

FRANCESCA NICETA

La partenogenesi naturale nel *Bombyx mori* L.

(Studio embriologico)

Cenni bibliografici (*)

Da quando fu dimostrato che la partenogenesi naturale è un fenomeno biologico comune in diverse specie d'insetti, numerosi furono gli studi rivolti ad accertare se tale fenomeno si verificasse anche nel *Bombyx mori*. Ma forse nessuna delle questioni che interessano la biologia di questo insetto fu tanto dibattuta come questa, portando a risultati quanto mai contraddittori.

Già nel 1859 Barthélemy (1) così si esprimeva parlando della partenogenesi nel Filugello: « J'ai pu me convaincre que la parthénogénèse existe pour le *Bombyx mori* ». Affermava egli inoltre che gli individui che nascono da uova non fecondate possono essere sia maschi che femmine, contrariamente a quanto avviene nelle Api, ove le madri vergini non producono che maschi. Questi risultati egli otteneva esclusivamente nelle generazioni estive inquantochè le uova partenogenetiche, dopo l'ibernamento, non avevano mai portato a sviluppo di bacoletti.

Nel 1861 il Jourdan (2) affermava che, sia nel mezzogiorno della Francia che in Piemonte e in Lombardia, era addirittura invalsa la pratica di riprodurre il filugello a mezzo di farfalle vergini.

Una tale asserzione veniva confermata, nel 1871, dall'autorità del Siehold (3), suscitando però profonde obiezioni da parte della Società Entomologica Italiana, poichè, affermavano i nostri entomologi, (4) una tale pratica non sussisteva affatto nelle citate regioni italiane.

Nel 1872 il nostro Versou, colpito dalle affermazioni dei due precedenti autori, iniziava una serie di esperienze onde risolvere il quesito della partenogenesi nel Bombyce del gelso, e da tali esperienze egli veniva a concludere: « Tra mezzo milione di uova,

(*) I numeri in parentesi rimandano alla bibliografia.

deposte da 1452 farfalle, appartenenti a tre distinte razze (mostrano a bozzolo giallo, giapponese annua a bozzolo verde e trivoltini gialli, di primo allevamento) io non ho potuto rinvenire un solo grano che poscia schiudesse, sia nell'autunno che nella primavera. Onde parmi doversi ammettere che nel *Bombice* del gelso, o la partenogenesi non esiste (e questo sarebbe il caso più verosimile), o esiste bensì, ma è tutt'altro che un fenomeno frequente e noto ai bachicoltori, come da taluno viene affermato ». (5).

L'esito di tali esperienze non poteva che contrariare sensibilmente il Siebold, il quale nel 1873, in una lettera diretta all'ingegnere Antonio Curò di Bergamo (6), teneva ad affermare che dietro nuove esperienze personali, da uova non fecondate di una generazione estiva di bivoltini, era riuscito ad ottenere alcuni baciolini.

In un'altra lettera (7) diretta ancora all'ingegnere Curò nel 1874 egli confermava tali risultati, poichè, con nuove esperienze, da tre fra tante centinaia di cartoline coperte di uova non fecondate, aveva ottenuto baci partenogenetici, e precisamente da una 53 baciolini, da un'altra 164, e dalla terza 38. Tali uova, è bene notare, contrariamente a quanto Barthélemy aveva precedentemente osservato, erano rimaste vitali e si erano sviluppate dopo un periodo di normale ibernamento.

Per chi, come la sottoscritta, ha seguito con ansietà le vicende di sviluppo di migliaia di uova partenogenetiche, senza avere la fortuna di vedere sbucare un solo baciolino, le cifre riportate dal Siebold, riescono addirittura sbalorditive.

Osservando però che il Siebold asseriva di aver ottenuto nascite per partenogenesi solo dalle deposizioni fatte da tre farfalle vergini, fra centinaia rimaste infeconde, sorge il dubbio che siano necessarie delle condizioni fisiologiche speciali affinché, nella specie *Bombyx mori*, femmine vergini depongano uova capaci di svilupparsi normalmente; e che debba trattarsi di condizioni difficili, rarissime a verificarsi, se solo tre tra le centinaia di farfalle in esame, avevano potuto raggiungerle. Questa riflessione concorda in certo modo con le esperienze, fatte più di recente da Cavazza (17), il quale è riuscito ad ottenere baci partenogenetici da uova deposte da farfalle che allo stato larvale avevano ingerito sostanze speciali. « Questi risultati, dice il Cavazza, sono interessanti, poichè dimostrano che gli agenti ingeriti dalla madre, giungono realmente, attraverso l'organismo di lei (probabilmente

modificandone o alterandone il ricambio materiale) a svolgere un'azione sulle cellule germinali ».

Ma è evidente che con alimentazione speciale della madre si passa alla partenogenesi sperimentale; e non è di questa che il Siebold discuteva.

Risultati pure fortunati otteneva il Massa (8), il quale isolando 25 bozzoli in camerette ricoperte da una finissima tela di metallo, ed ermeticamente (1) chiuse, otteneva 9 farfalle femmine di cui due fornirono prole partenogenetica.

I risultati del Siebold e del Massa stupirono senza dubbio il Verson, il quale nel 1875 aveva ripetuto le sue esperienze (9) e poi ancora nel 1889 (10) sempre senza migliore fortuna, poichè non riusciva mai ad ottenere la nascita di un solo baciolino partenogenetico. Di fronte a risultati così contraddittori, ottenuti da esperienze condotte quasi nella stessa maniera, e con gli stessi intendimenti, il Verson, pur inchinandosi davanti alla memoria del Siebold, « distinto naturalista, cui la scienza va debitrice di pregiati lavori », concludeva mettendo senz'altro in dubbio che nelle esperienze eseguite dagli altri autori con esito positivo si fosse ottenuto un perfetto isolamento di tutte le farfalle, e sospettando che qualche inosservato accoppiamento fosse avvenuto.

Così continuando, se seguiamo ancora fino ai giorni nostri, la serie di esperienze istituite a riguardo della partenogenesi nel *Bombyx mori*, vediamo che i risultati stanno ancora in strano contrasto. In Italia ad esempio, nel 1905 il Quajat (11) da uova vergini, trattate con stimoli speciali, riesce in qualche caso eccezionalissimo, a veder nascere un baciolino partenogenetico. In Francia, nell'anno successivo (12) Conte e Levrat, adoperando l'anidride carbonica come stimolo, riescono ad ottenere delle uova, che studiate col metodo delle sezioni al microtomo, mostrano solo un inizio di segmentazione, con la formazione di poche cellule ben costituite e di sfere vitelline ben fatte.

Ma tanto nelle esperienze di Quajat come in quelle di Levrat e Conte si trattava di partenogenesi artificiale.

Il Lecaillon invece (13, 14, 15, 16) asserì di aver ottenuto larve da uova di filugello, per semplice partenogenesi naturale.

In ampie e recenti ricerche Jucci (22, 23) riferì di aver riscontrato nella razza bivoltina giapponese *Arojiku* un'elevata tendenza alla partenogenesi naturale; molti embrioni maturi si formano,

ma muojono entro l'uovo senza aver la forza di rodere il guscio e di uscire alla luce.

Da quanto precede possiamo però rilevare che, sebbene numerose siano le ricerche sul problema della partenogenesi nel Baco da seta, tuttavia poco o quasi nulla si conosce sullo sviluppo embrionale delle uova non fecondate del *Bombyx mori*. Se escludiamo infatti Levrat e Conte (12), Grandori (19) e Teodoro (20), tutti gli altri studiosi dell'argomento si sono accontentati di osservare se uova non fecondate di *Bombyx mori* assumano, dopo la deposizione, una colorazione o un'altra, in qual proporzione tali uova dissecchino, e se in realtà si abbiano nascite di bacioli partenogenetici. Gli stessi studi embriologici del Grandori e del Teodoro, fatti entrambi su razze annue, ben poco ci dicono sull'argomento, dato che in tali razze lo sviluppo di uova partenogenetiche è una rara eccezione, ed in ogni caso si limita ad una segmentazione anomala che non conduce mai neppure alla formazione di una stria germinale normale.

Per risolvere il tanto ormai discusso problema della partenogenesi nel *Bombyx mori*, per metterne in luce i vari punti oscuri, per eliminare le numerose controversie esistenti, era dunque necessario riprendere in esame la questione, come lo stesso Jucci proponeva (23), dal punto di vista embriologico, sperimentando però su uova di razza polivoltine, le quali, come risulta dagli studi di Jucci, presentano più delle annue una tendenza alla partenogenesi naturale.

Preparazione del materiale

Le mie ricerche e le mie osservazioni furono perciò fatte su una tra le più comuni razze bivoltine, cioè sulla razza *Asojuku*, la medesima sulla quale Jucci aveva precedentemente sperimentato, e si riferiscono esclusivamente alla partenogenesi naturale.

Il materiale mi è stato fornito gentilmente dal Direttore dell'Istituto di Zoologia Agraria e di Bachioltura del R. Istituto Superiore Agrario di Milano, Prof. Remo Grandori, il quale, dopo avermi proposto l'argomento, è stato per me il vero Maestro che appassionò alla ricerca e guidò nei passi più difficili, prodigando

il tesoro della propria esperienza e dottrina. E' con infinita gratitudine che di tutto ciò ringrazio il mio Maestro.

Il 30 giugno 1928, isolando rigorosamente in 256 celle altrettanto farfalla femmine vergini ottenute da un allevamento primaverile furono fatte deporre le uova partenogenetiche.

Quarantacinque giorni dopo la deposizione e cioè il 15 Agosto 1928, in ben 236 celle si osservavano tutte le uova totalmente incolori ed essiccate, e come tali dette celle vennero eliminate.

Nelle 20 celle rimaste, tra le molte uova incolori e disseccate si notava una percentuale piuttosto elevata di uova, le quali, benché pigmentate, si erano completamente essiccate, ed inoltre una percentuale molto bassa di uova piuttosto turgide parzialmente colorate che presentavano più o meno accentuati gli avvallamenti caratteristici delle uova normalmente fecondate.

Appunto su tali uova ho concentrato il mio studio fissandone un certo numero ad intervalli, durante l'estivazione e durante l'ibernamento come segue:

- 1) uova fissate il giorno 15 Agosto 1928, precisamente 45 giorni dopo la deposizione (estivanti) N. 11
- 2.) uova fissate il 30 Agosto 1928, cioè 60 giorni dopo la deposizione (estivanti) N. 10
- 3.) uova fissate il 12 Novembre 1928, cioè a 4 mesi e 12 giorni dalla deposizione (estivanti) N. 16
- 4.) uova conservatesi ancora abbastanza turgide e colorate, tolte da celle tenute in locale freddo, e fissate il 4 gennaio 1929, cioè 6 mesi e 4 giorni dopo la deposizione (ibernanti) N. 30
- 5.) uova fissate il giorno 10 Marzo 1929, cioè 8 mesi e 10 giorni dalla deposizione (ibernanti) N. 4

Dopo tutte queste fissazioni rimasero ancora 24 uova ben colorate e turgide, delle quali il 10 marzo fu iniziata una regolare inerbazione. Rimasero inoltre altre 14 uova che per i loro caratteri di colorazione e turgidezza davano minor affidamento di ulteriore resistenza. Anche queste vennero incubate, come è detto più avanti.

Pur non avendo contato una per una le uova di tutte le 256 celle, da un conteggio parziale fatto su porzioni di parecchie delle ovature ottenute ho potuto stabilire che le femmine vergini avevano deposto in media 200 uova circa per ciascuna. E tale fecondità è normale, essendo noto che le farfalle non fecondate depongono un numero di uova molto inferiore a quello delle farfalle

normalmente fecondate. E poichè le deposizioni erano 256, il numero totale di uova in origine doveva aggirarsi intorno alle 50.000.

Ora, anche considerando come tendenti a sviluppo partenogenetico — anche in grado minimo — tutte le uova che presentarono parziale colorazione e conservarono turgidezza più o meno simile al normale, si tratta sempre di un totale di 95 uova su circa 50.000, e cioè di una percentuale del 0,19%.

La percentuale dunque di uova tendenti a sviluppo embrionale, anche parziale, per semplice partenogenesi naturale, è molto bassa, anche quando si tratti di uova di razza bivoltina. Questa mia affermazione è in contrasto con quella fatta da Jucci, il quale dà una percentuale di *embrioni maturi* dall'1 al 5%, avendo osservato la formazione di 637 embrioni maturi su 43.000 uova. Vedremo dopo come possa forse spiegarsi tale differenza di risultati.

Le 24 uova rimaste turgide il 10 marzo si differenziavano notevolmente per il loro aspetto, e furono tenute separate nei seguenti gruppi:

A) *cinque* di esse erano uniformemente pigmentate in giallo quasi bruno e presentavano i normali avvallamenti del guscio.

B) *dieci* erano invece rosate, non presentavano i normali avvallamenti, ma erano uniformemente turgide.

C) *nove* si presentavano ancora piuttosto turgide, ma il loro contenuto molto bruno era irregolarmente distribuito in una zona periferica circostante agli avvallamenti, cosicchè alcune si presentavano somiglianti ad una ciambella, altre a semiluna.

D) Le *quattordici* uova di cui sopra è detto, pur essendo rigonfie, si presentavano trasparenti, con un contenuto bruno limitato a una piccola regione.

Le quattro uova fissate tra quelle superstiti, il giorno dieci marzo, furono prelevate uno dal gruppo A); due dal gruppo B); uno dal gruppo C).

Dopo una settimana d'incubazione, portata gradualmente alla temperatura di 20° C., le uova del gruppo A) si mantengono ancora turgide, pigmentate in giallo tendente al bruno. Quelle del gruppo B) non presentano anch'esse all'esterno alcuna variazione, solo uno si è quasi completamente disseccato e per trasparenza mostra nell'interno un contenuto bruno, che si mantiene periferico, e che fa pensare ad un embrione ben sviluppato prima del avvolgimento. Ho disidratato, rischiarato in xilolo e chiuso in balsamo tale uovo *in toto*, e l'ho osservato a forte ingrandimento. Mi sono

subito convinta che non si trattava di un embrione più o meno perfettamente sviluppato, ma del contenuto vitellino dell'uovo, coagulato e delimitatosi attorno alla regione centrale. Lo stesso era avvenuto nelle uova del gruppo C) e del gruppo D), le quali dopo una settimana d'incubazione si presentavano completamente disseccate.

Queste osservazioni mi fanno pensare che molto verosimilmente Jucci, nel darsi una percentuale così elevata di embrioni maturi, ed essendosi limitato all'esame esterno delle uova, possa essere stato tratto in inganno dalla presenza di uova, il cui contenuto si era coagulato intorno ad un'area centrale. Quando questo fatto si verifica (ed esso è abbastanza frequente nelle uova partenogenetiche in via di disseccamento, ne risulta assai sovente una apparenza esteriore che somiglia fortemente a quella del seme sbianchito nel quale è contenuto un embrione maturo avvolto perificamente e trasparente attraverso il guscio. Per decidere se si tratta di un embrione avanzato o di un semplice coagulo periferico di vitello non c'è che un mezzo sicuro: quello delle sezioni.

6.) All'8° giorno d'incubazione, il 18 marzo, per non sciupare molto materiale, che avrebbe potuto essere prezioso nel dimostrarci eventualmente la nascita di qualche bacolino partenogenetico, fisso solo un uovo del gruppo B).

7.) Al 12° giorno d'incubazione, il 22 marzo fisso ancora un uovo del gruppo B) che all'esterno non presenta variazione alcuna, e uno del gruppo A) che presenta a un polo una bolla d'aria trasparente.

8.) Al 15° giorno d'incubazione, il 25 marzo, le tre uova superstiti del gruppo A) sono ancora fortemente brune e turgide; tra le sei uova del gruppo B) uno prende una colorazione più oscura, ed è macchiato in nero: fisso solo quest'ultimo.

9.) Al 16° giorno d'incubazione, osservo una colorazione in bruno intenso anche nelle uova del gruppo B), in luogo dello sbianchimento caratteristico delle uova fecondate alla fine dell'incubazione. Penso che un processo di degenerazione, più che un processo di sviluppo, si effettui nel mio caso, e fisso tutte le uova superstiti, che sono precisamente 3 del gruppo A) e quattro del gruppo B).

Quadro delle fissazioni fatte nelle diverse epoche

Numero d'ordine	UOVA ESTIVANTI		UOVA IBERNANTI		UOVA IN INCUBAZIONE			
	Data	Num. uova	Data	Num. uova	Data	Gruppo A	Gruppo B	Gruppo C
1 ^o	15-8-28	11						
2 ^o	30-8-28	10						
3 ^o	12-11-28	16						
4 ^o			4-1-29	30				
5 ^o			10-3-29	4				
6 ^o			(*)		18-3-29		1	
7 ^o					22-3-29	1	1	
8 ^o					25-3-29		1	
9 ^o					26-3-29	3	4	

(*) Ad una incubazione alquanto anticipata sono stata costretta, per timore che, per ulteriore disseccamento, non mi restasse più nulla del pochissimo materiale sopravvissuto all'estivazione e all'ibernazione, e che mi fosse con ciò preclusa ogni possibilità di constatare l'eventuale ripresa di attività embriogenetica durante l'incubazione. Come è noto, un' anticipato inizio dell'incubazione al 10 marzo non arreca nessuna alterazione nei processi di sviluppo embriogenetico, quando sia trascorso un periodo d' ibernamento di due mesi e mezzo.

Tecnica microscopica (*)

Per ottenere una buona colorazione su tali uova partenogenetiche ho adoperato come fissativo la miscela cromo-acetica (soluzione acquosa di acido cromatico all'1%, parti 9; acido acetico glaciale parti 1), per le uova dei numeri 1^o, 2^o, 3^o, le quali soggiornarono così fissate, per parecchi mesi in alcool, subendovi un notevole indurimento.

Come decheratinizzante ho adoperato il *rusma* (20) che dopo circa 15 minuti, ha esercitato in maniera soddisfacente la sua azione corrodente per i gusci.

(*) Nel riferire della tecnica seguita, voglio qui ringraziare il Dott. Raffaele Rossi, assistente onorario di questo laboratorio, il quale mi ha gentilmente prestato il suo aiuto per tale lavoro.

Dopo ripetuti lavaggi in acqua le uova furono disidratate nella serie degli alcool, rischiarate in benzolo e imparaffinate. Per le uova degli altri gruppi ho adoperato il *rusma*, sia come fissativo che come decheratinizzante, poichè il *rusma* usato su materiale fresco, esplica questa sua duplice azione, dopo solo cinque minuti. Le sezioni furono fatte di 5 micron e quasi tutte nel piano sagittale.

Difficoltà non lievi ho incontrato nella colorazione di tali sezioni, poichè il comportamento più disparato esse hanno presentato nell'assumere sia il colore nucleare che quello plasmatico.

Mentre per alcune bastavano circa 20 minuti per ottenere una brillante colorazione nucleare, per altre non bastavano quattro ore, così che spesso si lasciavano per tutta una notte nella soluzione diluita del colorante nucleare, che era sempre ematossilina Carazzi.

Come colorante plasmatico di contrasto ho adoperato l'Orange G, o il Rosso Congo; quest'ultimo specialmente mi ha dato ottime colorazioni. In qualche caso il colorante nucleare è stato assunto più o meno intensamente anche dal plasma.

Questi fatti relativi alla colorazione non potranno meravigliare quando si pensi come profondamente anormale deve essere il chimismo in uova non fecondate. Ho fatto del mio meglio per non sciupare il prezioso materiale nei processi di tecnica, e la cosa è riuscita molto difficile quando avevo a mia disposizione, come qualche volta è avvenuto, solo un uovo da trattare.

Le uova partenogenetiche estivanti

N. 1. — Come è noto, nelle uova di *Bombyx mori* normalmente fecondate, già alla 36.ma ora dopo la deposizione si nota la formazione della sierosa, cioè di uno strato di rivestimento, fatto da cellule ricche di pigmento, che conferisce all'uovo una colorazione speciale, tendente al grigio ardesia, poichè la sierosa traspare attraverso il guscio cheratico. Nello stesso tempo, in seno al vitello nutritivo, si distingue la formazione di un embrione primitivo, fatto a mo' di lettera C, al quale si è dato il nome di *stria germinaliva*. Tale embrione è costituito da due tessuti: un ectoderma, ed un mesoderma nettamente metamerico; esso è inoltre circondato sulla superficie ventrale da un involucro embrionale, detto amnio.

E' a questo stadio che si arresta lo sviluppo embrionale nelle uova di razze annue, le quali per un lungo periodo restano in una stasi embrionogenetica, detta diapausa. Le uova di razze bivoltine continuano ininterrottamente il loro sviluppo, così da dare in capo a circa dieci giorni, nascita di bacioli di seconda generazione.

Orbene, osservate al 45.ºmo giorno dopo la deposizione le uova partenogenetiche in esame non presentano una sierosa e tanto meno una stria germinale.

Il deutoplasma, nel maggiore numero di queste uova si presenta con struttura caratteristica, come a brevi listerelle accostate, di cui alcune sono omogenee, altre vacuolizzate o quasi corrose. Tale dettaglio abbiamo riscontrato in uova di età diverse, ed esso non è forse che l'espressione di un disseccamento più o meno avanzato.

Altre uova presentano granuli di vitello sparsi pressochè uniformemente in seno all'ooplasma finemente granulare. Solo in uno di tali uova pochi granuli mostrano una tendenza ad agglomerarsi per la formazione di sfere vitelline.

N. 2. — Al 60º giorno dalla deposizione le uova in esame al cune presentano un deutoplasma che nella parte centrale è finemente granulare od alveolare, e alla periferia è fatto a listerelle. Nel deutoplasma centrale spiccano dei granuli di cui alcuni molto grossi si tingono fortemente.

Altre uova della stessa età presentano (fig. 1) in tutta la loro massa una struttura a brevi listerelle accostate, le quali racchiudono nell'interno sfere vitelline, profondamente diverse da quelle di uova normalmente fecondate. Tra esse alcune sono grosse, fortemente vacuolizzate, altre sono più piccole e più regolari, con granuli immersi in ooplasma in parte vacuoloso, in parte granulare. Quello che colpisce in queste uova è ancora l'assenza completa di una sierosa, sia pure imperfetta ed anormale.

Questo è in contrasto con quanto ha osservato il Grandori, il quale già al 30.ºmo giorno di età, in uova di razza annua, notava una sierosa piuttosto profonda e irregolare. Ciò non vorrà certo significare che nelle razze annue la formazione di una sierosa si abbia in età meno avanzata di quella di uova bivoltine. Nella partenogenesi i fenomeni embriologici sono così profondamente anomali e così variabili, anche tra uova di una medesima ovatura,

che arrivare ad una tale conclusione, generalizzando un caso singolo, sarebbe assurdo.

N. 3. — A quattro mesi e 20 giorni dopo la deposizione le uova osservate presentano invece la formazione di una sierosa, la quale piuttosto che essere immediatamente sotto il guscio, o per essere più precisi, separata dal guscio dalla sottilissima membrana vitellina, è invece molto profonda. Il vitello compreso tra la sierosa e il guscio presenta generalmente la struttura a listerelle (fig. 2).

Il vitello interno alla sierosa è ricco di granuli, che in molti casi si sono organizzati nella formazione di sfere vitelline fortemente vacuolizzate. Caratteristica, di queste sfere è la presenza di grossi nuclei, irregolarissimi per forma, di cui alcuni triangolari, o a semiluna, o a mo' di lettera X, i quali si tingono male, assumendo alcuni esclusivamente il colore plasmatico. Sia i granuli che le sfere vitelline sono più abbondanti nella regione periferica, proprio al disotto della sierosa.

Quasi tutte le uova di questa età presentano stria germinativa, sempre irregolarissima, spesso serpentiforme, mai a forma di lettera C. I nuclei delle cellule di tali strie difficilmente si mettono bene in evidenza, forse per avanzata pienezza della sostanza cromatica. Alcune uova di tale età non posseggono una stria, ma solo irregolari cumuli cellulari, i quali forse non sono che l'inizio del tentativo di formazione di una stria. Solo in pochissime tra le uova del medesimo gruppo si osserva la mancanza completa di qualsiasi formazione cellulare.

Concludendo, nelle uova partenogenetiche, per tutta la durata dell'estivazione, quando non avvengono fatti degenerativi, i processi di sviluppo sono lentissimi, e solo molto tardi portano alla formazione di una stria profondamente anomala, la quale non è capace di ulteriore sviluppo nel periodo estivo-autunnale. Da ciò si conclude che le uova di razza bivoltina, non fecondate, per prima conseguenza della mancata fecondazione, perdono il loro bivolitismo e si arrestano in diapausa, per un lungo tempo, come le uova di razza annua.

Uova partenogenetiche ibernanti

N. 4. — Le uova fissate in pieno ibernamento, si presentano in genere come le uova partenogenetiche estivate, giacchè normal-

mente, durante la diapausa invernale nessun accenno di sviluppo embriogenetico si presenta.

Tuttavia, tra esse possiamo fare una distinzione in tre gruppi: a) uova che all'esterno non presentano alcuna pigmentazione, e che alle sezioni dimostrano un'assenza completa di ogni inizio di sviluppo; b) uova che mostrano una sierosa ed una stria embriionale che in alcuni casi si riduce ad informi cumuli cellulari; c) uova che mostrano un embrione in avanzato stadio di sviluppo.

Nelle uova del gruppo a) che sono pochissime (appena tre fra le trenta osservate) si nota vitello laciniato con struttura a brevi listerelle, come avevamo notato per molte uova estivate. In seno a tale vitello rarissime sono le sfere vitelline, che in ogni caso sono fortemente vacuolizzate. Nessun accenno di sierosa possiamo osservare, fatto che ci spiega perché tali uova, prima di essere fissate, si mostravano perfettamente sbianchite, come le uova normalmente fecondate, negli ultimi giorni d'incubazione. Mentre in queste ultime lo sbianchimento è dovuto al fatto che l'embrione finisce col deglutire anche la sierosa, nelle uova partenogenetiche in esame una sierosa non è mai esistita.

Più progredito è lo sviluppo nelle uova del gruppo b). Alcune presentano una sierosa con avvallamenti irregolari, sviluppata e giacente spesso in profondità. Nell'interno esse mostrano granuli di vitello delle più svariate dimensioni, taluni dei quali si aggregano nella formazione di sfere vitelline, nelle quali si inizia una vacuolizzazione.

In alcune di queste uova non esiste stria, ma semplicemente si nota la presenza di isolotti cellulari. Forse una stria anche in queste uova tendeva a formarsi, ma il tentativo, mal riuscito, finiva col portare alla costituzione di poche cellule che si aggregano irregolarmente.

La fig. 3 e la fig. 4 mostrano uova di questa età, le quali presentano invece una stria, irregolarissima, circondata da sacco amniotico, in seno ad ooplasmia omogeneo, tra cui spiccano le caratteristiche sfere vitelline profondamente vacuolizzate. In alcuni casi, anche i tessuti embrionali sono profondamente vacuolizzati. La fig. 5 illustra questo dettaglio in una stria in diapausa invernale.

Non così anomala è la stria della fig. 6, che ci mostra un uovo che ben poco si differenzia nei suoi dettagli, da quelle normalmente fecondate. In questo uovo infatti la sierosa è perfetta-

mente superficiale, le sfere sono bene organizzate e affatto vacuolose. La stria, ad eccezione di una fossetta formata nella regione toracica, che del resto si nota spesso in uova normalmente fecondate, è molto simile alle strie normali in diapausa. Interessante in tale stria è la presenza di cellule migranti, che vanno a costituire un mucchietto mesodermico. Anche questo fatto è perfettamente normale per le uova fecondate, nelle quali però la formazione dei 18 seguenti mesodermici si effettua nei primi giorni dopo la deposizione.

La fig. 7 ci mostra in sezione un uovo, sempre di razza Awojiku ma normalmente fecondato, fissato anch'esso durante la diapausa invernale, il giorno 4 gennaio 1929.

E' noto che anche le uova di razza bivoltina attraversano un periodo di riposo invernale, dopo la seconda generazione.

Ho voluto mettere vicino a quelle partenogenetiche un uovo normalmente fecondato della medesima età e della medesima razza, per mostrare come in realtà ben poca sia la differenza in qualche eccezionale caso in cui giunge a formarsi una stria partenogenetica pressoché normale.

Questo ci fa concludere che senza bisogno di essere fecondato, senza bisogno che stimoli artificiali esterni ne esaltino l'attività embriogenetica, in casi eccezionali, ma non per questo meno interessanti, l'uovo di *Bombyx mori*, possiede in sé tutta la potenzialità necessaria per giungere almeno fino alla formazione di una stria iterante completa. Anzi, potremo aggiungere, che in qualche caso ben più eccezionale, lo sviluppo può procedere durante l'estivazione fino a raggiungere uno stadio embrionale alquanto più avanzato di quello che vien raggiunto nel medesimo periodo dalle uova fecondate di razza annua.

La fig. 8 ci mostra infatti una stria con profonda metamorfosi ectodermica ed un inizio di invaginazione proctodale e stomodale. Lo stesso preparato, in una sezione più laterale ci mostra che in tale stria lo sviluppo era progredito fino all'accennarsi della formazione delle zampine. La fig. 9 ci mostra appunto, a forte ingrandimento, in dettaglio, gli abbozzi delle tre zampine toraciche. La fig. 10 ci mostra un'altra di tali strie a sviluppo progredito, la quale presenta però una zancitura anomala, così che nella sezione sagittale dell'uovo, la stria è incontrata in senso trasversale. Anche in questa figura sono bene evidenti gli abbozzi delle zampine.

Quello che colpisce è che nelle uova in più avanzato sviluppo

po si notano numerosissimi simbionti ereditari (18) che invadono i granuli di vitello, e non semplicemente quelli periferici, ma anche quelli racchiusi entro l'embrione. La fig. 12 mostra a forte ingrandimento una porzione di vitello racchiuso nel corpo dell'embrione della fig. 10, in cui i granuli sono ereditari di simbionti. Se, come il Grandori ammette, l'attività del simbionte è stimolatrice dell'attività embriogenetica, uno sviluppo più progredito, in tali uova è verosimilmente da mettersi in rapporto con il grande numero di simbionti ereditari che in esse si presentano. Se ad una tale conclusione noi arriviamo, veniamo a determinare una causa biologica che forse grande importanza ha nello sviluppo embriogenetico di uova non fecondate.

Nel gruppo c) troviamo un solo uovo, che alle sezioni si rivela il più interessante di tutti. Conteneva infatti un embrione maturo, il quale non solo aveva fatto la blastocinesi, ma era arrivato ad un avvolgimento, fatto che nelle uova normalmente fecondate si effettua circa due giorni prima della nascita dei baccellini. Tale embrione però, analogamente a quanto Jucci afferma per molti casi da lui presi in esame esternamente, non è stato capace di rosicchiare il resistente guscio cheratico per praticarvi una via di uscita, ed è morto dentro l'uovo. Quando, assieme alle altre uova, esso è stato fissato, i processi di disorganizzazione erano molto avanzati, e i diversi organi e i loro tessuti erano più o meno profondamente alterati. Di tale embrione è rimasto integro il resistente involucro chitinoso, ricco di peli, e nel cui interno notansi emuli informi di tessuti in disfacimento.

La fig. 11 ci mostra schematicamente l'involucro chitinoso, il quale ci dà ragione dello stadio raggiunto dall'embrione: non ho creduto opportuno di disegnare i tessuti disorganizzati perchè troppo caotici. La presenza di un embrione maturo mi ha meravigliato alquanto, dopo l'osservazione di tante uova giunte ad uno sviluppo che in parecchi casi potremo dire rudimentale. È il fatto ancora più sorprendente è, che tale embrione era arrivato a maturazione in un tempo piuttosto breve, certo durante l'estivazione, poichè quest'uovo era stato fissato il 4 gennaio.

Queste osservazioni mi fanno concludere che, se in moltissimi casi le uova partenogenetiche che sono capaci di svilupparsi, perdono il loro bivoltinismo, in qualche rarissima eccezione, esse conservano la tendenza al bivoltinismo e si sviluppano completamente in un tempo piuttosto breve, oppure, durante la estivazione

riescono a portarsi avanti nello sviluppo embriogenetico, per arrestarsi, durante la diapausa, in uno stadio che è molto più progredito di quello che presenta durante l'ibernazione l'embrione di razza annua in uova fecondate.

N. 5. — Alla fine dell'ibernazione per le 4 uova fissate prima d'iniziare l'incubazione, le osservazioni sono analoghe a quelle fatte durante la diapausa.

Infatti l'unico uovo tra quelle che si presentavano all'esterno uniformemente pigmentate in giallo, quasi bruno, e che presentavano i normali avvallamenti (gruppo A), studiato in sezione mostra: sierosa piuttosto profonda, vitello indifferenziato, con sfere vitelline fortemente vacuolizzate, nei cui nuclei la cromatina si è disfatta; stria piccolissima e molto irregolare.

Nelle due uova fissate tra quelle lievemente rosate e prive di avvallamento, (gruppo B) in sezione si nota: una sierosa quasi normale e del tutto superficiale; vitello finemente granulare con sfere vitelline piuttosto regolari e non vacuolose; una stria che non ha giacitura normale, ma che presenta un sacco amniotico, ed uno sviluppo piuttosto progredito. La fig. 13 ci mostra infatti una sezione in cui si notano le zampe.

L'unico uovo del gruppo C), tra quelle cioè ancora piuttosto turgide, ma a contenuto molto bruno e irregolarmente distribuito, presenta in sezione vitello limitato ad una piccola regione con sfere vitelline vacuolizzate e sierosa poco profonda. La stria germinale è piccolissima e pochissimo colorabile, forse perchè in stato di completa disorganizzazione.

Le uova partenogenetiche durante l'incubazione

N. 6. — L'unico uovo fissato all'8° giorno d'incubazione, tra quelle lievemente rosate del gruppo B) ci indica il risveglio di un'attività embriogenetica. Esso presenta all'esterno una sierosa irregolare per numerosi avvallamenti.

Nell'interno esiste una zona continua di vitello ricco di numerosi granuli. Il vitello si fa omogeneo e completamente privo di granuli in una zona esigua che circonda l'embrione. Il sacco amniotico circonda tale embrione, il quale si presenta però molto accorciato ed evidentemente in piena blastocinesi, in quello stato di accorciamento che è normale per le uova fecondate e che

accompagna la migrazione dell'embrione il quale si porta a giacere sull'altro lato dell'uovo.

Molto irregolare si presenta però l'embrione in esame. Per quanto in esso si riesce a mettere in evidenza: un grosso ganglio sopraesofageo ed una catena gangliare ventrale, uno stomodeo già perfettamente chiuso e pieno di vitello ricco di granuli, dei fascetti muscolari, le zampine, tuttavia tale embrione è ricco di cavità e di invaginazioni che non è possibile fare corrispondere ad analoghe formazioni in uova normalmente fecondate. Per quanto dunque abbastanza sviluppato, profondamente esso differisce dagli embrioni normali.

N. 7. — Al 12° giorno d'incubazione lo sviluppo embrionale osservato nell'uovo fissato tra quelle lievemente rosate è molto interessante. L'embrione (fig. 14) ha già fatto la blastocinesi e si presenta foggiato come una lettera U, come avviene generalmente nelle uova di razza annua, normalmente fecondate, al 16° giorno d'incubazione.

Immerso nell'ultima porzione di vitello che doveva servirgli alla nutrizione ancora fino alla nascita (dato, e non concesso, che alla nascita questo embrione avesse potuto giungere), esso presenta uno sviluppo normale di organi.

Notiamo infatti una chitina già ricca di peli, prodotta, dall'attività di un'ipoderma sul quale s'inseriscono già numerosi fascetti muscolari nella regione cefalica. Il sistema nervoso è ben sviluppato: infatti si nota un piccolo ganglio frontale, un grosso ganglio sopraesofageo ed una catena gangliare ventrale completa, che però nella fig. 14 è rappresentata solo in parte, essendo la sezione un po' obliqua.

Sviluppati sono inoltre il grosso corpo sottoesofageo, le ghiandole della seta e il vaso dorsale. L'intestino anteriore e il posteriore, completamente vuoti, comunicano per mezzo del cardias e del piloro con l'intestino medio, ripieno di tuorlo. Le zampette sono perfettamente sviluppate e l'apparato boccale è fortemente chitinizzato. Chi, osservando tale embrione, non sapesse nulla circa la sua origine, anche se esperto nell'embriologia del baco da seta, potrebbe subito pensare trattarsi di un uovo, normalmente fecondato, il cui embrione non ha ancora fatto il rinvoltimento.

Non altrettanto potrà dirsi per l'uovo del gruppo A) fissato cioè tra quelle piuttosto brune, il quale si presenta nelle identiche condizioni di molte tra le uova fissate durante l'estivazione e la

diapausa. Esso ha infatti una sferosa profonda in seno a vitello che all'esterno mostra la tendenza alla struttura a brevi listelle e all'interno mostra le solite sfere vitelline vacuolizzate.

Di stria non esiste che un accenno, rappresentato da scarsi isolotti cellulari i cui nuclei sono in piccolissimo. Molto verosimilmente questo uovo è morto in diapausa. Questi fatti differiscono da quelli che Jucci afferma, riferendosi ad osservazioni esterne, inquantochè così egli si esprime al riguardo: « Le uova rosate delle ovature vergini di razza bivoltina, non sono le uova che più hanno tendenza allo sviluppo partenogenetico. Molte uova gialle hanno una tendenza ben più grande ». Le mie osservazioni conducono invece a questa conclusione: nelle uova rosate lo sviluppo embriogenetico progredisce fino alla formazione di un embrione quasi normale. Nelle uova a contenuto giallo quasi bruno si ha in ogni caso lo sviluppo di un embrione rudimentale.

N. 8. — L'unico uovo fissato al 15° giorno di incubazione tra quelle rosate, presentava all'esterno un'alterazione nella colorazione che non era più uniforme, ma irregolare ed in un punto nero; in sezione mostrava anch'esso un embrione sviluppato piuttosto bene. Tale embrione però presentava una giacitura molto anomala, così che le sezioni sono male orientate. Tuttavia, anche in questo embrione l'organogenesi è piuttosto progredita; notiamo ad esempio la catena gangliare, il corpo sottoesofageo, le ghiandole della seta, l'intestino, ed in alcune sezioni anche una rete tracheale ben fatta. Osservando l'intestino medio vi notiamo la formazione di un'appendice che si estroflette nel lume dell'intestino stesso. Ho voluto illustrare nella fig. 15 tale diverticolo, per avvalorare la mia affermazione che nelle uova non fecondate le più strane anomalie si presentano.

E' interessante notare che vitello si nota nella faringe, cosa che farebbe pensare ad un inizio di rinvoltimento; vitello si nota più ancora abbondante fuori dell'embrione ad un polo dell'uovo. L'idea del rinvoltimento è poi avvalorata dal fatto che lembi di sferosa, con tutto il pigmento caratteristico, si notano nel vitello dello stomaco. La parziale deglutizione della sferosa ci spiega l'irregolare colorazione dell'uovo. Il puntino nero, molto verosimilmente non era che la testina fortemente chitinizzata e libera da sferosa.

N. 9. — Le ultime uova fissate al 16° giorno d'incubazione del

gruppo A) sono inalterate. Osservate in sezione, si presentano come le altre osservate precendentemente in tale gruppo.

Le quattro uova rosate del gruppo B) si sono fatte brune; in sezione presentano un embrione molto piccolo che occupa una regione limitatissima dell'uovo, mentre la regione più cospicua è occupata da vitello. In ogni caso ha una giacitura anomala, è contorta e raggomitolata; ma presenta le zampe, l'intestino, la catena gangliare ecc. Tutti questi dettagli ho messo in evidenza con molti sforzi, poichè la struttura cellulare è alterata; la difficile ed imperfettissima colorazione mi ha convinto che quando tali uova furono fissate l'embrione era già morto.

Riassumendo le osservazioni fatte durante questo mio studio sulla partenogenesi permettono di affermare quanto segue:

I.) In realtà la razza bivoltina *Awajleu* presenta una tendenza alla partenogenesi naturale più spiccata di quella delle comuni razze annue.

II.) La percentuale di uova che iniziano uno sviluppo embriogenetico, sia pure rudimentale, è molto scarsa; e scarsissimi, anzi eccezionali, sono gli embrioni che arrivano, più o meno stentatamente, a progredire nella organogenesi; eccezionalissimi sono quelli che giungono a quasi completa maturità.

III.) Tra le uova bivoltine partenogenetiche, capaci di processi embriogenetici alcune tendono a conservare il loro bivoltinismo completando il loro sviluppo molto presto dopo la deposizione. Altre entrano in diapausa in uno stadio molto avanzato, altre allo stadio di semplice stria.

IV.) Di attività embriogenetica sono ancora capaci alcune uova a cui dopo l'ibernamento si fa subire una regolare incubazione.

V.) In quei casi eccezionalissimi in cui un embrione maturo si forma, esso non è capace di rosicchiare il resistente guscio corneo, così che la nascita di bacioli per semplice partenogenesi naturale rimane fino ad oggi una suggestiva chimera che attende ancora di essere scientificamente dimostrata.

Bibliografia

1. — BARTHÉLEMY. — *Etudes et considérations générales sur la parthénogénèse* — Annales de Sciences Naturelles, 1859.
2. — JOURDAN. — *Ponte d'œufs fécondés par des femelles de ver à soie ordinaire sans le concours des mâles* — C. R. Acad. de Sciences T. LIII, 1861.
3. — SIEBOLD. — *Beiträge zur Parthenogenese der Arthropoden*, 1871.
4. — idem. — *Sulla partenogenesi del Bombyx mori* — Boll. Soc. Entomologica Italiana, 1871.
5. — VERNON. — *Sulla partenogenesi nel Bombyx del gelso* — Annuario della R. Staz. Bacioli di Padova, 1872.
6. — SIEBOLD. — *Sulla partenogenesi del Bombyx mori* — Boll. Soc. Entom. Italiana, 1874.
7. — idem. — *Sulla partenogenesi del Bombyx mori* — Annuario R. Staz. Bacioli di Padova, 1874.
8. — MASSA. — *La partenogenesi nel Bombyx mori* — Rivista di Bachi-cultura, 1889.
9. — VERNON. — *La partenogenesi nel baco da seta* — Annuario della R. Staz. Bacioli di Padova, 1875.
10. — idem. — *Del grado di sviluppo che sogliono raggiungere le uova non fecondate del filugello* — Boll. Soc. Entomol. Italiana, 1889.
11. — QUAYAT. — *Sulla partenogenesi artificiale nelle uova di Bombyx mori* — Annuario R. Staz. Bacioli di Padova, 1905.
12. — CONTE e LEVRAT. — *La parthénogénèse chez le ver à soie* — Ann. Laborat. d'études de la soie, 1906.
13. — LÉCALLON. — *Sur la ponte des œufs non fécondés et sur la parthénogénèse du Bombyx mori* — C. R. Acad. de Sciences, T. CLXII, 1913.
14. — idem. — *Sur l'aptitude à la parthénogénèse naturelle considérée chez diverses races ou variétés du Bombyx mori* — Ibidem, T. CLXV, 1917.

15. — idem. — *Sur la signification des changements de couleur qui se produisent normalement dans certains oeufs non fécondés de Bombyx mori, et sur la formation dans cette espèce de véritables chenilles parthénogéniques* — Ibidem, 1917.

16. — idem. — *Sur quelques données cytologiques relatives aux phénomènes de parthénogénèse naturelle qui se produisent chez le Bombyx mori* — Ibidem, T. CLXVI, 1918.

17. — CAVAZZA. — *Studio sperimentale di alcuni casi di determinazione del sesso e di partenogenesi* — Redia, Vol. XV, 1924.

18. — GRANDORI. — *La simbiosi ereditaria del filugello* — Atti Reale Istit. Veneto di Scienze, Lettere ed Arti, T. LXXIX, Parte 2.a, 1919.

19. — idem. — *Sulla segmentazione anomala dell'uovo partenogenetico del Bombyx mori* — Bollett. Istit. Zool. della R. Università di Roma, 1925.

20. — TEODORO. — *Sulla partenogenesi del Bombyx mori* — Atti del R. Istit. Veneto di Scienze, Lettere, ed Arti, T. LXXIX, 1925.

21. — idem. — *Sulla tendenza alla partenogenesi naturale nel filugello* — Bollett. di Sericoltura N. 20, 1925.

22. — JUCCI. — *La capacità di sviluppo dell'uovo, vergine o fecondata nei bachi da seta* — Bollettino dell'Istituto di Zoologia della R. Università di Roma - Vol. III, 1925.

23. — idem. — *La partenogenesi naturale nel baco da seta* — Rivista di Biologia - Vol. VIII, Fasc. I, 1926.

24. — NICETA. — *Contributo alla tecnica per lo studio delle uova degli insetti* — Atti Soc. It. Sc. Nat., Vol. LXVIII, Milano, 1929.

Spiegazione delle tavole

Tutte le figure rappresentano uova di razza bivoltina Awojiku.

TAVOLA I.

Fig. 1. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico al 60.^a giorno dalla deposizione. Mostra la strana struttura del deutoplasma a brevi listerelle accostate, racchiudenti sfere vitelline profondamente anormali. (Ingrand. 88 diam.).

Fig. 2. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico a quattro mesi e 20 giorni dalla deposizione. Mostra: una sierosa rudimentale molto profonda circondata da vitello esterno con la struttura a listerelle come nell'uovo della figura precedente; una stria molto piccola e anormale. (Ingrand. 80 diam.).

TAVOLA II.

Fig. 3. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico ibernante, fissato il 4 gennaio. Mostra una stria irregolare, circondata da un sacco amniotico. La sierosa è anche in questo caso profonda, ma di aspetto normale. Il vitello è in prevalenza a struttura compatta ed omogenea, e le sfere vitelline profondamente vacuolizzate. (Ingrand. 88 diam.).

Fig. 4. — Come la precedente. Mostra una stria contratta ed irregolare. (Ingrand. 88 diam.).

TAVOLA III.

Fig. 5. — Mostra, in particolare, la struttura profondamente vacuolizzata che assumono in qualche caso i tessuti embrionali (lo stesso uovo di fig. 4). (Ingrand. 312 diam.).

Fig. 6. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico ibernante fissato il 4 gennaio. Mostra uno sviluppo che nel complesso non si discosta molto da quello normale: la sierosa è infatti superficiale; le sfere vitelline non sono vacuolizzate; la stria è allungata e tendente alla forma normale di lettera C. (Ingrand. 88 diam.).

TAVOLA IV.

Fig. 7. — Sezione sagittale di uovo fecondata ibernante. (Per confronto). Confrontata con la figura precedente, essa mostra come — in casi eccezionali — possa esser ben lieve la differenza tra un uovo normalmente fecondata e un uovo partenogenetico, allo stadio ibernante. (Ingrand. 88 diam.).

Fig. 8. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico ibernante, fissato il 4 gennaio. Mostra una stria con profonda metameria ectodermica ed un inizio d'invaginazione proctodeale e stomodale. (Ingrand. 80 diam.).

TAVOLA V.

Fig. 9. — Sezione parasagittale del medesimo uovo partenogenetico della figura precedente. Mostra l'abbozzo delle tre zampine toraciche, nonostante che l'uovo sia ancora in piena ibernazione. (Ingrand. 234 diam.).

Fig. 10. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico ibernante, fissato il 4 gennaio. La stria, in giacitura anomala, è incontrata in senso trasversale. Mostra alcune zampine e gli abbozzi dell'apparato boccale. (Ingrand. 80 diam.).

Fig. 11. — Disegno schematico dei contorni dell'embrione di un uovo partenogenetico fissato il 4 gennaio; l'embrione aveva compiuto il processo del avvolgimento. (Ingrand. 88 diam.).

TAVOLA VI.

Fig. 12. — Particolare del vitello racchiuso nella cavità dello stomaco dello stesso embrione della fig. 10. I granuli sono invasi dai simbionti ereditari. (Ingrand. 800 diam.).

Fig. 13. — Sezione sagittale di uovo partenogenetico ibernante fissato il 10 marzo. L'embrione ha giacitura anomala, ed è perciò tagliato trasversalmente, e presenta le zampine già sviluppate. (Ingrand. 88 diam.).

Fig. 14. — Sezione sagittale di un uovo partenogenetico al 12.^o giorno d'incubazione. Mostra un embrione che si è normalmente sviluppato fino a raggiungere la conformazione a lettera U. (Ingrand. 88 diam.).

Fig. 15. — Anomalia di sviluppo nell'epitelio intestinale di un embrione partenogenetico fissato il 26 marzo 1929: si è formata una sacca a fondo cieco sporgente nel lume dell'intestino medio. (Ingrand. 234 diam.).

R. GRANDORI

Soffocazione delle crisalidi del Baco da seta mediante il "Calcinòl",

Come è noto a tutti i tecnici in materia bacologica e serica, l'idea di uccidere le crisalidi del baco da seta entro i bozzoli mediante l'impiego di gas tossici di poco costo e di facile uso, ottenendo il duplice scopo di uccidere le crisalidi e di non danneggiare la seta, è un'idea antica.

Anche dopo il trionfale diffondersi dei forni essiccatoi, che mirabilmente risolvevano il duplice problema di ottenere ad un tempo la morte delle crisalidi e l'essiccazione o stagionatura completa dei bozzoli, i tentativi di soffocazione mediante gas diversi non cessarono. E ciò perchè i forni essiccatoi, nonostante i loro indiscutibili pregi, presentano anch'essi due fondamentali inconvenienti per la nostra industria: anzitutto quello della delicatezza dell'operazione, che richiede l'osservanza di molte e precise norme per una buona riuscita senza sensibili danni alla seta; ed in secondo luogo il costo relativamente elevato dell'operazione, che si può affermare oscilli intorno ad una media di 1 lira per chilogrammo di bozzoli. Cosicché alla economia dell'industria serica italiana l'essiccazione dei bozzoli costa oggi la bella cifra di circa 50 milioni di lire annue.

E' questa la ragione precipua per cui non mancarono tentativi, anche recenti, per ottenere la moritura delle crisalidi con impiego di gas (acido solfidrico, solfuro di carbonio, ecc), o con impiego di alte pressioni e di bassissime temperature.

Sta di fatto però che nessuno di questi metodi poté risolvere il problema praticamente, cosicché oggi nella pratica della grande industria il metodo dei forni essiccatoi si è dovunque generalizzato.