



41685



51. Nora FRONTALI. — Attività della colinesterasi in ceppi sensibili e in ceppi resistenti al DDT di *Musca domestica* L.^(*)

Riassunto. — 1) Il DDT aggiunto *in vitro* in soluzione alcolica a omogenati di teste di mosche sensibili o resistenti all'azione dell'insetticida, non ha mostrato alcun effetto inibitorio sull'attività della colinesterasi.

2) Un esame della attività colinesterasica della testa di mosca in vari ceppi sensibili, resistenti, e sensibili all'azione di abbattimento, ma resistenti all'azione letale del DDT, ha dimostrato l'assenza di qualsiasi rapporto fra l'attività dell'enzima e ambedue i tipi di resistenza.

3) Un esperimento compiuto sulla prole di coppie singole provenienti da tre diversi ceppi, ha dimostrato una variabilità all'interno dei singoli ceppi tale da annullare la significatività delle differenze fra un ceppo e l'altro.

Résumé. — 1) Le DDT ajouté *in vitro* en solution alcoolique à des homogénisés de têtes de mouches sensibles et de mouches résistantes à l'action de l'insecticide, n'a démontré aucune inhibition sur l'activité de la cholinestérase.

2) Un essai de l'activité de la cholinestérase en différentes souches (sensibles, résistantes, et sensibles à l'action d'abattement mais résistantes à l'action létale du DDT), n'a démontré aucun rapport entre l'activité de cet enzyme et les deux types de résistance.

3) Une expérience conduite sur la descendance de couples de trois souches différentes, a montré une variabilité à l'intérieur de chaque souche qui enlevait toute significativité aux différences entre une souche et l'autre.

Summary. — 1) DDT added *in vitro* to head homogenates of susceptible and resistant house-flies had no inhibitory action on cholinesterase.

2) A survey of cholinesterase activity on several strains of house-flies (susceptible, *knockdown* and *kill* resistant, and *knockdown* susceptible but *kill* resistant) showed no relation between enzyme activity and resistance of either type.

(*) Il presente lavoro rientra nel piano di ricerche sulla mosca domestica concordato fra la Fondazione Rockefeller e l'Istituto Superiore di Sanità.

3) An experiment performed on the progeny of single pairs obtained from three different strains, showed a variability within the strains which abolished the significance of differences between strains.

Zusammenfassung. — 1) DDT, das *in vitro* in alkoholischer Lösung einem Homogenat aus Köpfen von DDT-empfindlichen und DDT-unempfindlichen Fliegen zugesetzt wurde, ergab keine inhibitorische Wirkung auf die Cholinesterase-Aktivität.

2) Eine Prüfung der Cholinesterase-Aktivität des Fliegenkopfs bei verschiedenen Stämmen (DDT-empfindlich, DDT-unempfindlich und nur der Niederschlagswirkung des DDT empfindlich) ergab das Fehlen jeder Beziehung zwischen der Aktivität des Enzyms und den beiden Arten der Widerstandsfähigkeit.

3) Ein Versuch mit der Nachkommenschaft von Einzelpaaren, die von drei verschiedenen Stämmen ausgewählt waren, zeigte eine derartige Veränderlichkeit bei den einzelnen Stämmen, dass die Bedeutung der Unterschiede zwischen dem einen und dem anderen Stamm aufgehoben war.

INTRODUZIONE

Negli studi sul meccanismo dell'azione insetticida del DDT ricorre frequentemente l'ipotesi che questa sostanza interferisca in qualche modo con i processi della trasmissione nervosa negli insetti. Che i meccanismi chimici che sono alla base del fenomeno della conduzione nervosa si svolgano negli insetti sostanzialmente nello stesso modo che nei vertebrati, è una questione a cui oggi ancora non si può dare una risposta; è certo comunque che il tessuto nervoso degli insetti possiede una forte attività colinesterasica [dimostrata per la prima volta da CORTEGGIANI e SERFATI nel 1930 ⁽¹⁾], che è essenziale per il normale svolgimento della conduzione nervosa ^(2, 3). Particolarmente elevata è l'attività colinesterasica della testa di mosca, paragonabile soltanto a quella dell'organo elettrico di torpedine e di *Electrophorus electricus* ⁽⁴⁾.

Le caratteristiche di questa attività colinesterasica sono state studiate più approfonditamente via via che progredivano le ricerche sulle colinesterasi in generale, e si è potuta così stabilire la presenza nel tessuto nervoso di vari insetti di una colinesterasi vera ^(4, 5) nel senso stabilito da AUGUSTINSSON ⁽⁶⁾. Le ricerche sulla colinesterasi negli insetti

hanno ricevuto un impulso notevole con la diffusione degli insetticidi contenenti fosforo, la cui azione si considera da molti come legata alla loro forte attività come inibitori della colinesterasi (^{7, 8}), mentre altri Autori ritengono che negli insetti debba trattarsi di un meccanismo diverso (^{9, 10}).

Per quel che riguarda il DDT, l'ipotesi che anche questa sostanza abbia una azione inibitrice sulla colinesterasi degli insetti è stata sollevata specialmente a causa della somiglianza dei sintomi dell'avvelenamento da DDT con quelli consecutivi a iniezione di eserina, e a causa del fatto che l'azione del DDT viene potenziata dalla eserina (¹¹). Tale ipotesi è stata però subito esclusa in base alla osservazione di RICHARDS e CUTCOMP (¹²) che una sospensione colloidale di DDT aggiunta *in vitro* (alla concentrazione finale di 0,0001%) ad un preparato di colinesterasi di testa d'ape non provoca nessun effetto inibitorio, e in base al lavoro di VINCENT, TRUHAUT e ABADIE (¹³) in cui si dimostra che un preparato di DDT aggiunto sotto forma di soluzione alcoolica (in diverse concentrazioni) non ha alcun effetto su vari preparati di colinesterasi, fra cui uno ottenuto omogenizzando corpi interi di mosche domestiche. Altri Autori (^{14, 15}) hanno saggiato l'effetto del DDT su preparati di colinesterasi non provenienti da insetti, sempre con risultato negativo. In tutti questi casi poteva tuttavia rimanere il dubbio che il DDT aggiunto *in vitro*, essendo insolubile in acqua, non arrivasse a entrare in contatto con l'enzima. Un'altra ipotesi è stata saggiata, e cioè che il DDT agisca non tanto coll'inibire la scissione dell'acetilcolina, ma piuttosto coll'accelerarne la sintesi oppure il passaggio da forma legata alle proteine a forma libera; TOBIAS e coll. (¹⁶) hanno osservato appunto un forte aumento della acetilcolina libera in mosche domestiche e in periplanete intossicate con DDT. Il loro lavoro è stato criticato recentemente da LEWIS (¹⁷) per quel che riguarda il metodo, tuttavia anche LEWIS mette in evidenza una quantità di sostanza acetilcolinosimile leggermente superiore nelle mosche (*Calliphora erythrocephala*) trattate con DDT che nelle mosche non trattate.

Nel frattempo si verificava il fenomeno della resistenza delle mosche al DDT, e molti studi venivano indirizzati alla ricerca di eventuali differenze fisiologiche fra mosche sensibili e mosche resistenti. In questo quadro il problema dell'esistenza di un rapporto fra DDT e colinesterasi è stato ripreso da BABERS e PRATT (¹⁸) con un lavoro nel quale essi confrontano l'attività colinesterasica della testa di mosche « normali » con quella di mosche resistenti al DDT, e trovano (limitatamente ai primi 5 giorni dalla schiusura) una attività colinesterasica nettamente maggiore

nelle prime che nelle seconde. Tuttavia in un lavoro successivo ⁽¹⁹⁾ essi riferiscono di aver ripetuto lo stesso esperimento con gli stessi ceppi di mosche due anni dopo, e di non aver più trovato una differenza significativa. Nello stesso lavoro essi riportano anche i dati sulla titolazione della colinesterasi della testa in diversi ceppi di mosche sensibili e resistenti, e dall'esame dei dati relativi concludono che l'esistenza di una vera differenza fra l'attività della colinesterasi in ceppi di mosche sensibili in confronto con ceppi di mosche resistenti rimane in dubbio. Un elemento di incertezza deriva anche dal fatto che gli AA., pur avendo osservato forti oscillazioni dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi, fondano i confronti fra ceppi su un solo campione per ognuno di essi.

Nel presente lavoro abbiamo cercato di determinare quale fosse la portata di queste ultime oscillazioni, eseguendo una analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di un certo numero di ceppi. Inoltre abbiamo potuto avvantaggiarci di una condizione che mancava alle precedenti esperienze in questo campo, e cioè abbiamo potuto utilizzare ceppi di mosche geneticamente conosciuti e nella maggior parte omozigoti per geni che interessano la resistenza. Come è stato dimostrato in questi ultimi anni ^(20, 21, 22), la resistenza delle mosche al DDT deve essere distinta in due tipi dal comportamento geneticamente diverso: la resistenza all'azione letale (*kill resistance* o *kill-r*), che appare geneticamente polifattoriale, e la resistenza all'abbattimento (*knockdown resistance* o *kdr*), che si comporta come un carattere legato a una sola coppia di geni. Poichè è probabile che i due tipi di resistenza differiscano non solo per il loro comportamento genetico, ma anche per i meccanismi fisiologici che ne sono alla base, risulta chiara l'importanza di distinguere i due tipi di resistenza anche negli esperimenti di tipo fisiologico. Per il presente lavoro abbiamo potuto disporre di ceppi di mosche dei tre seguenti tipi: 1) ceppi sensibili, omozigoti per il gene normale *kdr*⁺ (sensibilità all'azione di abbattimento del DDT), 2) ceppi resistenti all'azione letale e di abbattimento del DDT, omozigoti per il gene *kdr*, 3) ceppi sensibili all'azione di abbattimento, ma resistenti all'azione letale del DDT, geneticamente non ancora analizzati.

Su questo materiale abbiamo dunque compiuto le seguenti esperienze:

1) Effetto del DDT aggiunto *in vitro* in soluzione alcoolica, sull'attività della colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti all'azione letale e di abbattimento dell'insetticida.

2) Determinazione dell'attività della colinesterasi in diversi ceppi di mosche sensibili, resistenti, e sensibili all'azione di abbattimento ma resistenti all'azione letale del DDT.

3) Analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi.

MATERIALI E METODI

Le mosche (*Musca domestica* L.) erano allevate a temperatura di circa 27° in colture di massa (oppure, ove sia specificamente indicato, in colture da coppie singole) ottenute seminando le uova, raccolte su cotone impregnato di latte, su un terreno costituito di crusca, latte in polvere e acqua (100:12:200). L'impupamento nel caso delle colture di massa avveniva in sabbia posta sul terreno al termine dello sviluppo larvale; nel caso delle coppie singole avveniva nel terreno stesso. In tali condizioni il periodo di sviluppo è di 9-10 giorni. La schiusura era controllata in modo da avere in ogni gabbia mosche schiuse entro le 24 ore. Esse venivano nutrite con zucchero e acqua.

Dopo un determinato numero di giorni, indicato volta per volta, le mosche venivano separate a seconda del sesso e decapitate sotto anestesia eterea; le teste venivano pesate e adoperate subito ovvero dopo esser state conservate a —20° per periodi di tempo variabili fino a un mese (senza che si potesse osservare una perdita apprezzabile di attività della colinesterasi).

Le mosche adoperate appartenevano ai seguenti ceppi presenti nel nostro laboratorio.

I) CEPPI SENSIBILI. — Non furono mai selezionati per la sensibilità al DDT, ma in occasione di vari controlli, di cui l'ultimo eseguito durante gli esperimenti, risultarono sensibili sia all'azione abbattente che all'azione letale del DDT, e omogenei:

- 1) + *Roma Sensibili I* (L. La Face).
- 2) + *Roma Sensibili II* derivato dal precedente.
- 3) + *Tripoli* (G. Saccà).
- 4) + *Arancio* (R. Milani).
- 5) + *Londra* (J. R. Busvine).
- 6) *brown body* (C. M. Harrison)

II) CEPPI RESISTENTI. — Ad eccezione del ceppo *OK* si tratta di ceppi caratterizzati dalla presenza di caratteri mutanti recessivi, che in occasione di vari controlli, di cui l'ultimo eseguito durante gli esperimenti, risultarono resistenti all'azione letale e di abbattimento del DDT e omozigoti per il gene *kdr*. Nel ceppo *kdr; ocra* l'omozigosi per il gene *kdr* è stata invece ottenuta per selezione. Il ceppo *OK* è stato selezionato per la resistenza al Chlordane, e in occasione di controlli è risultato resistente anche all'azione letale e abbattente del DDT.

- 7) *kdr; plx* (R. Milani).
- 8) *kdr; ocra* (R. Milani).
- 9) *OK* (L. La Face).
- 10) *kdr; mel dim* (R. Milani).
- 11) *kdr; clipped* (R. Milani).

III) CEPPI SENSIBILI ALL'AZIONE DI ABBATTIMENTO, MA RESISTENTI ALL'AZIONE LETALE DEL DDT. — Furono tutti sottoposti a selezione per alcune generazioni.

- 12) *Roma; kdr+; kill-r* (R. Milani).
- 13) *Ventotene; kdr+; kill-r* (R. Milani).
- 14) *Terminillo; kdr+; kill-r* (R. Milani).
- 15) *+ Sardinia* (J. R. Busvine).

L'attività della colinesterasi veniva determinata col metodo manometrico di Warburg, secondo la procedura di AMMON (²³). In ogni vaschetta, a 1,6 ml di Ringer 20 (NaCl 0,124 M, KCl 0,0026 M, CaCl₂ 0,0013 M, NaHCO₃ 0,024 M) venivano aggiunti nel vano principale 0,2 ml di omogenato di teste di mosca (ottenuto con un apparato del tipo Elvehjem Potter) corrispondenti a 10 mg di tessuto fresco. Nell'ampolla laterale si ponevano 0,2 ml di acetilcolina cloridrato in Ringer 20 per una concentrazione finale 0,022 M. Prima di mescolare le due parti le vaschette venivano agitate per 30'; la temperatura del bagno era di 28°. Le letture venivano eseguite ogni 20' per un'ora.

RISULTATI

- 1) *Effetto del DDT sulla colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti.*

Per queste prove sono state usate mosche del ceppo sensibile *+ Arancio* e mosche del ceppo resistente *kdr; plx*, dell'età di quattro giorni,

maschi e femmine separatamente. Il DDT veniva aggiunto in soluzione alcoolica secondo il procedimento descritto da JOHNSTON ⁽²⁴⁾, che ha permesso a questo autore di mettere in evidenza un effetto inibitorio del DDT sulla citocromoossidasi e la succinossidasi del cuore di ratto, effetto che non compariva finchè il DDT era aggiunto in soluzione oleosa. 0,05 ml della soluzione di Ringer venivano dunque sostituiti nel vano principale con 0,05 ml di alcool assoluto contenente DDT per una concentrazione finale dello 0,5‰ (0,0014 M). I controlli contenevano la stessa quantità di alcool senza DDT.

TABELLA 1.

Effetto del DDT *in vitro* sulla colinesterasi della testa di mosche sensibili e di mosche resistenti.

Ceppi	senza DDT		con DDT		t	g. l.	P ‰
	ChE*	d. s.	ChE	d. s.			
♂ + <i>Arancio</i>	0,37	0,014	0,37	0,008	1,207	14	> 20
♀ + <i>Arancio</i>	0,38	0,005	0,37	0,022	1,316	10	> 20
♂ + <i>kdr; plx</i>	0,39	0,017	0,37	0,014	1,772	14	> 5
♀ + <i>kdr; plx</i>	0,38	0,018	0,38	0,013	1,034	13	> 30

(*) L'attività della colinesterasi (ChE) è espressa in ml di CO₂ prodotti in un'ora da 10 mg di tessuto fresco (teste intere).

Il risultato è esposto nella tabella 1 nella quale i singoli dati corrispondono alla media di 4-8 frazioni dello stesso omogenato (4-8 vaschette del Warburg) con la relativa deviazione standard (**). P indica la probabilità dell'ipotesi (saggiata con il *t* di Student) che le differenze fra le medie dei valori ottenuti simultaneamente al Warburg con e senza DDT siano dovute al caso. Il suo elevato valore indica che tali medie non differiscono significativamente fra loro: non risulta dunque che il DDT abbia alcun effetto sull'attività della colinesterasi di teste di mosca *in vitro*.

2) Determinazione dell'attività della colinesterasi in diversi ceppi di mosche sensibili e di mosche resistenti.

Allo scopo di saggiare se vi fosse un qualche rapporto fra l'attività colinesterasica e la resistenza al DDT, sono stati messi a confronto simul-

(**) $s = \sqrt{Sx^2 / (n-1)}$

taneamente in ogni esperienza al Warburg omogenati di teste di mosche dell'età di due giorni (maschi e femmine separatamente) appartenenti a un ceppo sensibile e a un ceppo resistente al DDT. I ceppi (resistenti all'azione letale e abbattente, o soltanto all'azione abbattente del DDT) erano scelti a caso fra quelli presenti nel nostro laboratorio. Ogni esperienza veniva ripetuta due volte, a distanza di tempo, con una successiva generazione di mosche. I risultati del confronto fra mosche sensibili e mosche *kdr*, *kill-r* sono esposti nelle tabelle 2 (maschi) e 3 (femmine). I risultati del confronto fra mosche sensibili e mosche *kdr* + , *kill-r*, sono esposti nelle tabelle 4 (maschi) e 5 (femmine).

I singoli valori riportati nelle tabelle sono le medie dei valori ottenuti da 5-6 campioni dello stesso omogenato di teste (5-6 vaschette del Warburg), con la relativa deviazione standard. I due valori medi riportati su ogni riga (appartenenti l'uno a un ceppo sensibile e l'altro a un ceppo resistente) sono stati ottenuti simultaneamente al Warburg e vengono confrontati fra loro. La probabilità (P) dell'ipotesi che la loro differenza sia da attribuirsi a variazioni casuali è saggiata con il *t* di Student ed è riportata nell'ultima colonna. Nella parte centrale della colonna vengono indicati i valori di P maggiori dell'1%, che vengono considerati come indice di una differenza non significativa fra le medie. Ai due lati compaiono i valori di P minori dell'1%, che indicano una differenza significativa fra le medie: a sinistra quando l'attività della colinesterasi è maggiore nel ceppo sensibile, a destra quando è maggiore nel ceppo resistente.

In ogni tabella si può così facilmente osservare come sono distribuite le differenze significative, e cioè abbastanza uniformemente a destra e a sinistra delle differenze non significative. Questo fa pensare alla assenza di un qualsiasi legame fra l'attività della colinesterasi e la proprietà della resistenza all'azione letale o abbattente del DDT. Se poi si cumulano in ogni tabella tutti i dati relativi ai ceppi sensibili e tutti i dati relativi ai ceppi resistenti, si rileva che la differenza fra le loro medie non è significativa.

* * *

Sui primi due ceppi da noi casualmente saggiati in ordine di tempo, avevamo voluto seguire l'attività della colinesterasi per alcuni giorni successivi al secondo allo scopo di ripetere sul nostro materiale l'esperienza di BABERS e PRATT⁽¹⁸⁾. Riportiamo nella tabella 6 i risultati, i quali non fanno che confermare per il terzo, quarto e quinto giorno dalla schiusura, il dato che già risulta dalle tabelle II e III per i ceppi + *arancio*

TABELLA 2.

Confronto fra maschi sensibili e maschi resistenti all'azione abbattente e letale del DDT.

(1) Sensibili			(2) kdr, kill-r			g. l.	t	P %	
ceppo	ChE	d. s.	ceppo	ChE	d. s.			(1)-(2)	(2)-(1)
+ Arancio	0,37	0,014	kdr; plx	0,39	0,017	10	2,910	> 1	
»	0,36	0,025	»	0,36	0,012	10	0,440	> 50	
+ Roma Sens.	0,23	0,012	OK	0,33	0,013	8	12,850	< 1	
»	0,25	0,012	»	0,30	0,015	10	6,800	< 1	
+ Tripoli	0,36	0,012	kdr; mel. dim	0,27	0,006	10	17,000	< 1	
»	0,25	0,012	»	0,29	0,007	10	4,620	< 1	
+ Londra	0,35	0,005	kdr; ocra	0,32	0,010	9	7,130	< 1	
»	0,29	0,017	»	0,25	0,012	9	4,430	< 1	
+ Roma Sens. I	0,35	0,010	kdr; clipped	0,30	0,005	10	11,600	< 1	
»	0,31	0,008	»	0,32	0,008	10	1,750	> 10	
MEDIE	0,312			0,313		18	0,011	> 50	

TABELLA 3.

Confronto fra femmine sensibili e femmine resistenti all'azione abbattente e letale del DDT.

(1) Sensibili			(2) kdr, kill-r			g. l.	t	P %	
ceppo	ChE	d. s.	ceppo	ChE	d. s.			(1)-(2)	(2)-(1)
+ Arancio	0,38	0,006	kdr; plx	0,38	0,008	9	2,326	> 2	
»	0,31	0,007	»	0,31	0,007	10	0	100	
+ Roma Sens.	0,23	0,012	OK	0,30	0,013	10	9,800	< 1	
»	0,22	0,012	»	0,27	0,010	10	8,070	< 1	
+ Tripoli	0,29	0,007	kdr; mel. dim	0,24	0,016	10	6,400	< 1	
»	0,23	0,006	»	0,24	0,011	10	2,170	> 5	
+ Londra	0,23	0,012	kdr; ocra	0,25	0,017	9	1,990	> 5	
»	0,19	0,010	»	0,20	0,008	10	2,170	> 5	
+ Roma Sens. I	0,30	0,010	kdr; clipped	0,25	0,007	10	9,300	< 1	
»	0,28	0,010	»	0,24	0,031	9	3,040	> 1	
MEDIE	0,266			0,268		18	0,020	> 50	

TABELLA 4.

Confronto fra maschi sensibili e maschi resistenti all'azione letale, ma sensibili all'azione abbattente del DDT.

(1) Sensibili			(2) kdr, kill-r			g. l.	t	P %	
ceppo	ChE	d. s.	ceppo	ChE	d. s.			(1)-(2)	(2)-(1)
+ Roma Sens. II	0,29	0,005	Roma; kdr+; kill-r	0,28	0,004	10	5,560	<1	
»	0,30	0,017	»	0,28	0,005	10	2,520	>2	
+ Londra	0,33	0,010	Ventotene; kdr + kill-r	0,31	0,005	10	2,490	>2	
»	0,38	0,008	»	0,32	0,013	10	10,250	<1	
+ Roma Sens. I	0,34	0,008	Terminillo kdr + kill-r	0,33	0,011	10	2,420	>2	
»	0,35	0,012	»	0,33	0,007	10	4,180	<1	
brown body	0,31	0,010	+ Sardinia	0,33	0,012	10	2,350	>2	
»	0,31	0,010	»	0,32	0,006	10	2,720	>2	
MEDIE	0,326			0,312		14	0,234	>50	

TABELLA 5.

Confronto fra femmine sensibili e femmine resistenti all'azione letale, ma sensibili all'azione abbattente del DDT.

(1) Sensibili			(2) kdr, kill-r			g. l.	t	P %	
ceppo	ChE	d. s.	ceppo	ChE	d. s.			(1)-(2)	(2)-(1)
+ Roma Sens. II	0,24	0,004	Roma; kdr+; kill-r	0,28	0,012	10	7,320	<1	
»	0,25	0,009	»	0,25	0,004	10	0,420	>50	
+ Londra	0,21	0,005	Ventotene; kdr + kill-r	0,28	0,008	10	16,300	<1	
»	0,31	0,008	»	0,29	0,004	10	6,750	<1	
+ Roma Sens. I	0,29	0,008	Terminillo kdr + kill-r	0,25	0,010	10	5,870	<1	
»	0,31	0,007	»	0,28	0,020	9	3,640	<1	
brown body	0,27	0,014	+ Sardinia	0,25	0,011	10	3,360	<1	
»	0,28	0,010	»	0,26	0,006	10	3,950	<1	
MEDIE	0,270			0,267		14	0,050	>50	

e *kdr*; *plx*. I valori riportati sono la media dei valori di 6 vaschette, con la relativa deviazione standard. Le differenze fra le medie totali non sono significative, come risulta da *t* di Student per 6 gradi di libertà.

TABELLA 6.

Confronto fra l'attività colinesterasica di un ceppo di mosche sensibili e un ceppo di mosche resistenti, durante i primi 5 giorni di vita.

Età in giorni	Maschi						Femmine					
	sensibili		resistenti		t	P	sensibili		resistenti		t	P
	ChE	d. s.	ChE	d. s.			ChE	d. s.	ChE	d. s.		
2	0,36	0,025	0,36	0,012			0,31	0,007	0,31	0,007		
3	0,34	0,007	0,36	0,010			0,34	0,011	0,32	0,005		
4	0,37	0,010	0,38	0,008			0,29	0,005	0,32	0,011		
5	0,35	0,012	0,37	0,010			0,29	0,004	0,31	0,010		
	0,355		0,367		1,50	<10%	0,308		0,315		1,43	<20%

3) Analisi della variabilità dell'attività colinesterasica all'interno di singoli ceppi.

Poichè negli esperimenti precedenti erano state notate [come è stato osservato anche da PRATT e BABERS (¹⁹)] notevoli oscillazioni dell'attività colinesterasica all'interno dei singoli ceppi, abbiamo voluto saggiare di che entità fossero queste oscillazioni e in che misura incidessero sulla variabilità totale. A questo scopo sono state confrontate fra loro le pro-genie (F_1) di sei coppie singole di uno stesso ceppo, allevate separatamente in condizioni il più possibile omogenee.

Dalle teste dei maschi di due giorni di età di ogni F_1 veniva fatto un omogenato, che veniva adoperato per 4 vaschette del Warburg. Questo esperimento si è potuto compiere soltanto sui ceppi *kdr*; *plx*, + *Tripoli* e + *Roma Sensibili II*. Con altri tre ceppi presi in esame non si è infatti riusciti a ottenere da ogni singola coppia un numero sufficiente di maschi F_1 .

Sui dati ottenuti è stata compiuta una analisi della varianza che è riportata nella tabella 7

TABELLA 7.

Variabilità dell'attività colinesterasica di mosche (σ) nate da sei coppie singole appartenenti a tre diversi ceppi. Analisi della varianza.

Origine della varianza	Gradi di libertà	Somma dei quadrati	Varianza	F	$F_{0,01}$	$F_{0,05}$
Ceppi	2	5566	2783	$2783 \ 1604 =$ $= 1,735$	6,36	3,68
Coppie di uno stesso ceppo	15	24058	1604	$1604/77 =$ $= 20,83$	2,43	1,88
Vaschette	54	4167	77			
Totale	71	33791				

Il rapporto: $\frac{\text{varianza fra i ceppi}}{\text{varianza fra le coppie di uno stesso ceppo}}$ risulta inferiore ai valori tabulari di F. Ciò significa che le differenze fra i ceppi non introducono una causa di variabilità maggiore di quella introdotta dalle coppie (che possiamo considerare come campionamenti casuali dello stesso ceppo).

Questo esperimento ci fa pensare che anche le differenze fra ceppi sensibili e ceppi resistenti che nelle tabelle precedenti appaiono come significative, potrebbero in realtà essere dovute a cause accidentali.

DISCUSSIONE

Dall'esame delle tabelle 2, 3, 4, e 5 risulta chiaro come in molti casi la determinazione della attività colinesterasica in un ceppo sensibile a confronto con un ceppo resistente metta in evidenza differenze che a una analisi statistica risultano nettamente significative. Se avessimo quindi preso in esame un solo ceppo di mosche sensibili e un solo ceppo di mosche resistenti, avremmo potuto supporre che la resistenza fosse in rapporto con una più o meno intensa attività della colinesterasi. Ma

eseguendo la prova su numerosi ceppi, si è notata una grande variabilità dell'attività colinesterasica fra ceppi diversi aventi uguali caratteristiche di tolleranza al DDT.

Tale variabilità tuttavia non era esclusivamente attribuibile a caratteristiche di ceppo, poichè le ripetizioni fatte a distanza di tempo con successive generazioni di mosche mostravano spesso forti oscillazioni dell'attività della colinesterasi. Si è quindi proceduto all'esperimento sulla progenie di coppie singole, ed esso ha dimostrato che, almeno per quel che riguarda i tre ceppi presi in esame, le oscillazioni all'interno dei singoli ceppi erano tali da annullare la significatività delle differenze fra un ceppo e l'altro.

Si è potuti quindi arrivare a una conclusione in merito a una questione che nel lavoro di PRATT e BABERS (¹⁹) veniva lasciata ancora aperta: che cioè l'attività colinesterasica della testa di mosca domestica non appare legata nè alla resistenza all'azione letale nè alla resistenza all'azione abbattente del DDT.

Da questo lavoro ci sembra quindi che si possano trarre alcune indicazioni di carattere generale riguardanti gli esperimenti di tipo fisiologico e biochimico di confronto fra mosche sensibili e mosche resistenti all'azione di un insetticida:

1) All'interno di un singolo ceppo la proprietà fisiologica presa in esame può oscillare con una ampiezza difficilmente prevedibile: prima di attribuire a un determinato ceppo una certa proprietà fisiologica, occorre quindi determinare quale sia la variabilità della proprietà stessa all'interno del ceppo.

2) Ceppi diversi di mosche, anche aventi uguali caratteristiche di tolleranza, possono d'altra parte differire profondamente fra loro per quel che riguarda una determinata proprietà fisiologica (anche se questo non sembra essere il nostro caso) fondare quindi un confronto sui risultati ottenuti da un solo ceppo di mosche sensibili e rispettivamente resistenti può indurre nell'errore di attribuire alla resistenza o meno differenze che si spiegano perfettamente con la normale variabilità fra i ceppi.

3) Tipi diversi di resistenza agli insetticidi possono inoltre esser legati a meccanismi fisiologici diversi, è utile quindi distinguerli, prendendo come campioni ceppi forniti soltanto di uno o di un altro tipo di resistenza.

Di queste considerazioni, per quanto ovvie possano sembrare, assai raramente si tien conto anche nei lavori più recenti in cui si confrontano fra loro proprietà fisiologiche o biochimiche di ceppi sensibili e di ceppi

resistenti, e a questo potrebbero anche esser dovute alcune contraddizioni che si incontrano nella letteratura sull'argomento. Le ricerche sulla degradazione del DDT a DDE e ad altri composti ancora sconosciuti, quelle sulla citocromoossidasi e quelle sulle ossidazioni in rapporto con l'azione del DDT si fondano spesso sul confronto fra mosche sensibili e mosche resistenti, tuttavia non sempre i dati sono raccolti in modo tale da poter escludere i dubbi che derivano dalle tre considerazioni suddette.

E' per me un gradito dovere ringraziare qui il prof. R. Milani, che mi ha sempre assistito in questo lavoro con suggerimenti e consigli, e mi ha fornito inoltre quasi tutto il materiale (materiale di particolare valore come si è detto perchè già studiato dal punto di vista genetico); la prof. F. Bovet Nitti per i preziosi consigli; la prof. L. La Face per avermi gentilmente fornito un ceppo di mosche. Ringrazio inoltre i tecnici E. e G. Pierdominici per il valido aiuto prestatomi.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di parassitologia.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) CORTEGGIANI E. et SERFATY A. - C. R. Soc. Biol., 131: 1124 (1939).
- (²) ROEDER K. D.; KENNEDY N. K. and SAMSON E. A. - J. Neurophysiol., 10: 1 (1947).
- (³) ROEDER K. D. - Bull. J. Hopkins Hosp., 83: 587 (1948).
- (⁴) METCALF R. L. and MARCH R. B. - J. Econ. Ent., 43: 670 (1950).
- (⁵) BABERS F. H. and PRATT J. J. Jr. - Physiol. Zool., 24: 127 (1951).
- (⁶) AUGUSTINSSON K. B. - Acta Physiol. Scand., 15: (suppl. 52), 1 (1948).
- (⁷) METCALF R. L. and MARCH R. B. - J. Econ. Ent., 42: 721 (1949).
- (⁸) CHADWICK L. E. and HILL D. L. - J. Neurophysiol., 10: 235 (1947).
- (⁹) LORD K. A. and POTTER C. - Nature (London), 166: 893 (1950).
- (¹⁰) HOPF H. S. - Ann. App. Biology, 41: 248 (1954).
- (¹¹) KEARNS C. and METCALF R. L. - Dept. of Entomology, Univ. of Illinois (Urbana) 1944.
- (¹²) RICHARDS A. G. and CUTCOMP L. K. - J. Cell. Comp. Physiol., 26: 57 (1945).
- (¹³) VINCENT D.; TRUHAUT R. et ABADIE A. - C. R. Soc. Biol., 142: 1500 (1948).
- (¹⁴) LÄUGER P.; PULVER R.; MONTIGEL C.; WIESMANN R. and WILD H. - Geigy Comp. Inc., 1946.
- (¹⁵) TRUHAUT R. et VINCENT D. - Ann. Pharmaceut. Franc., 5: 159 (1947).
- (¹⁶) TOBIAS J. M.; KOLLROS J. J. and SAVIT J. - J. Cell. Comp. Physiol., 28: 159 (1946).
- (¹⁷) LEWIS S. E. - Nature (London), 172: 1004 (1953).
- (¹⁸) BABERS F. H. and PRATT J. J. Jr. - Physiol. Zool., 23: 58 (1950).
- (¹⁹) PRATT J. J. Jr. and BABERS F. H. - J. Econ. Ent., 46: 700 (1953).
- (²⁰) BRUCE W. and DECKER G. - Soap Sanit. Chem., 26: 122 (1950).
- (²¹) HARRISON C. - Nature (London), 167: 855 (1951).
- (²²) HARRISON C. - J. Econ. Ent., 46: 528 (1953).
- (²³) AMMON P. - Arch. f. d. ges. Physiol., 233: 486 (1934).
- (²⁴) JOHNSTON C. D. - Arch. Biochem., 31: 375 (1951).

VOLUME XIX

PARTE II

RENDICONTI

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ



ROMA: FONDAZIONE EMANUELE PATERNÒ
VIALE REGINA ELENA, 299 - ANNO 1956

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

DIRETTORE GENERALE
DOMENICO MAROTTA

CAPI DEI LABORATORI E DEGLI UFFICI

BIBLIOTECA: BRUNO MANZONE - **BIOLOGIA:** ANTONIO GALAMINI - **CHIMICA:** DOMENICO MAROTTA - **CHIMICA BIOLOGICA:** E. B. CHAIN (Inc.) - **CHIMICA TERAPEUTICA:** DANIELE BOVET - **FISICA:** GIULIO CESARE TRABACCHI - **INGEGNERIA:** EUSEBIO VACINO - **MICROBIOLOGIA:** GIUSEPPE PENSO - **PARASSITOLOGIA:** EZIO MOSNA - **SEGRETERIA DIDATTICA-MUSEO:** MASSIMO PANTALEONI - **UFFICI AMMINISTRATIVI E DEL PERSONALE:** ITALO DOMENICUCCI

CENTRO INTERNAZIONALE DI CHIMICA MICROBIOLOGICA: E. B. CHAIN F.R.S.

COMITATO SCIENTIFICO:

DOMENICO MAROTTA - *Presidente*

GIUSEPPE AMANTEA - GIOVAN BATTISTA BONINO - GIUSEPPE CARONIA - GIULIO COTRONEI - PIERO DI MATTEI - BASILIO FOCACCIA - GAETANO MARTINO - ENRICO PERSICO - ADOLFO QUILICO - SILVIO RANZI

FOTOGRAFIE TAVOLE, DIAGRAMMI, DISEGNI
ESEGUITI DAI FOTOGRAFIE DISEGNATORI DELL'ISTITUTO
A. PICCIRILLI - A. PACELLI

DISEGNO NEL FRONTESPIZIO:
FOCO A ROTA DI CARBONI ACCESI (1464)

INDICE

13. P. E. ARGAN, N. D'ANGELO, A. GIGLI — Osservazioni sul funzionamento di una camera a diffusione.
— Observations sur le fonctionnement d'une chambre à diffusion.
— Remarks on the operation of a diffusion chamber.
— Beobachtungen über die Arbeitsweise einer Diffusionskammer . . . p. 117
14. A. POSARELLI — Il diplobacillo di Morax Axenfeld al microscopio elettronico.
— Le diplobacille de Morax Axenfeld au microscope électronique.
— Electron microscope observation of the Morax Axenfeld diplobacillus.
— Morax-Axenfeld'sche Diplokokken unter dem Elektronenmikroskop. > 151
15. B. BABUDIERI, A. D'AMORE e C. MOSCOVICI — Anticorpi per i virus del gruppo psittacosi-linfogranuloma venereo, nel siero di bovini italiani.
— Anticorps pour les virus du groupe psittacose-linphogranulome vénérien, dans le sérum des bovidés italiens.

(Continua in terza pagina di copertina)