

Studio serologico delle leptospire appartenenti al tipo *ballum*

ANTONIO THOMAKOS (*) e BRENNO BABUDIERI

Laboratori di Microbiologia

Riassunto. — Nell'ambito del serotipo *ballum* delle leptospire viene identificato un nuovo subserotipo: quello *arboreae* (ceppo di referenza: « Arborea »). A questo subserotipo appartiene la maggior parte dei ceppi finora attribuiti al subserotipo *ballum ballum*.

Di conseguenza il serotipo *ballum* viene suddiviso in tre subserotipi: *ballum*, *castellonis*, *arboreae*.

Summary. — Within the leptospira serotype *ballum* a new subserotype was identified: the subserotype *arboreae* (reference strain « Arborea »). The majority of the strains attributed so far to the subserotype *ballum ballum* must be enrolled in this subserotype. The results of the agglutinin absorption test made with all the strains of our collection belonging to the serotype *ballum*, are reported.

Consequently the serotype *ballum* was divided in the following three subserotypes: *ballum*, *castellonis*, *arboreae*.

Il serotipo *ballum* fu creato da BORG PETERSEN (1944) per una leptospira isolata da un esemplare di *Mus musculus spicilegus* risultata antigenicamente differente da tutti gli altri serotipi allora conosciuti. Successivamente risultò che già nel 1941 Wolff, Schueffner e Bohlander avevano isolato da un topo una leptospira che aveva le medesime caratteristiche antigeniche di quella di Borg Petersen (WOLFF, BOHLANDER & RUYS, 1949). Altri ceppi del tipo *ballum* furono in seguito isolati in vari paesi europei ed anche in America.

Nel 1955 uno di noi (BABUDIERI, 1955) dimostrò che 4 ceppi di leptospire isolate nella regione di Castellón (Spagna) differivano dal ceppo di referenza

(*) Borsista dei Laboratori di Microbiologia.

del tipo *ballum* (ceppo « Mus 127 ») in maniera tale da giustificare la suddivisione di tale serotipo in due subserotipi. La proposta fu accolta dal Subcomitato delle leptospire dipendente dal Comitato internazionale della nomenclatura batterica ed il serotipo *ballum* fu di conseguenza suddiviso in due subserotipi: *ballum ballum* (ceppo di referenza « Mus 127 ») e *ballum castellanis* (ceppo di referenza « Castellón 3 »). Ceppi appartenenti a questo ultimo subserotipo furono isolati anche nella Francia meridionale.

Lo stesso anno BABUDIERI & MOSCOVICI (1955) hanno isolato ad Arborea (Sardegna) da un esemplare di *Apodemus sylvaticus* un ceppo (ceppo « Arborea ») che, saggiato con un siero anti-*castellanis* adsorbito con il ceppo « Mus 127 » risultò attribuibile al subserotipo *ballum castellanis*. Alcune particolarità del suo comportamento serologico ci hanno però indotti a studiare più a fondo la sua costituzione antigenica ed a confrontare fra di loro tutti i ceppi appartenenti al serotipo *ballum* conservati nella collezione dell'Istituto Superiore di Sanità.

Questo studio fu condotto con i procedimenti delle agglutinazioni crociate e degli adsorbimenti crociati eseguiti e valutati secondo le prescrizioni del gruppo di studio delle leptospire della WHO/FAO (1959).

Una prima ricerca ebbe per oggetto il confronto fra il ceppo « Arborea » ed i due ceppi di referenza dei subserotipi del tipo *ballum*.

I sieri usati per le prove, ottenuti dai conigli, avevano i seguenti titoli agglutinanti per i ceppi omologhi:

Siero anti-Castellón 3 = 1 : 10.000

Siero anti-Arborea = 1 : 10.000-1 : 20.000

Siero anti-Mus 127 = 1 : 2.000.

Tutte le prove di adsorbimento e di agglutinazione furono ripetute più volte. I risultati ottenuti sono esposti nella Tabella I.

Questi risultati e più specialmente quelli ottenuti dall'adsorbimento del siero anti-Castellón 3 con il ceppo « Arborea » e del siero anti-Arborea con il ceppo « Mus 127 » ci autorizzano ad affermare che il ceppo « Arborea » appartiene ad un nuovo subserotipo del serotipo *ballum*. Proponiamo per esso il nome di *ballum arboreae*. Per quanto riguarda la ricchezza di frazioni antigeniche, al primo posto, nel serotipo *ballum*, viene il subserotipo *castellanis*, al secondo quello *arboreae*, al terzo quello *ballum*.

Abbiamo voluto in seguito esaminare tutti i ceppi del serotipo *ballum* appartenenti alla nostra collezione per determinare con esattezza il subserotipo a cui essi appartengono. Per questo scopo i ceppi sono stati prima saggiati con un siero anti-Arborea adsorbito con il ceppo « Mus 127 »; suc-

cessivamente i ceppi che venivano agglutinati da tale siero adsorbito sono stati saggiati con un siero anti-Castellón 3 adsorbito con il ceppo « Arborea ».

È stato così possibile stabilire che al subserotipo *ballum castellonis* appartengono i seguenti ceppi :

« Castellón 1 » (Spagna), « Castellón 2 » (Spagna), « Castellón 3 » (Spagna), « Castellón 4 » (Spagna), « Camarles » (Spagna), « Rocamora » (Argentina).

TABELLA 1.

Prove di adsorbimento con i sieri immuni preparati con i ceppi di riferimento dei subserotipi del tipo « ballum ».

S I E R O	Titolo (*) del siero prima e dopo l'adsorbimento		
	Ceppi di riferimento		
	Castellón 3	Arborea	Mus 127
Anti-Castellón 3	100	25-100	20-50
Idem adsorbito con « Arborea »	50-100	< 2	< 2
Anti-Castellón 3	100	100	100
Idem adsorbito con « Mus 127 »	50	20	< 1
Anti-Arborea	100	100	50-100
Idem adsorbito con « Castellón 3 »	< 1	< 1	1-2
Anti-Arborea	100	100	50
Idem adsorbito con « Mus 127 »	10-20	10-20	1-< 1
Anti-Mus 127	200	200	100
Idem adsorbito con « Castellón 3 »	< 2	< 2	< 5
Anti-Mus 127	200	200	100
Idem adsorbito con « Arborea »	< 2	< 2	< 5

(*) I titoli delle agglutinazioni sono riportati in percentuali, considerando uguale a 100 il titolo di ciascun siero prima dell'adsorbimento, rispetto al ceppo omologo.

Per controllare, almeno parzialmente, l'omogeneità di questo gruppo, abbiamo allestito una serie di adsorbimenti crociati, mettendo a contatto i sieri immuni per i 4 ceppi « Castellón » e quello per il ceppo « Arborea », con

ciascuno di questi cinque ceppi e saggiando poi i sieri così adsorbiti con tutti i ceppi in questione. I risultati di queste prove sono stati piuttosto uniformi e ci permettono di affermare che fra i 4 ceppi « Castellón » non esistano differenze antigeniche di particolare entità. L'unico rilievo che si può fare è quello che il siero anti-Castellón 1 adsorbito con il ceppo « Arborea » perde una maggiore quota di anticorpi di quanto facciano i sieri immuni preparati con gli altri tre ceppi « Castellón ».

I risultati di queste prove sono riportati nella Tabella 2.

TABELLA 2.

Prove di adsorbimento crociato dei sieri immuni ad opera di ceppi appartenenti ai subserotipi « castellonis » ed « arborea ».

S I E R O	Adsorbito con	Titoli (*) residui per i diversi ceppi di riferimento				
		Castellón				Arborea
		1	2	3	4	
Anti-Castellón 1	Castellón 2	< 1	< 5	2	2	1
	» 3	1	< 5	< 2	1	< 1
	» 4	1	1	5	5	4
	Arborea	15	15	25	30	< 1
Anti-Castellón 2	Castellón 1	2	2	1	6	< 1
	» 3	6	6	3	4	< 1
	» 4	1	1	2	1	1
	Arborea	50	30	50	50	< 1
Anti-Castellón 3	Castellón 1	< 10	< 2	< 10	< 10	< 10
	» 2	< 2	< 2	< 2	1	< 2
	» 4	< 2	< 2	< 2	< 1	< 2
	Arborea	50	40	40	30	< 2
Anti-Castellón 4	Castellón 1	< 2	< 1	< 1	< 2	< 1
	» 2	2	< 1	< 1	< 2	< 1
	» 3	2	< 1	< 1	2	< 1
	Arborea	50	30	40	100	< 1
Anti-Arborea	Castellón 1	1	1	5	4	2
	» 2	2	1	1	2	1
	» 3	2	1	1	2	2
	» 4	5	2	2	< 1	2

(*) I titoli delle agglutinazioni sono riportati in percentuali, considerando uguale a 100 il titolo di ciascun siero prima dell'adsorbimento, rispetto al ceppo omologo.

Al subserotipo *ballum arboreae* appartengono i seguenti ceppi :

« Arborea » (Italia : ceppo di referenza) (10-20)	« S 102 » (Olanda) (10)
« Mus 29 » (Danimarca) (12)	« Weisse Maus » (Cecoslovac- chia) (12)
« LT 2 » (Stati Uniti) (12-25)	« LT 18 » (Stati Uniti) (12-25)
« LT 51 » (Stati Uniti) (12-25)	« Ba A 52 » (Francia) (12)
« Ar A 52 » (Francia) (25)	« Frankfurt » (Germania) (12-25)
« R 35 Farina » (Italia) (12-25)	« R 42 » (Italia) (12)
« R 43 » (Italia) (12-25)	« Riccio 7 » (Italia) (12-25)
« Riccio 21 » (Italia) (12)	« Riccio 23 » (Italia) (12)
« Riccio 31 » (Italia) (12-25)	« Riccio 69 » (Italia) (12-25)
« Riccio 88 » (Italia) (12-25)	« Riccio 110 » (Italia) (12-25)
« Riccio 122 » (Italia) (12-25)	

Tutti questi ceppi sono stati saggiati ripetutamente con sieri anti-Arborea adsorbiti con il ceppo «Mus 127». Tra parentesi viene riportato il valore percentuale del titolo residuo del siero adsorbito, rispetto ad ogni singolo ceppo, considerando uguale a 100 il titolo, per quel determinato ceppo, del siero anti-Arborea non adsorbito.

Per avere un'ulteriore conferma dell'omogeneità del gruppo di ceppi assegnati al subserotipo *arboreae*, abbiamo adsorbito siero anti-Arborea (Titolo 1 : 20.000) con il ceppo « LT 51 ». Dopo l'adsorbimento tale siero è stato saggiato, con esito negativo, con 11 ceppi del subserotipo *arboreae* (Titolo < 1 : 5).

Al subserotipo *ballum ballum* appartiene, oltre al ceppo di referenza « Mus 127 », soltanto quello « Rata 112 » (Portogallo).

13 maggio 1964.

BIBLIOGRAFIA

- BABUDIERI, B., 1955. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **18**, 57-64.
 BABUDIERI, B. & C. MOSCOVICI, 1955. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **18**, 70-81.
 BORG PETERSEN, C., 1944. *Acta Pathol. Microbiol. Scand.*, **21**, 594.
 WHO/FAO, 1959. *Joint WHO/FAO Expert Committee on Zoonoses, Second Report, WHO Techn. Rep. Ser. N. 169*, Genève, p. 22-24.
 WOLFF, J. W., H. BOHLANDER & A. CH. RUYS, 1949. *Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol.* **15**, 1-13.

L'impiego dell'elaboratore elettronico nell'analisi statistica di dati relativi ad esperienze di psicofarmacologia

PAOLO LANCIANI (*) e GIORGIO BIGNAMI

Laboratori di Fisica e Laboratori di Chimica terapeutica

Riassunto. — Si descrive un programma generale per il trattamento statistico dei dati ottenuti in esperienze sull'acquisizione di un comportamento condizionato di evitamento nel ratto.

Questo programma calcola alcuni parametri statistici abituali (devianza, varianza, ecc.). Dopo, esso esegue il test di omogeneità di varianza di Bartlett e l'analisi di varianza che si adatta all'esperienza considerata (finora otto casi possibili). Questa elaborazione viene fatta sui dati delle singole prove e sui dati di gruppi di prove. Inoltre essa può essere ripetuta dopo l'applicazione di alcune trasformazioni usuali ai dati.

Si riportano i risultati ottenuti con questo programma in un'esperienza di psicofarmacologia.

Summary. — A series of automatic programming and recording apparatuses for the study of escape-avoidance conditioning of the rat in a shuttle-box has permitted, during the last few years, the carrying out of pharmacologic, physiologic and genetic experiments on a large number of subjects. A general programme for the statistical analysis of the data by means of an IBM 7040 computer is described in the present paper. This programme permits:

- 1) The calculation of various usual statistical measures (sums of squares, standard deviations, standard deviations of the mean,...);
- 2) The application of the Bartlett test for homogeneity of variance;
- 3) The use of several possible types of analysis of variance. At the present time eight types have been included in the programme (randomized groups design, randomized blocks design with or without replications, two-factor experiments with any number of levels for each factor, with or without randomized blocks, $2 \times 2 \times 2$ factorial experiment with or without randomized blocks, and 2×2 factorial experiment using a model for disproportionate sub-class numbers). More complex cases can be added at any time without any modification of the already existing programme.

(*) Borsista dei Laboratori di Fisica.

The randomized blocks design — even in complex factorial experiments — is frequently used in studies on the rate of acquisition of escape-avoidance conditioning performed with the split-litter technique. Models for disproportionate sub-class numbers in factorial experiments are useful in studies on the effects of organismic factors (strain, sex, age,...) to avoid discarding data whenever unequal n 's are imposed by the particular experimental conditions.

4) All the calculations indicated in paragraphs 1) through 3) can be repeated after re-arrangement of the scores into blocks of trials or blocks of sessions.

5) All the calculations indicated in paragraphs 1) through 4) can be repeated after transformation of the raw data, in case a statistically significant heterogeneity of variance is demonstrated by the Bartlett test. Several widely used transformations have been already included in the programme ($\sqrt{x + 0,5}$; $\sqrt{x + 1}$; $\log(x + 1)$; $1/x$; $\text{Arcsin}(x/100)$). Other transformations can be added without changing the programme.

Parts 4 and 5 of the programme were particularly time-saving and helpful in reducing the number of cases in which non-parametric tests had to be used.

An example of the application of this programme is also given in the present paper. For this purpose a detailed re-analysis of data from an experiment on the effects of Benactyzine on acquisition of escape-avoidance conditioning (BIGNAMI, 1964 *b*) is also presented.

1. INTRODUZIONE

Un'apparecchiatura per la programmazione automatica di esperienze sul condizionamento di evitamento nel ratto e per la registrazione dei relativi risultati è stata recentemente messa a punto in questo Istituto. Una serie di apparecchi identici (gabbie tipo Warner, *shuttle-boxes*) viene attualmente adoperata sia per esperimenti sull'acquisizione del comportamento condizionato da parte di animali privi di esperienza antecedente, sia per esperimenti che richiedono una ripetizione delle prove ad intervalli regolari per un periodo di tempo assai lungo (BOVET, GATTI & FRANK, 1961; FRANK, BOVET & GATTI, 1961).

In altra sede si è già riferito sui risultati ottenuti mediante la somministrazione di sostanze dotate di azione antimonioamminoossidasica (ORSINCHER, 1961), di ormoni tiroidei e di sostanze antitiroidee (BIGNAMI, 1962; BOVET *et al.*, 1962; BOVET & GATTI, 1965), di nicotina (BOVET, BIGNAMI & ROBUSTELLI, 1963; BOVET, 1965; BOVET & GATTI, 1965; BIGNAMI *et al.*, 1965; BOVET, ROBUSTELLI & BIGNAMI, 1965), di amfetamina (BOVET & AMORICO, 1963; BIGNAMI *et al.*, 1965; BOVET & GATTI, 1965; BOVET, ROBU-

STELLI & BIGNAMI, 1965), di benactizina (BIGNAMI, 1964 *b*; BIGNAMI *et al.*, 1965; BOVET, ROBUSTELLI & BIGNAMI, 1965). e di cloropromazina (BOVET & GATTI, 1965 ; JANKŮ, 1964).

In tutte le prove condotte con le apparecchiature di cui sopra una massa notevole di dati sull'attività incondizionata e condizionata e sulle risposte addizionali (non-motivate) deve essere trascritta dai grafici ed analizzata secondo i sistemi tradizionali. Inoltre, nel corso di esperienze di acquisizione del condizionamento, la variabilità individuale elevata, sia pure in parte compensata per mezzo della randomizzazione nei gruppi sperimentali a partire da covate di ratti allevate per tale scopo, richiede l'utilizzazione di un numero considerevole di soggetti. Per l'analisi statistica dei risultati viene generalmente usato lo schema più adatto di analisi di varianza ed uno dei tests per i confronti multipli fra più di due medie.

Tali analisi, di per sè abbastanza semplice, può richiedere molto tempo per il fatto che ogni esperienza è generalmente costituita da 5 o 6 sedute quotidiane successive di condizionamento, e che vari trattamenti possono agire in diverse fasi dell'acquisizione del comportamento condizionato. Pertanto l'analisi prescelta deve essere generalmente ripetuta più volte, sia per le singole sedute di condizionamento, sia per gruppi di due o più sedute. Inoltre, qualora si verificano casi di eterogeneità di varianza, le analisi di maggiore interesse vanno ripetute dopo che siano state applicate ai dati diverse trasformazioni.

L'acquisto di un grande elaboratore elettronico (IBM 7040) da parte del nostro Istituto ha permesso di preparare per tale analisi statistica un programma che prevede l'esecuzione del test di omogeneità di varianza (secondo Bartlett) e dell'analisi di varianza che volta per volta si adatta all'esperienza presa in considerazione (con una o più categorie di fattori ; con o senza blocchi randomizzati ; etc.).

Tali calcoli vengono ripetuti più volte sui dati di ciascuna seduta di condizionamento, e sui dati di gruppi di sedute variamente combinati fra loro ($1 + 2$; $1 + 2 + 3$;... ; $1 + 2 + \dots + 6$; $4 + 5 + 6$). Inoltre tutte queste analisi possono venire ripetute dopo l'applicazione di alcune appropriate trasformazioni.

2. IMPOSTAZIONE STATISTICA DEL PROGRAMMA

Per ciascuna analisi di varianza eseguita il calcolatore emette una tabella secondo uno schema scelto in base alle necessità sperimentali, contenente le varie somme di quadrati (devianze), il numero dei gradi di libertà, i quadrati medi (varianze) ed i vari valori di F (rapporti fra varianze). Gli schemi di analisi di varianza sinora previsti sono fra quelli più comunemente usati in biologia. Salvo il caso di cui al punto 2 . 5 essi sono stati

programmati secondo le modalità proposte da EDWARDS (1960), che ne ha discusso l'applicazione alla psicologia sperimentale.

2.1 — *Analisi per esperienze a gruppi randomizzati.*

Ciascun gruppo può essere costituito da un numero variabile di soggetti, non necessariamente identico da un gruppo all'altro. Il test di Bartlett viene eseguito sulla base delle varianze di tali gruppi. Viene dato un solo valore di F, corrispondente al rapporto fra varianza attribuita ai diversi trattamenti e varianza residua.

2.2 — *Analisi per esperienze a blocchi randomizzati.*

a) *Senza replicazioni.* — Ciascun blocco (in genere una covata di ratti) fornisce un soggetto ad ognuno dei gruppi sperimentali. Il test di Bartlett, come nel caso 2.1, viene eseguito sulla base delle varianze di tali gruppi. Ovviamente si richiede che il numero dei soggetti sia lo stesso in tutti i gruppi. In casi particolari, prima di fornire i dati al calcolatore, è possibile eseguire un numero limitato di interpolazioni di eventuali punteggi mancanti secondo formule appropriate (BURN, FINNEY & GOODWIN, 1952). Vengono dati 2 valori di F, l'uno corrispondente ai trattamenti (gruppi sperimentali) l'altro ai blocchi (generalmente covate).

b) *Con replicazioni.* — In questo caso ciascun blocco fornisce due o più soggetti ad ogni gruppo sperimentale. Ciò permette di calcolare un terzo valore di F, corrispondente all'interazione «trattamenti x blocchi». Tuttavia, dato il numero generalmente limitato delle replicazioni, il test di Bartlett viene ancora eseguito, come nei casi 2.1 e 2.2a), sulla base delle varianze dei gruppi sperimentali. Vengono cioè ignorate le varianze dei numerosi piccoli sottogruppi che potrebbero teoricamente essere costituiti qualora tali esperienze venissero trattate alla stregua degli esperimenti fattoriali.

2.3 — *Esperimenti fattoriali con due fattori.*

a) *Semplice.* — Il test di Bartlett viene questa volta eseguito sulla base delle varianze di tutti i sottogruppi, il cui numero è pari al prodotto del numero dei livelli dei due fattori. Vengono calcolati tre valori di F, uno per ciascuno dei due fattori ed uno per l'interazione.

b) *Con blocchi randomizzati.* — Il test di Bartlett viene eseguito come nel caso 2.3a). Oltre ai tre valori di F già indicati compare un quarto valore per i blocchi.

2.4 — *Esperimenti fattoriali con tre fattori e due livelli per ciascun fattore (2 × 2 × 2).*

a) *Semplice.* — Il test di Bartlett viene eseguito sulla base delle varianze degli 8 sottogruppi. Vengono dati 7 valori di F, uno per ciascuno dei tre fattori ed uno per ciascuna delle quattro possibili interazioni.

b) *Con blocchi randomizzati.* — Compare un ottavo valore di F per i blocchi.

2.5 — *Esperimento fattoriale 2×2 con numero disuguale di soggetti nei sottogruppi, secondo SNEDECOR (1956).*

L'uso di questo schema si è reso necessario per l'analisi dei dati raccolti nel corso di una esperienza di psicogenetica (BIGNAMI, 1964; 1965; BIGNAMI & BOVET, 1965). In tale esperienza si è ottenuta per selezione la separazione di due ceppi di ratti caratterizzati da una maggiore o minore rapidità di acquisizione del comportamento condizionato di evitamento. Considerando che i due fattori principali sono il ceppo ed il sesso degli animali, l'utilizzazione di tutte le osservazioni disponibili conduce necessariamente alla costituzione di sottogruppi di consistenza numerica disuguale. Si rendono pertanto necessarie delle correzioni sia per il calcolo delle due F dei due effetti principali, sia per il calcolo delle F dell'interazione. Tale programma potrà essere eventualmente modificato qualora si abbiano più di due livelli per uno dei fattori.

Dall'esempio più sopra riportato appare tutta l'importanza di tali schemi adattabili ad esperienze fattoriali con sottogruppi che presentano un numero disuguale di soggetti. Frequentemente, qualora uno od ambedue i fattori siano di carattere organismico (sesso, età, ceppo, etc.), lo sperimentatore non può prevedere se non approssimativamente il numero dei soggetti nei vari gruppi sperimentali. Egli si trova allora davanti all'alternativa o di ricorrere a tecniche statistiche meno sensibili, o di sacrificare a caso una parte delle osservazioni per raggiungere la parità numerica nei sottogruppi.

3. DESCRIZIONE DEL PROGRAMMA

Il programma, scritto per l'elaboratore elettronico IBM 7040 in linguaggio simbolico Fortran IV, accetta i dati relativi a un numero illimitato di gruppi che possono essere formati, a seconda dei casi, da un numero di soggetti fisso o variabile da gruppo a gruppo e per degli esperimenti di durata variabile.

I dati possono essere raccolti automaticamente da una perforatrice IBM 26, e in questo caso l'elaboratore li trasforma direttamente nella forma utile per i calcoli, oppure possono essere forniti già su schede perforate da operatrici.

Un diagramma a blocchi molto generale di questo programma è mostrato nella Fig. 1.

Esso permette attualmente di ottenere :

a) Per ciascun gruppo e per ciascun giorno : somma dei dati; media dei dati; devianza (somma dei quadrati); varianza (quadrato medio); deviazione standard ; errore standard.

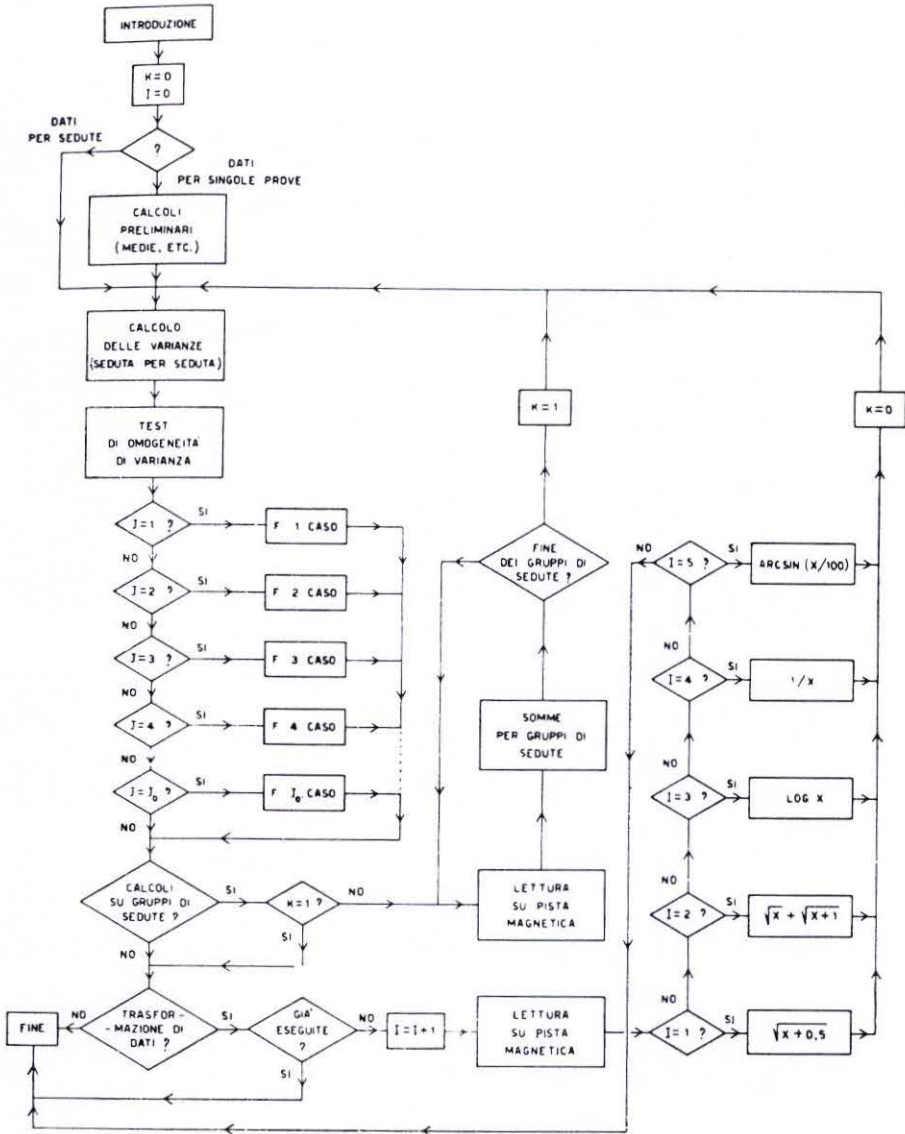


Fig. 1. — Diagramma a blocchi del programma, indicante la successione logica delle operazioni. In alto a sinistra: ingresso dei dati, calcolo delle medie e delle misure di variabilità, test di Bartlett per l'omogeneità di varianza. Al centro a sinistra: vari tipi di analisi di varianza (convenzionalmente indicati con i simboli da $J = 1$ a $J = J_0$) fra cui occorre scegliere caso per caso. In basso (a sinistra e a destra): varie situazioni in cui l'analisi completa può essere sistematicamente ripetuta dopo lettura dei dati registrati su pista magnetica (dati grezzi da gruppi di sedute; dati da singole sedute e da gruppi di sedute, previa applicazione di una serie di trasformazioni).

b) Per ciascun giorno :

1 - Il test di omogeneità di Bartlett calcolato nel caso più generale di gruppi composti di numeri diversi di soggetti.

2 - I fattori di significatività F che, come più sopra indicato, possono esser calcolati in modi diversi a seconda delle caratteristiche dell'esperimento.

Oltre agli schemi di analisi già descritti, potranno essere considerati altri schemi di analisi di varianza in numero illimitato, qualora le necessità sperimentali lo richiedano.

c) Se lo si desidera si possono richiedere i risultati dei punti a) e b) ripetuti sulle medie dei dati di più giorni ($1 + 2, 1 + 2 + 3, \dots, 4 + 5, \dots$).

d) Nel caso ove ciò sia necessario, si possono richiedere tutti i risultati dei punti a), b), c) dopo la trasformazione dei dati iniziali, in modo da diminuirne la eterogeneità di varianza.

Le trasformazioni sinora adottate sono le più correnti (EDWARDS, 1960) :

- 1) $\sqrt{x + 0,5}$;
- 2) $\sqrt{x} + \sqrt{x + 1}$;
- 3) $\log(x + 1)$;
- 4) $1/x$;
- 5) $\text{Arcsin}(x/100)$.

È sempre possibile aggiungere qualsiasi trasformazione che possa risultare utile; d'altra parte è possibile eliminare una o più di quelle contenute nel programma se questo è desiderato.

4. ESEMPIO DI APPLICAZIONE DEL PROGRAMMA

Come esempio di applicazione del programma per l'analisi statistica saranno qui riesaminati i dati ottenuti nel corso di una esperienza di psicofarmacologia i cui risultati sono stati recentemente pubblicati (BIGNAMI, 1964 a). In tale esperienza del tipo 2 . 2a) erano stati costituiti 7 gruppi sperimentali di 12 ratti ciascuno a partire da 12 covate di 7 ratti ognuna. Un gruppo era servito come gruppo di controllo, mentre gli animali degli altri gruppi avevano ricevuto per via sottocutanea rispettivamente 0,5 ; 1,0 ; 2,0 ; 5,0 ; 10,0 e 20,0 mg/kg di una sostanza ad azione anticolinergica, la benactizina, prima di ciascuna delle 6 sedute quotidiane di condizionamento.

Nei gruppi di animali trattati si era potuto mettere in evidenza un livello di prestazioni più elevato che nel gruppo di controllo, particolarmente nel corso delle sedute 3, 4 e 5. Per varie serie di dati tuttavia era stata riscontrata una eterogeneità di varianza altamente significativa per cui si era in parte fatto ricorso a dei tests statistici non parametrici.

I principali risultati dell'analisi ripetuta dal calcolatore sono riportati nelle Tabelle 1 e 2, che indicano i valori di chi quadro (χ^2) per il test di Bartlett ed i valori di F per l'effetto dei trattamenti e dei blocchi con il rispettivo grado di significatività statistica.

La ripetizione dei calcoli sui dati trasformati ha permesso di eliminare tutte le limitazioni precedentemente incontrate. Infatti il test di Bartlett, ripetuto dopo l'applicazione della trasformazione $\text{Arcsin}(x/100)$ solo in tre casi ha dato un valore di χ^2 corrispondente ad una probabilità compresa fra il 5 e l'1 %. Ora molti Autori ammettono che i tests di significatività dell'analisi di varianza possano essere applicati purchè il grado di significatività dell'eterogeneità di varianza non vada oltre l'1 %. Ciò può essere accettato a maggior ragione nel nostro caso, in quanto tutti i gruppi sperimentali contengono un numero uguale di soggetti, ciò che accresce la cosiddetta « robustezza » del test.

È anche interessante notare che, nel caso particolare della presente esperienza, il numero dei casi di significativa eterogeneità di varianza tende piuttosto ad aumentare qualora si applichino le trasformazioni generalmente più usate ($\sqrt{x + 0,5}$; $\sqrt{x} + \sqrt{x + 1}$; $\log(x + 1)$; $1/x$).

I risultati di circa 20 esperienze sinora analizzate hanno confermato l'utilità di ripetere sistematicamente i calcoli dopo l'applicazione delle varie trasformazioni. Accade spesso infatti che, per la natura stessa delle medie e delle varianze (medie basse nelle prime sedute, spesso elevate o addirittura vicine al massimo teoricamente possibile nelle sedute ulteriori, con riduzione delle varianze), l'eventuale eterogeneità di varianza ceda, a seconda dei casi, a trasformazioni diverse.

Nelle prime sedute si rivelano generalmente utili le trasformazioni di uso più comune ($\sqrt{x + 0,5}$; $\sqrt{x} + \sqrt{x + 1}$; $\log(x + 1)$), nelle ultime sedute invece tali trasformazioni tendono addirittura ad accentuare l'eterogeneità di varianza mentre risulta utile la trasformazione $\text{Arcsin}(x/100)$.

5. CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Il programma di calcolo esposto sinora rappresenta solo una parte delle possibilità offerte dall'elaboratore elettronico ai fini dell'analisi di dati ottenuti nel corso di esperienze di psicologia animale e di psicofarmacologia. La tecnica adottata per la registrazione automatica delle varie risposte dell'a-

TABELLA I.

Effetti della benactizina sull'acquisizione di un comportamento condizionato di evitamento nel ratto.

Risultati dell'analisi statistica (modello 2a)

	SINGOLE SEDUTE					
	1	2	3	4	5	6
Punteggi grezzi :						
χ^2 (test di Bartlett)	8,893	3,546	3,775	23,797	32,876	19,412
F trattamenti (benactizina)	0,507	1,404	2,185	6,177 (c)	5,615 (e)	2,102
F blocchi (covate)	4,549 (e)	4,185 (e)	2,376 (b)	1,624	1,684	1,279
$\sqrt{x + 0,5}$:						
χ^2	3,173	6,063	9,931	36,551	52,603	34,159
F trattamenti	0,607	1,243	2,861 (b)	5,883 (e)	4,679 (e)	1,704
F blocchi	3,397 (e)	3,434 (e)	2,057 (a)	1,527	1,446	1,042
$\sqrt{x + 1/x + 1}$:						
χ^2	3,309	6,289	10,380	36,555	52,617	34,184
F trattamenti	0,599	1,222	2,863 (b)	5,883 (e)	4,678 (e)	1,703
F blocchi	3,280 (d)	3,409 (e)	2,048 (a)	1,527	1,446	1,042
$\log(x + 1)$:						
χ^2	4,638	17,605	35,935	56,682	88,693	62,371
F trattamenti	0,634	0,960	2,329 (a)	5,412 (e)	3,321 (c)	1,307
F blocchi	2,178 (a)	2,430 (b)	1,622	1,391	1,225	0,868
1/x :						
χ^2	14,590	101,681	50,818	128,683	253,784	233,31
F trattamenti	1,400	1,810	1,135	4,034 (d)	1,257	0,830
F blocchi	1,861	1,136	1,169	1,091	1,006	0,853
Arcsin (x/100) :						
χ^2	4,654	5,971	5,281	11,893	16,782	14,460
F trattamenti	0,538	1,206	3,471 (c)	6,105 (e)	5,579 (e)	2,133
F blocchi	3,379 (e)	4,038 (e)	2,516 (b)	1,353	1,924	1,695

I numeri in corsivo rappresentano i valori di χ^2 che corrispondono ad una significativa eterogeneità di varianza ($p < 0,01$).(a) $p < 0,05$ (b) $p < 0,025$ (c) $p < 0,01$ (d) $p < 0,005$ (e) $p < 0,001$.

TABELLA 2.

Effetti della benactizina sull'acquisizione di un comportamento condizionato di evitamento nel ratto.

Risultati dell'analisi statistica (modello 2a)

	GRUPPI DI SEDUTE					
	1+2	1+2+3	1+2+3+4	1+2+3+4+5	1+2+3+4+5+6	4+5+6
Punteggi grezzi :						
χ^2 (test di Bartlett)	5,864	5,007	5,397	5,643	7,399	15,647
F trattamenti (benactizina)	1,226	2,043	3,202 (c)	4,214 (d)	4,363 (d)	5,904 (e)
F blocchi (covate)	5,564 (e)	4,865 (e)	4,490 (e)	3,788 (e)	3,549 (e)	1,812
$\sqrt{x + 0,5}$:						
χ^2	5,854	7,369	8,328	8,040	10,287	21,441
F trattamenti	1,188	1,838	2,662 (b)	3,420 (c)	3,556 (d)	5,010 (e)
F blocchi	4,696 (e)	4,414 (e)	4,190 (e)	3,669 (e)	3,379 (e)	1,508
$\sqrt{x + \sqrt{x + 1}}$:						
χ^2	5,817	7,578	8,549	8,232	10,399	21,446
F trattamenti	1,176	1,835	2,660 (b)	3,417 (c)	3,553	5,009 (e)
F blocchi	4,634 (e)	4,377 (e)	4,161 (e)	3,655 (e)	3,369	1,508
$\log(x + 1)$:						
χ^2	6,158	10,834	12,366	11,752	13,313	32,496
F trattamenti	1,044	1,569	2,088	2,526 (a)	2,665 (b)	3,758 (d)
F blocchi	3,374 (e)	3,522 (e)	3,493 (e)	3,240 (d)	3,039 (d)	1,192
1/x :						
χ^2	20,867	20,937	20,902	21,873	27,630	135,081
F trattamenti	1,970	2,034	2,010	2,011	1,734	0,994
F blocchi	2,166 (a)	2,272 (b)	2,404 (b)	2,199 (a)	2,325 (b)	0,831
Arcsin (x/100) :						
χ^2	6,457	6,909	6,418	5,498	6,684	11,852
F trattamenti	1,147	2,096	3,274 (c)	4,355 (d)	4,459 (e)	5,911 (e)
F blocchi	5,109 (e)	4,817 (e)	4,307 (e)	3,724 (c)	3,639 (e)	2,000 (a)

I numeri in corsivo rappresentano i valori di χ^2 che corrispondono ad una significativa eterogeneità di varianza ($p < 0,01$).(a) $p < 0,05$ (b) $p < 0,025$ (c) $p < 0,01$ (d) $p < 0,005$ (e) $p < 0,001$.

nimale permetterà di completare successivamente il programma secondo le necessità della sperimentazione. Ad esempio sarà considerata la possibilità di eseguire sistematicamente delle analisi di andamento sia entro le singole sedute di condizionamento, sia tra sedute successive. In seguito potrà essere intrapreso lo studio dal punto di vista matematico delle curve di acquisizione del comportamento condizionato, e della loro modificazione in varie condizioni sperimentali.

Infine il calcolatore potrà permettere delle analisi fattoriali e delle analisi di funzione discriminante, che tengano conto delle correlazioni fra i vari parametri simultaneamente registrati nel corso delle prove di condizionamento, e ne descrivano le modificazioni prodotte sia da fattori organismici (ceppo, sesso, età, ...) sia da fattori imposti dallo sperimentatore (come ad esempio i trattamenti farmacologici).

4 giugno 1964

BIBLIOGRAFIA

- BIGNAMI, G., 1962. Influenza della l-tiroxina e del metiltiouracile sul condizionamento e la ritenzione nel ratto. *Rend. Ist. Super. Sanità*, **25**, 165-175.
- BIGNAMI, G., 1964 a. Selection for fast and slow avoidance conditioning in the rat. *Bull. Brit. Psychol. Soc.*, **17**, (55), 5a.
- BIGNAMI, G., 1964 b. Effects of Benactyzine and Adiphenine on instrumental avoidance conditioning in a shuttle-box. *Psychopharmacologia*, **5**, 264-279.
- BIGNAMI, G., 1965. Selection for high rates and low rates of avoidance conditioning in the rat. *Animal Behav.*, in corso di pubblicazione.
- BIGNAMI, G., & D. BOVET, 1965. Expériences de sélection par rapport à une réaction conditionnée d'évitement chez le rat. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, **260**, 1239-1244.
- BIGNAMI, G., F. ROBUSTELLI, I. JANKU & D. BOVET, 1965. Action de l'amphétamine et de quelques agents psychotropes sur l'acquisition d'un conditionnement de fuite et d'évitement chez des rats sélectionnés en fonction du niveau particulièrement bas de leurs performances. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, **260**, 4273-4278.
- BOVET, D., 1965. Action of nicotine on conditioned behaviour in naive and pretrained rats. In: *Tobacco alkaloids and related compounds*, Von Euler, Ed., Pergamon Press, Oxford, pp. 125-136.
- BOVET, D. & L. AMORICO, 1963. Effet de l'amphétamine sur une réaction conditionnée d'évitement au cours d'un exercice prolongé. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, **256**, 3901-3904.
- BOVET, D., G. BIGNAMI & F. ROBUSTELLI, 1963. Action de la nicotine sur le conditionnement à la réaction d'évitement chez le rat. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, **256**, 778-780.
- BOVET, D., F. BOVET-NITTI, G. BIGNAMI & O. ORSINGER, 1962. Contribution à une pharmacologie de l'apprentissage. Fonction thyroïdienne et conditionnement à une réaction de fuite et d'évitement chez le rat. In: *Perspectives in Biology*. Cori, Foglia, Leloir & Ochoa, Ed., Elsevier, Amsterdam, pp. 210-221.

- BOVET, D. & G. L. GATTI, 1965. Pharmacology of instrumental avoidance conditioning. In: *Pharmacology of conditioning, learning and retention. Proceedings of the 2nd international pharmacological meeting*. Mikhel'son & Longo, Ed., Pergamon Press, Oxford & Czechoslovak Medical Press, Praha, **2**, 75-89.
- BOVET, D., G. L. GATTI & M. FRANK, 1961. An automatic device for the study of conditioned escape reactions in the rat: I. A programming and recording method for establishing learning, retention and deconditioning curves. *Sci. Repts. Ist. Super. Sanità*, **1**, 127-138.
- BOVET, D., F. ROBUSTELLI & G. BIGNAMI, 1965. Etude du conditionnement inhibiteur chez le rat. Action de l'amphétamine, de la chlorpromazine et des agents cholinergiques. *Compt. Rend. Acad. Sci. (Paris)*, **260**, 4641-4645.
- BURN, J. H., D. J. FINNEY & L. G. GOODWIN, 1952. *Biological standardization*, Oxford University Press, 2nd Ed., p. 61.
- EDWARDS, A. L., 1960. *Experimental design in psychological research*. Holt, Rinehart & Winston, New York, Rev. Ed.
- FRANK, M., D. BOVET & G. L. GATTI, 1961. An automatic device for the study of conditioned escape reactions in the rat: II. Characteristics of the programmer and of the modified Warner cage for studying the barrier crossing response. *Sci. Repts. Ist. Super. Sanità*, **1**, 139-152.
- JANKU, I., 1964. The influence of delayed and immediate exposure to trials upon the effect of Chlorpromazine on conditioned avoidance behaviour. *Psychopharmacologia*, **6**, 280-285.
- ORSINGER, O. A., 1961. The effect of monoamine oxidase inhibitors on the deconditioning action of reserpine in rats. *Psychopharmacologia*, **2**, 326-333.
- SNEDECOR, G. W., 1956. *Statistical methods*, Ames, The Iowa College Press, 5th Ed., pp. 379-382.

Esperimenti sul fenomeno della «*suppressiveness*» in mutanti citoplasmatici «*petit*» di *Saccharomyces cerevisiae*

CARMELA DE PALMA (*) e GIORGIO MORPURGO

Centro Internazionale di Chimica Microbiologica

Riassunto. — Il fenomeno della «*suppressiveness*» è stato studiato nei seguenti incroci: *petit* diploide × grande aploide; grande diploide × *petit* aploide. Solo nel primo tipo di incrocio si è trovata «*suppressiveness*» e cioè gli zigoti hanno prodotto cellule figlie *petit* e grandi, oltre ad un terzo tipo di cellule ereditariamente instabile per la deficienza respiratoria. Le cause della «*suppressiveness*» sono discusse alla luce di questi risultati.

Summary. — The phenomenon of «*suppressiveness*» has been studied in reciprocal crosses haploid *petit* × diploid big and haploid big × diploid *petit*, in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. The possible effect of ploidy of the conjugants on the incidence of «*suppressiveness*» has been investigated. *Petit* mutants were obtained by treatment with acriflavine; diploids homozygous for mating type and nutritional markers were obtained by somatic segregation from a prototrophic heterozygous diploid and crosses were studied, by selecting triploid zygotes as prototrophs on minimal medium. In any case respiratory potentiality of the colonies has been tested by their ability to grow on alcohol as sole carbon source.

The following results have been obtained:

1) «*Suppressiveness*» occurred only in crosses haploid big × diploid *petit*.

2) When «*suppressiveness*» occurs it is possible to isolate a type of heredity unstable colony which continuously segregates *petit* cells.

The significance of the data is discussed.

EPHRUSSI, MARGERIE-HOTTINGUER & ROMAN (1955) hanno dimostrato che l'incrocio di ceppi mutanti respiratori «*petit*» di origine citoplasmatica per ceppi «*grandi*» respiratoriamente normali non dava il 100 % di colonie

(*) Borsista del Centro Internazionale di Chimica Microbiologica.

normali come atteso e come era stato precedentemente affermato, ma che una percentuale variabile fra 0 ed il 99 % degli zigoti dava origine a colonie *petit*. Il rapporto colonie *petit*/colonie normali è determinato unicamente dal particolare ceppo *petit* usato. Questo fenomeno è stato chiamato « *suppressiveness* » e ricerche successive (SHERMAN & EPHRUSSI, 1962) hanno dimostrato che è dato solamente da *petit* citoplasmatiche, le *petit* nucleari producendo costantemente nell'incrocio il fenotipo normale.

Il determinismo del fenomeno della *suppressiveness* non è stato chiarito ; se infatti si ammette che la mutazione *petit* si è originata per la scomparsa di una particella citoplasmatica autoriproducibile non è chiaro come questo fatto possa impedire alle particelle che lo zigote riceve nell'incrocio della colonia grande di riprodursi. Si è quindi fatta l'ipotesi (EPHRUSSI, MARGERIE-HOTTINGUER & ROMAN, 1955) che nel ceppo mutante possa esistere una seconda particella forse derivata per mutazione della particella normale e competitiva con questa.

La presente ricerca prende in esame il carattere *suppressiveness* in incroci *petit* aploide \times diploide grande, ed il suo reciproco *petit* diploide \times grande aploide, per vedere se la ploidia del ceppo grande ha influenza sulla frequenza della *suppressiveness*.

MATERIALI E METODI

Ceppi. Tutti gli esperimenti sono stati condotti sui seguenti ceppi di *Saccharomyces cerevisiae*, o su ceppi *petit* da questi derivati per trattamento con acriflavina.

Aploidi : 10187 α arg.-1 ur-1 ; FF-53 *a* thr-4.

Diploidi : DMR 7 $\frac{a \text{ met}}{a \text{ met}}$; DMR 10 $\frac{a \text{ arg met}}{a \text{ arg met}}$

Questi due ceppi sono derivati per segregazione somatica dal diploide

DM $\frac{a}{\alpha} \frac{+}{tr-1} \frac{+}{ur-1} \frac{arg-3}{+} \frac{met-2}{+} \frac{ad-1}{+} \frac{leu-3}{+}$

Terreni di cultura. Sono stati usati un terreno completo C già precedentemente descritto (SERMONTI, 1957) ed il terreno MM di Czapek Dox ; a questo ultimo terreno è stata costantemente aggiunta asparagina nella concentrazione 0,1 % e 2 ml/1 di terreno di una soluzione di vitamine della seguente composizione : 10 mg di nicotinammide, 1 mg di acido p-ammino-benzoico, 5 mg di piridossina HCl, 0,025 mg di biotina, 20 mg di pantotenato di Ca, 40 mg di inositolo, 5 mg di aneurina, 1 mg di acido folico, 10 ml di H₂O.

Trattamento con acriflavina. Le colonie *petit* sono state ottenute incubando i ceppi in esame in terreno MM per 48 h con acriflavina 5×10^{-5} %

(p/v). Per evitare di prendere colonie appartenenti allo stesso clone ogni colonia è stata prelevata da un diverso trattamento.

Esame delle capacità respiratorie. Le colonie sono state classificate come *petit* se erano incapaci di crescere su terreno MM o C supplementato con alcool nella concentrazione di 1 % v/v. Su tali terreni il mutante respiratorio è totalmente incapace di dare crescita mentre il ceppo grande può crescere. La tecnica del trifeniltetrazolio (OGUR, ST. JOHN & NAGAI, 1957) non è stata impiegata perchè con i ceppi usati non dava risultati attendibili.

Tecnica degli incroci. Gli incroci sono stati compiuti semplicemente seminando il miscuglio di cellule di sesso opposto su terreno MM + glucosio, in numero tale che le colonie prototrofe derivanti dall'incrocio venissero ben separate. Le colonie venivano successivamente con una ansa trasportate su mezzo MM + glucosio e MM + alcool per l'esame delle loro capacità respiratorie.

RISULTATI

Suppressiveness nell'incrocio grande aploide × petit diploide. Il ceppo grande 10187 aploide *arg ur* è stato incrociato con 6 ceppi *petit* ottenuti per mutazione indipendente per mezzo di trattamento con acriflavina dal diploide DMR 10 *arg met*. 50 colonie prototrofe da ciascun incrocio sono state trasferite su MM + glucosio ed MM + alcool per determinare la frequenza di colonie *petit* e quindi il grado di *suppressiveness* del genitore. I dati sono nella Tabella 1. Sul terreno con alcool alcuni degli strisci non hanno dato una crescita omogenea ma con notevole ritardo sono nate solamente delle colonie isolate. Questo fatto ha portato a pensare che dagli zigoti, oltre che colonie grandi e *petit* si potessero originare anche colonie o miste o ereditariamente instabili, e che quest'ultime su alcool dessero luogo a crescita di colonie isolate anzichè come patina. Per provare questa ipotesi, cellule che provenivano da strisci capaci di crescere su alcool, sia come patina che come colonie isolate, sono state prelevate dalla replica su MM + glucosio e seminate nuovamente su MM + glucosio; la popolazione di colonie che ne è derivata è stata nuovamente esaminata per le capacità respiratorie. Gli strisci incapaci di crescere su alcool non sono stati esaminati perchè evidentemente composti di un solo tipo di cellule *petit*.

Sono stati così esaminati 42 strisci di cui 12 crescevano su alcool a colonie separate (I tipo) e 30 con patina omogenea (II tipo). Tutte e 12 le semine da colonie del tipo I hanno dato tre tipi di colonie e cioè grandi, *petit*, e colonie a margine frastagliato; 28 colonie su 30 del tipo II hanno invece dato soltanto colonie grandi (la presenza di meno del 10 % di colonie *petit* non è stato considerato come prova che la colonia fosse mista). In seguito a questi

risultati tutte le colonie a crescita di tipo I sono state classificate come miste, mentre tutte le altre sono state classificate come omogenee. Questo criterio di classificazione produce tuttavia un certo errore con una sicura sottostima delle colonie miste.

Esame della instabilità genetica. La presenza di colonie a margine frastagliato è normalmente indice di una frequenza di mutazione grande → *petit* fortemente aumentata. Quattro colonie « frastagliate » derivate dai piastramenti precedenti di cellule da strisci di tipo I sono state nuovamente seminate e le colonie classificate come grandi, *petit* e « frastagliate ». Questa operazione è stata ripetuta per tre volte sempre scegliendo nella nuova generazione le colonie di tipo « frastagliato », ottenendo sempre identici risultati e cioè la produzione di tre tipi di colonie, fatto che dimostra che nell'incrocio si è formato un tipo ereditariamente instabile per le capacità respiratorie. I dati sono esposti nella Tabella 2.

Suppressiveness in incroci petit aploide × grande diploide. Il diploide DMR 7 è stato incrociato con 10 ceppi *petit* ottenuti per mutazione indipendente per trattamento con acriflavina nel ceppo 10187. 50 colonie nate da ciascun incrocio sono state esaminate con modalità identiche a quelle del caso precedente.

Nei dieci incroci non è stata trovata *suppressiveness*; i dati sono esposti nella Tabella 1. Dagli incroci DMR 7 × 10194 e DMR 7 × 10193 sono state prelevate 14 colonie, da cui sono state seminate le cellule su mezzo C per vedere una eventuale instabilità genetica. Tutte e 14 le colonie sono risultate grandi e stabili.

DISCUSSIONE

Gli esperimenti che abbiamo riferito hanno messo in evidenza i seguenti punti: 1) la frequenza di *suppressiveness* con i ceppi da noi usati (ceppi di origine differente da quelli di Ephrussi e Roman) è scarsa o nulla in incroci del tipo *petit* aploide × grande diploide; 2) *suppressiveness* è presente soltanto negli incroci *petit* diploide × grande diploide, ed oltre a cellule grandi e cellule *petit* si producono anche costantemente cellule ereditariamente instabili per la deficienza respiratoria.

In base a questi dati si può pensare che nei nostri ceppi la *suppressiveness* si origini per un alterato rapporto fra la ploidia ed il numero delle particelle citoplasmatiche.

Se si ammette che normalmente la moltiplicazione delle particelle citoplasmatiche sia sincronizzata con la moltiplicazione cellulare, si deve pensare che un diploide, derivando dalla fusione di due cellule aploidi, contenga un numero di particelle doppio di quest'ultime. Nell'incrocio fra un diploide

TABELLA I.

« Suppressiveness » in incroci fra « grandi » e « petit » a diversa ploidia.

Genitore « <i>petit</i> » diploide (*)	« Grande » aploide (10187) × « <i>petit</i> » diploide				Diploide « grande » DM-R7 × « <i>petit</i> » aploide				
	Ricombinanti prototrofi esaminati			miste o instabili	Genitore « <i>petit</i> » aploide (**)	Ricombinanti prototrofi esaminati			miste o instabili
	totale	grandi	<i>petit</i>			totale	grandi	<i>petit</i>	
	n.	n.	n.	n.		n.	n.	n.	n.
DM-R 10 - 1	50	15	19	16	10190	50	50	0	0
»	50	21	15	14	10191	50	49	1	0
»	50	13	3	34	10192	50	50	0	0
»	50	5	34	11	10193	50	50	0	0
»	50	22	15	13	10194	50	50	0	0
»	50	13	13	24	10195	50	50	0	0
					10196	05	50	0	0
					10197	50	49	1	0
					10198	50	50	0	0
					10199	50	50	0	0

Sono state classificate come « grandi » le colonie che, strisciante con l'ansa su mezzo MM + alcool, davano crescita omogenea, come «*petit*» quelle che non davano crescita e come « miste o instabili » quelle che davano crescita a colonie isolate.

* Mutanti ottenuti con acriflavina dal diploide DM-R 10.

** Mutanti ottenuti con acriflavina dall'aploide 10187.

TABELLA 2.

Esame della instabilità genetica per il carattere « petit » in cloni derivati dall'incrocio « petit » diploide per grande aploide.

Clone instabile	I ISOLAMENTO			II ISOLAMENTO			III ISOLAMENTO			IV ISOLAMENTO					
	Colonie derivate *			clone instabile **	Colonie derivate			clone instabile **	Colonie derivate			Colonie derivanti			
	grandi	petit	frastagliate		grandi	petit	frastagliate		grandi	petit	frastagliate	clone instabile ****	grandi	petit	frastagliate
n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.	n.		
1	86	115	25	1-1	73	51	16	1-1a	165	181	30	1-1ab	86	27	17
2	67	90	13	7-1	148	151	36	1-1b	70	236	30	1-1ac	74	32	17
3	15	132	0	8-1	0	15	21	1-1c	181	102	16				
4	58	82	3	11-1	49	216	14	1-1d	72	210	33				
5	0	0	84												
6	1	147	0												
7	46	92	7												
8	64	0	40												
9	0	112	18												
10	1	164	0												
11	15	170	5												

* Frequenza di colonie « grandi », « petit » e « frastagliate » che deriva dalla semina di cellule prelevate da strisci del I tipo.

** Colonie « frastagliate » prelevate dagli strisci 1, 7, 8, 11.

*** Colonie « frastagliate » derivate dall'1-1.

**** Colonie « frastagliate » derivate dall'1-1a.

La semina di cellule prelevate da strisci del II tipo non dà in frequenza apprezzabile né colonie « petit », né colonie « frastagliate ».

petit ed un aploide grande lo zigote avrà quindi un terzo delle particelle che dovrebbe normalmente possedere. Alla successiva moltiplicazione dello zigote una ineguale divisione delle particelle fra le nuove gemme porterà alla produzione di cellule *petit*, di cellule normali e di cellule che hanno conservato la situazione iniziale e cioè ereditariamente instabili, come in effetti si trova.

Questa spiegazione è tuttavia probabilmente valida solo con i ceppi che abbiamo usato, ceppi cioè che presentano *suppressiveness* solo nel caso particolare dell'incrocio *petit* diploide \times grande aploide. JACOB (comunicazione personale) non ha trovato alcuna differenza in incroci a diversa ploidia, utilizzando ceppi di diversa origine con frequenza di *suppressiveness* molto più alta.

Questo lavoro è stato eseguito con il contributo finanziario del CNR. Gli autori desiderano anche ringraziare il Sig. G. Conti per l'abile assistenza tecnica.

22 giugno 1964.

BIBLIOGRAFIA

- EPHRUSSI, B. H., H. MARGERIE-HOTTINGUER & H. ROMAN, 1955. «Suppressiveness» a new factor in the genetic determinism of the synthesis of respiratory enzymes in yeast. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **41**, 1065-1071.
- JACOB, H. B. Comunicazione personale.
- OGUR, M. R., R. ST. JOHN & S. NAGAI, 1957. Tetrazolium overlay technique for population studies of respiratory deficiency in yeast. *Science* **125**, 928-929.
- SERMONTI, G., 1957. Analysis of vegetative segregation and recombination in *Penicillium chrysogenum*. *Genetics* **42**, 433-443.
- SHERMAN, F., & B. H. EPHRUSSI, 1962. The relationship between respiratory deficiency and suppressiveness in yeast as determined with segregational mutants. *Genetics* **47**, 695-700.