

RENDICONTI
ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ



VOLUME XXIV

ROMA: FONDAZIONE EMANUELE PATERNÒ
VIALE REGINA ELENA, 299 - ANNO 1961

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

DIRETTORE

DOMENICO MAROTTA

CAPI DEI LABORATORI E DEI SERVIZI

BIBLIOTECA: BRUNO MANZONE - **BIOLOGIA:** ANTONIO GALAMINI - **CHIMICA:** GUIDO LA PAROLA - **CHIMICA BIOLOGICA:** G. B. MARINI-BETTOLO - **CHIMICA TERAPEUTICA:** DANIELE BOVET - **ELETTRONICA:** MARCO FRANK (Inc.) - **FISICA:** MARIO AGENO - **INGEGNERIA:** SALVATORE SALOMONE - **MICROBIOLOGIA:** GIUSEPPE PENSO - **PARASSITOLOGIA:** EZIO MOSNA - **VETERINARIA:** VITTORIO MAZZARACCHIO - **SEGRETERIA DIDATTICA-MUSEO SPERIMENTALE:** GIUSEPPE RUSSO - **SERVIZI AMMINISTRATIVI E DEL PERSONALE:** ITALO DOMENICUCCI

CENTRO INTERNAZIONALE DI CHIMICA MICROBIOLOGICA: E. B. CHAIN (Inc.).

COMITATO SCIENTIFICO

DOMENICO MAROTTA - *Presidente*

GIUSEPPE AMANTEA - GUIDO BARGELLINI - GINO BERGAMI - GIOVAN BATTISTA BONINO - GIUSEPPE CARONIA - GIULIO COTRONEI - PIERO DI MATTEI - BASILIO FOCACCIA - GAETANO MARTINO - SILVIO RANZI

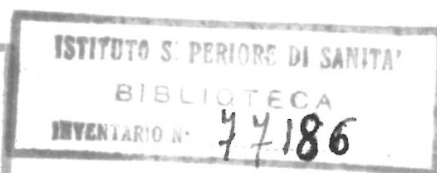
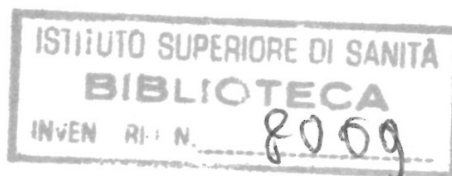
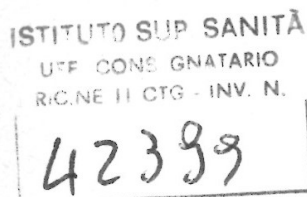
Rendiconti Istituto Superiore di Sanità

Direttore: DOMENICO MAROTTA

Redattore Capo: DANIELE BOVET

FOTOGRAFIE, TAVOLE, DIAGRAMMI, DISEGNI
ESEGUITI DAI FOTOGRAFI E DISEGNATORI DELL'ISTITUTO

A. PICCIRILLI - A. PACELLI



1. Giuseppe SACCA. — Esperienze con mosche domestiche, sterilizzate con raggi x. (*)

Riassunto. — Le ricerche esposte hanno preso spunto da una serie di lavori di Knipling, Baumhover, Bushland, Lindquist e altri, che, sfruttando la monogamia delle femmine di *Callitroga hominivorax* CORL., sono riusciti a eradicare questa specie dannosa da alcune regioni mediante l'introduzione in natura di maschi sterilizzati artificialmente.

Esperienze preliminari (Saccà e Benetti) hanno dimostrato che anche la femmina di *Musca domestica* è di regola monogama. In seguito, l'autore ha proceduto alla sterilizzazione delle mosche mediante la irradiazione delle pupe, 2-3 giorni prima della schiusura, con una dose di 3.000 r.

Le mosche dei due sessi ottenute dalle pupe così irradiate sono pressochè normali quanto a vitalità, longevità, attività sessuale, ma sono assolutamente sterili.

Nelle esperienze esposte nel presente lavoro, femmine normali, accoppiate con maschi sterilizzati, non si sono accoppiate una seconda volta se non in una percentuale bassa, ma superiore a quella dei controlli.

I maschi sterili si sono dimostrati capaci di competere con i maschi normali nella ricerca delle femmine e, se in numero soverchiante, sono riusciti a copulare la maggior parte delle femmine presenti.

Summary. — The experiments described in the present note were suggested by a series of papers published by Knipling, Baumhover, Bushland, Lindquist and others, dealing with the eradication of *Callitroga hominivorax* from Curacao by release into the field of males sterilized by γ rays. Positive results were the outcome of the monogamous habit of the female flies.

Preliminary experiments (Saccà and Benetti) indicated that the females of *Musca domestica* are likewise usually monogamous. Following these lines, the author attempted sterilization of the adults by irradiating pupae with a dosage of 3.000 r., 2-3 days before emergence.

Flies which emerge from pupae so irradiated are almost normal with respect to viability, longevity and sexual activity, but they are completely sterile.

In the experiments presented in the present paper, normal females,

(*) Comunicazione al III Congresso Nazionale di Entomologia (Pisa, 20-23 ottobre 1960).

previously mated with irradiated males, remated with normal males in a small percentage of cases, somewhat higher than in the controls.

Sterile males were able to compete with normal males in the search for females, and when present in overwhelming number, mated with most of the females, leaving them definitely sterile.

PREMESSA.

L'eradicazione di una popolazione isolata di *Callitroga hominivorax* CORL, è stata ottenuta nell'isola di Curacao da BAUMHOVER e coll. (^{1, 9}) mediante l'introduzione di maschi sterilizzati artificialmente con l'irradiazione delle pupe a mezzo di raggi γ . L'interessante esperimento che portò alla eradicazione della specie dall'isola, ebbe luogo nel periodo agosto 1954 - gennaio 1955, e consistè essenzialmente nella liberazione in natura di 136.000 maschi sterili per settimana. L'isola ha una superficie di 170 miglia quadrate, una popolazione di 115.000 abitanti e vi vengono allevate 25.000 capre e 5.000 pecore. Già il 20 settembre, cioè dopo poco più di un mese dall'inizio dell'esperimento, tutte le femmine catturate in natura non deponevano altro che uova sterili.

Un così brillante risultato fu ottenuto mediante una perfetta organizzazione che permetteva di produrre maschi sterili a Orlando (Florida) e di portarli in Curacao al momento dell'impiego.

Da notare che detto risultato non sarebbe probabilmente stato possibile se le mosche femmine non si fossero dimostrate strettamente monogame.

Date le difficoltà incontrate sempre più di frequente nel controllo della mosca domestica a causa della capacità di questa specie di divenire resistente ai varii insetticidi ho pensato che sarebbe stato interessante indagare se un metodo di lotta del tipo di quello sopra accennato potesse essere, almeno teoricamente, progettato anche contro di essa.

In un recente lavoro (¹⁰), SACCÀ e BENETTI hanno sperimentalmente dimostrato che mentre i maschi di *Musca domestica* possono accoppiarsi ripetutamente (fino a 11 volte in 48 ore), le femmine sono invece di regola monogame, e solo l'1% di esse è suscettibile di riaccoppiarsi una seconda volta.

Nel presente lavoro ho tentato di ottenere un certo numero di informazioni necessarie nell'eventualità di un tentativo di lotta contro la mosca domestica mediante il rilascio di maschi sterili.

MATERIALE E TECNICA.

Ho seguito l'esempio degli AA. citati utilizzando per le prove preliminari mosche irradiate con i raggi X, di impiego più pratico per piccoli quantitativi.

Io mi sono servito di pupe irradiate 2-3 giorni prima della schiusura mediante una dose di raggi X che, in una prima prova orientativa è stata, per tre differenti gruppi di pupe, di 2.000, 3.000 e 4.000 r. rispettivamente, mentre in seguito ho utilizzato solo la dose di 3.000 r. (*).

Le mosche ottenute dalle pupe così irradiate vennero quindi sistemate in gabbiette di tulle, nutrite con acqua, zucchero e latte ed utilizzate per le osservazioni e le esperienze illustrate qui appresso.

RISULTATI.

Le tabelle 1, 2, 3, 4 illustrano i risultati osservati nella prima serie di esperienze. Si può dedurre che la dose di 3.000 r. sembra essere idonea a produrre la sterilità dei maschi, compromettendone debolmente la vitalità e la efficienza.

In aggiunta a quanto esposto nelle tabelle, un'altra prova è stata eseguita con ♀♀ precedentemente accoppiate con maschi sterili, esponendole, dopo qualche tempo dalla copula, a maschi normali, tre volte per la durata di 2-3 ore. Si sono ottenuti solamente 4 riaccoppiamenti, su un totale di 95 femmine osservate.

Gli AA. citati hanno dimostrato che con la minima dose necessaria per ottenere la sterilità dei maschi in *Callitroga hominivorax* (2.500 r.) non si ottiene, contemporaneamente, quella delle femmine, per le quali occorrono 5.000 r.. Nel mio caso, i 3.000 r. impiegati sembrano aver causato la completa sterilità anche nelle femmine. 98 ♀♀ ottenute da pupe irradiate e accoppiate con maschi normali sono state tenute per 15 giorni in osservazione nelle condizioni ottimali perchè si ottenesse la ovodeposizione. Nessuna ovatura è stata ottenuta durante questo periodo; la dissezione ha dimostrato in tutti gli individui che, sebbene le spermateche fossero regolarmente inseminate, le ovaie presentavano una deficienza di sviluppo e non erano mature in nessun caso.

(*) L'irradiazione è stata ottenuta disponendo le pupe a 50 cm dalla sorgente, con 24 Kv, 14 mA, filtro 1 AL + 0,25 Cu.

Ringrazio il Laboratorio di Fisica dell'Istituto Superiore di Sanità, che ha messo a mia disposizione le apparecchiature e il personale necessario per l'irradiazione.

TABELLA 1 - Vitalità delle mosche ottenute da pupe irradiate con 3.000 r. (tra parentesi, individui osservati).

	Schiusura delle pupe	Mortalità spontanee nelle mosche di 10 giorni
Pupe irradiate	94'/(100)	20.2'/(94)
Controllo	96'/(100)	9.37'/(96)

TABELLA 2 - Inseminazione ottenuta in ♀♀ vergini normali esposte a ♂♂ sterili per 24 ore.

	♀♀ esposte a ♂♂ sterili	♀♀ esposte a ♂♂ normali
♀♀ dissezionate	50	25
♀♀ inseminate	42	24
♀♀ con spermi mobili	35	24
♀♀ con spermi immobili	7	0

TABELLA 3 - Fertilità delle femmine inseminate da maschi irradiati.

	♀♀ accoppiate con ♂♂ irradiati	♀♀ fertili normali
♀♀ messe a ovodeporre	50	20
ovature ottenute	50	18
ovature fertili	0	18
ovature sterili	50 (*)	0

(*) In tutte le ovature si è verificata la schiusura di qualche larva moribonda

TABELLA 4 - Durata media in minuti della copula in ♂♂ irradiati (tra parentesi, il numero delle coppie osservate).

♂♂ irradiati	♂♂ normali
65.6 (48)	83.7 (20)

Con un'altra serie di esperienze, ho voluto ripetere i tentativi per ottenere una seconda copula in ♀♀ normali precedentemente accoppiate con maschi irradiati. Il metodo consiste nell'ottenere le coppie riunendo in una gabbietta individui di ambo i sessi, vergini e sessualmente maturi, di alcuni giorni di età. Così operando, la grande maggioranza degli individui si accoppiano ed è facile prelevare le singole coppie e trasferirle in altre gabbiette; l'operazione riesce facile con un pò di pratica dato che durante la lunga copula le due mosche hanno la tendenza a rimanere immobili e molto difficilmente si separano, anche se disturbate. E' sufficiente afferrare la femmina per un'ala con una pinzetta entomologica; la coppia viene così passata rapidamente nella nuova gabbietta e lasciata indisturbata fino alla fine della copula, dopo di che la femmina può essere utilizzata per le esperienze ulteriori.

Le femmine sicuramente accoppiate, così ottenute, venivano successivamente esposte a un numero uguale di maschi, per un periodo di 2-3 ore; la prova è stata ripetuta con le stesse femmine 8 volte nello spazio di 9 giorni. Ho ritenuto opportuno riassumere in un'altra tabella questi risultati (tab. 5).

Come si vede, in 8 successivi tentativi, si è ottenuta una seconda copula in 32 femmine (su 170) precedentemente accoppiate con maschi sterili. Nel controllo, costituito da 184 femmine già accoppiate con maschi normali, si sono avuti solo 7 riaccoppiamenti. Queste cifre sono alquanto superiori a quelle ottenute nelle precedenti prove, ma la cosa può essere spiegata dal fatto che, mentre le prime si erano svolte a temperatura ambiente (22°-23°C), le prove più recenti si erano effettuate alla temperatura di 28°C, che come è noto è più idonea a produrre rapidamente la copula ⁽¹¹⁾. Comunque, in tab. 5 si può osservare:

1) Le mosche femmine sono di regola monogame, come già dimostrato da SACCÀ e BENETTI ⁽¹¹⁾.

2) Le mosche accoppiate con maschi irradiati si possono riaccoppiare con maggiore facilità.

TABELLA 5 - Mosche femmine riaccoppiate in successive esposizioni, dopo un precedente accoppiamento.

Data	Durata esposizione	♀♀ precedentemente accoppiate con ♂♂ sterili		Mortalità	♀♀ precedentemente accoppiata con ♂♂ normali		Mortalità
		N. di ♀♀	N. di femmine riaccoppiate		N. di ♀♀	N. di femmine riaccoppiate	
6-ott.	3h 15'	170	20 (11.7%)	—	184	4 (1.17%)	—
7-ott.	2h 15'	150	6 (4%)	6	180	0	—
8-ott.	1h 15'	138	1 (0.7%)	5	180	0	5
10-ott.	2h 15'	132	2 (1.5%)	4	175	2 (1.14%)	3
11-ott.	2h 15'	126	1 (0.8%)	6	170	0	9
12-ott.	2h 15'	119	1 (0.8%)	3	160	1 (0.6%)	2
13-ott.	2h 15'	115	1 (0.87%)	12	157	0	17
14-ott.	2h 15'	102	0	—	130	0	—
totale riaccoppiate			32			7	

3) Le mosche femmine che si riaccoppiano una seconda volta, lo fanno di regola alla prima occasione. Infatti, su 32 seconde copule del nostro esperimento, ben 20 sono state ottenute alla prima prova, mentre le rimanenti 12 si sono verificate nel corso delle altre sette prove. Lo stesso fatto, in proporzioni molto più modeste, si verifica nel controllo: su 7 seconde copule, 4 alla prima prova.

Aggiungerò che fra le femmine riaccoppiate ve ne sono state 4 per ogni gruppo in cui si è ottenuta una terza copula, mentre una quarta se ne è ottenuta in un solo individuo.

Un'ultima esperienza, qui esposta, ha avuto lo scopo di valutare quale potrebbe essere la conseguenza della introduzione in una popolazione naturale di un certo numero di maschi sterili. Nonostante la modesta mole della esperienza, effettuata in via assolutamente preliminare, ho ritenuto opportuno illustrarne i risultati (tab. 6). A due gruppi costituiti ciascuno da 25 maschi e 25 femmine vergini normali, sono stati aggiunti rispettivamente 50 e 150 maschi sterili, usando una gabbia di stoffa in cui gli individui sono stati tenuti assieme tre giorni; in seguito

TABELLA 6 - Ovature sterili e ovature normali ottenute mediante l'aggiunta di ♂♂ irradiati a un gruppo di 25 ♂♂ + 25 ♀♀ vergini normali.

	25 ♂♂ + 25 ♀♀ normali + 50 ♂♂ sterili	25 ♂♂ + 25 ♀♀ normali + 150 ♂♂ sterili
♀♀ che hanno ovodeposto	18	19
ovature normali	9	2
ovature sterili	9	17

tutte le femmine sono state prelevate e introdotte singolarmente in bicchierini da ovodeposizione. Come si vede in tab. 6 solo una parte delle femmine hanno deposto uova fertili. Particolarmente interessante il risultato della prova con 150 maschi sterili, in cui solo 2 femmine, su 19 che hanno ovodeposto, hanno prodotto ovature normali.

CONCLUSIONI.

Lungi dal voler trarre conclusioni definitive dalle esperienze esposte in questa nota, vorrei anzi osservare che, prima di poter concepire un tentativo di applicazione pratica occorre risolvere una serie ancora notevole di quesiti, di cui molti mi sembrano scaturire proprio dai risultati ottenuti nelle prove preliminari.

Debbo rilevare che, pur essendomi in un primo tempo orientato verso la dose di 3.000 r., sarei ora propenso a ritenere che sarebbe opportuna la ricerca di una dose sensibilmente più bassa. In *Callitroga* (^{1, 2}) la dose di 2.500 r., dimostratasi sufficiente per sterilizzare i maschi, non è sufficiente per ottenere nelle femmine lo stesso risultato. In *Musca domestica*, con i 3.000 r. usati per i maschi, si è ottenuta la sterilizzazione del 100% delle femmine. E' quindi probabile che si possa usare utilmente una dose sensibilmente inferiore. Ed è anche possibile che si potranno così produrre dei maschi la cui vitalità, attività sessuale e capacità di inseminazione siano del tutto simili a quelle dei maschi normali e mediante i quali si potranno ottenere femmine il cui grado di monogamia non si allontani di molto da quello che si verifica normalmente.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BUSHLAND R. C. e HOPKINS D. E. - J. econ. Entomol., 44: 725 (1951).
 - (²) BUSHLAND R. C. e HOPKINS D. E. - J. econ. Entomol., 46: 648 (1953).
 - (³) KNIPLING E. F. - J. econ. Entomol., 48: 459 (1955).
 - (⁴) BAUMHOVER A. H., GRAHAM A. J., BITTER B. A., HOPKINS D. E., NEW W. D.,
DUDLEY F. H. e BUSHLAND R. C. - J. econ. Entomol., 48: 462 (1955).
 - (⁵) LINDQUIST A. W. - J. econ. Entomol., 48: 467 (1955).
 - (⁶) KNIPLING E. F. - Sci. Montly, 85: 4 (1957).
 - (⁷) SIMPSON H. R. - Biometrics, 14: 459 (1958).
 - (⁸) KNIPLING E. F. - Smithsonian Rep. 1958, pag. 409 (1959).
 - (⁹) KNIPLING E. F. - Science 130: 3380; 902 (1959).
 - (¹⁰) SACCÀ G. e BENETTI M. P. - Rend. Ist. sup. Sanità, 23: 423 (1960).
 - (¹¹) SACCÀ G. e BENETTI M. P. - Rend. Ist. sup. Sanità, 24: 410 (1958).
-