INSTITUTO DE MEDICINA ANIMAL

Bombyx mori L. y Nosema bombycis Näegeli, 1857 (1)

DR. RODOLFO J. ROVEDA (2)

Con motivo de la última guerra mundial, los países sud-americanos se encontraron en la necesidad, de resolver la falta de seda natural que importaban de naciones beligerantes o no, pero que por diversas razones derivadas de esa situación, no le es permitido ahora, disponer de dicho producto.

La seda natural constituye una parte de los elementos llamados de defensa nacional, este y otros factores contribuyeron a la creación de la División de sericicultura, en el Ministerio de Agricultura de la Nación; la que con la urgente necesidad de obtener seda natural, imprimió un fuerte impulso a nuestra industria sericícola, mediante propaganda adecuada, y, remitiendo huevos de Bombyx mori a quien los solicitara ya sea mediante una pequeña paga o gratuitamente. Este intenso reparto de semilla de gusano de seda, dió motivo a la comprobación de que el viejo concepto de que no existia «pebrina» en la República Argentina, era un error.

La enfermedad que universalmente afecta y disminuye cuando no diezma toda una explotación sericícola, es la «pebrina» — o nosema del gusano de seda — cuyo agente etiológico es el *Nosema bombycys* Näegeli, 1857.

Nuestro país por diversos factores no es de los más favorecidos para dedicarse a esta industria; no obstante como la necesidad obliga, circunstancialmente nos hallamos abocados a ella; para otros es una importante y permanente fuente de riqueza.

- (1) Recibido para su publicación en Noviembre de 1945.
- (2) Subjefe de Investigación.

Para beneficio de todos, nos empeñamos en ofrecer una contribución a este problema desde el punto de vista sanitario.

Comenzamos por realizar estudios bionómicos en el gusano de seda, animal de experiencia, motivo principal de nuestra preocupación: «la pebrina».

Dividimos esta contribución en dos partes: Bombyx mori L. y Nosema bombycis Näegeli, 1857.

Bombyx Mori L.

El gusano de seda es un animal doméstico, por cuyo motivo es obvio significar la necesidad de que todo médico veterinario lo conozca, y, estudie sus enfermedades.

Como sabemos este animal en las primeras edades de su vida, necesita alimentarse con hojas tiernas de morera, porque su aparato bucal inmaturo no le permite morder hojas duras. Este es uno de los problemas que tratamos de resolver, por cuanto la naturaleza de las investigaciones que perseguimos exige poder continuar con la evolución del gusano de seda, no sólo durante la época de su ciclo normal, sinó también tanto como sea posible.

En el Instituto de Enfermedades Parasitarias de la Facultad de Agronomía y Veterinaria de Buenos Aires — lugar de nuestra experiencia — las plantas de morera comienzan a brotar a fines del mes de agosto, momento en el que podemos iniciar la cria del Bombyx mori L. En el mes de febrero-marzo las hojas de esta planta resultan duras para ser administradas a los gusanos en sus primeros días de vida; por cuyo motivo recurrimos a triturar, pisar, macerar, las hojas de morera de esta época, para tratar de alimentar a nuestro gusanillos. Estas pruebas no nos han dado resultado.

Ensayamos también la administración de hojas de lechuga y otras plantas de la época, sin eficacia. El resultado más favorable lo hemos conseguido haciendo una papilla con las hojas duras de morera y envuelta est a papilla en una hoja, consiguiendo al cabo de 20 hs. aproximadamente su ablandamiento que permite así a los gusanillos morder la hoja por la cara opuesta a la papilla. No obstante este método tampoco permitió la cría del gusano de seda.

Probamos la conservación de las hojas de morera por diversas formas. Los mejores resultados los obtenemos, acondicionando las hojas en paquetes bien prensados, envueltos en papel impermeable, a una temperatura de 1-4° C. y humedad abundante que conseguimos mojándolas periodicamente.

Habiendo fracasado en el intento de alimentar estos animales con diferente tipo de hojas y de preparados con ellas; recurrimos a la Gobernación del Chaco, donde las condiciones climáticas permiten encontrar hojas tiernas de morera, ya, en el mes de julio.

Recibimos el 2 de agosto de 1944 del mencionado territorio Nacional, hojas de la planta en cuestión, muchas de las cuales alcanzaban dimensiones de 25 cm de largo por 16 cm de ancho. Llevadas a la heladera en las condiciones antes mencionadas, nos permiten alimentar gusanos de seda hasta el 18 de setiembre en perfectas condiciones, época en que las plantas de esta especie en la ciudad de Buenos Aires disponen de abundante follaje.

Nos falta encontrar la solución al problema de la alimentación durante los meses de febrero a junio.

El inicio de nuestras observaciones bionómicas, lo realizamos en (40) lotes de huevos de *Bombyx mori*. Estos huevos son colocados después del desove en heladera a temperatura de 4° C. y a humedad relativa de 90-100 por ciento.

En la planilla adjunta puede observarse el desarrollo de esta experiencia. Las cifras colocadas sobre las líneas, significan el número de orugas, erisálidas o mariposas y debajo de las líneas la fecha.

Resumen de 40 lotes.

En los (40) cuarenta lotes que anteceden, hemos comprobado que una maduración de 3-4 meses a una temperatura de 4°C y humedad relativa de 90-100 por ciento, son factores óptimos para la evolución del gusano de seda.

Conseguimos con este procedimiento hacer de una raza monovoltina una bivoltina.

A menor tiempo de maduración del indicado, disminuye el índice de fertilidad.

A mayor tiempo de maduración del indicado, la fertilidad disminuye tanto como hasta llegar a (0) cero.

Nosema Bombycis Näegeli, 1857

El Nosema bombycis — agente etiológico de la «pebrina» — es considerado como uno de los mayores enemigos de la industria sericícola. Lo que ha dado motivo a estudio de diversos procedimientos para combatirlo.

Desde el método inventado por Gaetano Cantoni — que es conocido comúnmente con el nombre de sistema celular Pasteur — hasta el de la

15-XI 1943				
		2 3 4	1 2 3 4	
	15-XII	25-V1 Z(-V1 16-V11 Z-V111	2(-1) 29-1) 30-1) 3-1 1 2 3 4 5 8	16.A 20.A 22.A
σ. , , ,	1943 *	10-VII 9-IA 9 VIII	0-1/1 (-A 0-A 12-A 14-A 11-A 1 2 0 0 1 2 0	1 2 2 4 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7 7
		2 5 7	(-A 20-A 1 4 7	23-A 13-A1 1 3 4
2	1943 15-1	31-I 1-II 3-II 5-II 5 8 11 23	3 6 8 10	17-III 18-III 19-III 1 4 6 8
	n ent -	31-I 2-II 3-II 10-II 0 17 30	29-11 1-111 4-111 9-111	10-III 13-III 18-III 20-III
4		11-2	15-111	19-III 20-III 21-III 22-III 23-III 25-III
A"	30-I 1944	5 20 46 63 73 75 82 84 100 10-II 11-II 13-II 14-II 15-II 16-II 17-II 18-II 19-II	2 15 34 43 14-	1 6 25 30 35 38 26-111 29-111 4-1V 5-1V 8-1V 11-1V
***	10111	43 85 130	5 10 15 24 80	6 16 55 60 68 74
2	15-11	90 150	3 15 30 100	1 4 20 40 80 90
		26	9	17-IV 19-IV 22-IV 24-IV 27-IV 28-IV
		15-III 17-III	14-IV 16-IV 18-IV 19-IV 20-IV	29-IV 1-V 3-V 7-V 10-V
*	16-111	75 110	14 28 41 49 68 100	4 5 34 68 85 ar v ag v a vi c vi ir vi
A	*	100	2 10 22 43 65 100	3 35 71 90 99
		100	3-V 6-V 10-V 14-V 18-V 25-V 3 14 80	27-V 2-V1 6-V1 15-V1 23-V1 3 90 49 65 80
		II 13-III 17-III	19-IV 20-IV 25-IV	6-V 10-V 14-V 18-V 20-V
*		18-7	3-VII 15.VII 31-VIII	27-VII 94-VIII
2	*	10		00 VIII
*	V-12	2 mueren 2 mueren 2 mueren	4-VII No hay crisálidas	70-07
*	*	18-V1 30-V1 19-V11 1 muere 2	1	1
*.	2-VI	15-VI 30-VI 7-VII 20-VIII 6 2 mueren 1 muere 2 mueren 1	14-VIII No hay crisálidas	4-IX
	*	3-VII 4-VII 6-VII 2 mueren 1 muere 1 muere 3	No hay crisálidas	
15-XI		4-VII 6-VII 7-VII		
	15-XI 1943	3-111 1944 16-111 3-111 2-V 2-V 2-V 2-V1	4 4.5 85 130 9 90 150 25-II 26-II 28-II 20 40 90 13-III 15-III 17-III 20 75 110 25-III 26-III 29-III 30 100 25-III 26-III 29-III 5 55 100 12-III 13-II 17-III 10 9 8 14-V 18-V 4 7 2 mueren 2 mueren 1 muere 2-VI 7-VI 18-VI 30-VI 19-VII 22-VIII 2 6 1 muere 2 mueren 1 muere 2 6 1 mueren 2 mueren 1 muere 3 0-VI 19-VII 1-VIII 4 6 2 mueren 1 muere 2 mueren 2 16-VI 20-VII 1-VIII 4 7 2 mueren 1 muere 2 mueren 1 10-VI 30-VII 1-VIII 4 6 2 mueren 1 muere 2 mueren 1 10-VI 30-VII 1-VIII 4 7 2 mueren 1 muere 2 mueren 1 10-VI 30-VII 1-VIII 4 7 2 mueren 1 muere 2 mueren 1 10-VII 30-VII 1-VIII 4 7 2 mueren 1 muere 2 mueren 1 10-VII 30-VII 1-VIII 4 7 2 mueren 1 muere 3 mueren 1 10-VII 30-VII 10-VIII 5 7 mueren 1 muere 1 mueren 3 mueren	1

19.3 19.4	Lote	Desov.	Hel.	Estuf.	ORUGAS	CRISALIDAS	MARIPOSAS
1944 16-VII 1 mueren por hambre 1944 16-VII 20-VII 18-VII 20-VII 20-VII 1944 2-VIII 2-VIII 3-VIII 3-V	N° 21		15-XI 1943		3-VII 4-VII 8-VII 5 mueren por hambre 3-VII 8-VII		
19-VII 2	N° 22	*	*	4-VII		!	ı
19-VII 2 2 2 2 2 2 3 3 3 3	N° 23	*	*	*		!	
No hay eclosión (larvas en hat 1944 T-IX 10-IX 1-X 1944 T-IX 10-IX 1-X 1944 No hay eclosión (larvas en hat 1943 1943 1944 (larvas muertas) 1944	N° 24	*	*	19-VII	2 2 mueren larvas en huevos muertas		1
1944 1 1 2 1 1 2 1 1 2 1 1	N° 25 N° 26			**************************************	No hay eclosión (larvas en huevos muertas) No hay eclosión (larvas en huevos muertas)		
VIII	No 27	*	*		1 muere (larvas en huevos muertas)		
VIII 1 2 (mueros en VIII 1 1 2 (mueros en VIII 1 1 1 2 (mueros en VIII 1 1 1 2 (mueros en VIII 1944 7-IX 10-IX 1-X 1944 No hay eclosión (larvas en hu 1943 1943 1944 (larvas muertas) 1944 Nevos secándose 1944	N° 28	A	*				
1948 6-IX 15-XI 15-XI 6-IX 1943 1943 1944	N° 29		*				
15-X1 15-X1 1943 1943	N° 30		*		No hay eclosión (arvas en huevos muertas)		
A A A A A A A	N° 31				No hay eclosión (larvas muertas)	1	!
A A A A A A A A A A A A A A A A A A A	N° 32	*	*	22-IX 1944	(larvas muertas)	1	
A A A A A	N° 33 N° 34		* *		(larvas muertas)		1]
	Nº 35		*		(larvas muertas)		!
* * * *	00 10		*		Tuevos secandose		
*	N° 37 N° 38		* *	13-XI	Huevos secándose Huevos secándose		
	N° 39 N° 40		* *	1944 30.X1	Huevos secos		

inmunización de Polter, varios ensayos se realizaron, con semejante objeto.

Por diversos motivos, y, en especial de índole biológico, entendemos que uno de los caminos más propicios para la lucha contra esta enfermedad debe buscarse por medios físicos.

Al efecto, tomamos veinte lotes de huevos de *Bombyx mori* afectados de «pebrina», los que después de un tiempo de haber sido desovados fueron llevados, a temperatura de 4° C. y luego a 20-22° C. Este procedimiento nos permite obtener el ciclo evolutivo completo del gusano de seda, lo mismo que comprobaciones del parásito en todas las edades del mismo.

Consignamos los resultados obtenidos en los cuadros siguientes; significando las cifras colocadas sobre las líneas, el número de orugas, crisálidas o mariposas y debajos de las líneas las fechas.

Resumen de los veinte lotes con «pebrina».

En los veinte lotes que anteceden correspondientes a huevos de Bombyx mori, parasitados con Nosema bombycis — hemos comprobado la presencia del Microsporidio hasta tres meses, después de permanecer a una temperatura de 4° C y 90-100 por ciento de humedad relativa. Pasado este lapso — en dichas condiciones — no encontramos «pebrina» en los gusanos y mariposas examinados.

Resumen de otros veinticinco lotes con «pebrina»

A veinticinco lotes de huevos de gusanos de seda, parasitados con «pebrina» los sometemos a la acción de una temperatura de 4º C bajo cero y humedad relativa de 90-100 por ciento.

Los lotes de huevos que permanecieron menos de seis días en las condiciones antes mencionadas, comprobamos la presencia de «pebrina» en orugas y mariposas.

Los lotes que permanecieron más de seis días, no permitieron comprobar la presencia del parásito.

Consideraciones generales

Sin mengua para cualquier otro método de profilaxis para la «pebrina» entendemos que la baja temperatura debe figurar — muy especialmente — en las investigaciones futuras destinadas a este objeto.

Por cuanto nosotros, sólo iniciamos una tarea que debe ampliarse desde todo punto de vista, esperamos que otros investigadores nos sigan. Según nuestras observaciones, la baja temperatura durante determinado tiempo, destruye al *Nosema bombycis*; mientras que los huevos del gusano de seda sólo sufren en determinadas condiciones, algunas de las cuales dejamos señaladas.

Las temperaturas inferiores a 0° C. que disminuyen la fertifidad de los huevos del gusano de seda, sólo deben aplicarse, cuando esté probada la infestación que nos ocupa.

La búsqueda del Microsporidio debe hacerse — como es sabido — en la mariposa. Si es necesario podrá efectuarse en cualquier estado evolutivo de la misma, empleando para ello el examen directo aconsejado por Pasteur. Cuando se requiera la investigación del parásito en los huevos de Bombyx mori, hay que recurrir a métodos de enriquecimiento. Nosotros usamos el siguiente: trituramos una cantidad de huevos de gusano de seda, en un mortero, al que se le agrega progresivamente veinte volúmenes de agua; filtramos a través de doble malla de gasa; el filtrado se centrifuga, y el sed mento se observa entre porta y cubre-objeto. Preferimos este método al de Pigorini por su mayor sencillez.

CONCLUSIONES

Bombyx mori L.

- 1°. La maduración de 3-4 meses a temperatura de 4°C. y humedad relativa de 90-100 por ciento, son condiciones favorables para la evolución del gusano de seda.
- 2°. Menor tiempo de maduración del indicado, disminuye el índice de fertilidad.
- 3°. Mayor tiempo de maduración del indicado, la fertilidad disminuye tanto como hasta llegar a cero.
- 4°. Por medio de estos factores temperatura y humedad transformamos una raza monovoltina en bivoltina.

Nosema bombycis Näegeli, 1857

- 1°. El Nosema bombycis según nuestras observaciones es destruído después de mantener los huevos de Bombyx mori a una temperatura de 4°C y humedad relativa de 90-100 por ciento; durante tres meses
- 2°. El corpúsculo de la «pebrina», muere después de seis días de permanecer a una temperatura de 4°C. bajo cero y humedad relativa de 90-100 por ciento.

CONCLUSIONS

Bombyx mori L.

- 1st. The maturity of 3-4 months at a temperature of 4° C and relative humidity of 90-100 %, are favourable conditions for the silk-worm's evolution.
 - 2nd. Lesser time of maturity, decreases the fertility index.
- 3rd. Fertility decreases so much as to arrive at zero when using more maturity time.
- 4th. By means of these factors temperature and humidty we transform a monovolline race into a bivoltine one.

Nosema bombycis Naegeli, 1857

- 1st. According to our observations *Nosema bombycis* is destroyed after maintaining the eggs of *Bombyx mori* at a temperature of 4° C and 90-100 % relative humidity during three months.
- 2nd. The *corpuscle* of «pebrina» dies after remaining six days at a temperature of 4° C. below O°C, and a relative humidity of 90-100 %.

BIBLIOGRAFIA

- Pasteur L.: Maladies des vers à soie. París, 1870.
- DUCLAUX E.: Evolution des corpuscules dans l'oeuf de ver a soie. Annal. Instit. Past. T. IX, pág. 885. París, 1895.
- Montanari M.: Sericicultura. Rev. Cent. Est. Agron. y Vet. T. I. N° 3, pág. 19. 1908.
- Foá A.: Influenza del maschio nella trasmissione della pebrina nel baco da seta. R. Inst. Sup. Agr. di Portici. Serie II, Vol. XVII. Portici, año 1922.
- Jucci C., Inmunita negli insetti. Annali d'Igiene 1923.
- DA FONSECA FIL: Una observação de grande importancia pratica na sericultura. Rev. de Industria Animal, Vol. 2, Nº 1.
- Foá A.: Le spore del Nosema bombycis resistono da un anno all'altro? Bol. Staz. di Bachic. e gelsic. Ascoli Piceno. Anno 11, N° 4, 1923.
- Jucci C.: Salla curva di sviluppo del baco da seta. R. In. Sup. Agrar. di Portici. Vol. XVII. 1923.
- Foá A.: Modificazione al ciclo morfológico e biológico del Nosema bombycis Näge. R. Inst. Sup. Agrar. di Portici. Vol. XIX. 1924.
- Kudo R.: A biologic and taxonomic study of the microsporidia. Illinois Biol. Monogr. año 1924.
- Jucci C.: La fecondité nei Bombys mori. R. Inst. Sup. Agrar. Port. Vol.1, pág. 42, 1926.
- Canela P.: El porvenir de la industria sericícola en la Rep. Arg. Anal. S. R. Argentina, Vol. LX, pág. 43, 1926.
- Vercellio C.: Influencias de las radiaciones ultravioletas sobre el gusano de seda. Bol. Minist. Agric. de la Nac. T. XXIX, pág. 119, 1930.

- Pezzini I.: Ricerche sul comportamento del Nosema bombycis Nägeli nel uovo del Bombyx mori durante lo sviluppo embrionalle. Bol. Zoo. Agr. e Bach. Vol. III. Milano, 1930-31.
- GRUEMBERG B. M.: Dermestidae as pests on Sericulture. Rev. of App. Entom. Vol. XXI. part. 2, London, 1930.
- Gruemberg B. M.: Un étude sur les Dermestidae, ennemie de la sericulture. Taschent. N° 3-4, 1931.
- Candura G.: Prima serie di ricerche per conoscere gli ospiti del Nosema Bombycis che produsce l'âtrofia parassitaria del baco da seta. Annali di Tecnica Agraria, 1931.
- Kudo R.: Handbook of protozoology. Baillere, Tindall e Cox. London. 1931.
- La historia de la industria del gusano de seda. An. S. R. de Rosario, 1932.
- Paillot A.: L'infection chéz les insectes. París, 1933.
- Paillot A.: Les enseignements de la campagne 1933 pour la prophylaxie des maladies à ultravirus du ver à soie. C. R. Acad. D' Agriculture, T. 19. pág. 1.104. 1933.
- Paillot A.: Les disenteries infectieuses du ver à soie. An Ins. Past. 1934.
- GILRGI D.: Studi sulla pebrina del Bombyx mori. Boll. del Lab. di zoolog. Agrar. e Bachic. del R. Inst. Sup. Agr. di Milano. Vol. VI. 1934-35.
- Grandori R.: Esperimenti sulla propagazione della pebrina attraverso il pulviscolo atmosferico. Boll. Zool. Agr. e Bach. Torino. Italia. Vol VII, 1936.
- Conforti L.: Ricerche sul comportamento del Nosema bombycis Nägelli. nei tessuti larvari del filugello ereditariamente infeto. Boll. Zool. Agrar. e Bach. Vol. VIII Torino, Italia, 1936.
- Provasoli L.: Sulla posibilità dell'alleramento del Bombyx mori in ambiente sterile. Boll. Zool. Agr. e Bach. del R. Ins. Sup. Agr. di Milano Italia, 1937-38.
- Polter V.: Inmunisation du ver à soie contre la pebrina. An. Inst. Past. 1938.
- Balli A.: Influenza della basse temperature sulla conserva ione della fecondabilita del Bombyx mori L. Atti. Soc. Nat. Mat. di Modena. Vol. 70. N° 18, 1939.
- Chiossi E.: L'azione della temperatura sulla durata della vita degli adulti di Bombyx mori L. Atti. Soc. Nat. Mat. di Modena. Vol. 70. Nº 18. 1939.
- Paillot A.: Contribution à l'étude cytologique et histo-physiologique du Bombyx mori pendant la mue. An. Epiphyties Phylog. T. V, N° 3, pág. 339. París, 1939.
- Foá A.: Bombyx mori-Hereditariedade e actimatação suas possibilidades biologicas no Nordesta Brasileiro. Bol. Min. Agr. Río de Janeiro. Julio, 1940.
- Firolova S.: Pecularities of maturation of infertilized eggs of Bombyx mori activated. by high temperature. C. R. de l'acad. des Sciences de l' U. R. S. S. Vol 27. N° 6 Moscú, 1940.
- Corradini P.: Alterazioni citologiche nella foglie di gelso conservate in cella refrigerata. Rev. Freddo 1940.
- DA FONSECA F.: Estivação-Hivernação e incubação dos ovos do Bombyx mori. Rev. Rural Brasil. T. 22, N° 261. Mayo, 1942.
- Da Fonseca F.: Considerações en torno da criação do bicho da seta. Agricultur Nº 2. Octubro, 1943.
- García Mata E.: La colaboración del laboratorio de Bacteriología de la Dirección de Ganadería con la División de Sericicultura. Minist. Agric. de la Nación. El campo. Enero, 1944.
- RINGUELET R.: El problema de la nosemosis o «pebrina» del gusano de seda en el País. Rev. Suelo Argentino, 1945.