

Resta ancora un quesito da risolvere in maniera sicura. Dal punto di vista chimico-agrario quali sono gli effetti dell'associazione della calciocianamide al letame? Vi sono da temere, nonostante il materiale arricchimento di sostanza azotata, alterazioni chimiche che in qualche modo siano dannose al potere fertilizzante del letame?

Il problema fu già posto nel 1937, e alla discussione presero parte, con diversi scritti, agronomi illustri, tecnici e studiosi. Ma nessuno di essi suffragò le proprie opinioni con una sperimentazione, cosicché la questione rimase completamente insoluta.

Noi ci proponiamo di associare all'opera nostra la collaborazione di colleghi chimici agrari, affinché sull'associazione calciocianamide-letame sia detta una parola definitiva.

Ed è chiaro che qualora sotto l'aspetto chimico-agrario non risulti alcun effetto dannoso da tale procedimento, anche il quesito economico risulterà automaticamente risolto. E cioè, alla domanda posta dall'agricoltore: « Quanto costa il nuovo metodo di lotta con aggiunta di calciocianamide al letame? » potremo rispondere che non costa quasi nulla, perchè la calciocianamide finirà sul terreno fertilizzandolo, e soltanto piccolissime frazioni della mano d'opera giornaliera saranno impiegate per lo spargimento della polvere e dell'acqua o delle urine sullo strato di letame.

Misurata col vantaggio che la lotta potrà dare, questa passività è insignificante.

Al nostro programma di lavoro siamo certi non verrà meno lo aiuto del Ministero dell'Agricoltura con la generosa comprensione di cui ci fu largo per tante importanti sperimentazioni, questa compresa.

Ulteriore sperimentazione sugli effetti dell'etiluretano sulla mosca domestica adulta

Gli esperimenti per via erutata con soluzioni a vario titolo di etiluretano iniettato in adulti di mosca domestica, di cui si riferisce in una nota precedente (1) presentavano parecchi punti oscuri, che in seguito ad un esame critico ci sembravano essere dovuti innanzi tutto ai mezzi usati nella sperimentazione che non permettevano un rigoroso controllo delle quantità di soluzione iniettate.

Inoltre la resistenza delle mosche alla narcosi da etiluretano, quando introdotto nella cavità ematoceleica (ammettendo che l'azione narcotica dell'etiluretano, così evidente quando le mosche sono trattate coi vapori, potesse esplicarsi su alcuni centri nervosi), poteva essere attribuita ad una impermeabilità all'uretano delle guaine avvolgenti il sistema nervoso, o ad una impermeabilità superficiale delle stesse cellule nervose, o ad una rapida trasformazione chimica dell'etiluretano per azione dell'emolinfa. Pensammo quindi che una certa luce potesse venire all'interpretazione dei risultati sperimentali ottenuti, usando una microsiringa rigorosamente graduata e introducendo mediante tale strumento una dose ben determinata di etiluretano in corrispondenza alle due masse nervose della mosca adulta: il cervello e la massa gangliare toraco-addominale, e per confronto anche nell'addome privo di gangli.

Prove parallele di controllo sono state fatte introducendo i soli solventi (liquido di Levy e acqua distillata), oppure sottoponendo le mosche ad una puntura a secco con l'ago della microsiringa per poter tener conto degli eventuali effetti lesivi dell'ago in corrispondenza ai centri nervosi o ad altri tessuti.

(1) GRANDORI L., REALI C., FACETTI D. - *Effetti narcotici dell'etiluretano sulla mosca domestica adulta*. - Questo Boll., Vol. XVIII, fasc. I, Milano, 1952.

Mezzi usati e modalità seguite

La microsiringa usata è la « micrometer syringe AGLA » della Burroughs Wellcome & Co., London, a dose minima di cc. 0,0002.

Complessivamente furono sperimentati 800 individui con varie modalità, e i risultati sono stati sufficientemente omogenei. Le differenze, non molto accentuate, sono state evitate negli esperimenti finali osservando quanto segue:

I° Uso di gruppi omogenei di mosche di comprovata vitalità;

II° Esecuzione delle iniezioni fatta in modo che l'introduzione dell'ago della siringa nel luogo prescelto produca una lesione non molto estesa, il che si ottiene operando in due persone, una delle quali tiene ferma la mosca durante l'introduzione dell'ago e durante l'iniezione che è eseguita dalla seconda persona che sposta il nonio. Il liquido così iniettato veniva trattenuto interamente dalla mosca.

Solventi e titolo delle soluzioni

Solventi: a) Liquido fisiologico di Levy: NaCl (9‰), KCl (0,7‰), CaCl₂ (0,46‰) in acqua distillata;

b) acqua distillata.

Titolo: il titolo delle soluzioni di etiluretano in ciascuno dei due solventi è stato dell'1%, del 5% e del 10% nelle prove fatte iniettando la soluzione di uretano in Levy nell'ematocele toracico pleurale. La quantità di liquido iniettata per ogni prova è stata di cc. 0,0004, quindi con quantità assolute di etiluretano di γ 4, γ 20, γ 40. Le soluzioni sono state fatte volta per volta per l'uso immediato.

Luogo delle iniezioni e modalità

I° Le iniezioni nel cervello furono fatte sotto la zona ocellare (frontale-apicale) fino a completa penetrazione della bocca dell'ago, penetrazione che garantisce la diffusione della soluzione nella massa nervosa, la quale, pur essendo avvolta da un cospicuo rivestimento di tessuto adiposo e da sacchi aerei, rappresenta pur sempre la parte più voluminosa dei tessuti presenti nella testa della mosca;

II° Le iniezioni nel torace furono fatte con l'intento di raggiungere l'unica massa gangliare toraco-addominale, e furono eseguite penetrando ventralmente con l'ago fra le inserzioni delle anche fino a superare la cuticola esterna;

III° Le iniezioni nell'addome furono eseguite penetrando in esso lateralmente e tangenzialmente in direzione sottocuticolare dalla estremità caudale verso quella cefalica;

IV° Le punture nell'ematocele furono eseguite penetrando con l'ago in corrispondenza al collo, lateralmente e tangenzialmente sotto la cuticola del torace.

Risultato degli esperimenti

(Vedi tabella annessa)

Per ogni prova furono fatte 4 osservazioni consecutive: una subito dopo l'introduzione della soluzione, e le altre entro 6, 24 e 48 ore.

Il numero degli individui per ognuna delle prove eseguite seguendo le norme suindicate è stato di 20.

Nella tabella annessa sono riportati i risultati dopo le prime 24 ore dell'esperimento. Si è stabilito questo limite di tempo avendo di mira soprattutto lo scopo principale delle presenti ricerche: quello cioè di constatare un eventuale effetto narcotico dell'etiluretano introdotto per via cruenta nelle mosche.

E' ovvio che se l'effetto narcotico non si manifesta entro 24 ore, può avvenire che i cambiamenti che questa sostanza può subire nell'interno del corpo delle mosche sia di tale natura da renderlo inefficace; oppure che esso esplichino un effetto tossico a lenta azione, ma non narcotico.

TESTA — *Esperimenti con 1% di uretano in liquido di Levy.*
— Subito dopo l'iniezione, la maggior parte degli individui mantiene la vivacità ante-esperimento e continua per 48 ore ed oltre la propria vita normale. Paragonando questi risultati con quelli dati dal controllo in cui è stato iniettato il solo liquido di Levy, senza uretano, se ne dovrebbe concludere che gli individui trattati con uretano sono più vivaci e vitali rispetto a quelli trattati col solo solvente.

lari e la mortalità risulta un po' più elevata di quella ottenuta con soluzioni in liquido di Levy. Pur tuttavia, confrontati con i controlli, neppure questi esperimenti infirmano la conclusione già tratta che l'uretano per via cruenta non esercita azione narcotica e neppure azione rapida tossica. Infatti, confrontando i risultati di questi esperimenti con quelli ottenuti con iniezioni di semplice acqua distillata, si nota una percentuale maggiore di sopravvissuti dopo 24 ore negli individui trattati con uretano iniettato nei centri nervosi. Questi risultati concordano con quelli ottenuti con la soluzione di uretano in Levy.

TORACE — (ganglio toraco-addominale). *Esperimenti con 1% di uretano in liquido di Levy.* — Mentre il numero degli individui che sopravvivono al trattamento è notevolmente maggiore di quello del controllo con il liquido di Levy senza uretano, tale maggiore sopravvivenza però è accompagnata da un forte numero di individui che dopo 24 ore si mantengono in uno stato di torpore. Anche in questo caso la sola puntura può essere responsabile del 30% delle morti, e l'azione dell'uretano deve quindi considerarsi reversibile, e in ogni modo non si manifesta mai con l'immobilità narcotica che si manifesta coi trattamenti con vapori di uretano.

Risultati molto simili si sono ottenuti con la soluzione di etiluretano in H₂O distillata. In generale si può concludere:

- a) che si ha un maggior numero di sopravvissuti con la soluzione di etiluretano, tanto in H₂O distillata che in liquido di Levy, rispetto ai controlli in acqua distillata sola o in liquido di Levy solo;
- b) che con la sola acqua distillata o col solo liquido di Levy non si sono notati individui torpidi entro 24 ore dal trattamento.

E' evidente che per trarre conclusioni da questi dati è necessario estendere le prove su un maggior numero di individui.

ADDOME. — Teniamo presente che nell'addome non esistono centri separati della catena gangliare ventrale, che nella mosca è tutta concentrata nell'unica massa gangliare toraco-addominale.

Iniettando cc. 0,0004 di soluzione nell'addome è escluso quindi che esso venga direttamente introdotto nei centri nervosi della vita di relazione (non prendendo in considerazione eventuali azioni dell'uretano su centri simpatici) ma non è escluso che esso si diffonda in tutto il corpo per mezzo dell'emolinfa.



I risultati delle iniezioni nell'addome sono quanto mai uniformi, per quel che riguarda la sopravvivenza degli individui, aggirandosi in tutte le prove la percentuale dei sopravvissuti, controlli compresi, intorno al 50 %. E' evidente che le lesioni prodotte dall'ago negli organi delicati della regione addominale delle mosche portano rapidamente alla morte il 50 % degli individui. In generale infatti gli effetti dell'iniezione e della semplice puntura, pur non essendo immediati, comportandosi la maggior parte degli individui normalmente per qualche ora, portano però al loro abbattimento e a rapida morte.

EMATOCELE (puntura pleurale-toracica). — Questi esperimenti sono stati eseguiti per controllare le eventuali differenze che essi davano in confronto ai risultati degli esperimenti di cui si riferisce nella precedente nota, nei quali non si è usata la microsiringa di precisione « AGLA ».

L'introduzione in questa nuova serie di esperimenti di piccole quantità di liquido di Levy a forte concentrazione di uretano (5% e 10%), ha dimostrato una più forte tollerabilità delle mosche alle quantità assolute di uretano (γ 20 e γ 40 per individuo, pari a gr. 1 e 2 pro Kg. di peso corporeo) in confronto ai risultati precedenti.

Come per gli esperimenti fatti iniettando le soluzioni di uretano nelle masse nervose, si nota una differenza fra la soluzione al 5% e quella al 10%, con la quale ultima una buona percentuale di mosche, dopo un periodo di torpore, muore entro 24 ore.

Comparando i risultati di questi esperimenti con quelli fatti iniettando nelle masse nervose centrali le soluzioni di uretano, si giunge alla conclusione che gli effetti prodotti dall'uretano, entri esso nell'ematocele o direttamente nell'interno delle masse nervose, è sempre passeggero, ma la maggior parte si riprende completamente entro 24 e qualche volta entro 48 ore. Ma non mancano individui che subito dopo l'iniezione o a poca distanza da essa, qualunque sia la concentrazione dell'etiluretano, si comportano normalmente.

Discussione dei risultati

La maggior parte dei risultati che abbiamo potuto osservare negli esperimenti di cui riferiamo in questa nota, ci conducono a rivedere alcune delle considerazioni fatte nella nostra nota precedente, nella quale riferivamo che con l'introduzione di una soluzione

di uretano all'1 % nel corpo delle mosche, in ragione di 1 gr. circa per ogni Kg. di peso corporeo, si manifestavano tre fasi d'azione, delle quali soltanto la terza poteva essere considerata come una fase ad azione narcotica. Tuttavia l'immobilità da narcosi che abbiamo sempre ottenuto nelle mosche con i vapori di uretano, si presentava con aspetti ben netti, e i sintomi apparivano fra 20 e 120 minuti. Invece dopo 24 ore dal trattamento il torpore presentato soltanto da alcuni degli individui trattati per via cruenta non può essere confuso con un vero stato di narcosi, tanto più che una buona percentuale degli individui riprendevano dopo 24 ore movimenti spontanei normali.

Ammesso quindi come dimostrato dai nostri esperimenti che l'uretano in soluzione non agisce sulle mosche adulte come narcotico irreversibile inteso nel senso di determinare in breve tempo (al massimo 2 ore) uno stato di completa immobilità dalla quale le mosche passano alla morte, come avviene con gli individui trattati con i vapori, resta pur sempre da dimostrare se per via cruenta esso — pur non esercitando alcuna azione narcotica — possa esercitare una azione tossica ben distinta dalla narcotica.

E ammesso che i vapori narcotizzanti di uretano penetrino attraverso gli stigmi, rimane ancora da stabilire se tale via di penetrazione sia unica o se i vapori abbiano la possibilità di entrare anche attraverso la cuticola e l'ipoderma.

Ma appare probabile che la più importante via d'entrata dei vapori sia quella delle vie respiratorie, e resta ferma la conclusione che soltanto per mezzo di vapori l'etiluretano raggiunge i centri nervosi sui quali agisce come narcotico, il che sarebbe reso possibile dalla sua penetrazione all'interno delle cellule nervose per mezzo del sistema delle trachee e delle tracheole.

CONCLUSIONE

Si conclude che l'etiluretano introdotto per via cruenta nel corpo delle mosche, sia nell'ematocele sia direttamente nelle masse nervose centrali (cerebro e massa toraco-addominale), non esplica l'azione narcotica irreversibile che si manifesta in breve tempo nel 100 % degli individui quando l'etiluretano è somministrato alle mosche allo stato di vapore.

RÉSUMÉ

Les AA. ont injecté moyennant micro-syringe AGLA dans le cerveau, dans la masse ganglionnaire thorax-abdominale, dans l'abdomen et dans le thorax-hématocèle de mouches domestiques adultes, des solutions en liquide de Levy ou en eau distillée de éthylurétane à 1,5,10% en quantités de cm³. 0,0004 pour chaque individu, qui égalent gr. 0,2, gr. 1, gr. 2 d'urétane par kg. de poids du corps.

L'urétane ainsi introduit n'a produit que dans quelques individus un état de torpeur, mais jamais état de narcose; état que la plupart des individus surmontent. Les AA. en déduisent que seulement les vapeurs d'urétane pénétrant à travers le système respiratoire sont capables de produire une narcose irréversible, comme les AA. ont démontré déjà dans une publication précédente.

SUMMARY

AA. have injected by means of micro-syringe «AGLA» into the brain, into the ganglion thorax-abdominal mass, into the abdomen and into the thorax haematoceli of adult house-flies, solutions in Levy liquid or in distilled water of ethylurethane at 1,5,10% in a quantity of 0,0004 c.c. for each individual, equal to 0,2 grms, 1 gram, and 2 grms of urethane for kg. of body weight.

Uretane thus injected has produced only in certain individuals a torpor condition, but never of narcosis, which is overcome by the majority of individuals. Therefore AA. assume that only urethane vapours penetrating through the breathing system can cause irreversible narcosis, as AA. have already proved in a previous publication.

Studio sugli enociti di *Musca domestica* L. adulta

Scarse e frammentarie sono le osservazioni compiute dai diversi AA. sugli enociti di insetti adulti, mentre si hanno osservazioni e studi più numerosi ed organici riguardanti gli enociti delle forme larvali e ninfali.

Durante lo studio del cervello della Mosca domestica siamo rimasti colpiti dal complesso trofo-enocitario che circonda completamente il cervello come un involucro, separato dalla superficie cerebrale soltanto dalla sottile membrana del perilemma.

Poichè gli AA. che si sono precedentemente occupati degli enociti di insetti adulti — per quanto ci consta — hanno trovato e descritto enociti soltanto nell'addome, e PEREZ nega la presenza di enociti nel capo di Muscidi, abbiamo creduto opportuno iniziare uno studio sugli enociti di tutto il corpo della Mosca domestica adulta, e di questo studio riferiamo i primi risultati più importanti nella presente nota.

Tecnica microscopica usata. — Come fissativi si sono usati i liquidi di Regaud e di Carnoy seguiti da colorazioni con ematossilina Carazzi e Orange G o da colorazioni con soluzione Pappenheim-Unna (verde di metile-pironina).

Dopo che il fissativo aveva sicuramente determinato la morte dell'insetto, questo veniva suddiviso in testa, torace e addome e le tre parti venivano separatamente incluse in paraffina e colorate.

Corpo adiposo del capo di Mosca adulta. — Gli stretti rapporti fra corpo adiposo ed enociti del capo di Mosca domestica adulta rendono opportuna una breve descrizione degli elementi adiposi che fasciano il cervello della Mosca in rapporto non solo al tessuto nervoso, ma anche ai sacchi aerei, compresi fra l'involucro adiposo e la parete esterna del capo.