

9. — — Sulla presenza nelle piante di una sostanza che diventa luminescente alla luce ultravioletta.  
Ibid., Id. p. 136.
10. — — Ulteriori ricerche sull'applicazione dell'analisi fluoroscopica ai tessuti vegetali normali e patologici.  
Ibid., Vol. VI, 1927, p. 138.
11. POLICARD A. ET PAILLOT A. — Etude de la sécrétion de la soie à l'aide des rayons ultraviolets filtrés (Lumière de Wood).  
C. R. Ac. des Sciences, T. CLXXXI, 1925, p. 378.
12. TURCHINI J. ET MILLOT J. — Sur la fluorescence en lumière ultraviolette (lumière de Wood) des glandes séricigènes et de certains éléments figurés du sang des Araignées.  
C. R. Soc. de Biol. T. XCIV, 1926, p. 171.

NOTA AGGIUNTIVA: Al momento di licenziare alle stampe il presente lavoro, (27 ottobre 1930) mi giunge il « *Bollettino della R. Stazione di Coltivazione Bachicoltura di Ascoli Piceno* », Vol. IX, N. 4-5, nel quale la Dott. LOMBARINI pubblica una sua nota su « *Ulteriori ricerche sul Bombyx mori eseguite alla luce di Wood* ».

I risultati delle ricerche ivi riportate sono in parte conformi a quelli qui riferiti, ma in parte se ne distaccano. L'A. ha esteso le sue osservazioni a numerose razze e ha preso in esame non solo le larve, ma anche le uova e le farfalle: molto interessanti sono quei reperti che paiono attestare una connessione fra fluorescenza e sesso.

S. BEER

## Ricerche sull'applicazione dei raggi X alla ginecrinatura dei bozzoli e allo studio della crisalide e della farfalla del *Bombyx mori* L.

### Introduzione

Nella presente pubblicazione sono descritte parte di quelle ricerche sul baco da seta che dal novembre 1929 alla fine del 1930 assorbirono la mia attività nel Laboratorio di Zoologia Agraria e Bachicoltura del R. Istituto Superiore Agrario di Milano.

La Banca Commerciale Italiana incoraggiò questi studi mediante l'assegnazione d'un sussidio, e il Prof. Remo Grandori, Direttore del Laboratorio, affidò a me l'incarico di espletarli, additandomi quale tema che rivestisse un carattere di pratica utilità e di interesse scientifico la ricerca di nuovi metodi di ginecrinatura, che è ancor oggi così imperfettamente effettuata.

Due furono le strade che per ora ho potuto battere: selezione dei due sessi delle crisalidi racchiuse nel bozzolo con l'impiego dei raggi X, e selezione dei due sessi nelle uova basata sul loro peso. Le ricerche con quest'ultimo metodo sono ancora in fase di elaborazione e saranno riferite in seguito.

Qui riferisco invece delle ricerche coll'impiego dei raggi X. Sebbene neppure con questo metodo sia stato raggiunto quell'esito positivo che sarebbe stato augurabile, pur tuttavia l'esito di una sperimentazione coscienziosa — anche se negativo — mi sembra sempre interessante; e, a prescindere da ogni scopo pratico, mi risultò che i Raggi X possono esser di valido aiuto nello studio morfologico del filugello.

Parallelamente a queste ricerche sperimentali, ho eseguito nuovi studi anatomici ed istologici sugli organi genitali del baco

da seta; essi formeranno oggetto di una prossima pubblicazione a parte. Colgo l'occasione per esprimere qui la mia viva gratitudine al Prof. Remo Grandori, che mi accolse nel laboratorio da lui diretto, mi fu in ogni ricerca guida e maestro e affidò a me l'incarico degli studi incoraggiati dalla Banca Commerciale Italiana devolvendo a mio favore il relativo sussidio. Ringrazio altresì il Conte Guglielmo Castelbarco Albani che tanto si adoperò perchè la Banca Commerciale concedesse il suo appoggio e tanto sempre s'interessò ai miei studi, e il Dott. Mattioli della Banca stessa, grazie ai buoni uffici del quale la somma venne erogata. Rivolgo infine un ringraziamento al Prof. C. B. Travero che mi permise l'uso dell'impianto di Raggi X del quale il laboratorio da lui diretto è fornito, e il Dott. Lauro Pasinetti che mi coadiuvò nelle ricerche radiosopiche e radiografiche.

### *Riassunto degli studi sulla ginecrinatura*

Da quando l'industria semaiia confeziona seme di razza incrociata, la conoscenza anticipata del sesso della farfalla nascita è diventata una necessità. E' ben noto che il solo sistema finora praticamente adottato a questo scopo è quello indicato per primo dal ROBINET (1853) <sup>(1)</sup> basato sulla differenza di peso tra il bozzolo contenente una crisalide maschio e quello contenente una crisalide femmina: il primo pesa *in media* meno del secondo, e quindi, dato un certo quantitativo di bozzoli e conosciutone il peso medio globale, si può affermare che *dalla maggior parte* dei bozzoli che superano detto peso medio sfarfalleranno femmine e *dalla maggior parte* dei bozzoli che restano al disotto di tale peso sfarfalleranno maschi.

E' appunto su questo principio che sono basati i moderni *ginecrini* i quali in definitiva non sono altro che bilance appositamente studiate nell'intento di raggiungere con esse le condizioni migliori di precisione e di rapidità. Ma, per quanto costruito perfettamente, non v'è ginecrino che non dia una certa percentuale di errori: nel gruppo di bozzoli ginecrinati come maschi si troveranno *sempre* alcune femmine, e viceversa, nel gruppo di bozzoli ginecrinati come femmine si troveran *sempre* alcun maschi; la colpa di questi errori non è del ginecrino, ma dei bozzoli stessi: infatti tra questi ve ne saran sempre alcuni che, pur contenendo crisalidi femminili, hanno un peso inferiore alla media, e altri che, pur contenendo crisalidi maschili, hanno un peso superiore alla media: si è anzi osservato che i limiti estremi entro i quali i pesi dei due sessi sono sovrapposti variano da razza a razza; essi sono assai ristretti per le nostre razze indigene, sicchè gli errori alla ginecrinatura sono trascurabili (1 - 2 %), son più ampi nella razza *Oro Chinese*, dove gli errori possono raggiungere il 15 - 20 %, e più ampi ancora nelle razze *Bianche Chinesi*. Questi errori diventano anche maggiori

(1) V. CORNALIA E., *Monografia del Bombyce del Gelso*, Milano 1856, pag. 261.

se si aggiungono loro quelli risultanti dall'impossibilità pratica di ginecrinare i bozzoli il cui cui peso è assai prossimo al peso medio dell'intera partita, e che, in alcuni tipi di ginecrini perfezionati, vengono a cadere nel cosiddetto « gruppo degli incerti ».

Tutte queste cause di errore rappresentano per il semeaio una perdita assai cospicua, in quanto che sono lasciati sfarfalare, accanto ai bozzoli contenenti crisalidi del sesso utilizzato per l'incrocio, anche bozzoli contenenti crisalidi dell'altro sesso, i quali, anziché essere impiegati per incroci poco ricercati (p. es. maschio *Oro* e femmina indigena) potrebbero più utilmente essere passati all'essiccatoio e venduti alle filande.

E a questo inconveniente economico si aggiunge quello derivante dalla necessità di cercare di impedire gli accoppiamenti tra farfalle della stessa razza (cosa possibilissima data la imperfetta ginecrinatura), sia racchiudendo i bozzoli negli *isolatori*, sia facendo accuratamente sorvegliare le *arpe*, malgrado che esse contengano bozzoli che il vaglio del ginecrino giudicò tutti dello stesso sesso, ma che tali non sono in realtà; di qui perdita di tempo, nuova perdita di denaro e, in non pochi casi, insufficienza delle misure adottate.

Per ovviare a tutti questi inconvenienti già da molto tempo vari studiosi han cercato di riconoscere per altra via, che non fosse il peso del bozzolo, il sesso della farfalla nascita.

Non parlerò degli studi di quegli autori i quali si sono rivolti all'indagine delle cause intime determinanti il sesso ed han cercato - spesso con risultati brillanti - di modificare artificialmente, mediante l'azione di svariatissimi agenti chimici e fisici, il rapporto normale tra il numero dei maschi e il numero delle femmine, poichè dette ricerche non entrano nel novero di quelle che interessano il presente studio. Citerò solo i nomi di CAVAZZA (7-12), CUÉNOT (13, 14), FLAMMARION (18), DONCASTER & RAYNOR (17), PICTET (32), SEILER (35), GOLDSCHMIDT (22), KELLOGG & BELL (25, 26), LOMBARDI (27), TANAKA (38, 39), come quelli di alcuni di coloro i quali si sono occupati del problema della determinazione del sesso nei Lepidotteri e della possibilità di influire artificialmente su di essa.

Meritano invece di essere qui menzionate le ricerche di coloro i quali hanno tentato di giungere a una diagnosi del sesso mediante speciali reazioni chimiche. Come hanno recentemente

ricordato C. ACQUA (1927) (1) e A. VENEROSO (1929) (45), i primi studi in proposito si devono al DEWITZ (1919), il quale osservò che l'estratto di crisalide di farfalla femmina ha una azione riducente più intensa dell'estratto di crisalide di farfalla maschio; infatti trattando le crisalidi con una soluzione acquosa di glicerina e fluoruro di sodio e aggiungendo all'estratto così ottenuto dell'acqua ossigenata, questo A. constatò — grazie all'impiego di opportuni indicatori (fucsina, violetto di metile, carminio d'indaco, ecc.) — che la quantità di ossigeno sviluppato era maggiore se il trattamento era stato eseguito su crisalidi femminili che non su quelle maschili. Più tardi (1923) il medico russo MANOILOFF preparò una particolare soluzione contenente papaiotina, dalia o violetto di metile, permanganato potassico, acido cloridrico e tiosinamina, la quale in presenza di sangue umano o bovino si scolorava se il sangue era di una femmina. Numerosi autori estesero successivamente l'impiego della « reazione di MANOILOFF » a vari soggetti tanto animali quanto vegetali, ma giunsero alcuni a risultati positivi, altri a risultati negativi.

A risultati meno controversi, ma ancora non tali da eliminare ogni dubbio, giunsero coloro che esperimentarono sulla « reazione di BERNATZKI » anzichè su quella di Manoiloff.

Il BERNATZKI, partendo dal concetto di un « potenziale dinamico più elevato nella femmina che nel maschio », propose di trattare il materiale in esame con una soluzione isotonica di soda e potassa caustica; mediante l'aggiunta di un opportuno indicatore (dalia, verde di metile e eosina in soluzione alcolica) questo A. osservò che gli estratti femminili acquistavano colori diversi da quelli maschili.

Tanto sull'efficacia di queste reazioni, quanto sulle loro interpretazioni i risultati e i pareri furono e son tuttora discordi: un'acuta disamina della questione, integrata con studi originali, è stata pochi anni fa (1926) eseguita dallo SCHRATZ (36).

Sul filugello la reazione di Manoiloff è stata recentemente (1929) applicata dal VENEROSO (45) il quale trattò col reattivo proposto dal medico russo sangue estratto da bachi maschi e sangue estratto da bachi femmine. Ma, sia che venisse scrupolosamente seguito il metodo di Manoiloff, sia che le condizioni della reazione fossero razionalmente modificate, l'A. non ottenne mai risultati sicuramente probativi, ma o negativi o tut-

t'al più comparativi (colore eguale, ma di tonalità differente nei due sessi), non mai tali cioè che dal semplice esame del comportamento di un estratto si potesse arguire il sesso. L'A. conclude quindi « che la reazione di Manoiloff non ha alcun valore per la diagnosi del sesso delle larve del baco da seta e che se una certa differenza esiste tra i vari sessi questa è semplicemente di grado comparativo ma non specifica ».

E sull'impiego di reazioni chimiche per la diagnosi del sesso non è quindi il caso di insistere oltre.

Poichè il sesso è già discernibile nell'embrione (VERSON, TOYAMA, ISHIWATA, CHOLODOVSKI ecc.), molte ricerche furono rivolte all'uovo, per vedere se esistono dei caratteri di questo (peso, grandezza, forma, ecc.) collegati col sesso in modo tale da potere diagnosticare in base ad essi se il nascituro sarà maschio o femmina. Già nel 1891 un ricercatore russo, lo SMUJDSINOWITSCH, (37) aveva affermato, in base al risultato di studi personali, che nel filugello l'uovo e la larva femminile hanno dimensioni maggiori dell'uovo e della larva maschile. A eguali risultati giunse poco dopo (1896) la BROCADELLO (6): questa A. avendo constatato che in una stessa razza e anche in una stessa deposizione esistono uova grandi e uova piccole e che le prime sono più pesanti delle seconde, pensò di allevare separatamente un egual numero di uova grandi e di uova piccole appartenenti a razze diverse, per vedere se, nei riguardi del sesso, le uova si comportassero come i bozzoli, se cioè dalle grandi sgusciassero femmine e dalle piccole maschi. I risultati confermarono l'ipotesi, poichè le uova della stessa grandezza diedero in maggioranza individui dello stesso sesso e solo una minima percentuale (dal 5 al 12 % a seconda della razza) di individui del sesso opposto. Uguali differenze con eguali risultati l'A. ottenne sui bachi appena nati.

Ma a queste brillanti conclusioni che, oltre che presentare un indubbio interesse scientifico, lasciavano intravedere la possibilità di un'utile applicazione pratica, non giunsero i successivi sperimentatori.

Il QUAJAT infatti (1903) (33) separò le uova più leggere dalle più pesanti ricorrendo al loro diverso peso specifico (previa constatazione che questo è in relazione col peso assoluto) in confronto a quello di soluzioni di cloruro sodico a diversa concentrazione, nelle quali pertanto alcune uova galleggiavano mentre altre andavano a fondo: dalle uova più leggere l'A. ot-

tenne in media un'eccedenza dei maschi sulle femmine del 2% e da quelle più pesanti un'eccedenza delle femmine sui maschi del 3%, valori molto piccoli questi, che però indussero l'A. a rinnovare le esperienze l'anno seguente, in parte da solo, in parte col concorso della BROCADELLO (34): ma, sebbene la separazione delle uova fosse stata fatta non solo in base alle dimensioni minutamente misurate e scegliendo le uova più grandi tra le più grandi e le più piccole tra le più piccole, ma anche in base alla forma (tondeggiate o allungate), i risultati furono negativi, inquantochè le proporzioni dei due sessi in ogni gruppo si aggirarono sempre intorno al 50 % del totale.

Contemporaneamente al QUAJAT l'argomento era studiato dal CUÉNOT (15-16), il quale, per separare le uova di diversa grandezza, ricorse a un setaccio i cui fori avessero tutti un diametro determinato in modo tale che alcune uova potessero attraversarli, e altre no: i risultati di queste esperienze — praticate su uova di filugello e di *Omeria dispar* — furon però poco convincenti, troppo piccole (e talvolta contrarie all'ipotesi) essendo le differenze riscontrate tra le percentuali dei due sessi nei singoli gruppi.

Il metodo di separazione adottato dal CUÉNOT fu acutamente e giustamente criticato dal VERSON (44) il quale, riprendendo le ricerche in proposito (1906), separò le uova più pesanti dalle meno pesanti seguendo due metodi diversi: in un primo gruppo di esperienze egli infatti ricorse alla diversa azione attrattiva e repulsiva esercitata su uova di peso diverso da una sfera metallica elettrizzata, e in un secondo gruppo di esperienze l'A. fece cadere su dei cartoni incurvati a guisa di semi-canale delle uova in modo tale che esse si distribuivano in ordine crescente di peso man mano che aumentava la distanza dal punto originario di partenza; ma, tanto col primo quanto col secondo sistema, le percentuali dei due sessi in ogni gruppo fu press'a poco la stessa; il VERSON quindi così conclude: « Anche questi risultati concorrono evidentemente a render sempre più inverosimile la possibilità di praticare sulle uova di filugello, in base a criteri esterni, un'attendibile selezione sessuale ».

Gli esiti poco incoraggianti ottenuti dai precedenti Autori non impedirono però che alcuni volenterosi proseguissero le ricerche. La TOMASELLI (1910) (42), nel corso di indagini proseguite con tutt'altro intento, ebbe occasione di osservare che —

adoperando seme selezionato di varie razze — dalle uova grandi nascevano in prevalenza femmine e dalle piccole in prevalenza maschi. Recentemente (1925) FOÀ e ROMEO (21) pubblicarono i risultati di diligenti ricerche sul dibattuto argomento. Questi AA. studiarono accuratamente le dimensioni dell'asse maggiore delle singole uova di numerose ovature, esaminarono e rappresentarono graficamente la variabilità di dette dimensioni e constatarono che in realtà dalle uova più grandi nascono in prevalenza femmine, ma che la maggior variabilità delle dimensioni delle uova contenenti femmine rispetto a quelle contenenti maschi « complica le cose in modo tale da render impossibile una separazione tra le une e le altre, anche operando su ovature isolate e adottando metodi precisi di misurazione, a meno che non si tratti di casi eccezionalmente favorevoli »; di questi casi agli AA. se ne presentò uno solo: quivi dalle uova più piccole si ebbero 200 maschi contro 100 femmine e dalle più grandi 37 maschi contro 100 femmine; gli AA. suppongono che al verificarsi di queste favorevoli circostanze si debbano i risultati positivi ottenuti in un primo tempo dalla BROCADELLO.

In definitiva quindi, emerge chiaro dai risultati degli studi fin qui riferiti che nel filugello i caratteri di peso assoluto, peso specifico, volume, forma, dimensioni delle uova non possono essere presi come sicuro indice per procedere a una separazione dei sessi; in particolare, per quanto concerne il peso, un recente studio (1925) dello JUCCI (24) dimostrerebbe che tra il peso dell'uovo e quello della crisalide non esiste proporzionalità diretta; sembra quindi logico pensare che i risultati di una « ginecrinatura » delle uova non sortirebbero gli stessi risultati soddisfacenti constatati nella ginecrinatura dei bozzoli. Del resto alcune ricerche personali in proposito, ricerche che mi propongo di rendere note appena esse saranno state maggiormente approfondite, confermerebbero questo modo di vedere.

Altri studiosi, anziché rivolgersi per una distinzione dei sessi ai caratteri morfologici delle uova, si sono rivolti ai caratteri dell'ovifecazione, ma l'esame di queste ricerche, per la loro stessa natura, mi condurrebbe necessariamente all'analisi di quelle indagini comprendenti lo studio dell'influenza di fattori esterni ed interni (alimentazione, temperatura, supermaturazione delle uova, luce, raggi X, agenti chimici ecc.) sul rapporto tra i sessi, studi che si riallacciano a problemi dell'eredità e che,

come ho già detto, mi porterebbero troppo lontano dall'argomento prefissomi.

Passiamo invece ad esaminare i criteri che alcuni studiosi seguirono per riconoscere il sesso nella larva in base a caratteri rilevabili senza bisogno di sacrificare l'insetto.

L'osservazione eseguita dalla BROCADELLO (1896) (6) che nei bachi neonati i più grossi son prevalentemente femmine e i più piccoli maschi fu ripetuta dal QUAJAT (1903) (33) nel corso delle sue riferite ricerche sulle uova. Questo A. esaminò anziché i bachi neonati, i bachi maturi, pronti cioè a salire al bosco, e separò quelli di dimensioni maggiori da quelli di dimensioni minori nell'ipotesi che, se il fatto di una relazione diretta col peso del bozzolo non si verificava per le uova, essa si verificasse invece per i bachi adulti: i risultati furono incoraggianti poichè si ebbero dai bachi grandi il 72 % di femmine e il 28 % di maschi e dai bachi piccoli 29 % di femmine e il 71 % di maschi.

Ma i tentativi di distinguere il sesso dei bachi in base alle loro dimensioni passarono ben presto in seconda linea, quando l'ISHIWATA indicò un metodo molto più sicuro per operare questa distinzione. Già nel 1896 il VERNON (1), ricordando che nella larva adulta i testicoli sono assai più voluminosi degli ovari, rilevò che le protuberanze dorsali presenti sul 5.º segmento addominale e corrispondenti agli organi genitali, sono assai più salienti nel maschio che nella femmina. « Ma » ammette lo stesso VERNON « resta sempre la incertezza d'un criterio relativo, che non può esser diviso da un taglio netto tra due opposte interpretazioni ». L'ISHIWATA (1903) (23) osservò che soltanto nei bachi femmina di 5.ª età sono osservabili sulla faccia ventrale dell'11.º e del 12.º segmento (8.º e 9.º segmento dell'addome) due coppie di piccoli dischi simmetricamente disposti rispetto alla linea mediana ventrale: queste « *marques des points* » come li chiamò l'autore giapponese, o « 4 punti di ISHIWATA » come sono oggi denominati, sono — ci dice il VERNON (43) — gli « orifici d'accesso che metton capo ai 4 dischi sessuali dell'immagine »; questi orifici, dal VERNON stesso già descritti fin dal 1896, si rendono evidenti nella posizione indicata appunto nei bachi femmina dopo la 4.ª muta.

(1) VERNON e QUAJAT, *Il Filugello e l'Arte Sericola.* - Padova 1896; pag. 287.

Il metodo di « ginecrinatura ottica » indicato da ISHIWATA destò subito un grande interesse e se ne tentò tosto l'applicazione pratica: con una lente di 5 - 10 ingrandimenti e un rapido e facile addestramento lo stesso ISHIWATA ottenne la separazione dei sessi in ragione di 500 larve all'ora, e la TOMASELLI — come riferisce il QUAJAT (1904) (34) — esaminò e separò in un'ora 450 bachi. Ma difficoltà di indole pratica, già prevedute dallo stesso QUAJAT e ribadite poi dal GRANDORI<sup>(1)</sup> (ristrettezza del tempo utile per la « ginecrinatura » sua epoca poco propizia a causa delle intense occupazioni del personale, sua minore speditezza in confronto del metodo meccanico sui bozzoli, difficoltà pratica per gli allevatori di procedere a separazioni sicure, ecc.) han fatto sì che finora questo metodo non incontrasse nella pratica quell'applicazione che se ne sarebbe potuta sperare. Recentemente (1928) l'ACQUA (2) nell'intento di rendere più rapida, agevole e precisa questa forma di ginecrinatura ideò un semplice apparecchio, che egli denominò *ginandroscopio* e che consta essenzialmente di un microscopio semplice nel quale al vetro piano portoggetti è stato sostituito un vetro concavo su cui la larva da esaminarsi può essere agevolmente disposta e osservata.

L'apparecchio è già entrato in parecchi stabilimenti e l'ACQUA (3) ritiene che, grazie ai vantaggi che esso offre, il metodo di ginecrinatura ottica possa presto largamente e utilmente diffondersi. Alla vigilia di un esperimento su vasta scala in proposito (1930) (esperimento i cui risultati non sono ancora stati resi noti), l'A. aggiunge che sarebbe preferibile che la ginecrinatura fosse eseguita dagli stessi allevatori, dietro congruo compenso da parte dei semai, anziché da personale inviato sul posto da questi ultimi come è stato fatto finora. Ma, poichè detti studi sono tuttora in corso, non è il caso per ora di insistervi.

Come sull'uovo e sulla larva, così anche sul bozzolo e sulla crisalide i tentativi di discernere il sesso non mancarono. E' anzi appunto sul bozzolo che questi tentativi raggiunsero quella che finora è l'unica forma di ginecrinatura praticamente adoperata: la ginecrinatura cioè in base al peso del bozzolo, metodo del quale non è il caso di parlare poichè i perfezionamenti che da esso sono da sperarsi non potranno certo eliminare quegli incon-

(1) GRANDORI R., *Il filugello e le industrie bacologiche*, - Milano 1924; pag. 192

venienti che dipendono non dalla imperfezione delle macchine ma dalla naturale sovrapposizione dei pesi dei due sessi.

Sui bozzoli, accanto a una ginecrinatura meccanica, si pratica in molti casi nei quali non sia necessario avere il « minimum » di errori, la semplice ginecrinatura ottica, che, come ricordano CORNALIA<sup>(1)</sup> e GRANDORI<sup>(2)</sup>, si compie separando i bozzoli più grossi e quelli arrotondati alle estremità da quelli più piccoli, allungati e lievemente acuminati, i primi essendo in maggioranza femmine, e i secondi in maggioranza maschi: con un po' di esercizio e di attenzione si può così raggiungere una precisione del 65 % - 75 % che in certe occasioni è sufficiente.

Per riconoscere il sesso delle crisalidi racchiuse nel bozzolo senza aprire quest'ultimo (chè, tagliando i bozzoli, il riconoscimento diverrebbe agevole perchè, come osservò recentemente la FOÀ (19) e ricordò GRANDORI<sup>(3)</sup>, il segmento della crisalide su cui si apre il 6.° stigma addominale e il segmento successivo mostrano ventralmente delle evidenti differenze morfologiche nei due sessi), sono state tentate altre vie.

La LOMBARDI (28, 29, 30) nel corso delle sue ricerche (1928, 1929, 1930) sulla fluorescenza presentata dal baco da seta alla luce di WOOD, ha, tra l'altro, esaminato se esistesse una relazione tra l'aspetto della fluorescenza e il sesso: nei bozzoli l'esistenza di una relazione di questo genere è negata, mentre essa appare evidente nelle larve e nel sangue, ma soltanto per alcune delle numerose razze studiate, sicchè l'A. afferma che « se forse la luce di WOOD non può servire praticamente per la selezione dei sessi, però in più casi la differenza di un dato colore o la sua intensità è legata al sesso ».

Un interesse particolare agli effetti della nota presente hanno gli studi basati sull'applicazione dei raggi X all'esame dei bozzoli. Come è noto i raggi X vennero scoperti dal RÖNTGEN alla fine del 1895; ebbero dopo appena un anno dalla scoperta, e cioè nel novembre 1896, LEVRAT e TESTENOIRE di Lione (40) applicavano le nuove radiazioni allo studio dei bozzoli: chi può osservare le radiografie che questi AA. ottennero non può non rimanere sorpreso dalla finezza e nettezza di particolari raggiunte

(1) CORNALIA E. - Op. cit. pag. 261.

(2) GRANDORI R. - Op. cit. pagg. 378-379.

(3) Id. Id. pag. 202.

quando la tecnica radiologica era ancora ai suoi primi passi: è probabile bensì che dette radiografie siano state debitamente ritoccate, ma ciò non toglie nulla all'interesse che esse presentano.

I suddetti A.A. furono indotti a questo studio appunto nell'intento di trovare un metodo preciso e sicuro per operare una selezione dei sessi tra i bozzoli in considerazione dell'ostacolo che alla penetrazione dei raggi sarebbe stato opposto dal guscio (contenente sali di potassio, calcio e magnesio.) delle uova presentate nelle crisalidi femminili mature.

Le previsioni dei ricercatori francesi furono però completamente confermate soltanto nei bozzoli uccisi col vuoto pneumatico: nelle radiografie delle crisalidi secche contenute in detti bozzoli le differenze tra i due sessi sono evidenti; ma è chiaro che una ginecrinatura in queste condizioni non ha interesse pratico. Al contrario le sole radiografie di bozzoli vivi pubblicate e riferentisi non al filugello, ma all'*Antheraea pernyi* non mostrano nell'interno della crisalide femminile evidenti granulazioni; la cosa è riconosciuta dagli stessi A.A. i quali ritengono che gli anelli della crisalide formino come uno schermo « qui s'interpose entre la lumière et les oeufs »; e che la colpa della scarsa visibilità delle uova sia dovuta all'opacità presentata ai raggi X dall'involucro della crisalide appare evidente dall'esame della bellissima radiografia della farfalla femmina sgusciata poche ore dopo dal bozzolo radiografato: quivi infatti attraverso la cuticola dell'addome le singole uova sono nettamente visibili; grazie a un opportuno trattamento dell'ala con una soluzione metallica sono inoltre evidentissime anche tutte le nervature, carattere che — ricordano gli A.A. — è fondamentale per la classificazione dei lepidotteri. In quanto a una possibile azione fisiologica dei raggi X adoperati, gli A.A. non ebbero modo di constatarne alcuna.

Sulle radiografie di crisalidi vive entro il bozzolo gli A.A. han constatato che queste mostrano all'altezza del torace una macchia ovale scura la quale scompare pochi giorni prima della schiusura e che nei bozzoli secchi maturi è visibile solo nel maschio (forse perchè nella femmina è nascosta dalle uova); sulla natura di detta macchia, che gli A.A. non sanno se attribuire allo stomaco o alla vesicella aerea, tornerò in seguito.

Tornando ora all'efficacia dei raggi X come mezzo di sele-

zione dei sessi dei bozzoli vivi, i primi applicatori — dopo aver ricordato che, malgrado quotidiane prove e ripetuti tentativi, le uova nella crisalide si rendono evidenti (e, si può aggiungere, in qual modo!) soltanto pochi giorni prima dello sfarfallamento — concludono che i raggi X possono contribuire a riconoscere il sesso della crisalide attraverso il bozzolo, ma che essi potrebbero essere più generalmente applicati all'esame anatomico del baco da seta e allo studio della sua metamorfosi.

Le geniali esperienze di LEVRAT e TESTENOIRE suscitavano ben presto notevole interesse e alcuni studiosi italiani si diedero tosto a ripeterle e modificarle. Questi nuovi studi però gettarono molta acqua sul... fuoco dell'ottimismo con il quale le prime investigazioni eran state accolte e di cui l'articolo del giornale « Nature » del 13 febbraio 1897, (riferito sul « Bollettino di Bachicoltura » di quello stesso anno (41), è un chiaro indice. Nell'aprile del 1897 infatti QUAJAT e BELLATI (4) all'Istituto di Fisica della R. Università di Padova esaminarono radioscopicamente su uno schermo al platino cianuro di bario dei bozzoli iniziati circa 3-9 giorni prima, e, in seguito dei bozzoli 1 giorno prima dello sfarfallamento: ma, quantunque le esperienze fossero state condotte nelle migliori condizioni possibili, i due sperimentatori non riuscirono a notare una netta differenza fra i due sessi. Nei bozzoli secchi la crisalide « dà un'ombra molto leggera se il suo corpo non ha subito raggrinzamenti; dà invece un'ombra piccola e marcantissima se il corpo, essiccandosi, s'è ridotto a volume assai piccolo. Un semplice strato d'ova deposto su garza non ci ha dato un'ombra sensibile ».

Gli A.A., che non specificano le condizioni tecniche dell'osservazione, non fecero radiografie perchè a loro premeva soltanto di « apprezzare il valore pratico del metodo » sicchè « alla fotografia non era da pensare ».

A questi risultati poco incoraggianti, che indussero i suddetti A.A. a esprimere i loro dubbi sull'efficacia pratica del metodo e solo ad augurarsi « che i progressi della fisica ci facciano presto cangiar d'opinione », si aggiunsero presto (sett. 1897) quelli pure ben poco favorevoli ottenuti dal MELISSARI (31). Questo Autore, con l'ausilio sapiente del fisico BATTELLI, dopo aver esaminato radioscopicamente e radiograficamente dei bozzoli secchi con risultati assai meno brillanti di quelli ottenuti da LEVRAT e TESTENOIRE, (forse perchè i bozzoli eran stati

trattati « coi soliti metodi di soffocazione » anziché uccisi col vuoto pneumatico), sottopose all'esame radioscopico dei bozzoli vivi di razza cinese 10 giorni dopo la salita al bosco, quando le crisalidi erano ormai mature (come si poteva facilmente rilevare dall'aspetto dei loro occhi): ebbero sullo schermo fluorescente la crisalide apparve ben netta « senza però poter distinguere alcun che nell'interno di essa »; l'A. riuscì ugualmente a « indovinare » il sesso di molte crisalidi « arguendolo dalla grandezza e dalla conformazione di esse; per molte altre però — aggiunge l'A. — sono rimasto nell'incertezza assoluta ».

Sebbene con questi risultati svanissero le speranze di una pratica applicazione del metodo radioscopico, e sebbene il TESTENOIRE stesso, informato dell'insuccesso, confermasse in seguito a nuove esperienze personali l'esito poco favorevole dell'indagine, pure il MELISSARI volle eseguire alcune radiografie, e dall'insieme dei risultati delle sue ricerche dedusse — come già gli AA. francesi — che l'ostacolo al passaggio dei raggi X era dato dall'involucro della crisalide (infatti nella farfalla la massa delle uova è visibile); d'altra parte sottoporre ai raggi X crisalidi appena formate « prima che la buccia di esse si colorisse molto » sarebbe stato vano poichè allora le uova non ancora rivestite del guscio non avrebbero opposto ostacolo alcuno al passaggio dei raggi. Del resto una prova dell'opacità dell'involucro della crisalide si potrebbe avere sottoponendo ai raggi degli involucri nei quali fosse stato introdotto « un oggetto metallico ».

Ho esposto un po' per esteso le modalità e i risultati di queste ricerche perchè esse sono la base di quegli studi personali che ora mi dispongo a descrivere e ai quali sono stato indotto pensando che da un lato in 33 anni la tecnica radiologica poteva aver compiuto progressi tali da permettere risultati migliori di quelli già ottenuti e che, dall'altro lato, l'impiego dei raggi X avrebbe potuto realmente mostrarsi efficace nello studio della metamorfosi del baco da seta.

Si aggiunga che, indipendentemente da una possibile applicazione pratica, lo studio della diversa penetrabilità da parte dei raggi X dei vari tessuti della crisalide e della farfalla mi parve, anche sotto l'aspetto puramente scientifico, meritevole di attenzione.

## Radioscopia dei bozzoli

Esperienze preliminari vennero eseguite nel giugno 1929 presso l'Istituto di Fisica Complementare della R. Università di Milano; grazie alla cortesia e al prezioso aiuto del Prof. Enzo Pugno Vanoni che dirige il laboratorio di Radiologia annesso a detto Istituto, mi fu possibile servirmi per codeste ricerche del grande impianto per la produzione dei Raggi X del quale il laboratorio è dotato.

In un primo tempo furono fatte delle osservazioni radioscopiche su bozzoli vivi, (compiuti circa da 2-5 giorni) di razza *Gran Sasso*. Sullo schermo di platinocianuro di bario l'ombra nera delle crisalidi e il contorno del bozzolo apparvero nettissimi, ma, per quanto si variassero le condizioni tecniche, non fu possibile distinguere particolari nell'interno delle crisalidi stesse; se infatti si aumentava la durezza dei raggi impiegati (producendo cioè radiazioni di lunghezza d'onda minore e quindi più penetranti), l'ombra delle crisalidi diveniva sempre più tenue, mentre invece se la durezza dei raggi veniva diminuita l'ombra appariva bensì più evidente, ma nel suo interno non si distingueva nulla, e, d'altra parte, la luminosità dello schermo diminuiva in modo tale da rendere malagevole l'osservazione.

Poichè però l'impossibilità di distinguere le uova nelle crisalidi femminili non poteva per ora attribuirsi se non al fatto che le uova, essendo le crisalidi molto giovani, non erano ancora fornite di guscio, così pensai di operare una prima selezione in base alla sagoma, tenendo presente che questa è più snella e appuntita nelle crisalidi maschili che nelle femminili. Queste prime esperienze, praticate su un numero molto esiguo di soggetti, diedero risultati non troppo soddisfacenti: su 27 bozzoli ottenni infatti 13 maschi e 14 femmine: dei primi, 4 eran stati ritenuti femmine e delle seconde 3 eran state ritenute maschi. La diagnosi era stata dunque errata su 7 bozzoli, con un errore pertanto del 23, 7% circa, valore troppo alto per una pratica applicazione del metodo. Una radiografia di 6 di questi bozzoli (fig. 1) mostra chiaramente la diversità delle sagome delle crisalidi: i 4 bozzoli superiori (A, B, C, E), son femmine, e i due



inferiori (D. F.) sono maschi; per il bozzolo F può però sussistere il dubbio. Ben visibili sono gli involucri dei bozzoli (uno dei quali, A, era stato schiacciato); pure distintissimi sono nell'addome i singoli anelli e le zone ove si aprono gli stigmi, e in una crisalide (la più evoluta, E) si distinguono anche gli occhi.

Nell'interno di ogni crisalide è poi più o meno distinta una macchia ovale la cui lunghezza è variabile; vedremo in seguito che cosa essa sia.

Nella primavera successiva le esperienze vennero riprese al R. Istituto Superiore Agrario, mediante un piccolo apparecchio per raggi X « Iten », modello portatile, del quale era provvisoriamente dotato il Laboratorio Fitopatologico nell'attesa dell'impianto definitivo.

In queste nuove ricerche ho desiderato appurare i seguenti fatti:

1. — Vedere se si può cogliere un momento della vita ninfale nel quale la distinzione dei sessi è resa radiosopicamente possibile dalla presenza delle uova nelle crisalidi femminili.

2. — Qualora la distinzione risultasse impossibile con questo metodo, esaminare se la differente forma delle crisalidi dei due sessi è un criterio sufficiente per operare — sempre per radioscopia — la selezione, ed esaminare il valore pratico del sistema.

Come materiale di studio ho adoperato bozzoli di razze *Bivoltino giapponese*, *Maiella* e *Incrocio bigiallo*, ma, dati gli scopi suesposti, ho ritenuto utile, prima di procedere a una prova in grande, di fare con la massima cura alcuni saggi preliminari su pochi (15-20) bozzoli: soltanto se gli errori fossero riusciti sufficientemente piccoli per dare adito a speranze di pratica applicazione, gli studi radiosopici avrebbero potuto essere utilmente estesi a un gran numero di individui.

Per quanto concerne le condizioni tecniche dell'esperienza ho constatato, dopo numerose prove, che le migliori condizioni per l'osservazione radiosopica con l'apparecchio adoperato erano le seguenti:

Distanza dello schermo fluorescente dal tubo: cm. 40; condizioni di funzionamento del tubo: mA. 3,5 - 4; Kv. 20 - 26. Tenevo i bozzoli dietro lo schermo sospendendoli con una funicella, e avevo cura di iniziare l'osservazione soltanto dopo alcuni

minuti di adattamento al buio. In queste condizioni e con un po' di esercizio, mi è riuscito di compiere ogni esame in un periodo di tempo medio di 9 secondi circa.

Per raggiungere il primo scopo ho sottoposto all'esame radiosopico ripetutamente gli stessi bozzoli ogni 2 giorni: ma in nessuno dei bozzoli contenenti crisalidi femminili mi è mai stato possibile non dico discernere, ma neppure intravedere le uova, nemmeno quando l'esame era compiuto a poche ore di distanza dallo sfarfallamento.

Conformemente alle osservazioni del MELISSARI (31), l'ombra della crisalide si proietta nettamente sullo schermo, ma nel suo interno non si distingue mai nulla; tutt'al più ho potuto constatare che nelle crisalidi prossime alla schiusura quelle femminili proiettano un'ombra più intensa di quelle maschili e che in queste ultime l'addome compare coi bordi e con l'estremo più chiari che in quelle, ciò che indica rispetto ai raggi impiegati una maggiore opacità delle crisalidi femminili in confronto a quelle maschili, soprattutto evidente nelle zone indicate: questo fatto (che può essere rilevato dall'esame di alcune delle radiografie annesse al presente lavoro) è certamente da attribuirsi alla presenza delle uova nelle crisalidi femminili, ma non è sufficientemente palese per poter essere preso praticamente come carattere distintivo. All'esame radiosopico si può distinguere invece, spesso senza fatica, il contorno del bozzolo e talvolta (a seconda della sua posizione), anche la spoglia larvale.

Poichè dunque eran risultati vani i tentativi in questo senso mi sono rivolto al raggiungimento del secondo scopo.

La forma delle crisalidi è diversa nelle varie razze: essa è, in media, alquanto snella nel *Bivoltino giapponese* ed è più tozza nell'*Incrocio bigiallo* e nell'*Indigeno Gran Sasso* e *Majella*; ma, indipendentemente da queste differenze di razza, la crisalide femminile è quasi sempre più tozza di quella maschile, e buon carattere distintivo è l'estremità addominale che, appuntata nel maschio è — di solito — largamente appiattita nella femmina: dico di solito perchè tra i casi estremi si possono trovare numerosi termini di passaggio, i quali fan sì che, se per molti bozzoli la ginecrinatura con questo metodo è agevole, essa è invece più o meno difficile per molti altri.

Le condizioni tecniche e i risultati di queste esperienze sono riportate nella seguente tabella:

**TABELLA**  
indicante i risultati della ginecrinatura radioscopica di bozzoli di varie razze

R A Z Z A	DATE UTILI		DATI TECNICI		R I S U L T A T I						Percentuale errori					
	Data uscita al bosco		Data sfarfallamento		Kv.	m.A.	Num. bozzoli osservati	Numero di maschi				Numero di femmine			Numero diagnosi errate	
	Data osservazioni	Data sfarfallamento	realmente sfarfallati					realmente sfarfallate								
			in base alla radioscopia	ad esame ai gruppi maschi	ad esame ai gruppi femmine	Totali	ad esame ai gruppi maschi	ad esame ai gruppi femmine	Totali							
Bivolino giapponese	5-7 giugno	13 giugno	21-23 giugno	21-23 giugno	40	4	17	10	10	4	14	7	3	3	4	23,53 %
Indigeno Majella	31 mag. 3 giug.	14 giugno	22-24 giugno	22-24 giugno	40	3,5	20	10	9	4	13	10	1	6	7	25 %
Incrocio bigiallo	12-14 giugno	26 giugno	29 giug. 1 luglio	29 giug. 1 luglio	40	4	20	9	6	2	8	11	3	9	12	5 25 % <sub>0</sub>

Come si vede, la percentuale degli errori si aggira (come già per le esperienze dell'anno precedente) intorno al 25%, troppo in verità perchè si possa pensare a un'applicazione pratica della radioscopia e perchè nuove esperienze su più larga scala potessero ritenersi utili.

Scartata quindi l'idea di sostituire totalmente l'osservazione radioscopica agli ordinari sistemi di ginecrinatura, ho pensato però che forse il metodo avrebbe potuto trovare un'applicazione parziale, in quanto che avrebbe potuto essere utilizzato per tentare la selezione dei sessi limitatamente a quel gruppo di bozzoli «dubbi» il cui peso è prossimo al peso medio dell'intera partita e che in alcuni moderni ginecrini vanno a cadere in una apposita cassetta.

Una nuova serie di esperienze fu perciò compiuta nell'anno 1930 su bozzoli *Incrocio bigiallo* di secondo allevamento; tali bozzoli provenivano da larve salite al bosco il 10-12 ottobre; lo sfarfallamento avvenne tra il 7 e il 14 novembre: le tarde schiuse e il loro protrarsi per circa una settimana sono da attribuirsi al freddo incipiente data la stagione alquanto avanzata.

Ho accuratamente pesato (17 ottobre) 100 di questi bozzoli, e, dopo avere constatato un peso globale di gr. 162,400, — cioè un peso medio di gr. 1.624 per bozzolo, — ho pesato i singoli bozzoli e li ho ripartiti in 3 gruppi; eran posti nel primo tutti i bozzoli il cui peso fosse inferiore a gr. 1,524 (molto probabilmente maschi), nel secondo quelli il cui peso fosse superiore a gr. 1.724 (molto probabilmente femmine), e nel terzo quelli il cui peso fosse compreso tra questi due limiti («incerti»); quindi ho esaminato radioscopicamente soltanto questi ultimi.

I dati che si riferiscono a queste esperienze son riportati nella seguente tabella:

### TABELLA

indicante i risultati della ginecrinatura (in base al peso pel 1° e 2° gruppo, in base alla radioscopia pel 3° gruppo) di N. 100 bozzoli *Incrocio bigiallo* saliti al bosco il 10-12 ottobre e sfarfallati il 7-14 novembre. - Peso globale il 17 ottobre gr. 162,400 (peso medio di un bozzolo gr. 1,624) (1).

		PRIMO GRUPPO	SECONDO GRUPPO	TERZO GRUPPO
NUMERO DEI BOZZOLI		41	36	23
Peso (il 17 ottobre)	globale	gr. 58.630	gr. 65,448	gr. 37,352
	medio	gr. 1,430	gr. 1,818	gr. 1,624
Dati tecnici dell'osservazione radioscopica (20 ottobre)	Kv.			33
	mA.			5
Num. di individui osservati	giudicati maschi	41		9
	giudicate femmine		36	14
Numero di individui ottenuti 7-14 novem.	maschi	nel gruppo giudicati maschi	37	7
		nel gruppo giudicate femmine		4
	femmine	nel gruppo giudicati maschi	4	4
		nel gruppo giudicate femmine		32
Totale diagnosi errate		4	4	10
Percentuale errori		9,76 ‰	11,11 ‰	43,48 ‰

(1) Le osservazioni radioscopiche furono compiute con l'impianto definitivo "Iten", per raggi X del Laboratorio Fitopatologico (Tube "Miller Rundfokus", distanza dello schermo fluorescente dal tubo cm. 45); i dati tecnici (riportati nella tabella) son stati perciò convenientemente modificati rispetto a quelli delle esperienze primaverili.

Dall'esame di questa tabella risulta quindi evidente che, mentre la ginecrinatura basata sul differente peso dei bozzoli ha dato, in media, una percentuale di errori del 10,43, tale percentuale raggiunge il 43,48 per la ginecrinatura radioscopica quando questa sia limitata a quei bozzoli il cui peso è molto vicino al peso medio dell'intero gruppo considerato. E ciò dipende dal fatto che, mentre nei bozzoli che hanno un peso molto elevato o molto basso le differenze di grandezza e di forma delle crisalidi sono tali che permettono di porre con sufficiente certezza i primi tra le femmine e i secondi tra i maschi, tali differenze son troppo poco manifeste nelle crisalidi di bozzoli che hanno un peso prossimo alla media perchè la selezione tra i sessi possa quindi essere operata con un certo grado di sicurezza. La radiografia 2 mostra chiaramente questo fatto: essa è di due bozzoli tratti dal gruppo dei 100 studiati: l'uno di questi bozzoli (A) pesava gr. 2,045, l'altro (B) gr. 1,283; la differenza morfologica delle crisalidi è tale che non può esservi dubbio: l'A è femmina e il B è maschio; ma questi sono i casi estremi. Si osservino invece, per es., le crisalidi F e E della radiografia N. 1 già citata; qui le differenze morfologiche son troppo piccole perchè esse possano essere rilevate da un semplice esame radioscopico.

Dall'esame degli studi fin qui riferiti si può dunque concludere quanto segue:

1. — Non è possibile mediante la radioscopia dei bozzoli distinguere nell'interno delle crisalidi femminili, anche se prossime alla schiusura, la massa delle uova, o comunque, differenze anatomiche tali da renderle distinguibili dalle crisalidi maschili.
2. — Mediante la radioscopia dei bozzoli si può procedere a una selezione dei sessi che sia basata sulle differenze morfologiche tra crisalidi maschili e crisalidi femminili; ma la media degli errori è del 25% circa; la percentuale degli errori è poi tanto maggiore quanto più il peso dei bozzoli si avvicina al valore medio dell'intera partita esaminata, e pei bozzoli il cui peso è assai prossimo a detto valore, il numero degli errori raggiunge quasi il 45% (almeno nella razza « Incrocio bigiallo »).
3. — Poichè quindi la ginecrinatura col metodo radioscopico ha un carattere di sufficiente sicurezza soltanto in quegli stessi casi estremi nei quali essa è egregiamente compiuta dai

sistemi basati sul peso dei bozzoli, non si può — almeno allo stato attuale delle ricerche — pensare a un'utile applicazione pratica del metodo in questione.

## Radiografie di crisalidi e di farfalle

Esplorato così quello che potrebbe chiamarsi il lato pratico della questione, lato per il quale, conformemente alle idee di QUAIAT e BELLATI (4), non era il caso di pensare a radiografie, ho desiderato approfondire maggiormente a scopo puramente scientifico alcuni punti dell'argomento studiato. E, più precisamente, ho inteso studiare il diverso grado di trasparenza che i singoli tessuti della crisalide e della farfalla presentano relativamente l'uno all'altro rispetto ai raggi X. Talé studio fu intrapreso con un duplice scopo:

1. — Cercare di stabilire a quali cause può attribuirsi l'impossibilità di discernere le uova nella crisalide coi raggi X.

2. — Portare un nuovo, sia pure modesto, contributo alla biologia del filugello negli stadi di ninfa e di immagine.

La radiografia fu il mezzo per cercare di raggiungere l'uno e l'altro fine <sup>(1)</sup>. E l'osservazione delle radiografie ottenute, per quanto concerne il primo punto, mi ha condotto alle seguenti constatazioni:

1. — Le uova libere tanto gialle, cioè appena deposte, (fig. 3) quanto colorate (fig. 4) presentano ai raggi X adoperati una opacità uguale fra loro e sufficiente perchè esse possano essere radiografate. All'esame radioscopico invece (praticato nelle condizioni seguite per le crisalidi) esse rimangono affatto invisibili.

2. — L'involucro secco della crisalide, una volta uscita la farfalla, (fig. 5 A) è completamente trasparente ai raggi X impiegati: le uova gialle (5 B) o grige (5 C) o un pezzo di piombo (5 D) introdotti in esso sono infatti nettamente radio-

(1) Salvo le radiografie 1 (eseguita nel giugno 1929 all'Istituto di Fisica), 19, 20 A e 20 B (eseguite nel giugno 1930 con l'apparecchio portatile « Iten ») tutte le altre furono compiute nell'autunno 1930 con l'impianto definitivo « Iten » e sempre nelle stesse condizioni: Distanza dello « chassis » dal tubo cm. 50; Kv. 32; mA. 20; posa 4 sec.; tubo « Müller Rundfokus ».

grafabili, mentre invece l'involucro della crisalide non è affatto visibile.

3. — L'involucro ancor fresco di una crisalide, dalla quale sia stata estratta la farfalla già completamente formata, non presenta, rispetto ai raggi X impiegati, la stessa completa trasparenza degli involucri secchi. La fig. 7 A mostra uno di questi involucri nel quale, dopo averne estratta la farfalla (una femmina), avevo introdotto un pezzo di piombo e delle uova; la corrispondente radiografia (7 B) mostra infatti, oltre agli oggetti contenuti nell'involucro, anche il contorno di quest'ultimo. L'involucro secco è invece assai più trasparente non solo quando la farfalla ne è naturalmente sgusciata (figg. 5 B, 5 C e 5 D, dove è affatto invisibile), ma anche quando la farfalla è ancora, morta, nel suo interno (figg. 12 B, e 22 B, dove è appena percettibile). In ogni modo però si può affermare che, contrariamente alle ipotesi di LEVRAT e TESTENOIRE (40) e del MELISSANI (31), l'involucro della crisalide non è un ostacolo, o, per lo meno, non è il solo ostacolo che impedisce di distinguere le uova nell'interno della crisalide matura.

4. — Nelle crisalidi non ancora mature le uova, ancora sprovviste di guscio, non offrono ostacolo alcuno al passaggio dei raggi. Infatti la fig. 6 mostra alcune uova tratte da una crisalide formatasi da 10 giorni (alla quale cioè — per confronto colle altre crisalidi della stessa partita — dovevano mancare circa 20 giorni per lo sfarfallamento). Sulla pellicola radiografica tali uova non lasciarono traccia alcuna.

5. — E' possibile radiografare abbastanza nettamente le uova racchiuse ancora nel corpo della farfalla quando questa è già sfarfallata da parecchie ore, il suo addome appare meno gonfio che all'istante della nascita, il suo intestino è completamente svuotato dei liquidi che conteneva, ed essa ha già deposto alcune uova, sicchè quelle restanti non formano più una massa talmente compatta da render difficilmente discernibili i singoli elementi (fig. 8); ma quando la farfalla è appena nata e il suo addome è alquanto turgido, le uova a un esame radiografico non sono discernibili (fig. 9).

6. — La discernibilità delle uova è migliore nelle farfalle morte che in quelle vive: infatti, mentre nella radiografia 9 B le uova non si distinguono, queste risultano abbastanza visibili — soprattutto ai margini dell'addome — nella radiografia 10 B che

riproduce la stessa farfalla (che, rimasta vergine, non aveva deposto che pochissime uova) un paio di giorni dopo la morte. La differente trasparenza rispetto ai raggi X dei vari tessuti ed organi nelle farfalle vive in confronto a quelle morte è ancor più evidente negli individui morti nell'interno stesso della crisalide poco prima di uscirne.

Si paragonino infatti tra loro le radiografie 11 B e 12 B: la prima è di un maschio vivo, la seconda di un maschio morto (da 2 giorni e in via di disseccamento) nell'interno della crisalide al momento dello sfarfallamento: in quest'ultima radiografia, a parte la netta visibilità del tubo digerente (che non si era vuotato del suo particolare contenuto liquido), è altresì evidente la zona trasparente occupata dalla vescica aerea; e si può constatare una maggiore trasparenza generale dell'addome in confronto a quello della radiografia 11 B (qui i singoli anelli addominali sono visibili e nascondono gli organi sottostanti; ciò non avviene in 12 B).

Lo stesso dicasi se si confrontano le radiografie 13 B e 21 — riproducenti crisalidi che contenevano farfalle femmine già completamente formate e prossime allo sfarfallamento — con la radiografia 22 B, la quale è di una farfalla femmina morta nelle stesse condizioni della farfalla maschio della fig. 12; qui l'intestino non è visibile (probabilmente perchè mascherato dalla massa delle uova), ma l'angusto spazio occupato dalla vescica aerea e l'armatura genitale posson distinguersi agevolmente: nelle figg. 13 B e 21 nulla di ciò è manifesto.

7. — Attraverso una crisalide viva contenente la farfalla già completamente formata non si possono — come si è già detto più volte — vedere le uova (fig. 13); ma se, estratta la farfalla, si asporta la parte ventrale della parete dell'addome di questa mettendo a nudo i tubi ovarici, le uova sono facilmente radiografate tanto se i tubi ovarici sono lasciati *in situ* (fig. 14, nella quale i tubi ovarici sono stati lievemente scostati soltanto ai bordi), quanto se essi sono stati estratti e distesi (fig. 15).

8. — La parete dell'addome della farfalla non presenta notevole ostacolo al passaggio dei raggi X, come risulta dalle radiografie 16, 8 e 14 B (in quest'ultima soltanto la parte dorsale di detta parete è rimasta; essa compare come una lieve ombra appena discernibile tra le singole uova); ma la sua trasparenza è maggiore nelle farfalle morte e in via di disseccamento che in

quelle vive (cfr. radiografie 11 B e 12 B; 9 B e 10 B; e, per l'estremità dell'addome, le rad. 16 e 17 B).

Le osservazioni fin qui riferite condurrebbero dunque logicamente alle seguenti conclusioni:

*Le uova fornite di guscio possono essere radiografate ma la loro visibilità (non solo radioscopicamente ma anche radiograficamente) nell'interno della crisalide matura viva e nella farfalla neonata è impedita da cause molteplici le quali posson verosimilmente ascrivarsi a tre ordini di ostacoli:*

1. — *I tessuti e gli organi dell'insetto vivo e non ancora o appena sfarfallato mostrano rispetto ai raggi X una trasparenza minore e con differenze reciproche meno marcate che nell'insetto perfetto, soprattutto dopo la morte.*

2. — *La parete del corpo della farfalla (soprattutto negli anelli dell'addome) e l'involucro della crisalide sono più opachi ai raggi X negli individui vivi che in quelli morti e, sebbene considerati singolarmente essi non formino un serio ostacolo alla penetrazione dei raggi, pure possono, soprattutto se sono sovrapposti (come avviene nella crisalide matura), contribuire a mascherare le uova sottostanti.*

3. — *La massa delle uova strettamente stipate tra loro è anche una causa che ostacola la discernibilità dei singoli elementi.*

Queste conclusioni permettono di chiarire le ragioni che impediscono di rilevare tanto all'indagine radioscopica quanto a quella radiografica le uova nell'interno della crisalide femminile matura, e, in certe condizioni, anche nella farfalla. Il diverso comportamento dei soggetti vivi rispetto a quelli morti spiega anche la differente possibilità di distinguere le uova nelle crisalidi morte e in quelle vive, fatto non solo constatato da me, ma anche (come si è già detto) da LEVYAT e TESTENOIRE (40) e dal MELISSARI (31). La presenza delle uova sotto forma di una massa opaca ai raggi X, ma della quale è impossibile discernere i singoli elementi, è quindi soltanto manifestata da due fatti, e cioè:

1. — *Dalla maggiore opacità rispetto ai raggi X — constatabile radiograficamente e, in misura assai più esigua, anche radioscopicamente — della parete dell'addome delle crisalidi mature femminili in confronto a quella delle crisalidi maschili,*

2. — Dalla difficoltà e spesso impossibilità di osservare sulla pellicola radiografica l'intestino nelle crisalidi femminili mature, mentre questo — come ebbero già a constatare LEVRAT e TESTENOIRE (40) per le crisalidi secche — resta visibile nelle crisalidi maschili.

Quest'ultimo fatto mi conduce a parlare di quelli che furono i risultati delle ricerche rivolte all'applicazione dei raggi X allo studio di alcuni fenomeni della metamorfosi, e, più precisamente, di quelli che concernono l'apparato digerente.

Quasi tutte le radiografie di crisalidi vive (purché non si tratti di femmine mature) e di farfalle sgusciate specialmente se maschi, mostrano infatti più o meno nettamente nell'interno dell'addome una macchia scura: questa macchia — già osservata da LEVRAT e TESTENOIRE (40) — è, come attestano la forma, la posizione e le sue successive modificazioni, dovuta all'intestino. La possibilità di seguire mediante l'indagine radiografica le successive modificazioni del tubo digerente durante il periodo ninfale è cosa che ritengo interessante, ma dirò subito che nelle presenti ricerche, rivolte soprattutto allo studio della ginecinnatura, tale possibilità non è stata sistematicamente sfruttata; uno speciale studio in proposito potrà essere iniziato in seguito, ma i risultati ottenuti in questa occasione meritano tuttavia — credo — di essere ricordati.

Nei primi due giorni dell'incrisalidamento (Rad. 1 A, B, C, femmine, e F maschio) l'intestino medio ha ancora notevoli dimensioni: la lunghezza e la larghezza sono simili a quelle della larva all'istante della metamorfosi, e la macchia nera che la rivela sulla pellicola radiografica occupa buona parte dell'addome della crisalide; in certi casi (rad. 1 C, F) si riesce a distinguere una piccola porzione dell'esofago e talvolta (Rad. 1 C) anche la prima parte dell'intestino posteriore. Dopo tre-quattro giorni ancora (Rad. 1 E femmina e 1 D maschio), cioè a 5-6 giorni dall'inizio della ninfa, l'intestino medio è già notevolmente ridotto: la sua porzione anteriore è ristretta e la sua estremità posteriore arrotondata non si spinge che ben poco al disotto del 5.º segmento addominale.

Verso la metà del periodo ninfale (Rad. 2 A femmina, 2 B maschio) lo stomaco è già ridotto a proporzioni minime: esso occupa il 2.º e 3.º anello dell'addome, e, visto di fronte (Rad.

2 B), ha un'aspetto press'a poco cuoriforme, allargato anteriormente e assottigliato posteriormente.

È interessante confrontare queste radiografie con i disegni 133, 135, 137, e 141 della Monografia del CORNALIA (1).

Fino a questo momento di tutto il tubo digerente è ben visibile soltanto la porzione media, e, inoltre, la sua opacità ai raggi X è ben maggiore lungo il margine che non nell'interno, come può esser facilmente rilevato dalle radiografie fin qui considerate. Ma quando ci si avvicina allo sfarfallamento le cose cambiano notevolmente: tutto l'insieme della crisalide — forse per il formarsi della cuticola della farfalla — appare assai più opaco ai raggi X e il tubo digerente spicca quindi molto meno; inoltre l'interno di questo non appare più trasparente dei bordi, ma mostra la stessa opacità di questi, sicché esso non compare più come una macchia scura circondata da un margine ancora più scuro, ma semplicemente come una macchia ugualmente cupa in ogni suo punto; finalmente non solo l'intestino medio è visibile, ma è visibile anche, ed anzi più di esso, l'ampia borsa cecale; si aggiunga infine che — come è stato già detto in precedenza — la possibilità di radiografare l'intestino nella crisalide femminile matura è alquanto ostacolata dalla presenza della massa delle uova già fornite di guscio.

Circa 2-3 giorni prima della schiusura le crisalidi maschili (fig. 18 e 19) mostrano infatti più o meno distintamente due macchie in corrispondenza dello stomaco e della vesicica cecale; nelle femmine della stessa età codeste macchie sono assai meno nettamente visibili (figg. 20 A e B), e non lo sono più affatto (figg. 21 e 22 B) o quasi affatto (fig. 13 B) nelle crisalidi femminili assai prossime alla schiusura.

Nella farfalla il tubo digerente mostra un diverso grado di visibilità a seconda che quel particolare liquido rossiccio che esso contiene (soprattutto nella vesicica cecale) è stato completamente espulso o è ancora presente, almeno in parte. Così nella farfalla maschio riprodotta nella fig. 12, farfalla che, per essere morta nell'interno stesso della spoglia della crisalide, non aveva ancora emesso detto liquido, l'intestino è nettamente visibile; esso lo è pure (stomaco e borsa cecale) ma assai meno, nelle

(1) L. C., *Tavole illustrative*.

femmine neonate (fig. 9), ma non lo è quasi più nei maschi dopo parecchie ore di vita (fig. 11) ed è invisibile del tutto nelle femmine già da lungo tempo sgusciate, tanto se l'addome è ancora pieno di uova (figg. 8 e 10), quanto se la deposizione è già avvenuta (fig. 16): in quest'ultimo caso però lo stomaco resta talvolta, sebbene assai debolmente, visibile (fig. 17). E' dunque a quello speciale liquido che le farfalle emettono dall'ano durante e poco dopo lo sfarfallamento (liquido che — secondo quanto già ritennero MAESTRI (1) e CORNALIA (2) — non ha nulla a che fare con la secrezione alcalina della vescica aerea) che potrebbe doversi attribuire la constatata notevole opacità ai raggi X del tubo digerente.

A differenza dell'intestino medio e della borsa cecale, la vescica aerea è trasparentissima ai raggi X adoperati, non solo quando il liquido in essa contenuto non è stato espulso (figg. 12 B e 22 B), ma anche quando essa non contiene più che aria, cioè dopo lo sfarfallamento; è anzi appunto grazie a questa sua trasparenza, contrastante con quella assai minore degli altri organi e tessuti, che è possibile seguire le successive modificazioni che essa subisce durante la vita della farfalla. Nella crisalide viva essa non è mai visibile.

Prima ancora dello sfarfallamento la vesciva aerea occupa un breve spazio compreso fra la base del torace e i primi due anelli dell'addome (figg. 12 B e 22 B); nella farfalla appena sgusciata essa è pure ancora alquanto ristretta (fig. 9 B), ma lo spazio da essa occupato aumenta gradatamente durante la vita della farfalla (figg. 10 B, 11 B, 8), fino a comprendere la maggiore parte dell'addome come si può facilmente osservare nelle femmine che abbiano terminata la deposizione (figg. 16 e 17 B).

Finalmente, per quanto concerne la differente trasparenza presentata ai raggi X impiegati dagli organi e tessuti della farfalla non menzionati fin qui, dirò che, tra gli organi interni, si possono distinguere nelle crisalidi contenenti la farfalla femmina morta (fig. 22 B) parte degli organi sessuali accessori (apparecchio copulatore e parti annesse).

(1) MAESTRI A., *Frammenti anatomici, fisiologici e patologici sul baco da seta*. Pavia 1856, p. 57 e segg.

(2) CORNALIA E. - Op. cit. p. 260.

Nelle radiografie di farfalle si vedono anche più o meno bene gli occhi e le antenne, nel torace le articolazioni, la base delle zampe e le maggiori nervature alari, nell'addome infine i singoli anelli.

Nella crisalide si distinguono bene in scuro gli anelli dell'addome e in chiaro le zone trasparenti corrispondenti all'apertura degli stigmi, e talvolta (specialmente nelle ninfe mature), gli occhi.

In conclusione le osservazioni radiografiche qui descritte possono riassumersi come appresso:

*Nelle condizioni tecniche seguite i diversi organi e tessuti della crisalide e della farfalla del baco da seta presentano ai raggi X una opacità che soltanto per alcuni organi è sufficiente per permetterne la radiografia; il grado di trasparenza varia però non solo nei diversi organi e tessuti, ma anche nei vari stadi della vita della crisalide e della farfalla, ed a seconda che l'insetto sia vivo o morto; questi fatti spiegano la differente rilevanza sulla pellicola radiografica degli stessi organi e tessuti quando le osservazioni radiografiche vengono eseguite in diverse condizioni biologiche dei soggetti esaminati.*

Prima di terminare aggiungerò che mi son sempre preoccupato di vedere se i raggi X adoperati avessero, con la tecnica sperimentale adottata, una azione fisiologica sui soggetti che venivano sottoposti agli esami radioscopici e radiografici; ma anche io, come già LEVRAT e TESTENÔME (40), non ho potuto constatarne alcuna. Infatti tanto gli individui trattati, quanto i controlli mi han sempre mostrato lo stesso comportamento.

## BIBLIOGRAFIA

1. ACQUA C. — *La diagnosi del sesso in base a reazioni chimiche*. - Boll. R. Stazione Gelsicol. e Bachicol., Ascoli Piceno, vol. VI, 1927, N. 2, pag. 74.
2. — — — *Un apparecchio per il riconoscimento dei sessi nelle larve del baco da seta*. - *Ibid.*, vol. VII, 1928, N. 4, pag. 106.
3. — — — *La ginecrinatura ottica delle larve del baco da seta*. - *Ibid.*, vol. IX, 1930, N. 1, pag. 32.
4. BELLATI M. — *I raggi Röntgen e le scariche Tesla in relazione alle ova del filugello*. - Boll. Mensile di Bachicoltura, Serie III, A. 3, Padova, 1897, pag. 57.
5. BIANCHI A. — *Esperienze sulla determinazione del sesso dei Bombyx mori dal bozzolo*. - Il Nuovo Ercolani, A. V, N. 20, 1900, Pisa, pag. 386.
6. BROCADELLO A. — *Il sesso nelle uova*. - Boll. Mens. di Bachicoltura, Serie III, A. 2, Padova, 1896, pag. 100.
7. CAVAZZA F. — *Influenza di agenti chimici sullo sviluppo, metamorfosi e riproduzione del Bombyx mori*. - *Bios*, vol. 1, fasc. 4, 1913.
8. — — — *Influenza di alcuni agenti chimici sulla fecondità del B. mori e sul sesso delle uova riprodotte*. - *Redia*, vol. IX, fasc. 2, 1913.
9. — — — *Seconda serie d'esperienze intorno all'influenza di alcuni agenti chimici sul B. mori*. - *Redia*, vol. XII, fasc. 1, 1916.
10. — — — *Azione di agenti chimici nella determinazione del sesso negli insetti*. - *Tip. P. Neri*, Bologna, 1916.
11. — — — *Modificazione della determinazione del sesso o stimolo alla partenogenesi?* - *Natura*, vol. VII, 1916.
12. — — — *Studio sperimentale di alcuni casi di determinazione del sesso e di partenogenesi*. - *Redia*, vol. XV, fasc. 1-2, 1924, pag. 19.
13. CUÉNOT L. — *La détermination du sexe*. - *Rév. gén. Sc.*, Paris, T. VII, 1896.
14. — — — *Sur la détermination du sexe chez les animaux*. - *Bull. Sc. France-Belgique*, T. XXXII, 1899.
15. — — — *Y a-t-il une relation entre le sexe et la taille des oeufs chez les lépidoptères?* - *Arch. Zool. Exp.*, 4 Série, T. III, 1904.
16. — — — *La prétendue relat'on entre la taille des oeufs et le sexe chez le Ver à soie*. - *C. R. Soc. Biol.*, T. I., Paris 1905.
17. DONCASTER L. — *On the Relations between Chromosomes, sex limited Transmission and sex Determination in Abraxas Grossulariata*. - *Journ. of Genetics*, vol. IV, n. 1, pag. 1, London, 1914.
18. FLAMMARION C. — *Influence des couleurs sur la production des sexes*. - *C. R. Ac. Sc.*, T. CXXXIII, 1901.
19. FOÀ A. — *Influenza del maschio nella trasmissione della pebrina del baco da seta*. - *Boll. del Lab. di Zool. gen. e agr. della R. Scuola Sup. di Agric.*, Portici, Vol. XV, 1922 (Riportato in parte dal *Boll. R. Staz. di Gelsic. e Bachic. di Ascoli Piceno*, vol. I, 1922, N. 5, p. 195).
20. — — — *Le nostre conoscenze sulla determinazione del sesso e la loro applicazione al baco da seta*. - *Boll. R. Staz. Gelsic. e Bachic.*, Ascoli Piceno, vol. III, 1924, N. 1, p. 14.
21. FOÀ A. e ROMEO A. — *La variabilità nelle uova del baco da seta studiata in rapporto alla produzione del sesso*. - *Boll. del R. Lab. di Entomol. Agr.*, Portici, vol. XVIII, 1925, p. 130.
22. GOLDSCHMIDT R. — *Einführung in die Vererbungswissenschaft*. - Leipzig, 1923.
23. ISHIWATA S. — *Sur les marques extérieures des sexes du Ver à soie*. - *Bull. Ass. Séríc. du Japon*, N. 146, Tokyo 1904.
24. JUCCI C. — *La fecondità nel Bombyx mori. Studi statistici sui caratteri dell'ovifecazione (numero, grandezza e peso delle uova) in varie razze di bachi da seta*. - *Boll. del Lab. di Zool. gen. e agr.*, Portici, vol. XVIII, 1925, pag. 225.
25. KELLOGG V. & BELL R. — *Sex differentiation in larval Insects*. - *Univ. California*, 1907.
26. — — — *Notes on Insect bionomics*. - *Journ. Exp. Zool.*, vol. I, 1904.
27. LOMBARDI L. — *Sulla determinazione del sesso nel Bombyx mori*. - *Boll. R. Staz. Gelsic. e Bachic.*, Ascoli Piceno, vol. II, 1923, N. 1, p. 1.
28. — — — *Ricerche preliminari sull'azione della luce ultravioletta sul baco da seta, e sull'impiego della luce di Wood come mezzo di selezione*. - *Ibid.* vol. VII, N. 2, 1928, p. 35.
29. — — — *La fluorescenza delle larve di Bombyx mori alla luce di Wood*. - *Ibid.*, vol. VIII, N. 3, 1929.
30. — — — *Ulteriori ricerche sul Bombyx mori eseguite alla luce di Wood*. - *Ibid.*, vol. IX, N. 4-5, 1930, p. 127.
31. MELISSARI F. S. — *Sul modo di riconoscere il sesso nelle crisalidi coi raggi X*. - *Il Bacologo Italiano*, 5 Sett. 1897.
32. PICTET A. — *Influence de l'alimentation sur la formation du sexe chez les lépidoptères*. - *Archiv. Sc. Phys. et Nat.*, Genève, vol. XIX, 1905.
33. QUAJAT E. — *Ricerche sperimentali dirette a distinguere il sesso nelle uova e nella larva*. - *Annuario R. Staz. Bacol. di Padova*, vol. XXXI, 1903, p. 39.
34. — — — *Nuove ricerche dirette a constatare il sesso nelle uova e considerazioni sul metodo Ishiwata per la separazione delle larve*. - *Ibid.* vol. XXXII, 1904, p. 110.



35. SEILER J. — *Geschlechtschromosomen Untersuchungen an Psychiden. - I. Experimentelle Beeinflussung der geschlechtsbestimmenden Reifeteilung bei Talaeporia tubulosa Retz.* - Archiv. für Zellforschung, Bd. XV, H. 3, 1920.
36. SCHRATZ E. — *Zur Frage der Geschlechtsdiagnose auf Grund chemischer Reaktionen.* - Biol. Zentralb., Bd. XLVI, H. 12, 1926.
37. SMUJDSINOWITSCH W. J. — *Rapporto fra la grandezza dell'uovo, del sesso della farfalla con il periodo di sviluppo del B. mori (in russo).* - Lavori della Staz. Ser. del Caucaso nel 1891, vol. IV, Tiflis, 1892.
38. TANAKA Y. — *Sex - linked inheritance in the Silk-worm.* - Journ. of Genetics, vol. XII, N. 2, 1922.
39. — — *A new sex linked mutation in the Silk-worm, Bombyx mori L.* - Journ. of Dep. Agric. Kishu Imp. Univ., vol. I, N. 2, 1924.
40. TESTENOIRE J. et LEVRAT D. — *Application des rayons X à la détermination du sexe des chrysalides à travers les cocons.* - Lab. d'études de la soie, Lyon, vol. VIII, 1895-96, p. 140a.
41. ANONIMO — *I bozzoli e i raggi Röntgen.* - (Boll. mens. di Bachic., Serie III, A. 3, 1897, p. 54 (trad. da « La Nature » N. 1237, 13 févr. 1897).
42. TOMASELLI P. — *Ricerche sperimentali sulla selezione delle uova di Sericaria mori.* - Ann. R. Staz. Bacol. di Padova, vol. XXXVI, 1910.
43. VERNON E. — *Dei segni esterni atti a rilevare nel Bombyx mori il sesso della larva.* - Ibid., vol. XXXII, 1904, p. 125.
44. — — *Ancora sul progamismo del sesso nelle uova di filugello.* - Ibid., vol. XXXIII, 1906, p. 19.
45. VENEROSO A. — *La reazione di Manoloff per la diagnosi del sesso del baco da seta allo stato larvale.* - Boll. R. Staz. Gelsic. e Bachic., Ascoli Piceno, vol. VIII, 1920, N. 5, p. 131.

### Spiegazione delle Tavole

#### TAVOLA I.

- Fig. 1 — Radiografie di 6 bozzoli « Gran Sasso »: A, B, C, E femmine; D, F maschi.  
Epoca dell'incrisalidamento: A, B, C, F da 1-2 giorni; E, D da 5-6 giorni. Radiografie eseguite con tubo « Radion » per diagnostica: Volta primari 43; mA. 2,8; posa 5u.
- Fig. 2 — Radiografia di 2 bozzoli «Incrocio bigiallo»: Incrisalidamento: 11 Ottobre. Sfarfallamento: A 11 Novembre; B 13 Novembre. Data della radiografia: 25 Ottobre.  
A femmina (peso il 17 Ottobre gr. 2,045); B maschio (peso il 17 Ottobre gr. 1,283).  
Radiografia eseguita con tubo « Müller Rundfokus »: Kv. 32; m A. 20; posa 4s, pellicola « Agfa »; distanza dello « chassis » dal tubo cm. 50.
- Fig. 3 — Uova non colorate (deposte da femmine vergini).  
A Fotografia.  
B Radiografia; tubo « Müller Rundfokus »: Kv. 32; mA. 20; distanza « chassis » - tubo cm. 50; posa 4s; pellicola « Agfa ».
- Fig. 4 — Uova già colorate (in diapausa).  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche come sopra.

#### TAVOLA II.

- Fig. 5 — Involucri secchi di crisalide.  
A Fotografia.  
B, C, D Radiografie: B involucro in cui son state introdotte delle uova non colorate; C id. con uova colorate; D id. con un pezzo di piombo. - Si vedono gli oggetti introdotti, ma gli involucri sono invisibili.  
Condizioni tecniche come sopra.
- Fig. 6 — Fotografia di uova ancora sprovviste di guscio estratte da una crisalide di 10 giorni.
- Fig. 7 — Involucro di crisalide dal quale è stata estratta la farfalla prossima allo sfarfallamento, e nel quale son stati introdotti uova non colorate, uova colorate e un pezzo di piombo.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche uguali a quelle delle radiografie delle figg. 3, 4 e 5.
- Fig. 8 — Radiografia di una farfalla femmina che - mantenuta vergine - aveva già iniziato la deposizione (3 giorni dopo lo sfarfallamento). - Condizioni tecniche come sopra.

- Fig. 9 — Farfalla femmina appena sgusciata.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche come sopra.

TAVOLA III.

- Fig. 10 — La stessa, 2 giorni dopo la morte. - (La farfalla, rimasta vergine, non aveva depresso che pochissime uova).  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche come sopra.
- Fig. 11 — Farfalla maschio, 2 giorni dopo lo sfarfallamento.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.
- Fig. 12 — Farfalla maschio morta (da 2 giorni) nell'interno della crisalide al momento di uscirne.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.
- Fig. 13 — Crisalide femminile «Incrocio bigiallo» prossima alla schiusura (aperta, essa conteneva la farfalla già completamente formata).  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.
- Fig. 14 — Ovari contenuti nella farfalla estratta dalla crisalide della figura precedente. - La parete dell'addome della farfalla è stata asportata dal lato ventrale.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.

TAVOLA IV.

- Fig. 15 — Gli stessi ovari estratti e distesi.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.

TAVOLA V.

- Fig. 16 — Radiografia di farfalla femmina che ha terminato la deposizione (7 giorni dopo lo sfarfallamento). - Condizioni tecniche immutate.
- Fig. 17 — Farfalla femmina che ha terminato la deposizione e che è morta da 2 giorni.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.
- Fig. 18 — Crisalide maschile «Incrocio bigiallo» 3 giorni prima della schiusura.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche immutate.

- Fig. 19 — Radiografia di bozzolo «Majella» contenente crisalide maschile 2 giorni prima della schiusura. Condizioni tecniche: tubo «Müller Rundfokus»; Kv. 55; mA. 30; distanza «chassis» - tubo cm. 55; posa 0,75s; pellicola «Agfa».
- Fig. 20 — Radiografie di bozzoli «Majella» contenenti crisalidi femminili 4 (A) e 2 (B) giorni prima della schiusura. - Condizioni tecniche come s.
- Fig. 21 — Radiografia di crisalide femminile «Incrocio bigiallo» 20 ore circa prima della schiusura. - Condizioni tecniche: tubo «Müller Rundfokus»; Kv. 32; mA. 20; distanza «chassis» - tubo cm. 50; posa 4 s.; pellicola «Agfa».
- Fig. 22 — Crisalide femminile contenente la farfalla morta (da 2 giorni) al momento di sfarfallare.  
A Fotografia.  
B Radiografia. - Condizioni tecniche come sopra.