con avviato tessuto cicatriziale. Necrosi diametrale.

Microrganismo N. 6. — Ferita senza cicatrizzazione con necrosi dell'alburno della metà della circonferenza adiacente alla ferita.

Microrganismo N. 10. — Ferita senza callo di cicatrice con necrosi diametrale.

Microrganismo N. 11. — Ferita senza accenno di cicatrice. Necrosi avanzata, profonda.

Microrganismo N. 12. — Ferita senza callo di cicatrice. Necrosi radiale, diametrale attraverso il midollo.

Microrganismo N. 16. (2° Esp.). — Ferita in parte fornita di piccoli mammelloni di callo di cicatrice, con essudato gommoso esteso in linea trasversale anche tra le zone legnose e radicalmente internantesi fino al midollo necrosato.

Microrg. N. 18. — Ferita senza callo di cicatrice. Necrosi radiale, diametrale attraverso il midollo.

Microrg. N. 19. (2° Esp.). — Ferita senza callo di cicatrice. Necrosi fino al midollo che è anch'esso necrosato.

Risultati delle esperienze d'infezione coi « microrganismi atipici ».

Microrg. N. 2. — Ferita con verruche pronunziate di tessuto di cicatrizzazione. Necrosi radiale fino al midollo anch'esso necrosato.

Microrg. N. 7. — Necrosi radiale coll'apice al midollo. Midollo intieramente necrosato.

Microrg. N. 13. — Ferito con accenno debole di callo di cicatrice, con necrosi radiale e diametrale, con midollo tutto necrosato.

Microrg. N. 13 bis. — Ferita necrosata con necrosi radiale, diffusa attraverso il midollo fino al lato opposto, con produzioni avventizie di gemme sottonodali.

Microrg. N. 14. — Ferita senza callo di cicatrice con necrosi radiale fino al midollo, anch'esso necrosato.

Microrg. N. 16. (1° Esper.). — In corrispondenza dell'inoculazione nessuna alterazione. Nessuna infezione. Nessuna alterazione in corrispondenza. Midollo necrosato.

Risultati delle esperienze coi tagli settici.

Taglio N. 34. — Accennato processo di cicatrizzazione con necrosi radiale.

Taglio N. 35. — Cicatrizzazione quasi completa, legno quasi sano.

Taglio N. 37. — Accennata cicatrizzazione, legno necrosato.

Taglio N. 38. — Ferita senza callo di cicatrice. Necrosi radiale diametrale.

Taglio N. 39. — Ferita con leggerissimo accenno di tessuto di cicatrice. Necrosi radiale e diametrale.

Risultati delle esperienze coi tagli asettici.

Taglio N. 17. — Ferita con iniziale processo di cicatrice. Necrosi diametrale.

Taglio N. 18. — Callo di cicatrice senza necrosi.

Taglio N. 21. — Ferita con inizio di cicatrizzazione e necrosi radiale diametrale con midollo necrosato.

Taglio N. 24. — Ferita senza accenno di taglio di cicatrice con necrosi radiale, diametrale, con midollo tutto necrosato.

Taglio N. 27. — Ferita con avviato tessuto di cicatrice. Necrosi diametrale.

Taglio N. 30. — Ferita senza cicatrice con necrosi diametrale.

Taglio N. 33. — Ferita con accenno di tessuto continuo di cicatrice. Necrosi radiale fino al midollo, anch'esso necrosato.

Quadri riassuntivi dei risultati ottenuti.

Risultati in ordine alla cicatrizzazione.

Materiale adoperato nelle infezioni	N. delle infez.	+	-	% +	% -
Gomma	12	2	10	16,6	83,3
Batteri « tipici »	8	2	6	25	75
Batteri « atipici »	6	2	4	33,3	66,6
Tagli settici	6	5	1	83,3	16,6
Tagli asettici	7	5	2	71,4	28,5

Risultati in ordine alla necrosi (oltre la ferita).

Materiale adoperato nelle infezioni	N. delle infez.	+	-	% +	% -
Gomma	12	11	1	83,3	18,3
Batteri « tipici » . . .	8	6	2	75	25
Batteri « atipici » . . .	6	6	0	100	00,3
Tagli settici	6	4	2	66,6	33,3
Tagli asettici	7	8	1	85,7	14,28

Risultati in ordine alla formazione di gomma.

Materiale adoperato nelle infezioni	N. delle infez.	+	-	% +	% -
Gomma	12	4	8	33,3	67,6
Batteri « tipici » . . .	8	1	7	12,5	87,5
Batteri « atipici » . . .	6	0	6	0	100
Tagli settici	6	0	5	0	100
Tagli asettici	7	0	7	0	100

SERIE SECONDA

Risultati delle esperienze d'infezione coi « microrganismi tipici ».

Micr. N. 1. — Cicatrizzazione incompleta con fistola centrale, con necrosi profonda e diffusa.

Micr. N. 6. — Cicatrizzazione iniziata. Fistola e necrosi profonda dal legno al midollo e per tutta l'estensione della ferita.

Micr. N. 10. — Rimarginazione iniziale: necrosi molto diffusa al legno e al midollo sottostante.

Micr. N. 11. — Cicatrizzazione incompleta nella parte centrale, con fistola, ed infezione diffusa nel midollo lungo tutta la ferita.

Micr. N. 12. — Incompleta cicatrizzazione con fistola centrale e con gomma gemente al disotto.

Micr. N. 16. (2° Esper.). — Cicatrizzazione iniziale con fistola centrale e necrosi cavernosa.

Micr. N. 18. — Rimarginazione completa ad una delle due estremità della ferita. Necrosi sottostante e diffusa nel legno.

Micr. N. 19. (2° Esper.). — Accenno di cicatrizzazione con grave alterazione del legno e midollo sottostanti, lungo tutta la ferita.

Risultati delle esperienze d'infezione coi « microrganismi atipici ».

Micr. N. 2. — Iniziale cicatrizzazione con fistola centrale e necrosi molto diffusa.

Micr. N. 7. — Cicatrice incompleta saldata, con necrosi in corrispondenza della parte profonda della ferita, diffusa nel midollo, con incipiente produzione di gomma.

Micr. N. 13. — Cicatrizzazione incompleta con fistola e alterazione profonda lungo tutta la ferita.

Micr. N. 13 bis. — Nessun accenno di cicatrizzazione. Fistola con tessuto necrosato e cavernoso al disotto.

Micr. N. 14. — Cicatrizzazione incompleta con fistola e necrosi profonda fino al midollo.

Micr. N. 16. (1° Esper.). — Cicatrizzazione iniziale con fistola centrale e necrosi cavernosa.

Risultati delle esperienze coi semplici tagli settici.

Taglio N. 1. — Fistola centrale e cicatrizzazione incompleta.

Taglio N. 2. — Cicatrizzazione completa. Nessun'altra alterazione.

Taglio N. 3. — Cicatriz. completa Nessun'altra alterazione.

Taglio N. 4. — » » » »

Taglio N. 5. — » » » »

Taglio N. 6. — » » » »

Taglio N. 7. — » » » »

Taglio N. 8. — » » » »

Taglio N. 9. — Cicatrizzazione completa. Fistola e lesione profonda.

Taglio N. 10. — Cicatriz. completa. Nessuna alterazione.

Taglio N. 11. — » » » »

Taglio N. 12. — » » » »

Taglio N. 13. — » » » »

Taglio N. 14. — » » » »

Risultati delle esperienze coi semplici tagli asettici.

Taglio N. 16. — Cicatrizzazione completa. Nessuna alterazione.

Taglio N. 18. — Cicatrizzazione completa. Nessuna alterazione.

Taglio N. 20. — Cicatrizzazione incompleta con fistola ed alterazione profonda lungo tutta la ferita.

Taglio N. 22. — Cicatrizzazione ben saldata. Nessuna alterazione.

Taglio N. 24. — Ferita rimarginata; però la lesione ha inciso anche il midollo che in corrispondenza dell'incisione si è alquanto necrosato.

Taglio N. 27. — Rimarginazione completa. Necrosi dovuta all'incisione profonda.

Taglio N. 29. — Rimarginazione completa con leggiera alterazione sottostante.

Taglio N. 31. — Rimarginazione completa, perfetta; però l'incisione profonda fino al midollo ha dato origine a leggiera necrosi.

Taglio N. 33. — Rimarginazione completa della ferita. Nessuna alterazione.

Taglio 35. — Cicatrizzazione perfetta, con leggiera necrosi.

Taglio N. 37. — Cicatrizzazione completa. Nessuna alterazione.

Taglio N. 40. — Cicatrizzazione completa. Nessuna alterazione.

Quadri riassuntivi dei risultati ottenuti.

Risultati in ordine alla cicatrizzazione

Materiale adoperato	N. delle infez.	+	-	% +	% -
Batteri « tipici » . .	8	8	0	100	0
» « atipici » . .	6	5	1	83,3	16,7
Tagli settici	14	14	0	100	0
» asettici	12	12	0	100	0

Risultati in ordine alla necrosi

Batteri « tipici » . .	8	8	0	100	0
» « atipici » . .	6	6	0	100	0
Tagli settici	14	2	12	14,2	85,80
» asettici (1) . .	12	6	6	50	50

Risultati in ordine alla produzione di gomma

Batteri « tipici » . .	8	1	7	12,5	87,5
» « atipici » . .	6	1	5	16,7	83,3
Tagli settici	14	0	14	0	100
» asettici	12	0	12	0	100

(1) Venne considerata anche come necrosi derivata da infezione quella causata dall'infezione del taglio.

Dai risultati delle esperienze fatte, registrati nelle su riportate tabelle, si può benissimo osservare che si è avuto una percentuale grandissima di necrosi, molto spesso assai profonda e diffusa, ed una minore di gomma. Ma nessuno può negare che se le infezioni fossero perdurate per molto altro tempo ancora, là dove abbiamo avuto necrosi, non avremmo potuto ottenere anche gomma.

CONCLUSIONI

1. Non tutte le gomme da noi avute in esame erano ugualmente contagiose.

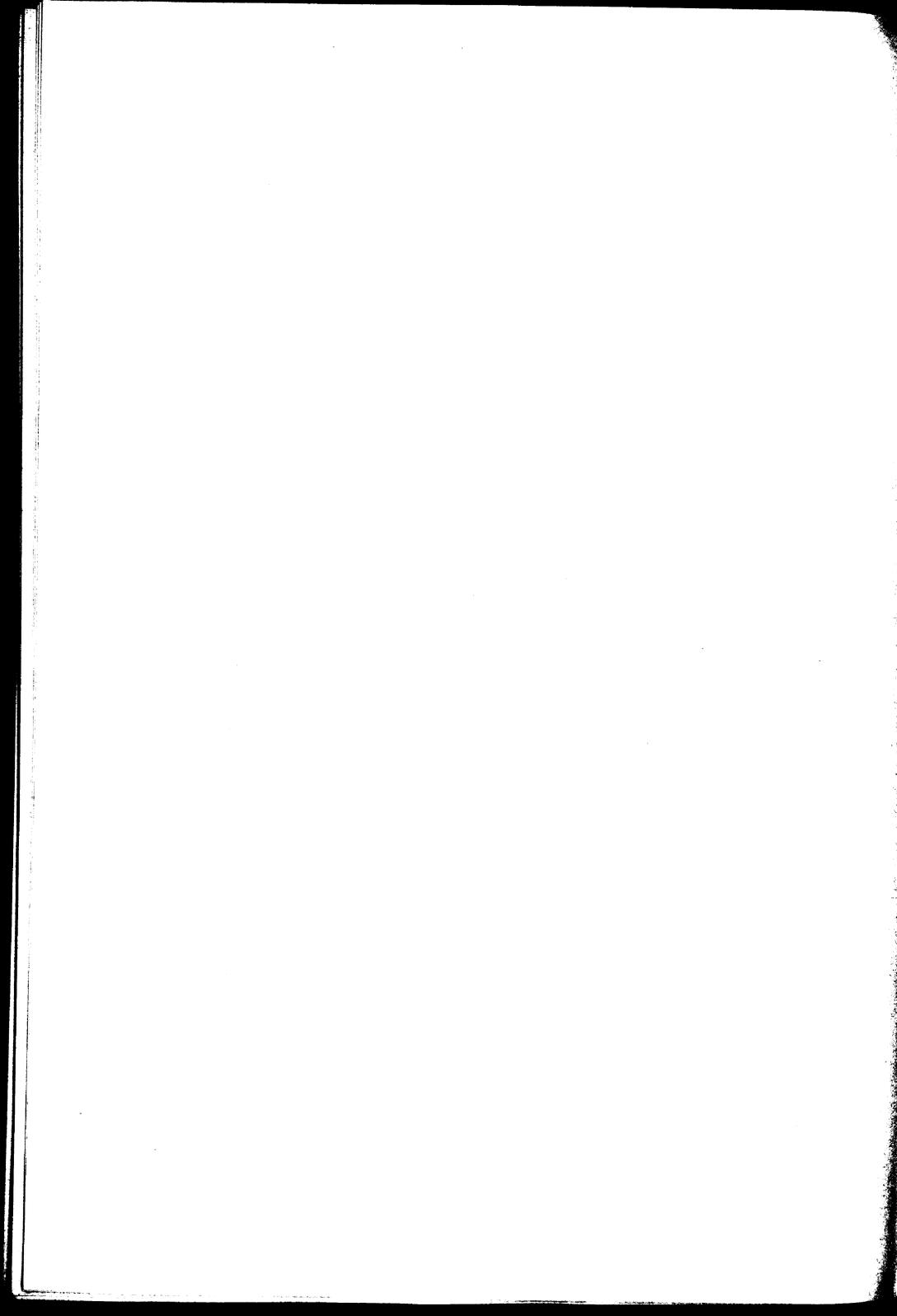
2. Le inoculazioni fatte coi batteri « tipici » ed « atipici », ossia tanto con le forme predominanti quanto con quelle più rare, hanno dato la maggior parte delle volte risultati positivi nel senso di produrre necrosi profonda e qualche volta anche gomma, e ciò più appariscentemente nei tralci giovani che nei vecchi.

3. I tagli settici ed asettici, la maggior parte delle volte, hanno dato risultato negativo in ordine alla produzione di necrosi estesa e di gomma.

E quindi, come conclusione generale del nostro lavoro, si può dire che dopo aver confermato ancora una volta di più la contagiosità della gomma, abbiamo ritrovato nella gomma stessa un microrganismo predominante ed altri più rari.

Batteri frequenti e rari si mostrarono ugualmente capaci di darci mancanza di cicatrizzazione, necrosi e gommosi delle ferite per mezzo delle quali furono inoculati, e ciò al pari di altri microrganismi non determinati, probabilmente trovantisi naturalmente sulla superficie della vite o cascati dall'aria.

Ad onta del fatto di essere riusciti a riprodurre sperimentalmente, con culture pure di microrganismi, la gommosi della vite, nulla però possiamo asserire di positivo riguardo alla specificità dei microrganismi isolati rispetto al processo gommoso stesso, e per farlo occorrerebbe avere fatto delle inoculazioni con microrganismi ben conosciuti, e diversi da quelli da noi isolati, dimostrando che in questo modo né necrosi, né processo gommoso si otteneva.



III.

Ricerche sulla etiologia della « gommosi » dei limoni (1).

§ I. — *Tecnica.*

1. — *Tecnica dell'esame microscopico della gomma.*

I campioni di legno gommoso presi in esame, sono stati ricavati dal Prof. Savastano, con ogni precauzione di sterilità, dall'interno di rami e fusto di un limone colpito da gommosi. Ciascun campione di legno infarcito di gomma, appena ricavato veniva, dal Savastano stesso, posto in tubo sterile contrassegnato con una lettera romana, e così consegnato a me. I campioni, fornitimi sono stati in numero di sei ed ognuno di essi è stato sottoposto alle seguenti ricerche:

- 1.) *Esame microscopico della gomma.*
- 2.) *Isolamento delle specie microrganiche presenti nella gomma.*
- 3.) *Studio batteriologico delle specie isolate.*
- 4.) *Inoculazione, con opportuna tecnica, delle specie isolate, ed in cultura pura, su piantine di limone.*
- 5.) *Inoculazione diretta della gomma su piantine di limone.*

Naturalmente l'inoculazione diretta della gomma veniva subito fatta non appena si aveva il campione, e così pure tutte le altre ricerche vennero eseguite il più prontamente possibile.

(1) L'esecuzione di questo lavoro si deve per intero al Dott. B. MAJMONI.

Nelle inoculazioni su piantina di limone con culture pure, oltre ai microbi isolati direttamente dai vari campioni di gomma, si sono sperimentati anche 3 razze di *fluorescenti*, una *streptotricea*, ed un batterio cromogeno giallo, da me precedentemente isolati da gomme di limone e di albicocco. Si sono fatte anche inoculazioni con un batterio cromogeno giallo molto simile al precedente ed isolato dal Dott. Naso dal flusso del mal nero delle viti.

Preso la provetta contenente il campione di legno con inizio di flusso gommoso, facevo pescare un'ansa sterile, a punta, sul tratto che appariva più umido di gomma, e, ricavatone il materiale, allestiva preparati semplici a fresco, stemperando la gomma, di cui era intrisa l'estremità dell'ansa, in una goccia di acqua posta sopra un vetrino porta-oggetti, al quale sovrapponevo il coprioggetto. Con analogo procedimento allestiva preparati con soluzione di Lugol, e, previa fissazione, preparati colorati con soluzione acquosa di violetto di genziana, con lo Ziehl, e col metodo di Gram.

Nell'allestimento dei preparati si aveva cura di spalmare il più che era possibile la gomma sul vetrino.

I preparati a fresco venivano osservati con l'obbiettivo N. 9 K o r i s t k a e con l'oculare N. 3; quelli colorati, con l'oculare N. 3 e con l'obbiettivo ad immersione omogenea $\frac{1}{12}$ K o r i s t k a.

2. — Tecnica per l'isolamento aerobico delle specie microorganiche presenti nella gomma.

Allo scopo di isolare il maggior numero di specie microbiche presenti nella gomma, ho fatto delle piastre in agar comune inquinato direttamente con gomma, e dei trapianti della gomma stessa su:

- 1) *Agar comune alcalino.*
- 2) *Gelatina comune alcalina.*
- 3) *Brodo comune alcalino.*
- 4) *Brodo comune acido.*
- 5) *Patata in tubo, sterilizzata per 3 giorni alla stufa a vapore di Koch.*
- 6) *Pezzetto di ramoscello tenero di limone, previamente sterilizzato « a freddo » e contenuto in provetta sterile.*

Le culture, ad eccezione di quelle su gelatina, venivano poste a sviluppare in termostato alla temperatura di 30 C°. La crescita di ciascuna di esse veniva controllata con preparati microscopici, e se la cultura risultava impura, si facevano le piastre isolanti in agar comune alcalino.

Le piastre si mettevano a sviluppare in termostato a 30 C°, si guardavano di 24 in 24 ore, e, dopo 8 giorni, se lo sviluppo delle colonie di mostrava completo, si procedeva alla pesca di esse ed al trapianto in gelatina comune alcalina, e su patata.

Quando il microrganismo presentava una buona crescita su questi terreni, che erano tenuti in termostato a 30° C., si esaminava al microscopio, se ne segnava il genere in apposito registro, e si trapiantava su di un pezzetto di ramoscello tenero di limone sterilizzato e tenuto in provetta sterile. Dalla crescita che si aveva su questo terreno di cultura si ricavava il materiale per l'inoculazione di ciascun microrganismo in cultura pura, su di una piantina di limone.

Per la sterilizzazione dei pezzetti di ramoscello di limone da servire da terreno di cultura, ho fatto vari tentativi prima di adottare un metodo definitivo.

Le difficoltà che si dovevano vincere nella pratica della sterilizzazione consistevano: 1. nel non alterare l'integrità dei tessuti del pezzo che si voleva sterilizzare; 2. nell'asportare completamente dalla superficie di questo, ad effetto finito, il mezzo sterilizzante.

Fu tentata la sterilizzazione col calore, nella speranza che i tessuti giovani, del ramoscello privi di anfrattuosità e lisci, permettessero una rapida sterilizzazione alla fiamma, senza alterazioni apprezzabili.

All'uopo, scelto un ramoscello ancora tenero, lo privavo delle foglioline, e lo dividevo in tanti pezzetti di 2-3 cm. di lunghezza, tagliandolo con un bisturi sterile. Ciascun pezzetto veniva preso con pinza sterile, e dopo averlo passato rapidamente 2-3 volte sopra la fiamma, veniva introdotto con ogni precauzione in un tubo di brodo comune alcalino sterile che si lasciava in termostato a 30 C°. I risultati di queste prove non furono soddisfacenti, perchè spesse volte il brodo risultò inquinato.

In un secondo tentativo ho ricorso all'impiego dell'acqua ossigenata che era stata sperimentata da Rossi con ottimo successo, sia perchè sterilizzava bene senza alterare i tessuti vegetali,

sia perché poteva essere asportata agevolmente col dispositivo per il lavaggio sterile ideato dallo stesso autore.

In quanto alla tecnica della sterilizzazione con acqua ossigenata, preparatomi il dispositivo Rossi per il lavaggio sterile, toglievo, con ogni precauzione di antisepsi, il tappo di gomma a l'Erlenmeyer di detto dispositivo, v'introduceva un po' di soluzione di acqua ossigenata al 3 %, della casa Merk (pari a volumi 9 di ossigeno) e poscia i pezzetti di ramoscello di limone, servendomi di un'ansa a punta rigida che sterilizzava volta per volta alla fiamma. Dopo avervi introdotti i pezzetti di ramoscello rimetteva il tappo di gomma all'Erlenmeyer, passandolo prima sulla fiamma.

Indi portavo tutto il dispositivo nel termostato a 30 C., dove si lasciava per tutto il tempo necessario alla buona riuscita della sterilizzazione.

Passato questo tempo si toglieva il dispositivo dal termostato e si faceva passare nell'Erlenmeyer a corrente-continua, l'acqua sterile contenuta nel pallone del dispositivo, fino a che nell'acqua di lavaggio non si rendeva più palese acqua ossigenata con la reazione del bicromato potassico.

Terminato il lavaggio i singoli pezzetti di ramoscello venivano tolti dall'Erlenmeyer con un'ansa a punta rigida sterilizzata, e distribuiti in tubi di brodo sterile che si lasciavano in termostato a 30 C'.

Con varii tentativi si poté assodare che, per la buona riuscita della sterilizzazione, occorreva lasciare i pezzetti di ramoscello in acqua ossigenata ed in termostato a 30° C., per un'ora-un'ora e mezza.

Una permanenza maggiore in acqua ossigenata alterava visibilmente la superficie dei pezzetti di ramoscello con l'apparizione di lividure.

Determinato così il tempo necessario per una buona sterilizzazione, volta per volta praticavo la sterilizzazione nel modo descritto, ed i pezzetti sterili di ramoscello venivano distribuiti in tubi sterili contenenti poche gocce di acqua sterile, che favoriva il mantenimento dello stato di freschezza dei tessuti vegetali.

Alcuni pezzetti di ramoscello venivano messi in tubi di brodo che si tenevano in termostato a riprova della riuscita della sterilizzazione.

Con questo metodo mi son preparato molti pezzetti sterili di ramoscello; ma poi mancandomi l'acqua ossigenata, ho dovuto ricorrere all'impiego di un'altro antisettico. All'uopo, dopo aver sperimentato con cattivo esito l'essenza di *terebentina* del commercio, distillata fra 159°-163° C., son ricorso all'uso del sublimato corrosivo usato dal Rossi prima dell'H² O², che ho trovato ottimo per la bisogna, purchè impiegato con determinate precauzioni. Anche nell'impiego di questo sterilizzante mi son servito del dispositivo per il lavaggio sterile Rossi.

Per abbreviare la permanenza dei pezzetti di ramoscello nel sublimato (soluzione all'1 %), senza pregiudicare la buona riuscita della sterilizzazione, li sgrassavo prima in provetta, con l'alcool assoluto e poscia li trattavo col sublimato.

Con prove preliminari potei stabilire che la permanenza di mezz'ora in soluzione di sublimato corrosivo all'1 %₁₀₀ dei pezzetti di ramoscello previamente sgrassati con l'alcool assoluto, era più che sufficiente per un'ottima sterilizzazione di essi, e che i tessuti di ciascun pezzetto apparentemente non restavano danneggiati. I singoli pezzetti di ramoscello venivano, secondo il solito, distribuiti in provette sterili contenenti un po' d'acqua sterile, e su di essi poi si trapiantavano i microbi, pungendoli con un'ansa a punta inquinata col microbo che si voleva coltivare.

Verso la fine delle ricerche ho preferito distribuire i pezzetti di ramoscello in Erlenmeyer sterilizzate all'autoclave e col fondo ricoperto di cotone idrofilo imbevuto di acqua sterile, sul quale adagiavo il pezzetto di ramoscello. Così si poteva seguire meglio la crescita del microrganismo, ed il pezzetto di ramoscello veniva tenuto sempre in ottime condizioni di umidità.

Ho dato molta importanza all'uso del ramoscello di limone sterile, per raggiungere il doppio scopo di avere un mezzo verosimilmente molto propizio alla crescita dei microbi contenuti nella gomma di limone; e per mantenere forse in buone condizioni di virulenza (se questa possedevano) le singole specie microrganiche che mano mano si isolavano dalla gomma. A quest'ultima condizione attribuiva importanza capitale per la buona riuscita delle inoculazioni.

3. — **Tecnica delle inoculazioni con culture pure.**

I microrganismi in cultura pura isolati dalla gomma venivano inoculati su piantine di limone innestate da 2-3 anni su arancio amaro. Questa circostanza poteva essere avversa alla buona riuscita delle inoculazioni con microrganismi della gomma, perchè, come è risaputo, per l'influenza del soggetto sul nesto, il limone proveniente da innesto su arancio amaro è poco recettivo alla gommosi. Nel caso in cui operavo, poi c'era l'aggravante che il domestico, trovandosi ancora con piccola chioma, avrebbe risentito maggiormente l'influenza del soggetto.

Avrei voluto evitare questa circostanza sfavorevole alla prova del potere patogeno delle singole specie isolate dalla gomma, ma non mi riuscì di potermi procurare piantine di limone da seme, perchè ormai, seguendo una buona pratica culturale, si allevano solo limoni provenienti da innesto su arancio amaro, per la grande importanza profilattica che ha detto innesto.

Negli ultimi tempi però, potei avere un certo numero di piantine da seme di 4 mesi di età, allevate da me stesso in vaso e sulle quali ho sperimentato il *B. conniphilum*.

Le piantine da esperimento erano contenute in vasi, ed al momento opportuno si portavano in laboratorio vicino ad un tavolo da lavoro dove stava apparecchiato tutto l'occorrente per la sterilizzazione dei rami da inoculare, e per l'inoculazione.

Ordinariamente veniva inoculato un microrganismo per ogni piantina al fine di escludere la possibilità di cause di errore dovute a *metastasi*, che secondo studii recenti sembrano frequenti anche nelle piante. Sulla stessa piantina e con lo stesso microrganismo venivano fatte più inoculazioni in condizioni varie e su rami diversi.

Anche qui le metastasi, rigorosamente parlando, potevano cagionarmi errore, ma non era possibile far diversamente perchè facendo le inoculazioni su di una piantina e le prove di controllo su di un'altra, sarei andato incontro ad un errore ancora maggiore cagionato dalla diversità delle condizioni interne ed esterne (resistenza organica, sviluppo ecc.) delle due piante.

Per ogni piantina praticavo in rami diversi:

- 1) *Semplice taglio settico.*
- 2) *Una o più inoculazione senza previa sterilizzazione del ramo o dei rami (inoculazione a contatto aereo).*

3) *Inoculazione, previa sterilizzazione, su ramoscello già lignificato.*

4) *Inoculazione, previa sterilizzazione, su ramoscello tenero.*

5) *Taglio asettico di controllo.*

Il *taglio settico* lo praticavo intaccando un ramo in un punto qualsiasi, in senso trasversale per la profondità di 3-4 millimetri, con un bisturi sterilizzato alla fiamma. Questo taglio aveva lo scopo di provare se un trauma, con conseguente infezione dall'esterno dei tessuti lesionati, era capace di provocare flusso gommoso, sia come fatto principale, o come conseguenza dell'infezione dall'esterno che ne conseguiva.

Le *inoculazioni senza previa sterilizzazione*, si facevano praticando un taglio a **T** o a tasca, sulla superficie di un ramo, e facendo strisciare l'ansa inquinata del microrganismo che si voleva sperimentare fra il cilindro corticale ed il legnoso, nel punto in cui venivano a distaccarsi per effetto dell'operazione. Spesse volte l'inoculazione è stata fatta anche facendo penetrare l'ansa a punta, inquinata col microrganismo, longitudinalmente, per uno o due centimetri, nel parenchima corticale di un giovane ramo. scello non ancora lignificato.

Questo genere d'inoculazione doveva dimostrare se il microrganismo che s'inoculava, sperimentato in convivenza con quelli presenti sul ramo e nell'aria, per effetto della convivenza stessa era capace di riprodurre la malattia in istudio.

L'*inoculazione su ramoscello già lignificato, previa sterilizzazione*, si faceva sterilizzando prima il ramo, ed aprendo in seguito, con le debite precauzioni di antisepsi, una tasca fra cilindro corticale e legnoso, nella quale con l'ansa si deponava un po' di cultura del microrganismo da esperimento. Dopo si avvolgeva la ferita con garza sterile e cotone idrofilo sterile che si ricopriva con guttaperca laminata. Il cotone veniva umettato con acqua sterile onde mantenere attorno alla ferita un ambiente umido propizio allo sviluppo del microrganismo. Per la sterilizzazione del ramo e per l'inoculazione procedeva così: scelto il ramo ne strofinava per bene un tratto più o meno lungo, con co-

tone idrofilo sterile imbevuto di alcool assoluto; fatto ciò l'avvolgevo con cotone idrofilo sterile imbevuto di *soluzione di acqua ossigenata Merk* al 3 % o di *soluzione acquosa di sublimato corrosivo* all'1 ‰, e lo lasciavo così ricoperto per un'ora e più, in conformità di esperienze preliminari da me fatte.

Tenevo l'impacco al sublimato un'ora invece di mezz'ora perchè il ramo essendo più grosso ed a superficie più accidentata di quella di un semplice ramoscello tenero, richiedeva un tempo maggiore per una buona sterilizzazione.

Trascorso il tempo necessario per la sterilizzazione, levavo il cotone imbevuto di acqua ossigenata o di sublimato; un' aiuto faceva cadere dell'acqua sterile a corrente continua sul tratto che era stato sterilizzato, e l'operatore servendosi di cotone idrofilo sterilizzato alla stufa a secco (1 ora a 160°), che toglieva mano da scatole di Petri sterili dove era contenuto, operava un rapido massaggio, mentre l'acqua sterile cadeva a getto continuo.

E' ovvio far notare che, durante tutta l'esperienza, l'operatore poneva ogni cura a tener le mani costantemente sterilizzate col sublimato.

Dopo 4-5 minuti di rapido massaggio effettuato con abbondanza di acqua sterile, si era sicuri di avere asportato dalla superficie del ramo quasi tutta l'acqua ossigenata, o la soluzione di sublimato che vi aderiva, e si procedeva al taglio per l'inoculazione. All'uopo un aiuto, prima ancora che l'operatore avesse finito il massaggio, veniva a stendere al disopra del tratto sterile del ramo un largo cristallizzatore (previamente sterilizzato alla fiamma e col fondo ricoperto di carta bibula imbevuta di acqua sterile) allo scopo di limitare per quanto era possibile la caduta dei germi dell'aria. Tenendo le mani sotto il cristallizzatore, l'operatore apriva con bisturi sterilizzato alla fiamma e col manico avvolto di cotone idrofilo umettato con sublimato, una tasca fra il cilindro corticale ed il cilindro legnoso del ramo, e con un'ansa, previamente sterilizzata, vi depositava un po' di cultura del microrganismo che si voleva sperimentare. Fatto ciò si avvolgeva, con garza sterilizzata alla stufa a secco, il tratto di ramo su cui era stata aperta la tasca; si umettava la garza con acqua sterile acciocchè mantenesse un'ambiente umido propizio allo sviluppo del microrganismo, si ricopriva con cotone idrofilo pari-

menti sterilizzato alla stufa a secco, e poscia con guttaperca (1) la quale veniva legata con refe.

Per le inoculazioni mi servivo di culture di 48 ore su pezzetti sterili di ramoscello di limone, perchè, così facendo, con molta probabilità il microrganismo che inoculava era in possesso della sua virulenza, se ne possedeva.

Con queste inoculazioni si è cercato di vedere quale microrganismo inoculato in cultura pura era capace di produrre la gomma su di un rametto lignificato.

L'inoculazione con cultura pura su rametto ancora tenero veniva praticata con analoga tecnica e con la sola differenza che, dopo fatta la sterilizzazione, invece di aprire una tasca nei tessuti, faceva scorrere longitudinalmente, per uno o due centimetri, l'ansa sterile nell'interno dei tessuti e poscia, inquinatala col microrganismo da esperimento, la si faceva scorrere di nuovo nel canale fatto prima.

Il *taglio asettico di controllo* lo praticava con la stessa tecnica seguita nelle due ultime inoculazioni descritte, e con la sola differenza che nella tasca, invece dell'ansa inquinata col microrganismo da esperimento, strisciava l'ansa sterile intrisa di acqua sterile.

Con ciò si voleva saggiare se un semplice trauma da ferita, analogo a quello delle inoculazioni, senza l'intervento di microrganismo alcuno, era capace di ingenerare produzione di gomma da parte dei tessuti lesionati.

Ciascun taglio od inoculazione, veniva contrassegnata da un cartellino con le indicazioni del caso, e la data.

Gl'impacchi si lasciavano integri fino alla raccolta dei risultati. Le piante durante tutto l'inverno sono state tenute in serra per evitare i danni del gelo.

(1) Il rivestimento con guttaperca laminata si rivelò scarsamente protettivo perchè la guttaperca dopo poco tempo che era esposta all'aria finiva col scerepolararsi tutta quanta.

4. — **Tecnica dell'inoculazione diretta della gomma.**

Scelta la piantina, su di un ramo lignificato di essa si praticava un' incisione a T e sollevatone, con bisturi sterilizzato alla fiamma, i due lembi, s'introduceva fra legno e libro un po' di gomma, o di legno gommoso, del campione gommoso che si voleva sperimentare. Fatto ciò si avvolgeva strettamente con garza il taglio, si legava, si apponeva il cartello con l'indicazione e la data, e si lasciava il tutto a sè fino alla raccolta dei risultati.

Con questo genere d'inoculazione si è cercato di vedere se la gomma è capace di provocare nei tessuti sani il processo che l'ha generata.

5. — **Studio batteriologico delle specie microrganiche isolate dalla gomma.**

Le specie cunicetiche isolate dalla gomma venivano coltivate su pappa di pane e su patata

Per ognuna delle specie schizomicetiche isolate venivano notate: l'aspetto microscopico, la colorabilità, il comportamento sui comuni terreni nutritivi solidi e liquidi, il comportamento rispetto al fattore termico, ed alcune attività chimiche (produzione di indole, di presame, scomposizione dello zucchero ecc.).

La descrizione di tutte le specie che non ho potuto identificare con quelle descritte nei trattati, è riportata nel protocollo dei risultati, e, ad eccezione di un batterio cromogeno giallo, il *Bacterium commiphilum*, che ho rinvenuto costantemente in tutte le gomme esaminate, non vi appongo nomi nuovi per non creare nuove specie che, dopo un esame assai più particolareggiato, potrebbero essere identificate con altre specie già descritte.

§ II. **Risultati.**

1. — **Risultati dell'esame microscopico della gomma.**

L'esame microscopico delle varie gomme (preparati a fresco e preparati colorati) rivelò la presenza di frammenti di micelio fungino nella gomma dei campioni I, IV e VI. Forme miceliali,

non nettamente distinte, si rinvennero anche nella gomma del campione III. (Vedere Tavola I).

Nella gomma dei campioni II e IV, come pure nelle varie gomme ottenute sperimentalmente, le quali offrivano il pregio di poter essere esaminate al loro apparire, non fu possibile scorgere frammenti di micelio od altre forme fungine. In nessuna delle gomme esaminate si rinvennero forme nettamente riferibili a schizomiceti, sebbene alcune di esse abbondassero di corpi batteriformi da riferirsi, per molti riguardi, ad impurità o precipitati delle gomme stesse.

Parimenti non fu possibile rinvenire forme appartenenti ad altri microrganismi (blastomiceti, protozoari).

2. — Specie microrganiche isolate dalla gomma.

Nelle gomme dei sei campioni fu notata la costante presenza di un micelio sterile, bianco nelle culture giovani, e nero nelle culture vecchie (1), e di uno schizomiceta cromogeno giallo per il quale propongo la denominazione di *Bacterium commiphilum*.

Oltre questi due microrganismi, nelle varie gomme, comprese quelle ottenute sperimentalmente, si sono rinvenuti altri 12 schizomiceti incostanti ed il *Penicillium glaucum* Link, come rilevasi dalla Tavola II

3. — Risultati delle inoculazioni fatte direttamente con la gomma dei campioni.

I risultati di questo genere di inoculazioni sono stati positivi per le gomme dei campioni I, IV e V, e negativi per gli altri tre, come risulta dalla Tavola III alligata.

Nella gomma ottenuta sperimentalmente con l'inoculazione diretta del campione I, è stato rinvenuto il *B. commiphilum*, oltre ad alcuni microbi banali dell'aria, ed al *Penicillium glaucum* Link, come risulta dal protocollo dei risultati. Nella gomma ottenuta dall'inoculazione diretta del campione IV, si è avuto un reperto batteriologico molto simile al precedente, come pure risulta dal protocollo dei risultati.

(1) La descrizione di questo micelio sterile la darò in un lavoro di prossima pubblicazione.

Va notato che in queste due gomme ottenute sperimentalmente non si è riscontrato il micelio sterile, che, viceversa, era presente nelle gomme dei due campioni I e IV, adoperate per le inoculazioni.

La gomma ottenuta con l'inoculazione diretta del campione V non è stata esaminata per cause indipendenti dalla mia volontà.

4. — Risultati delle inoculazioni con microrganismi isolati dalle gomme.

Come già ho fatto notare nell'esposizione della tecnica, oltre i 15 microrganismi isolati dalle gomme dei campioni, e dalle gomme ottenute sperimentalmente, sono stati sperimentati, tre *fluorescenti* ed una *streptotricea* da me isolati precedentemente da gomme di limone non contemplate in questo studio, ed una varietà (?) di *B. commiphilum* da me isolata ripetutamente da gomma di albicocco

Oltre a questi ho sperimentato anche il batterio cromogeno giallo, molto vicino al *B. commiphilum*, isolato da Naso dal mal nero delle viti. Sicchè, in tutto, sono stati sperimentati 21 microrganismi, ed i risultati, come rilevasi dalla tavola IV e dal protocollo, se si eccettuano 3 casi dubbii, sopra 33 inoculazioni, per il *B. commiphilum*, sono decisamente negativi per tutti gli schizomiceti.

Viceversa il risultato è stato positivo per la prima serie (18 Maggio 1909) di inoculazioni con micelio sterile.

In questa serie, le due inoculazioni fatte con cultura pura di micelio sterile su ramoscelli lignificati, previa sterilizzazione con soluzione all'1% di sublimato corrosivo, diedero risultato nettamente positivo; le due inoculazioni fatte su ramoscelli non lignificati, nelle stesse condizioni delle precedenti, diedero, uno risultato positivo, l'altro essiccamento del ramoscello; le due inoculazioni a contatto aereo, diedero una risultato positivo, l'altra negativo. I due tagli asettici di controllo diedero risultato negativo, e così pure i due tagli settici.

È da notare che nella gomma ottenuta sperimentalmente con queste quattro inoculazioni si rinvenne oltre il micelio sterile, il *B. commiphilum*; parimenti è da notare che tanto il micelio sterile ricavato da queste gomme, che il *B. commiphilum* rica-

vato pure dalle stesse gomme, inoculati di nuovo su piantine di limone diedero esito negativo (inoculaz. del 19-8-09, durata g. 272).

Nei tre casi ad esito dubbio delle inoculazioni di *B. commiphilum* in cultura pura, si è avuto essiccamento del rametto senza flusso gommoso ben distinto; però, in un caso, dai grumi nerastri riscontrati su di un tratto di rametto essiccato fu possibile isolare il *B. commiphilum*. Gli altri schizomiceti sperimentati diedero risultati assolutamente negativi

5. — Osservazioni.

Nella descrizione della tecnica adoperata nelle ricerche ho fatto notare che una possibile causa di errore, alla quale andavo incontro, poteva essere costituita dal fatto che, per le inoculazioni sperimentali, mi son servito di piantine di limone innestate da tre anni su arancio amaro, le quali, necessariamente, avevano ancora la chioma poco sviluppata, e che quindi facilmente il soggetto (arancio amaro) avrebbe comunicato alla chioma del nesto la sua scarsa recettività alla gommosi.

Questa influenza del soggetto però, per quanto essa sia ammissibile, non è da ritenersi tale da costituire un ostacolo insuperabile al contagio gommoso (1), specialmente quando questo si fa avvenire direttamente, e con abbondanza di materiale inquinante. Ed io per l'appunto, nelle varie inoculazioni, ho sempre procurato di immettere abbondante materiale proveniente da cultura su ramoscello sterile di limone, il quale, verosimilmente, non avrebbe menomato la supposta virulenza originaria del microrganismo su di esso coltivato.

Con il *B. commiphilum* ho poi sperimentato anche su piantine di limone da seme.

Perciò le condizioni nelle quali mi son messo durante l'esperienza, pur non essendo le migliori per la prova del potere gummigeno dei microrganismi isolati dalla gomma, potevano darmi un criterio abbastanza approssimativo per giudicare del loro potere patogeno; e che ciò sia vero lo dimostra il fatto stesso che alcune inoculazioni hanno dato esito positivo.

(1) Se così fosse, la gommosi avrebbe dovuto scomparire dagli agrumeti, che oggigiorno sono quasi tutti innestati su arancio amaro.

In quanto alle inoculazioni dirette, con gomma fresca, i tre casi positivi ottenuti sopra 6 inoculazioni, effettivamente stanno a dimostrare che la gomma del limone di per sè stessa è contagiosa. Il meccanismo dell'infezione però resta oscuro tanto più che, nella gomma dei due casi positivi controllati, non si rinvenne il micelio sterile (che in cultura pura si rivelò gummigeno) mentre lo stesso micelio sterile era presente nelle due gomme adoperate nelle inoculazioni. Si è rinvenuto costantemente il *B. commiphilum*, il quale, viceversa, in cultura pura si è rivelato inattivo nel causare la gommosi, o per lo meno ad azione molto dubbia.

La flora batterica delle gomme di limone, ad eccezione del *B. commiphilum*, che ho rinvenuto costantemente in moltissime gomme (anche di albicocco e di pesco) oltre quelle prese in esame nel presente lavoro, e del micelio sterile, è incostante, scarsa ed in gran parte costituita da microbi banali dell'aria; come rilevasi dai reperti batteriologici delle varie gomme riportate nel protocollo dei risultati.

E se la costante presenza del *B. commiphilum* in tutte le gomme esaminate, comprese quelle ottenute sperimentalmente, a prima vista fa pensare che tale microbo debba avere molta importanza nell'etiologia della gommosi dei limoni, i risultati però di ben 32 inoculazioni fatte su varie piante di limoni ed in condizioni variate (inoculazione a contatto aereo, inoculazione con cultura pura su ramoscello lignificato, su ramoscello non lignificato) smentiscono questa prima impressione e verosimilmente il *B. commiphilum* è da ritenersi un ordinario ubiquitario delle gommosi dei limoni, a meno che non intervengano delle condizioni speciali (da me non riscontrate) per determinarne la sua patogenicità, a somiglianza di quanto avviene, per esemp., degli ordinari ospiti del tubo gastro-enterico dell'uomo.

Il *B. commiphilum* inoltre coltivato sul terreno di Greig Smith:

Levulosio	gr. 20
Glicerina	» 10
Asparagina	» 1
Tannino di sommaco	» 1
Citrato di potassio	» 1
Agar	» 20
Acqua comune	cm ³ 1000

ha dato una crescita stentata senza alcuna produzione di gomma; le culture assai vecchie su patata, però, danno alla patata uno aspetto gommoso.

Ma stando ai risultati che ho ottenuto dalle inoculazioni, è da ritenersi che gli schizomiceti che, con l'usuale tecnica batteriologica, in condizioni di aerobiosi, riesce possibile isolare dalla gomma dei limoni hanno uno scarsissimo potere patogeno per i limoni stessi, come risulta evidente dal protocollo delle inoculazioni, dal quale quasi tutte le ferite fatte per le inoculazioni, appaiono cicatrizzate senza produzione di gomma.

Il micelio sterile, del quale mi riservo un'ulteriore sperimentazione, sembra che eserciti effettivamente un'azione gummigena notevole, e ciò in diretto contrasto con le affermazioni nette e recise di R. Smith ed O. Butler, i quali escludono in modo assoluto che le manifestazioni gommosi delle piante appartenenti al genere *Citrus* possano essere causate da organismi parassitari.

Un fatto che può ridurre il valore delle manifestazioni gommosi impressionanti ottenute con le inoculazioni di micelio sterile in cultura pura, può essere costituito dall'aver rinvenuto nella gomma ottenuta sperimentalmente, oltre il micelio sterile, anche il *B. commiphilum*. Ma, d'altra parte, se si pensa che riusciva, per così dire, impossibile salvaguardare, per lungo tempo, le ferite delle inoculazioni con culture pure, dal contagio esterno, malgrado tutte le precauzioni prese (impacco con rivestimento di guttaperca laminata) e se si pensa che il *B. commiphilum* nelle apposite inoculazioni si è rivelato inattivo, con molta probabilità si può attribuire tutto il merito delle sudette manifestazioni gommosi al micelio sterile.

Con ciò risulta chiaro che le gomme di limone da me studiate si son rivelate contagiose di per sè stesse, e che l'unico microrganismo isolato da esse, che si è mostrato capace di riprodurre, è stato un micelio sterile. Tuttavia è anche vero che non sempre (il 50 %, nei casi studiati) le gomme si dimostrano di per se stesse infettive, e che non sempre il micelio sterile si è rivelato attivo, la qual cosa fa pensare che per la produzione di gomma debbono avervi grande importanza le condizioni interne della pianta.

Per le stesse ragioni è necessaria una larghissima ed accurata sperimentazione prima di pronunciarsi sulla patogenicità di un microrganismo rispetto alla gommosi.

§ III. — Conclusioni.

1) L'esame microscopico della gomma fresca di limone, raramente mette in evidenza forme microrganiche ben distinte.

Questo fatto, unito all'altro che la stessa gomma sui vari terreni di cultura spesso dà crescita di microrganismi, avvalorata l'ipotesi che questi normalmente si trovino conglobati nelle particelle gommosi e quindi riescano pochissimo visibili all'osservazione microscopica.

2) Il *Bacterium commiphilum* è da ritenersi un ospite frequente di varie gomme; la sua azione nell'eziologia delle gommosi dei limoni non risulta evidente, e verosimilmente è da ritenersi privo di potere patogeno rispetto ai limoni.

3) Il micelio sterile isolato dalle gomme studiate nel corso di queste esperienze, pare provvisto di un rilevante potere gummigeno rispetto ai limoni e ciò in contraddizione con i risultati ottenuti da R. Smith ed O. Butler, i quali escludono in modo assoluto che le manifestazioni gommosi delle piante appartenenti al genere *Citrus* possano essere causate da organismi parassitari.

4) La gomma dei limoni di per sé stessa è spesso contagiosa (almeno nei casi studiati) e ciò anche a conferma di quanto è stato asserito da altri. Per cui è buona pratica culturale da consigliarsi l'asportazione o la scarificazione del focolaio gommoso, facendo seguire a questa operazione la disinfezione o la cauterizzazione della ferita.

TAVOLA I.

Esame microscopico delle gomme.

Provenienza della gomma	Reperto microscopico	<i>Osservazioni</i>
Campione I.	Pezzettini di micelio abbastanza largo.	Non distinte nettamente.
Campione II.	Nessuna forma microrganica.	
Campione III.	Rarissime forme miceliali.	
Campione IV.	Rari pezzi di micelio.	
Campione V.	Nessuna forma microrganica.	
Campione VI.	Rare forme miceliali, e forme non nettamente riferibili a schizomiceti.	
Flusso da inoculazione diretta del campione I	Nessuna forma microrganica.	Numerosi preparati microscopici
Flusso da inoculazione diretta del campione IV	Nessuna forma microrganica.	
Flusso da inoculazione diretta del campione V	Nessuna forma microrganica.	
Flusso da inoculazione con micelio sterile . .	Nessuna forma microrganica.	
Flusso da inoculazione con micelio sterile . .	Nessuna forma microrganica.	

TAVOLA II.

Microorganismi isolati dalle gomme.

Numero d'ordine	MICROORGANISMO ISOLATO	P R O V E N I E N Z A	O S S E R V A Z I O N I
1	Micrococcus roseus (B u m m) L e h. et N e u m.	Dalla gomma ottenuta con le inoculazioni dirette dei campioni I e IV e dal micelio sterile in cultura pura.	
2	Micrococcus sulfureus (Z i m m e r m.) L e h. et N e u m.	Dalla gomma ottenuta con inoculazione diretta del campione I.	
3	Micrococcus candidans (F l ü g g e).	Dalla gomma ottenuta con inoculazione diretta del campione I.	
4	Micrococcus I	Dal campione II.	
5	Streptococcus I	Dal campione VI.	
6	Streptococcus II	Dal campione II.	
7	Bacterium fluorescens liquefaciens (F l ü g g e).	Dalla gomma ottenuta con inoculazione diretta del campione I.	
8	Bacterium commiphilum n. sp.	Da tutte le gomme esaminate.	
9	Bacterium I	Dal campione VI.	
10	Bacterium II	Dal campione VI.	
11	Bacillus mycoloides (F l ü g g e).	Dal campione I.	
12	Bacillus I	Dal campione VI.	
13	Bacillus II	Dal campione II.	
14	Micelio sterile	Dalla gomma di tutti i campioni e da quella ottenuta sperimentalmente con inoculazioni di micelio sterile in cultura pura.	
15	Penicillium glaucum (L i n k).	Da i campioni IV e V e da tutte le gomme ottenute sperimentalmente.	Solo nella gomma ottenuta sperimentalmente con inoculazione bruta dei campioni I e IV non si è trovato.

Comprende anche quelle ottenute sperimentalmente.

Solo nella gomma ottenuta sperimentalmente con inoculazione bruta dei campioni I e IV non si è trovato.

TAVOLA III.

Risultati delle inoculazioni dirette con gomma.

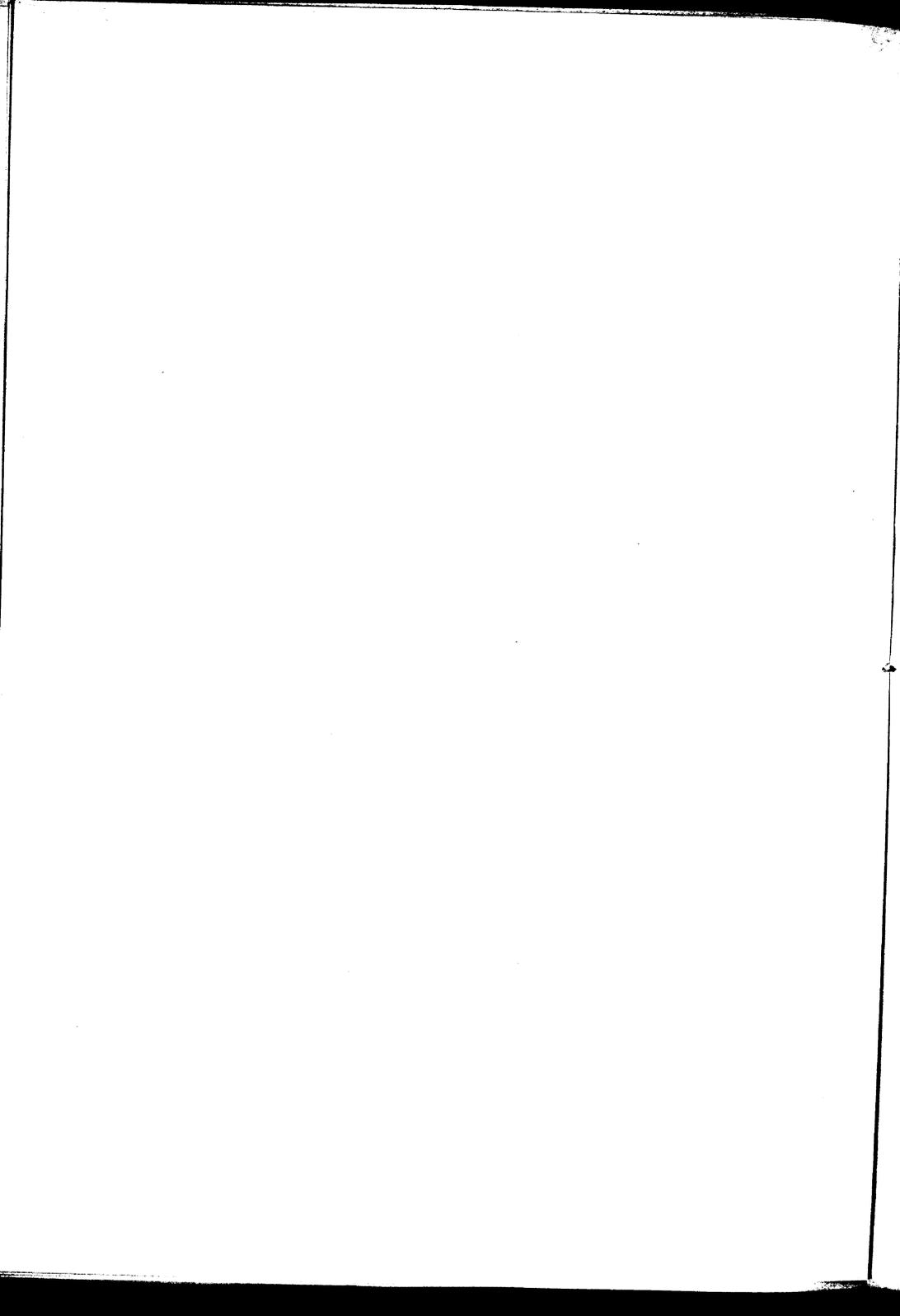
Numero d'ordine	PROVENIENZA della gomma	DATA dell'inoculazione	DURATA dell'esperienza	RISULTATO	OSSERVAZIONI
1	Campione I	16 Ottobre 1908	giorni 26	+	Flusso abbondantissimo.
2	Campione II	» » »	giorni 351	-	Ferita in parte cicatrizzata.
3	Campione III. . . .	» » »	giorni 351	-	Ferita in parte cicatrizzata.
4	Campione IV. . . .	» » »	giorni 71	+	Flusso di gomma nerastra.
5	Campione V	» » »	giorni 283	+	Flusso piuttosto scarso.
6	Campione VI. . . .	» » »	giorni 351	-	Ferita in parte cicatrizzata.

TAVOLA IV. Risultati delle inoculazioni con microrganismi in cultura pura isolati dalle gomme

N.º dell' inoculazione	MICROORGANISMO	PROVENIENZA	DATA dell' inoculazione	N.º dell' inoculazione	Durata dell' esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	<i>Micrococcus roseus</i> (B u m) L e h.	Gomma di limone ottenuta sperimentalmente.	18 mag. 1900	3	3 giorni	84	—
2	<i>Micrococcus citreus</i> (Zimmernann) Loh. et Nann.	Gomma di limone ottenuta sperimentalmente.	18 mag. 1900	3	»	81	—
3	<i>Micrococcus candidans</i> (F i l g g e).	Gomma di limone ottenuta sperimentalmente.	18 mag. 1900	3	»	84	—
4	<i>Micrococcus I</i>	Gomma del campione II	26 ottob. 1908	3	»	276	—
5	<i>Streptococcus I</i>	Gomma del campione VI	26 ottob. 1908	3	»	276	—
6	<i>Streptococcus II</i>	Gomma del campione II	26 ottob. 1908	3	»	276	—
7	<i>Bacterium commiphilum</i>	Da tutte le gomme di limone esaminatae.	V. Protocollo	32	V. Prot.	±	Solo 3 inoculazioni diedero esito non negativo ma dubbio
8	<i>Bacterium commiphilum?</i>	Da gomma di albicocco	15 ottob. 1908	1	giorni	298	In due inoculazioni il ramoscello si disseccò e così pure il faggio asettico
9	<i>Bacterium commiphilum?</i>	Dal mal nero della vite	15-16 ott. 1908	8	»	297-298	—
10	<i>Bacterium fluorescens liquefaciens</i> (F i l g g e) I.	Dal campione VI	25 ottob. 1908	3	»	180	Piantina essiccata.
11	<i>Bacterium fluorescens liquefaciens</i> (F i l g g e) II	Da gomma di limone precedentemente studiata	15 ottob. 1908	3	»	298	—
12	<i>Bacterium fluorescens liquefaciens</i> (F i l g g e) III	Da gomma di limone precedentemente studiata	15 ottob. 1908	5	»	298	—
13	<i>Bacterium fluorescens liquefaciens</i> (F i l g g e) IV	Da gomma di limone precedentemente studiata	15 ottob. 1908	1	»	298	—
14	<i>Bacterium I</i>	Gomma del campione VI	26 ottob. 1908	3	»	276	—
15	<i>Bacterium II</i>	Gomma del campione VI	26 ottob. 1908	3	»	276	—
16	<i>Bacillus mycoides</i> (F i l g g e).	Gomma del campione I.	23 ottob. 1908	3	»	261	—
17	<i>Bacillus I</i>	Gomma del campione VI	22 ottob. 1908	3	»	290	—
18	<i>Bacillus II</i>	Gomma del campione II	26 ottob. 1908	3	»	276	—
19	<i>Streptotrix</i>	Da gomma di limone precedentemente studiata.	15 ottob. 1908	3	»	298	—
20	Micelio sterile	Dalle gomme di tutti i campioni	18 mag. 1900	6	»	81	—
21	Micelio sterile	Dalla gomma prodotta dal precedente.	19 agos. 1909	2	»	272	—

Due solo diedero esito negativo.

Reperti batteriologici dei campioni di gomma.



Reperto del campione I.

1) *Aspetto microscopico della gomma.* — Nei preparati colorati si scorgono abbondanti pezzettini di micelio piuttosto largo. Non si scorgono forme schizomicetiche.

2) — *Isolamento dei microrganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microrganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	Micelio sterile, <i>B. commiphilum</i> e <i>B. mycoides</i> .	
2	Striscio in agar comune alcalino	Micelio sterile.	Nato dopo circa 24 giorni della semina
3	Brodo comune alcalino	Micelio sterile.	Nato dopo circa 24 giorni della semina
4	Brodo comune acido .	Micelio sterile.	Nato dopo circa 24 giorni della semina
5	Gelatina comune alcalina	Nessuna crescita.	
6	Ramoscello di limone .	Micelio sterile.	Imbrunimento dei tessuti del ramoscello

3) *Inoculazione diretta della gomma su piantina di limone.* —

Ha dato risultato positivo dopo circa un mese dall'inoculazione. Nel punto in cui si era innestato il materiale gommoso, si è manifestato un'abbondante scolo gommoso, che, asportato una prima volta dall'acqua piovana, si è riprodotto abbondantemente. La gomma venne esaminata al microscopio, con preparati a fresco, colorati, ed in soluzione jodo-jodurata. In nessuno dei preparati fu possibile vedere forme microrganiche.

Nei preparati allestiti con soluzione jodo-jodurata non si è avuta neanche la colorazione gialla dei frammenti di gomma, e tanto meno quella azzurra.

Dopo aver fatto lambire rapidamente dalla fiamma di un becco *Bunsen* la superficie del flusso gommoso, con l'ansa sterile ho ricavato, dalla parte interna del flusso stesso, del materiale col quale ho fatto 3 strisci su patata e 3 piastre in agar comune alcalino. Da queste culture ho isolato i seguenti microrganismi:

Microorganismi isolati dalla gomma ottenuta con l'inoculazione diretta del Campione I.

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microorganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	Micrococcus sulfureus (Zimmermann) Leh. et Neum.), Micrococcus candidans (Flügge).	Le culture suddette osservate anche dopo un mese non diedero crescita di micelio sterile.
2	Strisci su patata.	Penicillium glaucum Link, B. commiphilum, Micrococcus roseus (Bumm) Leh. et Neum.	

Reperto del Campione II.

1) *Aspetto microscopico della gomma.* — Nei vari preparati non si è riscontrata alcuna forma fungina o schizomicetica.

2) — *Isolamento dei microorganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microorganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum.	Numerose colonie
2	Striscio in agar comune alcalino	Micelio sterile e B. commiphilum.	
3	Infissione in gelatina comune alcalina	B. commiphilum.	
4	Brodo comune alcalino	B. commiphilum.	
5	Brodo comune acido	Nessuna crescita.	Il micelio si sviluppa vari giorni dopo la crescita del B. commiphilum.
6	Strisciamento su patata	Micelio sterile e B. commiphilum.	
7	Ramoscello di limone.	Micelio sterile, B. commiphilum, Bacillus II e Streptococcus II.	

3) *Inoculazione diretta della gomma su piantina di limone.* — Risultato negativo, ferita in parte cicatrizzata.

Reperto del campione III.

1) *Aspetto microscopico della gomma.* — Non si osserva alcuna forma schizomicetica.

In qualche preparato si osservano forme di micelio fungino non distinte nettamente.

2) — *Isolamento dei microrganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microrganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum e Micelio sterile.	
2	Striscio in agar comune alcalino	Nessuna crescita.	
3	Gelatina comune alcalina	Nessuna crescita.	
4	Brodo comune alcalino.	Nessuna crescita.	
5	Brodo comune acido .	Micelio sterile.	Crescita dopo giorni 20.
6	Ramoscello sterile di limone	Micelio sterile.	Crescita molto abbondante.

3.) *Inoculazione diretta della gomma su piantina di limone.* — Esito negativo constatato anche dopo circa un'anno dall'inoculazione.

Reperto del campione IV.

1.) *Aspetto microscopico della gomma.* — Si osserva qualche raro frammento di micelio fungineo. Non si riscontra alcuna forma schizomicetica nettamente definibile.

2) — *Isolamento dei microrganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microrganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum e Penicillium glaucum Link.	
2	Striscio in agar comune alcalino	Nessuna crescita.	
3	Gelatina comune alcalina	Micelio sterile.	Crescita dopo giorni 20.
4	Brodo comune alcalino	Micelio sterile.	Crescita dopo giorni 20.
5	Brodo comune acido	Nessuna crescita.	
6	Ramoscello di limone	Micelio sterile.	Crescita molto abbondante.

3.) *Inoculazione diretta della gomma su piantina di limone.* —

Questa inoculazione ha dato risultato positivo dopo due mesi.

La superficie della ferita d'inoculazione si presentava coperta di abbondante flusso gommoso nerastro. L'esame microscopico della gomma diede esito negativo.

La piantina col flusso gommoso viene portata in laboratorio in prossimità di un tavolo da lavoro e con un becco *Bunsen* si opera una rapida sterilizzazione superficiale della gomma, dalla quale con ansa sterile si ricava del materiale col quale si allestiscono:

- 1) Piastre in agar comune alcalino.
- 2) Innesco in brodo comune alcalino.
- 3) Striscio su patata.

Microorganismi isolati dalla gomma ottenuta con l'inoculazione diretta del Campione IV.

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microorganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum e Penicillium glaucum Link.	Le culture suddette osservate anche dopo un mese non diedero crescita di micelio sterile.
2	Brodo comune alcalino	B. commiphilum.	
3	Patata	B. commiphilum e Micrococcus roseus. (Bumm) Leh. et Neum.	

Reperto del campione V.

1) *Aspetto microscopico della gomma.* — Assenza di forme schizomicetiche od eumicetiche nettamente definibili.

2.) — *Isolamento dei microorganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microorganismi isolati	Osservazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum e Penicillium glaucum Link.	
2	Striscio su agar comune alcalino	B. commiphilum e Micelio sterile.	
3	Gelatina comune alcalina	Nessuna crescita.	
4	Brodo comune alcalino	B. commiphilum.	
5	Brodo comune acido .	B. commiphilum.	
6	Ramoscello di limone.	B. commiphilum e Micelio sterile.	

3) *Inoculazione diretta della gomma su piantina di limone.* — Dopo circa 10 mesi dalla data dell'inoculazione, alla base del ramoscello, ed alla distanza di 10 cm dal punto in cui si era effettuata l'inoculazione, si è osservato un leggero essudato gommoso ricoprente un buon tratto della corteccia del ramoscello.

Reperto del campione VI.

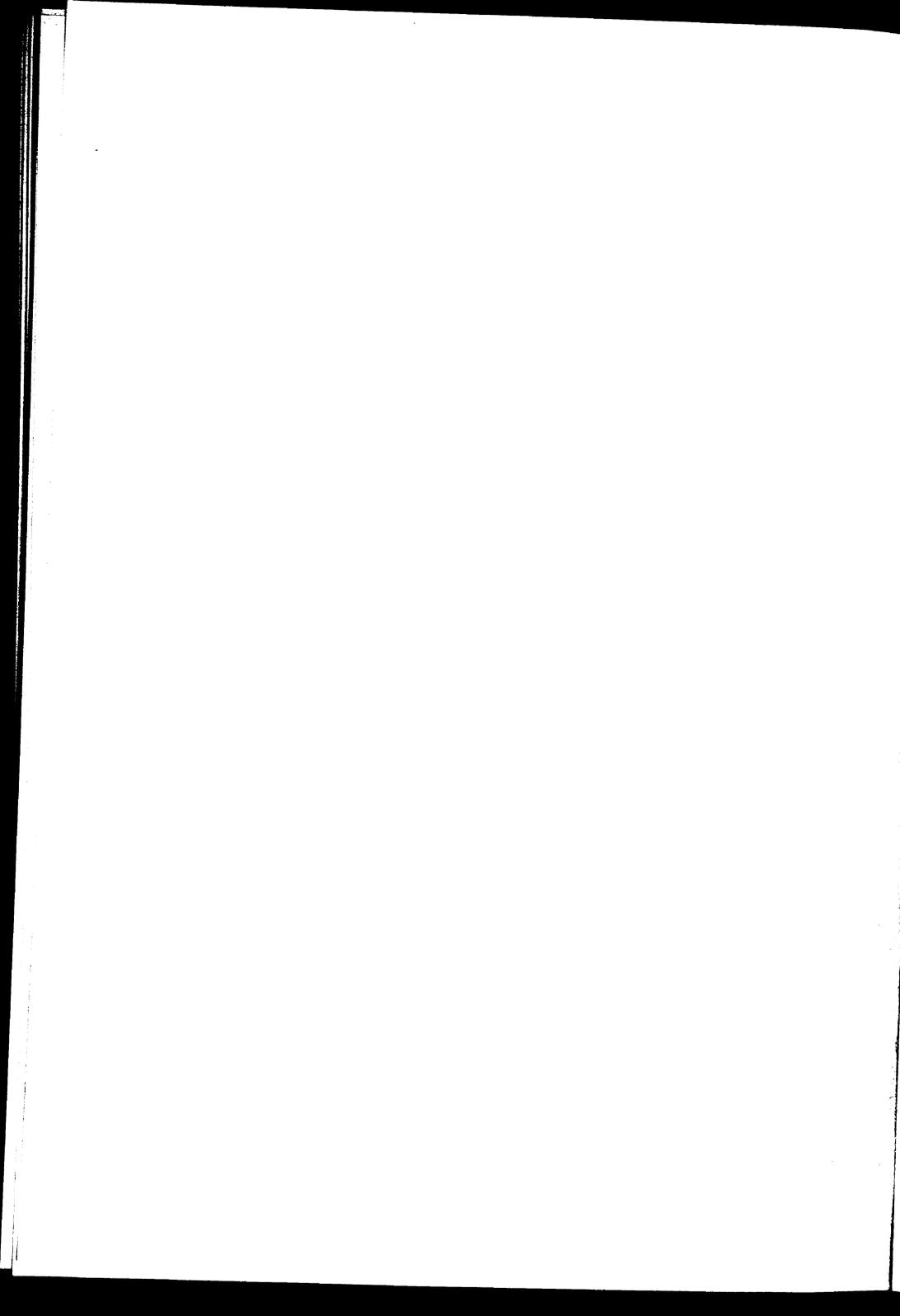
1) *Aspetto microscopico della gomma.* — Nei preparati microscopici si osserva qualche raro micelio fungineo, e forme non nettamente riferibili a schizomiceti.

2.) — *Isolamento dei microorganismi.*

Numero d'ordine	Terreni di cultura usati	Microorganismi isolati	Osseervazioni
1	Piastre in agar comune alcalino	B. commiphilum; B. fluorescens liquefaciens Flugge, Bacillus I.	
2	Striscio in agar comune alcalino	Nessuna crescita.	
3	Gelatina comune alcalina	Nessuna crescita.	
4	Brodo comune alcalino.	Micelio sterile.	
5	Brodo comune acido .	Nessuna crescita.	
6	Ramoscello sterile di limone	Micelio sterile, B. commiphilum, Streptococcus I, Bacterium I, Bacterium II.	Dopo 24 ore il ramoscello si presentava già intensamente imbrunito.

3) *Inoculazione diretta della gomma.* — Esito negativo, ferita in parte cicatrizzata.

Descrizione delle specie schizomicetiche
non identificate.



Micrococcus I.

Aspetto microscopico. — Cellule sferiche di 0,5-1 μ di diametro, discretamente mobili, per lo piú in sito, osservati nei preparati a goccia pendente.

Colorabilit . — Si colorano coi colori basici di anilina. Non resistono al Gram.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce discretamente bene a 12 C; a 30 C, dopo 24 ore, presenta crescita rigogliosa sui vari terreni di cultura adoperati.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Nell'apparecchio di Novy, dal quale l'aria era stata scacciata con corrente d'idrogeno, diede crescita normale su vari terreni di cultura. Anaerobio facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tonde, quasi incolori ed appena iridate; rilevate, a calotta sferica ed a lucentezza non molto spiccata.

Anche le colonie profonde, per la maggior parte, conservano la forma tonda. Le colonie superficiali, guardate con ingrandimento di 50 diametri, presentano margine intero e ben definito, struttura interna a piccole scagliette, che diventano meno numerose mano mano che si avvicinano al margine della colonia.

Piastre in gelatina. — Colonie tonde, bianche, iridate, alcune profonde, altre superficiali, rilevate a calotta sferica ed a lucentez-

za grassa. Osservate con ingrandimento di 50 diametri si scorgono i margini lisci e ben definiti, e struttura uniforme e finissimamente granulosa.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Crescita di patina jalina a margini non ben definiti. Acqua di condensazione leggermente torbida, e deposito residuale sull'agar leggermente bianco.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione leggermente nastriforme; con margini seghettati e stria mediana più densa. Sviluppo in superficie di una colonia rilevata, emisferica, bianca a lucentezza grassa, e con diametro di poco superiore a quello del foro d'infissione che ricopre.

Strisciamento su patata. — Crescita di patina jalina, poco rilevata, a margini non ben definiti ed a lucentezza debole. La patata ha assunto un colore più oscuro dell'ordinario.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente e leggermente torbido, con scarso deposito che diviene fioccoso con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Uniformemente e leggermente torbido, con scarso deposito che si eleva a nubecola con lo scuotimento.

Infissione profonda in agar glucosato. — Canale d'infissione con crescita abbondante a forma di nastro, nello spessore del quale sono intercalate delle bollicine gassose; in superficie, sviluppo di patina jalina.

Latte. — Dopo otto giorni nessun cambiamento e così anche dopo 15 giorni.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodoculture di otto giorni con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_2 si osservano tracce di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato produce poche bollicine di gas.

Streptococcus I.

Aspetto microscopico. — Piccoli cocci a catenella di μ 0,5 di diametro. Immobili, osservati nei preparati a goccia pendente.

Colorabilità. — Si colorano coi colori basici di anilina. Non resistono al Gram.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce lentamente a 12 C.; a 30 C., dopo 24 ore, presenta una buona crescita sui vari terreni di cultura, ad eccezione della patata.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Le culture tenute in apparecchio di Novi dal quale era stata scacciata l'aria con corrente d'idrogeno diedero crescita normale: anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Piccole colonie biancastre, tonde, rilevate, a calotta sferica ed a lucentezza grassa.

Osservate con ingrandimento di 50 diametri, si presentano omogenee, compatte e finissimamente granulose, a margine intero, liscio, ben definito; e qualche volta con nucleo centrale oscuro.

Piastre in gelatina. — Colonie bianche, alcune profonde, altre superficiali, ma tutte tonde. Le superficiali sono rilevate come gocce di rugiada e con la stessa lucentezza; guardate con ingrandimento di 50 diametri si presentano a fondo gialliccio uniforme senza struttura visibile, a margine intero e liscio. In nessun caso si osserva nucleo.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Sottile patina biancastra, poco rilevata, a margine intero e sinuoso. Acqua di condensazione evaporata con deposito biancastro sulle parete del tubo.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale filiforme omogeneo, a margine intero. Crescita in superficie, limitata al foro d'infissione, di patina biancastra rilevata, a margine intero ed a lucentezza grassa.

Strisciamento su patata. — Crescita di patina bruno gialliccia su fondo di patata bruno scuro, rilevata, a margini ora sinuosi, ora dritti, a struttura granulosa.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente torbido con deposito biancastro sul fondo, che si eleva a nubecola con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Lo stesso aspetto che presenta nel brodo comune alcalino.

Infissione profonda in agar glucosato. — Canale d'infissione nastriforme granuloso. Crescita in superficie di patina jalina.

Latte. — Dopo otto giorni nessuna alterazione e così pure dopo 15 giorni.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodo culture di otto giorni con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_3 si osserva la colorazione rosea dell'indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato non produce bolle di gas.

Streptococcus II.

Aspetto microscopico. — Cocchi a catenella di μ 0,5-1 di diametro. Mobili, guardati nei preparati a goccia pendente.

Colorabilità. — Si colorano coi colori basici di anilina. La maggior parte non resistono al Gram, qualcuno resiste al Gram stesso.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Crescono lentamente a 12 C.; a 30 C., dopo 24 ore, presentano una discreta crescita su vari terreni di cultura.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Nell'apparecchio di Novy dal quale l'aria era stata scacciata con corrente d'idrogeno si è avuta crescita normale su vari terreni di cultura. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tonde, bianchicce, rilevate a calotta sferica, a lucentezza grassa. Osservate con ingrandimento di 50 diametri si osserva una struttura filiforme e finissimamente granulosa; margine intero e liscio.

Piastra in gelatina. — Colonie biancastre, tonde, rilevate, a lucentezza grassa. Con ingrandimento di 50 diametri si presentano omogenee, a margine intero e liscio.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Crescita di patina jalina, a superficie liscia ed uniforme, a lucentezza umida. Acqua di condensazione leggermente torbida con leggerissimo deposito bianchiccio.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione omogeneo a margini interi e lisci, colore biancastro tenuissimo. Crescita in superficie, limitata al foro d'infissione, di patina biancastra poco rilevata ed a lucentezza grassa.

Strisciamento su patata. — Crescita di abbondante patina molto rilevata, a consistenza uniforme, a superficie, per la maggior parte, liscia e convessa, a lucentezza umida ed a colore gialliccio brunastro, ricordante certe gradazioni di pus. I margini della patina non sono bene decisi. La patata si è un pò abbrunita.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente ed intensamente torbido senza traccia di pellicola superficiale e con deposito bruno sul fondo, che si eleva a nubecola con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Uniformemente torbido con ricco deposito biancastro sul fondo che si eleva a nubecola con lo scuotimento.

Infissione profonda in agar glucosato — Crescita nastriforme omogenea, appena granellosa nel canale, con bolle di gas nell'agar superiore, che si son portate sulle pareti del tubo. In superficie, crescita di una leggerissima patina bianchiccia, a lucentezza grassa.

Latte. — Dopo otto giorni nessuna alterazione, e così pure dopo 15 giorni.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodo culture di otto giorni con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_2 si osserva la presenza di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato produce poche bolle di gas.

Bacterium commiphilum

Aspetto microscopico. — Coccobatterio della larghezza di μ 1 per μ 1,5-2,5 di lunghezza. Osservato in goccia pendente da cultura di 20 ore su patata (tenuta a 30 C.), presenta dei movimenti, in sito, oscillanti, circolari ed abbastanza vivaci, con movimenti di traslazione rapidi, talora rapidissimi e rettilinei, spesso rotolanti. In sito gira spesso intorno ad un'estremità.

Colorabilità. — Si colora coi colori acidi e basici di anilina. Non resiste al Gram anche nei preparati allestiti con culture anaerobiche.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce lentamente a 12° C; a 30° C, dopo 12 ore, si nota la crescita sulla maggior parte dei terreni usuali di cultura. Dopo otto giorni lo sviluppo è completo su tutti i terreni di cultura su cui cresce.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Cresce bene nel canale dell'infissione profonda in agar glucosato.

Le culture anaerobiche tenute in vari apparecchi anaerobici (Botkin, Novi, Marincola) dai quali l'aria veniva scacciata con corrente d'idrogeno diedero crescita normale. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tondeggianti di colore giallo giallo paglierino, poco rilevate ed a lucentezza fra umida e grassa. Alcune sono bianchicce a bordi iridescenti. Spesso si osservano colonie profonde a forma di cote e qualche volta reniformi. La consistenza è come di sostanza grassa, untuosa al tatto. Le colonie superficiali, guardate con ingrandimenti di 50 diametri, appaiono a margine irregolarmente lobato, a lobi molto larghi e quindi poco sporgenti, con insenature a piccola saetta; i bordi sono interi e rifrangenti. Internamente si osserva, spesso, un nucleo, dal quale s'irradiano concentricamente come tanti granellini sabbiosi scuri, circondati da aureola translucida; questi granellini, o scagliette, diminuiscono di numero mano mano che si approssimano alla periferia della colonia. Il fondo della colonia è gialliccio molto chiaro e si termina con un contorno evanescente. Il nucleo, nel più dei casi, risulta da una fitta conglomerazione di granellini

scuri con interstizi translucidi, ed in questo caso il suo contorno non è regolare ma sinuoso. In altri casi il nucleo ha un contorno definito ed è molto più oscuro della restante colonia.

Le colonie semi profonde si presentano come le superficiali ma con le scaglie più grosse. Le colonie profonde, il più delle volte, si presentano bruno scure compatte senza lasciar distinguere struttura.

Piastre in gelatina. — In gelatina spesso si osservano due tipi di colonie: alcune gialle tonde e superficiali, altre bianche profonde. Le colonie a forma di cote sono sempre gialle. Le colonie gialle e tonde si presentano, ad occhio nudo, rilevate a calotta sferica a lucentezza umida, a consistenza fra pastosa e grassa. Guardate con ingrandimenti di 50 diametri si presentano giallo bruno omogenee senza nucleo e con i margini interi ben definiti a struttura omogenea.

Le colonie bianche presentano una granulazione più marcata di quella che si osserva nelle colonie cresciute su agar.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Patina sottile biancastra a riflessi iridati, con contorni ben delimitati, poco rilevata. Acqua di condensazione evaporata con deposito giallastro ocraceo mal delimitato.

Strisciamento su agar comune acido. — Patina biancastra gialliccia. Acqua di condensazione evaporata con deposito giallastro a colore più pronunziato di quello avuto su agar alcalino.

Infissione in agar comune alcalino. — Canale d'infissione granuloso omogeneo, a margini finemente lobati. Crescita in superficie di discreta patina giallo ocracea che si estende concentricamente al foro d'infissione. Rilevata, piatta, a margini interi, a lucentezza umida.

Infissione in agar comune acido. — Canale granuloso omogeneo che si differenzia poco dalla massa dell'agar; in superficie patina giallastra a debole lucentezza.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale nastriforme omogeneo tipico, a margini ben definiti e dritti; crescita in superficie di patina giallastra bianchiccia limitata al foro d'infissione e di aspetto quasi granuloso. In qualche cultura assai vecchia ho osservato anche la fluidificazione.

Infissione in gelatina comune acida. — Canale nastriforme, omogeneo, liscio, a margini interi; crescita in superficie di patina

bianco giallastra, rilevata e di aspetto quasi granuloso, limitata al foro d'infissione.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente torbido con abbondante deposito biancastro gialliccio sul fondo, deposito che con lo scuotimento si distribuisce, a granuli più o meno grossi, ed a nubecola.

Brodo comune acido. — Brodo uniformemente torbido con parvenza di pellicola sottilissima, farinosa in superficie, con deposito bianchiccio sul fondo, che si eleva con lo scuotimento a nubecola e a granuli.

Striscio su patata. — Patina intensamente colorata in giallo, rilevata, a contorni definiti, a superficie lucente come di miele. Qualche volta però la crescita non è rigogliosa e allora la patina appare scolorata e biancastra. Qualche volta lo scoloramento della patina è dovuto a temperatura superiore a 30 C.

Infissione profonda in agar glucosato. — Canale nastroforme omogeneo; in superficie crescita di sottilissima patina gialliccia. Si osserva qualche bolla di gas lungo le pareti del tubo.

Latte. — Nessuna alterazione anche dopo molto tempo.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodo culture vecchie, con la reazione dell'acido solforico e del nitrito potassico, (metodo Salkowski) si mette in evidenza la produzione caratteristica ed abbondante di indolo. Nelle brodo culture anaerobiche la produzione di indolo è meno intensa.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Nelle infissioni profonde in agar glucosato produce qualche bolla di gas.

Bacterium I.

Aspetto microscopico. — Cocco batteri, alcuni dei quali della lunghezza di 1,5 μ per 1 μ . Mobili, osservati nei preparati a goccia pendente.

Colorabilità. — Si colorano coi colori basici di anilina. Non resistono al Gram.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce lentamente a 12 C; a 30 C, dopo 24 ore presenta crescita rigogliosa su vari terreni di cultura.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Le culture anaerobiche in apparecchio di Novi ed in ambiente d'idrogeno diedero crescita normale. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tonde, poco rilevate, a lucentezza umida ed iridate. Osservate con ingrandimenti di 50 diametri appaiono a margini interi e finamente granulose.

Piastre in gelatina. — Le colonie presentano le stesse caratteristiche di quelle cresciute sull'agar.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Patina jalina, poco rilevata, a margini indecisi e molto frastagliati che si terminano con sfumature. Acqua di condensazione leggermente torbida con tenuissimo deposito biancastro.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione nastriforme, leggermente granuloso, a margini interi e biancastri. Crescita in superficie di patina biancastra opaca a consistenza di sego, rilevata e a margine intero, limitata al foro d'infissione.

Strisciamento su patata. — Patina bruno-biancastra, a lucentezza umida, poco rilevata, a contorni indecisi, struttura che si avvicina alla granulosa. La patata non ha subito alcun cambiamento di colore.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente ed intensamente torbido con deposito bianco, granuloso, sul fondo che si sparge uniformemente con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Uniformemente torbido con deposito bianco granelloso, sul fondo, che si eleva a nubecola filante con lo scuotimento.

Infissione profonda in agar glucosato. — Canale d'infissione granelloso a contorni indecisi, crescita in superficie di patina jalina.

Latte. — Esaminato anche dopo 15 giorni non lascia scorgere alcun cambiamento.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodoculture di otto giorni con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_3 non si ha presenza di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina

Produzione di presame. — Non coagula il latte

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato non si osserva alcuna produzione di gas.

Bacterium II.

Aspetto microscopico. — Coccobatteri di 1μ di diametro per 1.5 di lunghezza. Mobili, osservati nei preparati a goccia pendente.

Colorabilità. — Si colorano bene coi colori basici di anilina. Alcuni sono resistenti al Gram altri no.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce molto lentamente a $12\ C$; a $30\ C$, dopo 24 ore, presenta crescita bene accennata su vari terreni di cultura.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — In apparecchi di Novy, con ambiente d'idrogeno, le culture diedero crescita normale. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie superficiali abbastanza piccole, bianchicce e rilevate a calotta sferica. Le semiprofonde guardate con l'ingrandimento di 50 diametri lasciano osservare margine intero e liscio, struttura finissimamente granulosa, fondo giallo e completa uniformità senza graduazione di tinte o presenza di nucleo.

Piastre in gelatina. — Colonie piccole bianche, alcune superficiali tonde, altre profonde a forma di cote; le superficiali rilevate ed a lucentezza grassa. Con 50 diametri d'ingrandimento si vedono su fondo giallo uniforme e a struttura compatta con margini lisci ed interi.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Sottile patina jalina poco rilevata ed iridata. Acqua di condensazione torbida con deposito biancastro sulle pareti del tubo.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione leggermente nastriforme, omogeneo, a margini sinuosi ed interi, colore leggermente biancastro. Patina superficiale circoscrivente il foro d'infissione, biancastra, rilevata, a lucentezza grassa a margini interi.

Strisciamento su patata. — Crescita di patina brunastra chiara, abbastanza rilevata, a margini lobati, a struttura uniforme, convessa e liscia alla superficie, con lucentezza che si avvicina alla grassa.

Brodo comune alcalino. — Uniformemente torbido senza accenno di pellicola con deposito biancastro granelloso sul fondo, che si eleva a nubecola filante con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Uniformemente torbido con abbondante deposito biancastro sul fondo che si eleva a nubecola con lo scuotimento.

Infissione profonda nell'agar glucosato. — Canale d'infissione nastriforme a piccoli rigonfiamenti, omogeneo, granuloso. Crescita in superficie di sottilissima patina jalina.

Latte. — Anche dopo 15 giorni non lascia scorgere alcuna alterazione.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodoculture di otto giorni con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_2 si osservano tracce di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Anche dopo vari mesi non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato non produce gas.

Bacillus I.

Aspetto microscopico. — Bastoncini grossi e tozzi con spora centrale; lunghezza μ 1,5-2,5, larghezza μ 1-2. Immobile, osservato in goccia pendente. Spesso si osservano forme molto raccorciate e arrotondate simili a cocchi di 2 μ di diametro.

Colorabilità. — Si colora coi colori basici di anilina. Nei preparati col Gram alcuni individui resistono al Gram, altri non resistono, altri resistono parzialmente.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce lentamente a 12 C; a 20 C, dopo 20 ore, lo sviluppo appare discretamente rigoglioso.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Cresce bene nel canale dell'infissione profonda in agar glucosato. Le culture messe a sviluppare in apparecchio di Novi, dal quale l'aria era stata scacciata con corrente d'idrogeno, diedero crescita normale. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tondeggianti di colore bianchiccio-biondo, poco rilevate ed a lucentezza fra umida e grassa. Con ingrandimento di 50 diametri si osserva struttura omogenea e costituita da finissima granulazione scura. I margini si presentano appena lobati nelle colonie piccole, e molto lobati nelle colonie grandi.

Piastre in gelatina. — Colonie biancastre, tonde le superficiali e le semi-profonde, a forma di cote le profonde. Le superficiali sono rilevate a calotta sferica ed a lucentezza grassa. Con ingrandimento di 50 diametri si mostrano omogenee a finissima granulazione e col margine intero e liscio.

In qualche colonia semi-profonda si scorge un nucleo oscuro spostato verso il centro ed in qualche altra si rinviene il margine lobato.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Patina biancastra-carnicina poco rilevata, a margini irregolamerte lobati, a struttura uniforme e liscia. Acqua di condensazione evaporata con piccolo deposito biancastro.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione nastriforme, bianchiccio, finamente granuloso, a margini non ben definiti. In superficie, crescita di patina bianchiccia, delimitante il foro d'infissione.

Strisciamento su patata. — Crescita di patina color latte e caffè, rilevata, a lucentezza umida. La patata ha assunto colore bruno-scuro.

Brodo comune alcalino. — Leggermente ed uniformemente torbido. Sul fondo, deposito biancastro che diviene filante con lo scuotimento.

Brodo comune acido. — Stessi caratteri del precedente.

Infissione profonda in agar glucosato. — Canale d'infissione nastriforme e granuloso. In superficie crescita di abbondante pellicola biancastra a lucentezza grassa, che si continua sulle pareti del tubo.

Latte. — Nessun cambiamento sia nell'aspetto che nella reazione.

Attività chimiche.

Produzione di indolo. — Nelle brodoculture vecchie con la reazione dell'acido solforico e del nitrito potassico si rinviene la produzione di tracce di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Non coagula il latte.

Scomposizione dello zucchero. — Non produce gas nelle infissioni profonde in agar glucosato.

Bacillus II.

Aspetto microscopico. — Bastoncini arrotondati alle estremità della lunghezza di μ 3-4 per 1-1,5 di larghezza, con spora centrale. Immobili, osservati nei preparati a goccia pendente. Spesso si osservano delle forme a catena.

Colorabilità. — Si colorano coi colori basici di anilina. Nei preparati col metodo di Gram la maggior parte delle forme che sono presenti nel preparato resistono al Gram, una piccola porzione non resiste.

Comportamento rispetto al fattore termico. — Cresce lentamente a 30 C; dopo 20 ore presenta una crescita rigogliosa sui vari terreni di cultura ad eccezione della patata.

Comportamento rispetto all'ossigeno. — Le culture anaerobiche messe a sviluppare in apparecchio di Novi dal quale l'aria era stata scacciata con corrente d'idrogeno diedero crescita normale. Anaerobico facoltativo.

Caratteri culturali.

Piastre in agar. — Colonie tonde, bianche, iridate, poco rilevate e piatte, a lucentezza umida. Guardate con ingrandimento di 50 diametri, le colonie si presentano con fondo giallo opaco e con accumulo centrale di scaglie a forma di ciottoli che s'irradiano regolarmente in tutti i sensi diminuendo di numero e di

grandezza, gradatamente che si avvicinano al margine, che è intero.

Piastre in gelatina. — Le colonie hanno lo stesso aspetto di quelle cresciute su piastre in agar.

Strisciamento su agar comune alcalino. — Crescita di abbondante patina bianca, in molti punti rilevata a pliche mesenteriche. Acqua di condensazione torbida con deposito sulle pareti del tubo di patina bianca opaca.

Infissione in gelatina comune alcalina. — Canale d'infissione nastriforme, omogeneo, fatto di minutissime granulazioni molto addensate nella parte superiore del canale e libere in basso. La crescita in superficie è appena accennata e limitata ai margini del foro d'infissione.

Strisciamento su patata. — Crescita di patina biancastra-grigiastra a macchie variamente sovrapposte, lucentezza umida. La patata ha assunto colore bruno.

Brodo comune alcalino. — Formazione di abbondante pellicola superficiale biancastra omogenea, mucillaginosa ed a lucentezza grassa. Deposito abbondante e granelloso. Brodo limpido.

Brodo comune acido. — Crescita analoga a quella del brodo comune alcalino.

Infissione profonda in agar glucosato. — Nel canale d'infissione, crescita di abbondante nastro con qualche bolla di gas intercalata nel suo spessore. In superficie, abundantissima crescita di patina biancastra rilevata e con molte pliche mesenteriche.

Latte. — Dopo 15 giorni coagulato e col coagulo completamente digerito.

Attività chimiche.

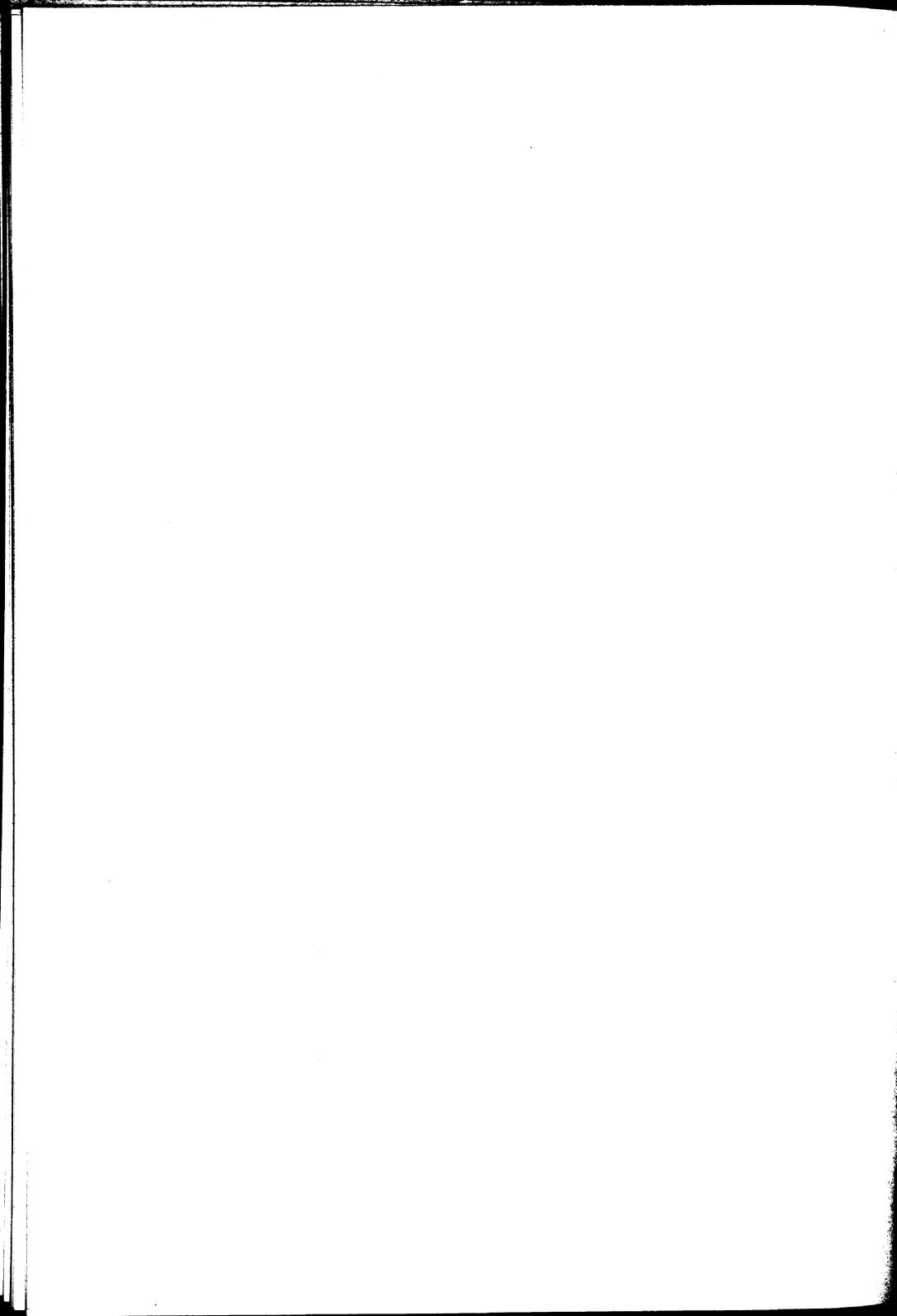
Produzione di indolo. — Nelle brodoculture di otto giorni, con la reazione dell' H_2SO_4 e del KNO_2 , si osservano tracce di indolo.

Produzione di enzimi proteolitici. — Non fluidifica la gelatina.

Produzione di presame. — Coagula il latte e ridiscioglie il coagulo.

Scomposizione dello zucchero. — Nell'infissione profonda in agar glucosato produce qualche bolla di gas.

Protocollo delle inoculazioni con culture pure.



Micrococcus roseus (Bumm) Leh. et Neum.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 84	—	Cicatrizzazione quasi completa
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	» » »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» » »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» » »
5	Taglio settico	» »	—	» » »

Micrococcus sulfureus (Zimmermann) Leh. et Neum.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 84	—	Cicatrizzazione quasi completa
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	Cicatrizzazione completa.
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	Cicatrizzazione quasi completa
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» » »
5	Taglio settico	» »	—	» » »

Micrococcus candidans (Flügge).

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 84	—	Cicatrizzazione completa.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	» » »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» » »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	Cicatrizzazione quasi completa
5	Taglio settico	» »	—	Cicatrizzazione completa.

Micrococcus I

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 276	—	Cicatrizzazione completa.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Streptococcus I

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 276	—	Cicatrizzazione completa.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	Ramoscello essiccato senza traccia di gomma.
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	Cicatrizzazione completa.
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Streptococcus II

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 276	—	Cicatrizzazione completa.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Bacterium commiphilum.

N. d'ordine	Natura dell'inoculazione	Data dell'inoculazione	Durata dell'esperienza	Risultato	Osservazioni
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	29 ott. 1908	giorni 290	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	» » »	» »	—	» »
3	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	» »
4	Inoculazione con siringa di Pravaz	» » »	» »	—	» »
5	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	» »
6	Taglio settico	» » »	» »	—	» »
7	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	30 ott. 1908	giorni 289	+	Ramoscello essiccato e sospetto di gomma per i grumi nerastri di cui è cosparso.
8	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione di Hg Cl ₂	» » »	» »	+	Ramoscello essiccato e sospetto di gomma per i grumi nerastri di cui è cosparso.
9	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
10	Inoculazione con siringa di Pravaz	» » »	» »	—	» »
11	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	Leggiera necrosi sul legno della ferita la quale non si è rimarginata.
12	Taglio settico	» » »	» »	—	Ferita in gran parte cicatrizzata.

Segue: *Bacterium commiphilum*.

N. d'ordine	Natura dell'inoculazione	Data dell'inoculazione	Durata dell'esperienza	Risultato	<i>Osservazioni</i>
13	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione di $H_2 O_2$	31 ott. 1908	288 giorni	—	Ferita cicatrizzata.
14	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione di $H_2 O_2$	» » »	» »	O	Ramoscello essiccato.
15	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
16	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	Ramoscello essiccato.
17	Taglio settico	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
18	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione di $H_2 O_2$	6 nov. 1908	giorni 267	O	Ramoscello essiccato.
19	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione di $H_2 O_2$	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
20	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	» »
21	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	» »
22	Taglio settico	» » »	» »	—	» »
23	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$	7 nov. 1908	giorni 266	—	» »
24	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$	» » »	» »	—	» »
25	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	» »
26	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	» »
27	Taglio settico	» » »	» »	—	» »

Segue: *Bacterium commiphilum*.

N. d'ordine	Natura dell'inoculazione	Data dell'inoculazione	Durata dell'esperienza	Risultato	Osservazioni
28	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	8 nov. 1908	giorni 265	+	Ramoscello essiccato. Il cotone che ricopre la ferita si presenta appiccaticcio e sospetto di essudato gommoso che, però, come tale non si può identificare tanto più che i tessuti limitanti la ferita sembrano sani.
29	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	» » »	» »	-	Parenchima corticale del rametto giallastro necrosato, legno sano.
30	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	-	Ferita cicatrizzata.
31	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	-	» »
32	Taglio settico	» » »	» »	-	» »
33	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione di H ₂ O ₂	9 nov. 1908	giorni 261	-	» »
34	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione di H ₂ O ₂	» » »	» »	-	» »
35	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	-	» »
36	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	-	» »
37	Taglio settico	» » »	» »	-	» »
38	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	5 mag. 1909	giorni 98	-	Ferita molto larga ma cicatrizzata, estremità del ramoscello essiccato.

Segue: *Bacterium commiphilum*.

N. d'ordine	Natura dell'inoculazione	Data dell'inoculazione	Durata dell'esperienza	Risultato	Osservazioni
39	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	5 mag. 1909	» »	—	Cicatrizzazione incompleta.
40	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	Ramoscello essiccato ed ammuffito, nessun indizio di gomma.
41	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
42	Taglio settico	» » »	» »	—	Ferita in parte cicatrizzata.
43	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	19 agos. 1909	giorni 272	—	Ferita cicatrizzata.
44	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di Hg Cl ₂	» » »	» »	—	» »
45	Inoculazione a contatto aereo	» » »	» »	—	» »
46	Taglio asettico di controllo.	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata
47	Taglio settico	» » »	» »	—	» »
48	Inoculazione su piantina da seme previa sterilizzazione con H ₂ O ₂	25 febb. 1909	giorni 103	—	Ferita cicatrizzata con formazione di callo.
49	Inoculazione su piantina da seme previa sterilizzazione con H ₂ O ₂	» » »	» »	—	Ferita cicatrizzata.
50	Inoculazione su piantina da seme previa sterilizzazione con H ₂ O ₂	» » »	» »	—	» »
51	Taglio asettico di controllo su piantina da seme . . .	» » »	» »	—	» »

Bacterium commiphilum (isolato da gomma di albicecco).

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 298	0	Ramoscello essiccato.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	" "	—	Ferita cicatrizzata.
3	Taglio asettico di controllo	" "	0	Ramoscello essiccato.
4	Inoculazione a contatto aereo	" "	"	"
5	Inoculazione a contatto aereo	" "	—	Ferita cicatrizzata
6	Taglio settico	" "	—	"

Batterio isolato da Naso dal Mal nero delle viti.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$.	giorni 298	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$.	" "	—	" "
3	Taglio asettico di controllo	" "	—	Cicatrizzazione incompleta.
4	Inoculazione a contatto aereo	" "	—	Ferita cicatrizzata.
5	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$.	giorni 297	—	" "
6	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di $Hg Cl_2$.	" "	—	" "
7	Taglio asettico di controllo	" "	—	" "
8	Inoculazione a contatto aereo	" "	—	Cicatrizzazione incompleta.
9	Inoculazione con siringa di Pravaz.	" "	—	" "
10	Inoculazione con siringa di Pravaz.	" "	—	Ferita cicatrizzata.
11	Taglio settico	" "	—	" "

Bacterium fluorescens liquefaciens Flügg e I.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 180	—	Tutta la pianta essiccata dopo sei mesi dall'inoculazione ed apparentemente per tutt'altra causa che l'inoculazione.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	
5	Taglio settico	» »	—	

Bacterium fluorescens liquefaciens Flügg e II.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 298	—	Ferita completamente cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	Ferita completamente cicatrizzata.
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	Ferita completamente cicatrizzata.
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	Ferita completamente cicatrizzata.
5	Taglio settico	» »	—	Ferita completamente cicatrizzata.

Bacterium fluorescens liquefaciens Flügg e III.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 298	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	» »
3	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$	» »	—	Ferita cicatrizzata, tessuti integri.
4	Taglio asettico di controllo	» »	—	Completa cicatrizzazione dei tessuti.
5	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	Completa cicatrizzazione dei tessuti.
6	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	Completa cicatrizzazione dei tessuti.
7	Taglio settico	» »	—	Completa cicatrizzazione dei tessuti.

Bacterium fluorescens liquefaciens Flügge IV.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 298	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	» »	—	» »
3	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	» »	—	» »
4	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
5	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
6	Taglio settico	» »	—	» »

Bacterium I.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	giorni 276	—	Completa cicatrizzazione della ferita.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con $H_2 O_2$.	» »	—	Completa cicatrizzazione della ferita.
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	Completa cicatrizzazione della ferita.
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	Completa cicatrizzazione della ferita.
5	Taglio settico	» »	—	Completa cicatrizzazione della ferita.

Bacterium II.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $Hg Cl_2$.	giorni 276	—	Tessuti in parte necrosati ma senza alcun indizio di gomma.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $Hg Cl_2$.	» »	—	Tessuti in parte necrosati ma senza alcun indizio di gomma.
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	Cicatrizzazione completa.
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Bacillus mycoides Flüggé.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSEVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 261	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Bacillus I

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSEVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 260	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Bacillus II

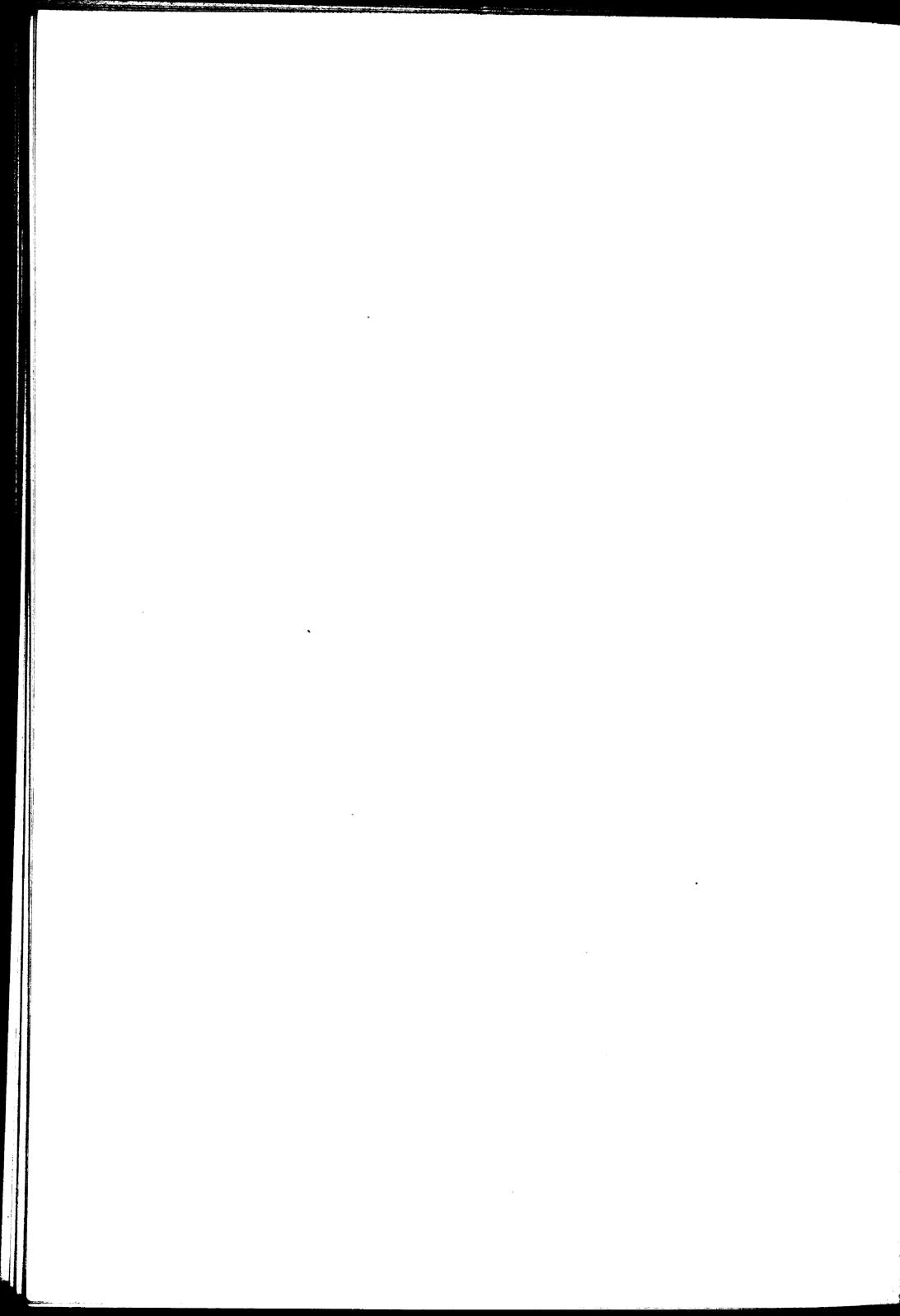
N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSEVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	giorni 276	—	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1 ‰ di Hg Cl ₂	» »	—	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	—	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	—	» »
5	Taglio settico	» »	—	» »

Streptotrix sp.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con H_2O_2 .	giorni 298	-	Ferita cicatrizzata.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con H_2O_2	» »	-	» »
3	Taglio asettico di controllo	» »	-	» »
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	-	» »
5	Taglio settico	» »	-	» »

Micelio sterile.

N. d'ordine	NATURA DELL'INOCULAZIONE	Durata dell'esperienza	Risultato	OSSERVAZIONI
1	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $HgCl_2$	giorni 84	+	Ramoscello essiccato con abbondante produzione di gomma al disotto della ferita d'inoculazione.
2	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $HgCl_2$	» »	-	Ramoscello essiccato.
3	Taglio asettico di controllo	» »	-	Ferita in parte cicatrizzata.
4	Inoculazione a contatto aereo	» »	+	Ramoscello essiccato con abbondante produzione di gomma al disotto della ferita d'inoculazione.
5	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $HgCl_2$	» »	+	Sgorgo di gomma dalla ferita.
6	Inoculazione su ramoscello non lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $HgCl_2$	» »	+	» » » » »
7	Taglio asettico di controllo	» »	-	Ferita in parte cicatrizzata.
8	Inoculazione a contatto aereo	» »	-	» » » »
9	Inoculazione su ramoscello lignificato previa sterilizzazione con soluzione 1‰ di $HgCl_2$	giorni 272	-	Ferita cicatrizzata.
10	Taglio asettico di controllo	» »	-	» »
11	Inoculazione a contatto aereo	» »	-	» »



BIBLIOGRAFIA

- ADERHOLD e RUHLAND. — *Ist der Gummifluss des Steinobstes durch Bakterien verursacht?* — Mitteilungen aus der Kais. biologischem Anstalt für Land- und Forstwirtschaft in Dahlem bei Steglitz. — Berlin, 1906, Heft 2.
- ADERHOLD e RUHLAND. — *Der Bakterienbrand der Kirschdäume.* — Arbeiten aus der Biologischen Anstalt für Land und Forstwirtschaft. Bb. 5, H. 6.
- BACCARINI. — *Sul mal nero delle viti.* — Malpighia, 1892.
- IDEM. — *Il mal nero della vite. (Bacillus vitivorus).* — Staz. Sperim. Agr., 1894, p. 490.
- BEIJERINCK e RANT. — *Wundreiz, Parasitismus und Gummifluss bei den Amygdaleen.* — Centralblatt f. Bakt., II Abt., Bd. XV, 1906, p. 366.
- BRIOSI. — *Intorno al male di gomma degli agrumi.* — Atti Acc. Lincei, Sez. 3.^a, Vol. II, 1878.
- BRIOSI e FARNETI. — *Intorno alla causa della moria dei castagni (male dell'inchiostro) ed ai mezzi per combatterlo.* — Milano, 1909.
- BRZENZINSKI. — *Einige Bemerkungen über die Krebs- und die Gummkrankheit der Obstbäume.* — Centralblatt. f. Bakt., 2 Abt., Bd. XII, p. 632.
- BRZENZINSKI. — *Etiologie du chancre de la gomme des arbres fruitiers.* — Comptes Rendus Ac. Sc., Vol. 134, p. 1170-1902.
- BUSSE. — *Bakteriologische Studien u. d. Gummosis der Zuckerrüben.* — Zeitsch. f. Pflanz. Krankh., Bd. VII, 1897, p. 65-149.
- CASORIA e SAVASTANO. — *Il mal nero e la tannificazione delle quercie.* — Atti della R. Accademia dei Lincei, 1889.
- CAVARA. — *Batteriosi del fico.* — Atti dell'Accademia Gioenia di Catania, Serie 4, Vol. XVIII.
- IDEM. — *Intorno alla eziologia di alcune malattie di piante coltivate.* — Staz. Sperim. Agr. Ital., Vol. XXX, 1897.
- COMES. — *Il marciume delle radici e la gommosi della vite.* — Napoli, 1884.
- IDEM. — *Il mal nero e la gommosi nella vite ed in qualsiasi altra pianta legnosa e gli eccessivi sbalzi di temperatura.* — Atti del R. Istituto d'Incoraggiamento di Napoli, Dicembre 1887.
- IDEM. — *Sul preteso tannino solido scoperto nelle viti affette da mal nero.* — L'Agricoltura Meridionale, novembre 1882.
- CUGINI. — *Intorno ad una specie di bacillo trovato nel legno delle viti affette da mal nero.* — Stazioni Sperim., XXIII.

IDEM. — *Ricerche sul mal nero della vite.* — Ann. della Società Agraria di Bologna, Vol. XI, 1882.

DAILLE. — *Observations relatives à une note de Prillieux et Delacroix sur la gommose bacillaire des vignes.* — C. R., 119, p. 751.

DÜGGELI. — *Die Bakterienflora gesunder Samen und daraus gezogener Keimpflänzchen.* Centralblatt f. Bakt., 2 Abt., Bd. XII, p. 602, 695, XIII, 56, 198.

FÜEX. — *Maladies du pêcher.* — Le progrès agricole et viticole. — 25 année. N. 5 Fervier 1908, p. 104-137.

JADIN e BOUCHER. — *Sur la production de la gomme chez les Moringa.* — Comptes Rendus de l'Acc. de Scien., Tome CXLVI, N. 12, p. 647.

GAROVAGLIO e CATTANEO. — *Studi sulle dominanti malattie dei vitigni.* — 1878.

GAROVAGLIO. — *L'antracnosi della vite.* — 1878.

GRUSS. — *Ueber Lösung u. Bildung der aus Hemicellulose bestehenden Zellwände und ihre Beziehung zur Gummosis.* — Bibliot. Botan., 1896, H. 39, 13 p.

LAGERSEIM. — *Mycologische Studien. III Beiträge zur Kenntnis der parasitischen Bakterien und der bakterioiden Pilze.* — Meddelanden från Stoikholms Högskola, Bd. 26, 1900 Afd. III, N. 4.

LIEBERMEISTER. — *Polmoniti acute e croniche.* — Nel Manuale di Medicina pratica di W. Ebstein e F. Schwalbe, Traduz. ital. Roma, S. E. Dante Alighieri.

LUDWIG. — *Bemerkung zu Dr. W. Holtz' Arbeit über Baumflüsse.* Centrblatt. f. Bakt., 2, VII, 599.

LUDWIG. — *Die Genossenschaft der Baumflussorganismen. Sammel Referat.* — C. f. B. 2. II. 337.

LUDWIG. — *Beobachtungen über Schleimflüsse der Bäume im Jahre 1898.* Zeitschr. f. Pflanzkrankh., Bd. 9. 1899, p. 10

LUSTIG. — *Patologia generale.* — Milano, 1905.

KÜSTER. — *Pflanzenpathologie.* — Jena, 1904.

MACCHIATI. — *Ricerche sulla biologia del Bacillus Baccarini (B. vitivorus Baccarini).* — Stazioni Sperim. Agrarie Ital., 1897.

MACCHIATI. — *Ueber die Biologie des Bacillus Baccarini.* — C. f. B., 2, IV, 332.

MAJMONI. — *Due casi di gomma da necrobiosi traumatica sui rami e sul fusto del Citrus Limonum.* — Bollettino dell'Arboricoltura Italiana, Anno V, 1909.

MANGIN. — *Sur la présence de thylles gommeux dans la vigne.* — C. R., 119, p. 514.

MANGIN. — *Sur la gommose de la vigne.* — Estrat. dalla Revue de Viticult., 1895.

MANGIN. — *Sur la prétendue gommose bacillaire.* — Estrat. de la Revue de Viticult., 1895.

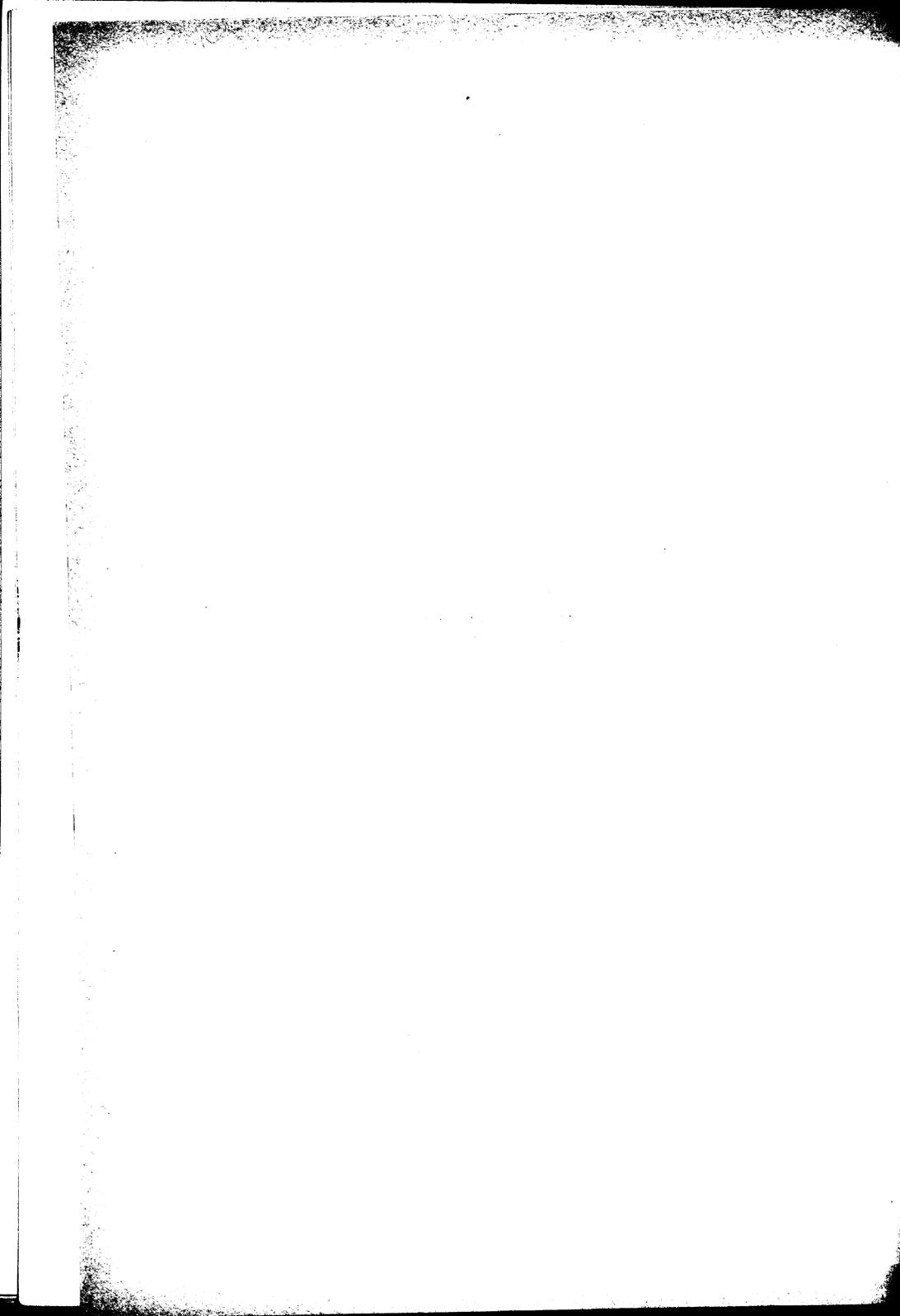
- MIKOSCH. — *Untersuchungen über die Entstehung des Kirsch gummitzbeer.* — D. k. wiss. ak. in Wien. Matk. naturw. classe, Bd. CXV, 1906, p. 911-961.
- PANTANELLI. — *Gommosi da ferita, Thrips ed acariosi delle viti americane in Sicilia.* — Atti Accad. Lincei. Rendiconti, Vol. XIX, I Sem., p. 344.
- PEGLION. — *Marciume radicale delle piantine di tabacco causato dalla Thielavia basicola Zopf.* C. f. B., 2, III, 580.
- PEGLION. — *Bacteriosi del Gelso.* — C. f. B., 2, III 10, 60 e Stazioni Sperim. Agrarie Ital., XXX, 1897.
- PEGLION. — *Eine neue Krankheit des Hanfes (Bacteriosis des Stengels).* — Zeitschr. f. Pflanz. Krankh., Bd. VII, 1897, p. 81.
- PEGLION. — *La bacteriosi della Canepa.* — Rend. Lincei, Vol. XI, III, 1902. p. 32-34.
- PETRI. — *Ricerche sopra la batteriosi del fico.* — Rendiconti Accad. Lincei, Vol. XV, Roma, 1906, p. 644-651.
- PETRI. — *Ricerche sopra i batteri intestinali della Mosca Olearia.* Roma, Bertero, 1909.
- PIROTTA. — *Primi studi sul mal nero.* — Viti Americane, Alba, 1882.
- PRILLIEUX e DELACROIX. — *La gommose bacillaire des vignes.* — C. R., 118, p. 1430.
- RANT. — *Die Gummosis der Amygdalaceae.* — These de Doctorat, Amsterdam, 1906.
- RATHAY. — *Ueber das Auftreten von Gummi in der Rebe und über die Gommose bacillaire.* — Jahresb. der k. k. Önologisch. entomolog. Lehranstal in Klosterneuburg. Wien, 1896.
- REINTZER. — *Über die Enzyme des Akaziengummi und einiger anderer Gummiarten.* — Hopp — Seylers Zeitschrift f. physiolog. Chemin. Bd. 61, 1909, p. 352-394.
- » — *Erwiderung betreffend die Enzyme des Akaziengummi.* — Ivi., Bd. 64, Heft. 2, p. 164-168.
- RUHLAND. — *Ueber Arabinbildung durch Bakterien und deren Beziehung zum Gummi der Amygdaleen.* — Ber. d. deutsch. bot. gesell., Bd. XXIV, 1906.
- SAVASTANO. — *I fatti traumatici nella gommosi degli agrumi ed amigdalee.* — Ann. Scuola Agr. Portici, Vol. IV, 1885.
- SAVASTANO. — *Esperimenti sui rapporti tra i fatti traumatici e la gommosi.* — N. Giorn. bot. ital., Vol. XIX, 1887.
- SAVASTANO. — *Un rimedio complementare per la gommosi degli agrumi.* — Boll. Arb. ital., Vol. I, Napoli, 1905.
- SAVASTANO. — *Il bacillo della tubercolosi dell'olivo.* — Atti della R. Accademia dei Lincei, 1889.
- SAVASTANO. — *Il marciume delle radici ed il trapianto degli alberi.* Boll. Entom. Agr. e Patol. veget. Vol., VIII, p. 229.

- SAVASTANO. — *Patologia arborea applicata*. — Napoli, Giannini, 1910.
- SMITH. E. F. — *Beobachtung über eine bis dahin unbekannte, durch Bakterien verursachte Krankheit, die durch die gewöhnlichen Stomata in die Pflanze eindringt*. — C. f. B. 2, X, 744.
- SMITH. E. F. — *Ursache der Cobb'schen Krankheit des Zuckerrohrs*. Centr. f. Bakt., 2, XIII, 729.
- SMITH R. G. — *Bakteriologisches Laboratorium der Linnean Society of New South Wales*. — Centralblatt. f. Bakt., 2, VIII, 596.
- SMITH. R. G. — *The bacterial origin of the gums of the arabin group*. — Centralblatt. f. Bakt., 2, X, 61.
- SMITH. R. G. — *Der bakterielle Ursprung der Gummiarten der Arabingruppe*. — Centralblatt f. Bakt., 2, XI, 698
- SMITH. R. G. — *Der bakteriellen Ursprung der Gummiarten der Arabin gruppe. Die Ernährung von Bacterium Acaciae*. — Centralblatt. f. Bakt., II Abt., Bd. XV, 1905, p. 380.
- SMITH. R. G. — *Der Schleim von Dematium pullulans*. — Centralbl. f. Bakt., II Abt., Bd. 15, p. 793.
- SMITH. R. G. — *The probable bacterial origin of the gum of länseed mucilage. (Bacillus limi nov. spec.)*. — Proceed. of the Linnean Soc. of N. S. Wales, 1903 a 1905.
- SMITH. R. G. — *Der Bakterielle Ursprung der vegetabilischen Gummiarten*. — Pharmazeutische Praxis, Jahrg. V, heft 4, p. 113-114.
- SMITH. R. G. — *The bacterial origin of Macrozame gum. (Bact. macrozamia n. sp.)* — Proceed. of the Linnean Soc. of. New South Wales, p. 863.
- SMITH. R. G. — *The nutrition of Bacterium acaciae*. — Proceed. of the Linnean Soc. of New South Wales, 20, IX, 904.
- SMITH R. G. e BUTLER. — *Gum disease on Citrus trees in California*. — Sacramento, 1908.
- SORAUER. — *Feldversuche zwecks Festellungs einer Abhängigkeit der Bakteriosen Gummosis der Zuckerrüben von Witterung u. Bodeneinflussen*. — Blaster. f. Zuckerrübenbau, Bd. IV, 1897, p. 81.
- Idem. — *Die bakteriöse Gummosis der Zuckerrüben*. — Blätter für Zuckerrübenbau, 1894, p. 9.
- VESQUE. — *Citato da Comes nel suo lavoro sul marciume del fico*.
- WIESNER. — *Unwanlung d. Cellulose in Gummi und Schleim*. — 1885.
- ZIMMERMANN. — *Ueber Ambrosiakäfer und ihre Beziehungen zur Gummibildung bei Acacia decurrens*. — Centralbl. f. Bakt., II Abt., Bd. XX No. 21-24, p. 716.



SPIEGAZIONE DELLA TAVOLA

- Fig. 1. — Colonie in gelatina, di 72 ore di sviluppo, del batterio « tipico » del mal nero della vite (Naso), stipite N. 1.
- Fig. 2. — Idem, idem, stipite N. 11.



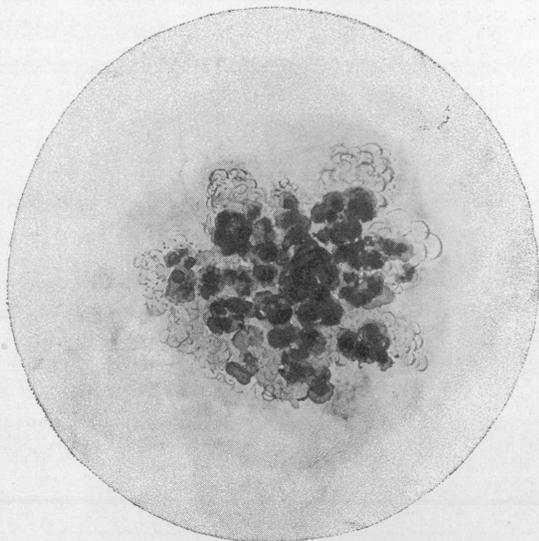


Fig. I.

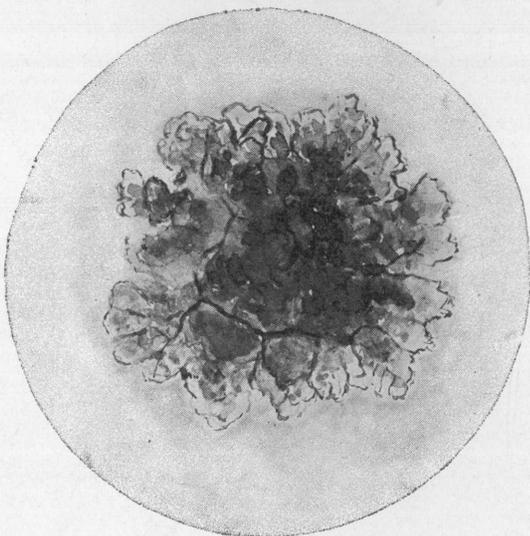


Fig. II.

