

440

ΑΒΕΠ 00110

25

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ

Διευθυντής: ο Καθηγητής ΚΩΣΤΑΣ Β. ΚΡΙΜΠΑΣ



**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΡΙΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ
ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΙΑΣ
ΣΧΕΣΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΣΤΕΡΑΣΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΟΣ ΤΩΝ ΦΕΡΟΝΤΩΝ ΤΟΥΤΟΥΣ
ΑΚΜΑΙΩΝ ΔΑΚΟΥ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥΣ
ΕΣΤΕΡΑΣ**

ΥΠΟ
ΞΠΥΡΙΔΩΝΟΣ ΧΡ. ΤΣΑΚΑ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑΣ
Υποβληθείσα εις την Ανωτάτην
Γεωπονικήν Σχολήν Αθηνών

ΑΘΗΝΑΙ
1968

Βουλευτήριο Βαλκανίων
Ερωτών.

ΣΥΛΛΟΓΗ



ΕΠΙΣΤΟΛΗ
ΑΠΟ ΤΟΝ
ΚΑΤΑΛΟΓΟΝ

Ἡμερομηνία ἐγκρίσεως διατριβῆς
ὑπὸ τῆς Συνελεύσεως τῶν Καθηγητῶν
τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν :
31 - 10 - 68

Ἄφιεροῦται
εἰς μνήμην
τῆς ἀδελφῆς μου

ΕΛΠ. ΤΣΑΚΑ

Ἄ φ ι ε ρ ο ὦ τ α ι
εἰς μνήμην
ΕΛ. ΔΡΑΚΟΥ
καί ὑπέρ τῶν πεσόντων
δι'ἀπελευθέρωσιν ἰδιαιτέρας
πατρίδος
Β Ο Ρ Ε Ι Ο Υ Η Π Ε Ι Ρ Ο Υ

ΕΚ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΑΝΩΤΑΤΗΣ
ΓΕΩΠΟΝΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΑΘΗΝΩΝ
Διευθυντής : ο Καθηγητής ΚΩΣΤΑΣ Β. ΚΡΙΜΠΑΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΡΙΩΝ ΕΝΖΥΜΙΚΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ
ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΑΙΑΣ
ΣΧΕΣΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΣΤΕΡΑΣΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ
ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΟΣ ΤΩΝ ΦΕΡΟΝΤΩΝ ΤΟΥΤΟΥΣ
ΑΚΜΑΙΩΝ ΔΑΚΟΥ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥΣ
ΕΣΤΕΡΑΣ

ΥΠΟ
ΣΠΥΡΙΔΩΝΟΣ ΧΡ. ΤΣΑΚΑ

ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΠΙ ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΑ,
Υποβληθείσα εις την Άνωτάτην
Γεωπονικήν Σχολήν Αθηνών

ΑΘΗΝΑΙ
1968

ΠΟΛΥΓΡΑΦΗΜΕΝΑΙ ΕΚΔΟΣΕΙΣ
ΣΤΕΦΑΝΟΥ Π. ΚΕΦΑΛΛΟΝΙΤΗ
ΣΟΛΩΜΟΥ 5α-Τηλ. 628-145

Π Ε Ρ Ι Ε Χ Ο Μ Ε Ν Α

A. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....σελ.	9
B. ΎΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΑΙ	
I. Ύ λ ι κ ό ν..... "	12
II. Τ ε χ ν ι κ α ί..... "	12
1. Τεχνική διά τήν ἀνίχνευσιν τῶν ἀλκα- λιῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀκμαίου..... "	12
2. Τεχνική διά τήν ἀνίχνευσιν τῶν ἐστε- ρασῶν προνύμφης καί νύμφης..... "	15
3. Τεχνική διά τήν ἀνίχνευσιν τῶν ἐστε- ρασῶν τοῦ ἀκμαίου..... "	18
Γ. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΕΝΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ	
I. Κ λ η ρ ο ν ο μ ι κ ὄ τ η ς ἀ λ κ α λ ι - κ ῶ ν φ ω σ φ α τ α σ ῶ ν..... "	19
1. Ἀριθμός τῶν γόνων..... "	19
2. Σχηματισμός ὑβριδίου ἐνζύμου εἰς τόν γόνον D..... "	22
3. Οἱ γόννοι εἶναι αὐτοσωματικοί..... "	23
II. Κ λ η ρ ο ν ο μ ι κ ὄ τ η ς ἐ σ τ ε ρ α - σ ῶ ν π ρ ο ν ὕ μ φ η ς κ α ἰ ν ὕ μ - φ η ς..... "	26
1. Ἀριθμός τῶν γόνων..... "	26
2. Πολυμορφισμός τοῦ γόνου..... "	27
3. Ὁ γόννος εἶναι αὐτοσωματικός..... "	27
4. Χαρακτηρισμός..... "	28
Δ. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΓΟΝΩΝ ΕΣΤΕΡΑΣΩΝ ΤΟΥ ΑΚΜΑΙΟΥ ΔΙΑ ΔΕΥΤΕΡΟΝ ΚΑΤΑ ΣΕΙΡΑΝ ΕΤΟΣ ΤΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΑΡΙΩΝ ΑΠΟΣΤΟΛΩΝ	
1. Ὑλιόν καί μέθοδος..... "	30
2. Εὔρεσις νέων ἀλληλομόρφων..... "	31
3. Συχνότητες ἀλληλομόρφων..... "	32
4. Δοκιμασία παμμειξίας διά τούς γόνους Α καί Β..... "	32

5. Ίσορροπία συνδέσεως μεταξύ τῶν γόνων A καί B.....	σελ. 34
6. Ἐλεγχος ὁμοιογενείας γονοτύπων τῶν δύο δειγματοληψιῶν.....	" 35
7. Ὁ πληθυσμός εὐρίσκεται ἐν ἰσορροπία...	" 38
Ε. ΣΧΕΣΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΣΤΕΡΑΣΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΟΣ ΤΩΝ ΦΕΡΟΝΤΩΝ ΤΟΥΤΟΥΣ ΑΚΜΑΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΕΙΣ ΤΟΥΣ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥΣ Ε- ΣΤΕΡΑΣ	
1. Ὑλιόν.....	" 44
2. Μέθοδος καί τρόπος ἐπιδράσεως.....	" 44
3. Προκαταρτινά πειράματα.....	" 46
4. Κύρια πειράματα.....	" 54
ΣΤ. ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	" 80
Ζ. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	" 84
Η. SUMMARY.....	" 86
Θ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	" 87

Π Ρ Ο Λ Ο Γ Ο Σ

Ἡ ἀνά χειρὰς ἐρευνητικὴ ἐργασία διεξήχθη ἐξ ὀλοκλήρου εἰς τὸ Ἐργαστήριον Γενετικῆς τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν καὶ ὑπεβλήθη διὰ τὴν λῆψιν διδακτορικοῦ διπλώματος εἰς τὴν Γραμματεῖαν τῆς Α.Γ.Σ.Α. τὴν 29-6-1968.

Ἀπὸ τῆς θέσεως ταύτης εὐχαριστῶ ἐκφράζονται πρὸς τὴν Διεύθυνσιν Φυτοπαθολογίας τοῦ Ἑπουργείου Γεωργίας, ἣτις ὑπεστήριξεν οἰκονομικῶς τὰς πειραματικὰς ἐργασίας τοῦ Ἐργαστηρίου Γενετικῆς, τμῆμα καὶ συνέχεια τῶν ὀπείων ἀποτελεῖ καὶ ἡ παροῦσα διατριβή, ἐντὸς τοῦ γενικοῦ πλαισίου τῆς Γενετικῆς τοῦ δάκτου τῆς ἐλαίας.

Πρὸς τὸν Καθηγητὴν μου κ. Κ.Β. Κριμπᾶ, Διευθυντὴν τοῦ Ἐργαστηρίου Γενετικῆς τῆς Α.Γ.Σ.Α., ἐκφράζω βαθύτατης εὐχαριστίας, ἀποτελούσας μιμνήσκοντα δεῖγμα βαθύτατης ἐγνώσεως καὶ σεβασμοῦ διὰ τὰς ὑποδείξεις καὶ παρατηρήσεις του, τόσον εἰς τὸ πειραματικὸν μέρος, ὅσον καὶ εἰς τὴν παρουσίαν τῆς ὅλης ἐργασίας.

Τὸν σεβαστὸν μου Καθηγητὴν κ. Κ.Α. Νιαβῆ θερμῶς εὐχαριστῶ, διὰ τὰς ὑποδείξεις καὶ παρατηρήσεις του.

Τὸν Καθηγητὴν τοῦ Πανεπιστημίου Πατρῶν κ. Κ. Χριστοδούλου, τὸν Δρ. Ε. Ζοῦρον, τὴν Δρ. Χρ. Ζιούδρου, τὸν Δρ. Π. Καραντζᾶ καὶ τὸν Δρ. Α. Σαντᾶ, οἱ ὅποιοι διαφοροτρόπως ἐβοήθησαν εἰς τὴν παροῦσαν ἐρευνητικὴν ἐργασίαν, θερμῶς εὐχαριστῶ.

Τὸν συνάδελφον Γ. Μανίαν, τοὺς φοιτητὰς Γ. Λυγίζον καὶ Α. Καλογερόπουλον, τὸν κ. Β. Ἀλεβίζον, τὴν δίδα Γ. Κόλλια, τὴν δίδα Ε. Πατρούλη, τὴν κ. Ε. Ζούρου καὶ τὴν κ. Μ. Ἀγγελοπούλου, θερμῶς εὐχαριστῶ.

Ἀθῆναι
Νοέμβριος 1968

Α. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι γνωστά αί ζημιάι αί όποϊαι προκαλοϋνται κατ' έτος υπό τοϋ δάκου τής έλαίας [*Dacus oleae* (GMEL)] είς τήν έλαιοιομικήν παραγωγήν τής χώρας μας ώς καί τάς χώρας τής παραμεσογείου περιοχής. Αί ζημιάι αύται διά τήν Έλλάδα κατά τό έτος 1964 έξετιμήθησαν είς τό ύφος τών 1.200 έκατομμυρίων δρχ. Είδιαιώτερον διά τήν Έλλάδα, διά τήν όποϊαν ή έλαιοιομική παραγωγή της, καλύπτουσα πλήρως τήν έσωτερικήν κατανάλωσιν, άποβαίνει συγχρόνως είς έν τών βασιικωτέρων κλάδων τοϋ έξαγωγικου της έμπορίου, τό πρόβλημα τής καταπολεμήσεως τοϋ δάκου καθίσταται όξύτερον καί έπιτακτικώτερον.

Διάφοροι μέθοδοι έχρησιμοποϊήθησαν διά τήν καταπολέμησιν τοϋ δάκου τής έλαίας είς τήν χώραν μας. Κατά τά τελευταία 15 έτη είσήχθησαν καί έτυχον εύρείας έφαρμογής είς τήν γεωργικήν πράξιν οί όργανοφωσφορικοί έστέρες, μεταξύ τών όποϊων είς μεγάλον βαθμόν ό Dimethoate (Rogor). Η χρησιμοποϊήσιν τών όργανοφωσφορικών έστέρων κατά τοϋ δάκου τής έλαίας φαίνεται ότι θά άποτελέση τήν μέθοδον καταπολεμήσεως καί είς τό άμεσον μέλλον.

Είναι πολύ πιθανόν ότι καί αν άιόμη ή μέθοδος έξαλείψεως τοϋ έντόμου διά διασκορπισμοϋ στείρων άρρένων τύχη έφαρμογής, θά άπαιτηθῆ μείωσις τοϋ μεγέθους τών πληθυσμών πρό τής έξσπολύσεως τών στερωθέντων άρρένων. Ο πρόσφορώτερος τρόπος διά τήν μείωσιν αύτήν είναι ή χρῆσις όργανοφωσφορικών έστέρων. Η συνεχής όμως χρησιμοποϊήσιν τοιοϋτων έστέρων είς τούς πληθυσμούς τοϋ δάκου πιθανώς νά δημιουργήση άνθεκτικώ άτομα εναντι τών έστέρων τούτων, γεγονός τό όποϊον θά καθίστα όλιγώτερον άποτελεσματικῆν τήν χρησιμοποϊήσιν των εναντι τοϋ δάκου.

Γενικώς δυνάμεθα νά διακρίνωμεν τρεΐς κατηγορίας έγζυμικής άντοχής εναντι τών όργανοφωσφορικών έστέρων.

Είς τήν πρώτην κατηγορίαν περιλαμβάνεται άντοχή ή όποια αναφέρεται είς τό ποσόν ή τήν δραστηιότητα τών άκετυλχολινεστερασών ως αναφέρουν οί G.Voss καί F. Matsuura (1964) είς τό άκκιρι *T. Urticae*. Η ύπαρξις τοιαύτης άντοχής στήρίζει τήν ύπόθεσιν τής χολινεστεράσης, κατά τήν όποϊαν οί όργανοφωσφορικοί έστέρες δροϋν διά παρεμποδίσεως τών χολινεστερασών.

Είς τήν δευτέραν κατηγορίαν υπάγονται ένζυμα προκαλοῦντα οὐχί σημαντιᾶς μεταβολᾶς εἰς τό μόριον τοῦ ὀργανοφωσφορικῶ ἑστέρος, ἀποτέλεσμα δέ τῶν μεταβολῶν αὐτῶν εἶναι ἡ πτῶσις τῆς δραστηιότητος τοῦ ἑστέρος. Τοιαῦται περιπτώσεις δέν ἔχουν ἀκόμη ἀνευρεθῆ εἰς τά ἔντομα, ἀναφέρονται ὅμως ὑπό τοῦ R.D.O'Brien (1960) εἰς τινα θηλαστικά.

Εἰς τήν τρίτην κατηγορίαν υπάγονται ένζυμα προκαλοῦντα διάσπασιν τοῦ μορίου τοῦ ὀργανοφωσφορικῶ ἑστέρος εἰς ἀδρανῆ προϊόντα, ὡς παρετηρήθη εἰς τήν οἰκιακὴν μυτιαν ὑπό τῶν F.J. Oppenorth καί K. Van Asperen (1961). Διά τῶν ένζύμων τῆς τρίτης ταύτης κατηγορίας ἀποκτιᾶται καί ἡ μεγαλυτέρα ἀντοχή. Τό πλεῖστον τῶν ένζύμων τῆς τρίτης κατηγορίας ἀνήκει εἰς τάς φωσφατάσας.

Ὅθεν γενετικοί μηχανισμοί προκαλοῦντες εἰς ἔντομα γενικῶς καί ἐν προκειμένῳ εἰς τόν δάκιον δημιουργίαν ἢ καί αὔξησιν τοῦ ποσοῦ τοιούτων ένζύμων, θά προκαλοῦν καί αὔξησιν τῆς ἀνθετικότητος τοῦ έντόμου ἔναντι τῶν ὀργανοφωσφορικῶ ἑστέρων. Ἡ δημιουργία τοιούτων ένζύμων κυρίως ὀφείλεται εἰς τήν μεταλλαγῆν, ἡ δέ αὔξεις τοῦ ποσοῦ κυρίως εἰς μεταλλαγᾶς καί διπλοποιήσεις.

Τά ἀνωτέρω ἔχουν μελετηθῆ εἰς τήν περίπτωσιν τῶν έντόμων διά τῆς δημιουργίας ἀνθετικῶν στελεχῶν. Οὔτω εὑρέθησαν γόννοι ἐλέγχοντες τήν σύνθεσιν τῶν ένζύμων, εἰς τά ὁποῖα ὀφείλεται ἡ ἀνθετικότης, ἐγένοντο δέ καί χαρτογραφήσεις τοιούτων γόννων, ὡς ἀναφέρεται ὑπό τῶν W. Wright καί R. Pal (1967). Ἡ δημιουργία ὅμως τοιούτων ἀνθετικῶν στελεχῶν διά τόν δάκιον ὑπό τάς παρούσας συνθήκας ἐκτροφῆς καθίσταται ἐξαιρετικῶς δυσχερῆς ἂν μή ἀνέπι-
ντος.

Διά τούς ἀνωτέρω λόγους ἡ παρούσα διατριβή ἐκτείνεται εἰς πληθυσμιακὴν κλίμακα. Ἀποτελεῖ συνέχεια τῶν ἐργασιῶν τοῦ Ἐργαστηρίου Γενετικῆς τῆς Ἀνωτάτης Γεωπονικῆς Σχολῆς Ἀθηνῶν ἐπὶ τῆς γενετικῆς τοῦ δάκου τῆς ἐλαίας.

Οὔτω βάσει τῶν ἀνωτέρω ἐμελετήθησαν καί περιλαμβάνονται εἰς τήν ἀνά χειρᾶς διατριβῆν, τά ἀκόλουθα ἀντικείμενα:

α) Αἱ ἀλκαλικαί φωσφατάσαι τοῦ ἀιμαίου. Ἀνευρέθησαν δύο πολυμορφικά γενετικά συστήματα ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν (γόννοι D καί E).

β) Αί έστεράσαι τών σταδίων τής νύμφης καί προνύμφης. Άνευρέθη έν νέον πολυμορφικόν γενετικόν σύστημα έστερασών (γόνος C).

γ) Αί συχνότητες τών δύο ήδη μελετηθέντων γόνων Α καί Β (οί όποιοι έλέγχουν τήν σύνθεσιν τών έστερασών τοϋ άκμαίου τοϋ δάκου) είς τόν φυσικόν πληθυσμόν τών Άγίων Άποστόλων Άττινής διά δεϋτερον κατά σειράς έτος, οϋτως ώστε νά πιστοποιηθῆ κατά πόσον οί πολυμορφισμοί τών ώς άνω γόνων εύρίσκόνται έν σταθερά ίσορροπία.

δ) Ή τυχόν ύπάρχουσα σχέσις μεταξύ τών έστερασικών φαινοτύπων τοϋ άκμαίου τοϋ δάκου καί τής σχετικῆς άνθεκτικότητας τών φερόντων αύτούς έντόμων είς τούς όργανοφωσφορικούς έστερας.

B. ΥΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΑΙ

I. Υ λ ι κ ὶ ν

Τό χρησιμοποιηθέν ύλικόν προήρχετο ἐκ πληθυσμῶν τῶν νομῶν Φθιώτιδος, Μεσσηνίας, Χανίων καί Ἀττικῆς.

Τά ἀκμαῖα ἄτομα ἐξετρέφοντο κατά τήν περιγραφεῖσαν μέθοδον ὑπό τοῦ Μ.Ε.Τζανακιάκη (1967).

Τά προοριζόμενα ζεύγη διά τήν μελέτην τῆς κληρονομικότητος τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν καί τῶν ἐστερασῶν, ἐτοποθετοῦντο κενωρισμένως ἐντός μικρῶν κλωβῶν. Ἡ ἐναπόθεσις τῶν ὠν ἐλάμβανε χώραν ἐντός πρασίνου ὑγιοῦς ἐλαιοκάρπου προερχομένου ἐκ τῆς περιοχῆς Στυλίδος (ποιικιλία Κονσερβολῆ), μή εχοντος ὑποστῆ ψευκασμόν δι' ἐντομοκτόνου. Ὁ ἐλαιόκαρπος οὗτος διετηρεῖτο ἐντός σάκκων ἐκ πολυαιθυλενίου ἀεροστεγῶς εἰς θερμοκρασίαν κυμαινομένην μεταξύ 0-4°C.

Αἱ ἐκ τοῦ ἐλαιοκάρπου λαμβανόμεναι προνύμφαι τοῦ τελευταίου σταδίου ἐφυλάσσοντο ἐντός τριβλίων, ἐντός τῶν ὁποίων ἐλάμβανε χώραν ἡ ἔξοδος τῶν ἀκμαίων. Τά οὕτω λαμβανόμενα ἄτομα ἐξετρέφοντο καί ἠλειτροφοροῦντο, ἐφ' ὅσον εἶχον ἡλικίαν ἀνωτέρα τῶν 10 ἡμερῶν ἀπό τῆς ἐξόδου των ἐκ τοῦ νυμφικοῦ περιβλήματος.

Ἡ ὅλη ἐκτροφή ἐλάμβανε χώραν ἐντός θαλάμου σχετικῆς ὑγρασίας 65%, θερμοκρασίας 25° ± 2°C καί ψυχροῦ φωτισμοῦ 240 Watts ἐπί δεκάωρον. Ὁ ἐξαερισμός τοῦ ἐν λόγω θαλάμου ἐγένετο μέσῳ κλιματιστικοῦ μηχανήματος.

Φυσικῶς θανόντα ἀκμαῖα ἄτομα δάκτου τοποθετηθέντα ἀμέσως εἰς θερμοκρασίαν -20°C ἐπί μίαν ἐβδομάδα ἐδείκνυον καλᾶς ἠλειτροφορητικᾶς μορφᾶς ἐστερασῶν, ἐνῶ δέν ἔδιδον ἀναγνωσίμους τοιαύτας ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν. Ἡδη μετὰ παρέλευσιν μόνον 24 ὡρῶν αἱ ἀλκαλικάι φωσφατάσαι εἶχον καταστραφῆ.

II. Τ ε χ ν ι κ α ἰ

1. Τεχνικὴ ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀκμαίου.

Διά τήν ἀνίχνευσιν τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀκμαίου ἐχρησιμοποιήθη ἡ μέθοδος τῆς ἠλειτροφορήσεως ἐπί πολυαιριλαμίδης μέ τό σύστημα τῶν ρυθμιστικῶν διαλυμάτων τοῦ Μ.Δ.Ρουλικ(1957). Τό σύστημα τοῦτο ἀποτελεῖται ἐκ

δύο ρυθμιστικῶν διαλυμάτων. Τό πρῶτον εἶναι διάλυμα 0,076 M τρις-ὑδρο-ξυμεθυλ-ἀμινομεθανίου (TRIS) καί 0,005 M νιτρικοῦ ὀξέος (pH=8,7). Τό διάλυμα τοῦτο ἐχρησιμοποιεῖτο διά τήν παρασκευήν τοῦ πήγματος. Διά τοῦ δευτέρου διαλύματος ἀποτελουμένου ἐκ 0,3 M βορικοῦ ὀξέος καί 0,06 M ὑδροξειδίου τοῦ νατρίου (pH=8,15) ἐπληροῦντο τά δοχεῖα τῶν ἠλεκτροδίων.

Διά τήν παρασκευήν τοῦ πήγματος εἰς 300 cm³ ρυθμιστικοῦ διαλύματος προσετίθεντο 30g Cyanogum-41 (τῆς E-C Apparatus Corporation). Τό διάλυμα ἐθερμαίνεται μέχρι πλήρους διαλύσεως τοῦ Cyanogum καί ἐν συνεχείᾳ διηθεῖτο. Ἀκολούθως προσετίθετο ὡς καταλύτης διά τόν πολυμερισμόν τῆς ἀκυριλαμίδης 1,5 cm³ Catalyst (τῆς E-C Apparatus Corporation) καί 3cm³ διαλύματος 10% ὑπερθειϊκοῦ ἀμμωνίου. Μετά ἰσχυράν ἀνάδευσιν ἐπληροῦντο ἀμέσως διά τούτου τά πλαίσια ἐντός τῶν ὁποίων ἐλάμβανε χώραν ἡ πῆξις. Αὕτη ὠλοκληροῦτο μετά 10 min. Ἐκολούθει ψύξις τοῦ πήγματος ἐπί 30 min εἰς 4°C. Τά πλαίσια τοῦ πήγματος ἀπετελοῦντο ἐκ πυθμένου ἐξ ὑαλίνης πλακός καί ἐκ δύο σειρῶν πλευρῶν ἐκ πλεξιγυλάς. Ἐκάστη πλευρά εἶχε μορφήν πλαισίου καί εἶχεν ἐσωτερικάς διαστάσεις 20,5 X 19,3 cm καί ὕψος 0,3cm. Οὕτω τό πάχος τοῦ πήγματος ἦτο 0,6 cm. Διά τῆς ἀφαιρέσεως τῆς μιᾶς σειρᾶς πλευρῶν μετά τό πέρας τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἐπετυγχάνετο ὁ κατά μῆκος τεμαχισμός τοῦ πήγματος εἰς δύο ἡμίση, πάχους 0,3 cm ἕκαστον, τῆ βοθηεῖα λεπτοῦ σύρματος.

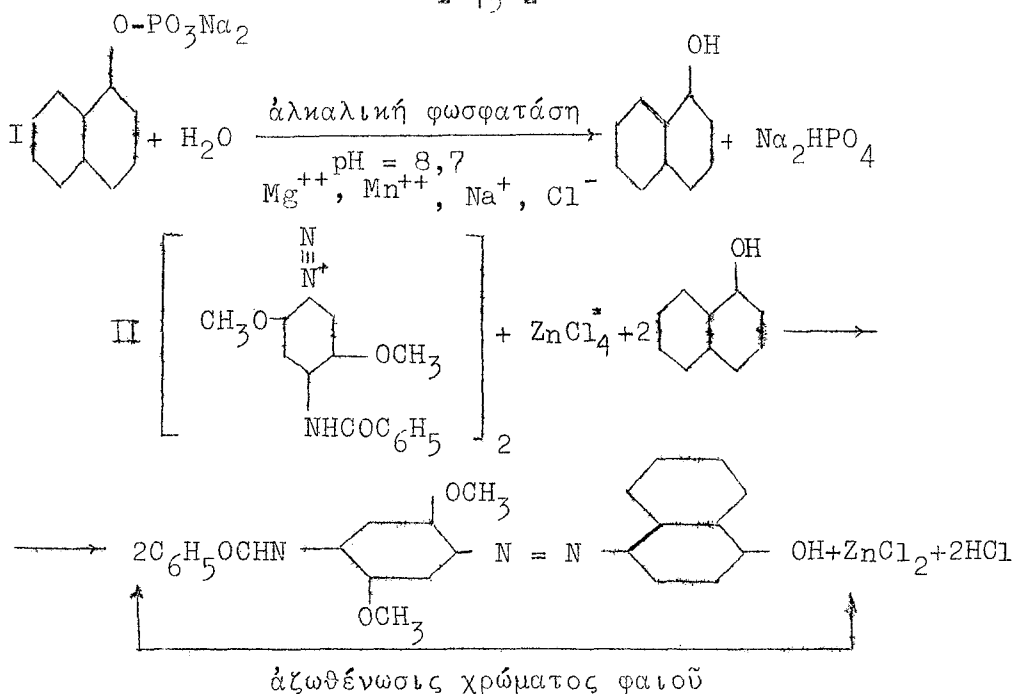
Ἐντός τοῦ πήγματος τῆς πολυακυριλαμίδης ἐτοποθετοῦντο τά πρός ἠλεκτροφόρησιν δείγματα. Ἀιμαῖα ἔντομα ἐλειοτριβοῦντο ἐπί ὑαλίνης πλακός τῆ βοθηεῖα ὑαλίνης ράβδου ἐντός δύο σταγόνων διαλύματος 100 mg MgCl₂ · 6H₂O ἀνά 100cm³ ὕδατος. Εὐρέθη κατόπιν μακρᾶς σειρᾶς δοκιμῶν ὅτι διά τοῦ τρόπου τούτου ἐπετυγχάνετο ἡ πλέον ἱκανοποιητικῆ ἐκχύλις καί παραλαβή τοῦ ἐνζύμου. Ἐπί τοῦ λειοτριβηθέντος δείγματος ἐτίθετο μικρόν τεμάχιον Kleenex διά νά συγκρατήσῃ τά τμήματα τῆς χιτίνης, ἄνωθεν δέ τούτου τεμάχιον χάρτου Whatmann No 3 διαστάσεων 1,3 X 0,5 cm, τό ὁποῖον ἐμποτιζόμενον παρελάμβανε τό δείγμα. Τά δείγματα ἐτοποθετοῦντο καθέτως ἐντός τοῦ πήγματος τῆ βοθηεῖα λεπίδος. Ἐντός ἐκάστου πλαισίου ἐτοποθετοῦντο 13-14 δείγματα.

Τό πλαίσιον ἐτοποθετεῖτο ἀκολούθως ἄνωθεν εἰδικῆ συσκευῆς ἐκ πλεξιγυλάς διά τῆς ὁποίας ἐξετοξεύετο ψυχρόν ὕδωρ πρός τόν ὑάλινον πυθμένα αὐτοῦ. Συγχρόνως κατά τήν ἠλεκτροφόρησιν ἐπί τῆς ἄνω ἐπιφανείας τοῦ πήγματος ἐτο-

ποθετοῦντο δύο σάκιοι ἐν λεπτοῦ πλαστινοῦ, ἐνός, τοῦ ἐπί τοῦ πήγματος ἐφαπτομένου, πλήρους ὕδατος, καί ἑτέρου, τοποθετουμένου ἄνωθεν τοῦ πρώτου, περιέχοντος στρώμα πάγου. Οὕτω ἡ ἠλεκτροφόρησις ἐλάμβανε χώραν εἰς ὁμοιόμορφον καί ταπεινὴν θερμοκρασίαν παρά τὴν ἐφαρμογὴν ὑψηλῆς τάσεως. Τοῦτο ἐπέτρεπεν ἀφ' ἐνός μὲν τὸν καλύτερον διαχωρισμὸν τῶν ἰσοενζύμων, ἀφ' ἑτέρου δέ τὴν συντόμευσιν τοῦ χρόνου ἠλεκτροφορήσεως. Τὸ κύκλωμα ἐκλείετο διὰ δύο τεμαχίων ἐξ εἰδικοῦ σπογγώδους πλαστινοῦ τοποθετουμένων μεταξύ πήγματος καί δοχείων. Ἡ χρησιμοποιουμένη τάσις ἦτο 600-650 Volts (37,5-40,6 Volts /cm). Ἡ ἀντιστοιχοῦσα εἰς τὴν τάσιν ταύτην ἔντασις ἦτο 140-150 mA. Μετά πάροδον 1 min ἀπὸ τῆς ἐφαρμογῆς τοῦ ἠλεκτρικοῦ πεδίου ἀπεμακρύνοντο τὰ τεμάχια χάρτου. Ἡ ἠλεκτροφόρησις διεκόπτετο ὅταν ἡ φαιὰ γραμμὴ, ἐμφανιζομένη καί κινουμένη ἐντός τοῦ πήγματος πρὸς τὴν ἄνοδον καί ὀφειλομένη εἰς τὴν συγκέντρωσιν ἰόντων περιεχόντων βόριον, ἔφθανεν εἰς ἀπόστασιν 14 cm ἀπὸ τοῦ σημείου τοποθετήσεως τῶν δειγμάτων. Ἡ χρονικὴ διάρκεια τῆς ὡς ἄνω μετατοπίσεως ἦτο τετράωρος.

Μετά τὸ πέρασ τῆς ἠλεκτροφορήσεως καί τῆς ὀριζοντίου τομῆς τοῦ πήγματος ἐχρῶννυτο ἡ ἀποκαλυπτομένη ἐπιφάνεια τοῦ κάτω τμήματος. Εἰς τὴν ἑτέραν, τὴν ἐπὶ τῆς ὕαλου εὐρισκομένην ἐπιφάνειαν τοῦ κάτω τμήματος, κατεστρέφετο τὸ ἐνζυμον δι' ἐπαφῆς μὲ θερμὸν μεταλλικὸν ἔλασμα, ὥστε νὰ ἀποφεύγηται καί ἡ ἐν τῶν κάτω χρωστικῶν τοῦ διαφανοῦς πήγματος τῆς πολυακριλαμίδης. Διὰ τὴν χρωστικὴν τὸ πῆγμα ἐτοποθετεῖτο εἰς 37°C ἐντός 200 cm³ ρυθμιστικοῦ διαλύματος ἐν τοῦ χρησιμοποιουμένου διὰ τὴν παρασκευὴν αὐτοῦ εἰς τὸ ὅποῖον εἶχον προστεθῆ 100 mg τοῦ μετὰ νατρίου ἁλατος τοῦ α-φωσφορικοῦ ναφθυλίου, 1 g πολυβινυλ-πυρρολιδίνης, 4g χλωριούχου νατρίου, 10 σταγόνες διαλύματος 10% χλωριούχου μαγγανίου, 10 σταγόνες διαλύματος 10% χλωριούχου μαγγανίου, 100 mg 4-ἀμινο-2,5-διμεθοξυβενζανιλίνης (Fast Blue R.R. Salt). Μετ' ἐπάσιν μιᾶς περίπου ὥρας ἐνεφανίζοντο ζῶναι φαιοῦ χρώματος λόγῳ τῆς σχετιζομένης ἀζωθενώσεως. Μετά τὸ πέρασ τῆς βαφῆς τὸ διάλυμα χρώσεως ἀπεμακρύνετο καί τὸ πῆγμα ἐμονιμοποιεῖτο διὰ προσθήκης διαλύματος μεθανόλης, ὕδατος καί ὀξεικοῦ ὀξέος, εἰς ἀναλογίαν 5:5:1.

Ἡ ἀνίχνευσις τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν στηρίζεται εἰς τὰς ἀκολούθους ἀντιδράσεις :



2. Τεχνική έστερασών προνύμφης και νύμφης.

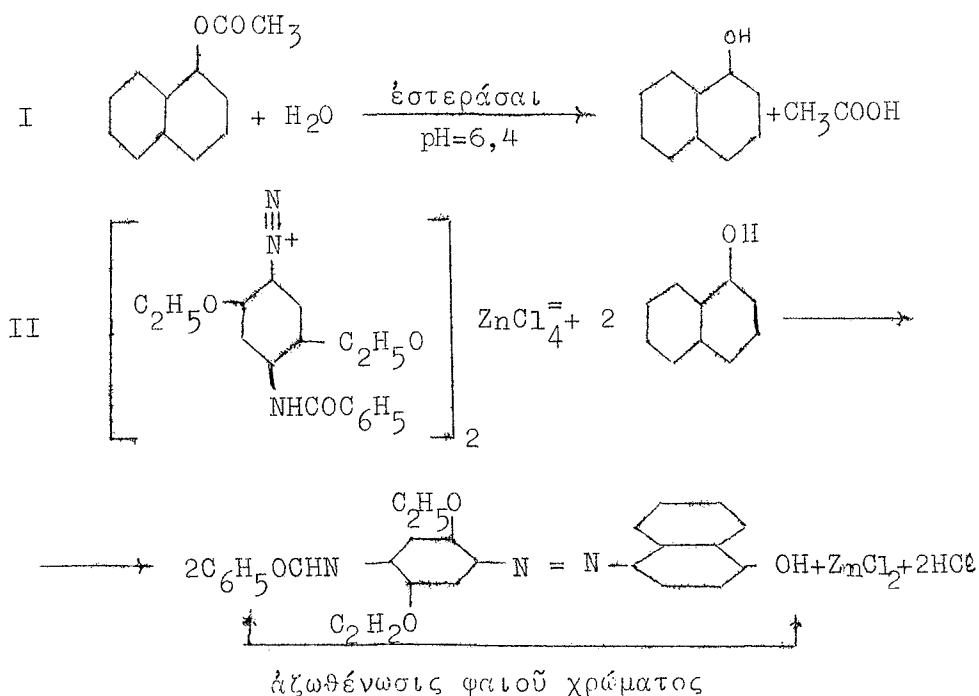
Η αντίχνευσις τών έστερασών τής προνύμφης και τής νύμφης έγένετο δι' ήλεκτροφορήσεως επί πήγματος άμύλου. Έχρησιμοποιήθη πρός τοϋτο τό σύστημα τών ρυθμιστικών διαλυμάτων τών G.C. Ashton και A.W. Braden (1961) ώς έτροποποιήθη υπό του K.Ξ.Χριστοδούλου (1965). Τοϋτο αποτελείται έν δύο ρυθμιστικών διαλυμάτων. Τό πρώτον είναι διάλυμα 0,05 M TRIS και 0,007 M κιτρινοϋ όξεός (pH=8,6). Τό δεύτερον, διά του οποίου έπληροϋντο τά δοχεΐα τών ήλεκτροδίων, είναι διάλυμα 0,05 M ύδροξειδίου του λιθίου και 0,19 M βορινοϋ όξεός (pH=8,2).

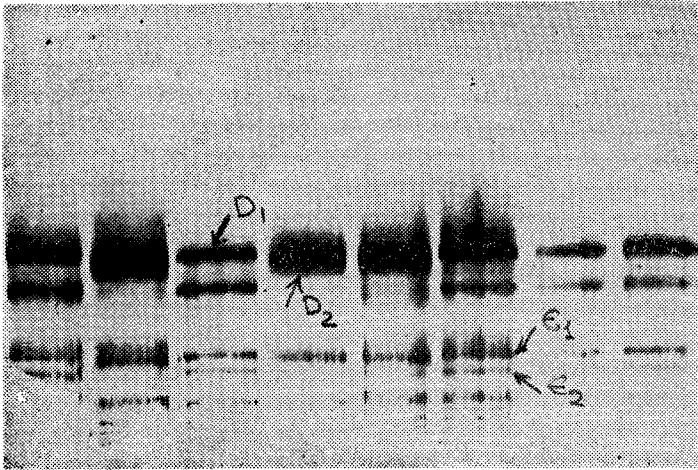
Διά τήν παρασκευήν του πήγματος άμύλου προσετίθεντο 33 g ύδρολυμένου άμύλου (τής Connaught Medical Laboratories) εις 330 cm³ ρυθμιστικοϋ διαλύματος, αποτελουμένου έξ 93,5 cm³ έν του πρώτου, έν 36,5 cm³ έν του δευτέρου ρυθμιστικοϋ διαλύματος και έν 220 cm³ ύδατος. Τό σύνολον έθερμαΐνετο υπό συνεχή ανάδευσιν εις φλόγα λυχνου Bunsen μέχρις άρχομένου βρασμοϋ. Ήκολούθει βρασμός υπό κενόν επί 30 sec και άμέσως έπληροϋντο τά πλαίσια έντός τών οποίων έλάμβανε χώραν ή πήξις. Ή πήξις έπερατοϋτο διά τής τοποθετήσεως του πλαισίου επί 30 min εις τούς 4°C.

Ἡ σειρά τῶν ἐργασιῶν ἀκολούθως, ὡς καί αἱ συνθῆκαι ἡ-
 λεκτροφορήσεως ἦσαν αἱ αὐταί, ὡς καί διά τήν ἀνίχνευσιν
 τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀιμαίου, ἐπτός τῆς λειοτρι-
 βήσεως, ἥτις ἐλάμβανε χώραν ἐντός ἀπεσταγμένου ὕδατος καί
 τῆς διαρκείας ἡλεκτροφορήσεως ἡ ὁποία ἦτο τεσσαρακοντα-
 πεντάλεπτος. Ἡ φαιά γραμμῆ ἀπεῖχε τότε 14 cm ἐκ τοῦ ση-
 μείου τοποθετήσεως τοῦ δείγματος.

Διά τήν χρωσιν, τό κάτω πηῆμα τοῦ πήγματος ἐνεβαπτί-
 ζετο εἰς 200 cm³ ρυθμιστικοῦ διαλύματος (pH=6,4) ἀποτελου-
 μένου ἐξ $1,75 \times 10^{-2}$ M Na₂HPO₄ + $4,93 \times 10^{-2}$ M KH₂PO₄ καί
 περιέχοντος 80 mg τοῦ εἰς τήν θέσιν α ὀξεινοῦ-ναφθυλίου,
 διαλυθέντος εἰς 13,5 cm³ αἰθυλιῆς ἀλκοόλης ὡς καί 50 mg
 τῆς 4-ἀμινο-2,5-δισοξυ-βενζανιλίνης (Fast Blue BB Salt).
 Τό σύνολον ἐπώαζετο εἰς τοῦς 37°C. Μετά παρέλευσιν μιᾶς
 ὥρας ἐνεφανίζοντο ζῶναι φαιοῦ χρώματος, λόγω τῆς σχηματι-
 ζομένης ἀζωθενώσεως. Μετά παρέλευσιν μιᾶς ἐπί πλέον ὥρας
 ἀπεμακρύνετο τό διάλυμα χρώσεως καί προσετίθετο διάλυμα
 5:5:1 μεθανόλης, ὕδατος καί ὀξεινοῦ ὀξέος, διά τήν μονι-
 μοποίησιν τοῦ ἡλεκτροφορήματος.

Ἡ ἀνίχνευσις τῶν ἑστερασῶν στηρίζεται εἰς τήν ἀκό-
 λουθον σειράν ἀντιδράσεων:





Εικόνα 1

Ηλεκτροφόρημα τέκνων οίκογενείας Σ 42 και φαινότυποι τούτων ως προς τούς γόνους D και E. Οι φαινότυποι έξ άριστερών προς τά δεξιά έχουν ως κάτωθι :

$D_1 D_1, D_1 D_2, D_1 D_1, D_1 D_2, D_1 D_2, D_1 D_1, D_1 D_1, D_1 D_1$
 $E_1 E_2, E_1 E_1, E_1 E_2, E_1 E_1, E_1 E_2, E_1 E_2, E_1 E_2, E_1 E_2$



Εικόνα 2

Ηλεκτροφόρημα τέκνων οίκογενείας Κ 30 και φαινότυποι τούτων ως προς τούς γόνους Β και C. Οι φαινότυποι έξ άριστερών προς τά δεξιά έχουν ως κάτωθι :

$\beta_4 \beta_4, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_4, \beta_4 \beta_4, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_4, \beta_4 \beta_4, \beta_4 \beta_7, \beta_4 \beta_4$
 $C_2 C_2, C_2 C_2, C_2 C_2, C_2 C_2, C_2 C_3, C_2 C_2, C_2 C_3, C_2 C_3, C_2 C_2, C_2 C_3, C_2 C_3, C_2 C_2$

3. Τεχνικά έστερασών του άιμαίου.

Διά τήν άνίχνευσιν τών έστερασών του άιμαίου, ώς θά
ΐδωμεν κατωτέρω, έχρησιμοποιήθησαν δύο τεχνικά :

α) 'Η χρησιμοποιηθεΐσα υπό του Ε. Ζούρου (1968)(σύ-
στημα Ραυλικ) και

β) ή χρησιμοποιηθεΐσα διά τήν άνίχνευσιν τών έστε-
ρασών τής νύμφης και τής προνύμφης.

Γ. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΘΕΝΤΩΝ ΠΟΛΥΜΟΡΦΙΣΜΩΝ

I. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΣ ΑΛΚΑΛΙΚΩΝ ΦΩΣΦΑΤΑΣΩΝ

1. Άριθμός τῶν γόνων.

Άιμαῖα ἄτομα δάκτου ἐκ τοῦ αὐτοῦ ἢ καί διαφόρων πληθυσμῶν ἔδωσαν μορφάς ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν μέ διάφορον ἡλεκτροφορητικὴν κινητικότητα, ἥτοι ἐνεφάνισαν φαινοτυπικόν πολυμορφισμόν.

Ἡ γενικὴ μορφή τῶν ἡλεκτροφορημάτων εἶναι ἡ ἀκόλουθος:

Ἐκαστον ἄτομον δεικνύει μίαν ζώνην ἢ ομάδα ἐκ τριῶν ζωνῶν κινουμένων ταχέως πρὸς τὴν ἄνοδον, ἀκολουθεῖ δέ σειρά ἐξ ἐννέα περιπίου, ἀπλῶν ἢ διπλῶν ζωνῶν αἵτινες κινοῦνται βραδύτερον.

Αἱ ταχύτερον κινούμεναι ζῶναι παρουσιάζονται ὑπὸ τρεῖς μορφάς (τρεῖς φαινοτυπικὰς καταστάσεις). Ὁ εἷς φαινότυπος ἀποτελεῖται ἐκ μιᾶς μόνον ζώνης κινουμένης ταχέως (D_1), ὁ ἕτερος φαινότυπος ἀπὸ μίαν μόνον ζώνην κινουμένην ὀλίγον βραδύτερον (D_2), τέλος ὁ τρίτος φαινότυπος ἀπὸ τρεῖς ζῶνας, μίαν D_1 μίαν D_2 καί τρίτην ἐνδιαμέσου κινητικότητος μεταξύ D_1 καί D_2 .

Διὰ νά διαπιστωθῇ ἐάν ὁ παρατηρηθεῖς πολυμορφισμός εἶναι κληρονομικός, ἐδημιουργήθησαν 50 οἰκογένειαι προερχόμεναι ἐκ διασταυρώσεως ἐνός ἄρρενος μεθ' ἐνός παρθένου θήλεος.

Δόγῃ καταστροφῆς τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν ἀμέσως σχεδόν μετὰ τὸν θάνατον ἐντόμου, ὁ ἀριθμός τῶν οἰκογενειῶν, αἱ ὁποῖαι τελικῶς ἐμελετήθησαν καί διὰ τοὺς δύο γονεῖς, δέν εἶναι μεγάλος.

Εἷς τὸν πίνακα 1 ἀναγράφονται τὰ δεδομένα τῶν οἰκογενειῶν τούτων. Ὡς D_1D_1 συμβολίζονται τὰ ἄτομα τὰ δεικνύοντα μόνον τὴν ζώνην D_1 , ὡς D_2D_2 τὰ δεικνύοντα τὴν ζώνην D_2 καί ὡς D_1D_2 τὰ δεικνύοντα καί τὰς τρεῖς ζῶνας. Ἐχουν ἀθροισθῇ τὰ ἀποτελέσματα τῶν διασταυρώσεων εἷς τὰς ἑποίας οἱ γονεῖς εἶχον τοὺς αὐτοὺς ἡλεκτροφορητικούς φαινοτύπους. Εἷς τὸν πίνακα τοῦτον περιλαμβάνονται οἱ φαινότυποι τῶν γονέων καί τῶν τέκνων, ὁ ἀριθμός τῶν τέκνων ἐκάστου φαινοτύπου, αἱ τιμαὶ τοῦ χ^2 ὡς καί αἱ πιθανότητες (P) διὰ τῶν ὁποίων ἢ ἀπλουστέρα ὑπόθεσις κληρονομι-

κόπητος δύναται νά ἀληθεύη. Ἡ ὑπόθεσις αὕτη θεωρεῖ ὅτι εἷς γόνος D μέ δύο ἀλληλομόρφους, τοὺς D₁ καί D₂, ἐλέγχει τήν σύνθεσιν τῶν ταχέως κινουμένων ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν. Ἐκαστή ζώνη ἀποτελεῖ διάφορον ἰσοένζυμον, ἐλεγχόμενη ὑφ' ὠρισμένου καί τοῦ αὐτοῦ ἀλληλομόρφου τοῦ γόνου. Αἱ ζῶναι τῶν τέκνων προκύπτουν ἀπό τὰς ζῶνας τῶν γονέων, ὡς οἱ δυνατοί συνδυασμοί αὐτῶν, ἥτοι ἕκαστον ἄτομον φέρει ἐξ ἑκαστοῦ γονέως μίαν ζώνην. Τά ἑτεροζυγωτά ἄτομα διά τόν γόνον D, ἥτοι τά φέροντα τόν γονότυπον D₁D₂ πλήν τῶν δύο μορφῶν τοῦ ἐνζύμου συνθέτουν καί τρίτην μορφήν, τό ὑβρίδιον ἐνζυμον, μέ τό ὁποῖον θά ἀσχοληθῶμεν κατωτέρω. Αἱ συχνότητες αὗται τῶν δυνατῶν συνδυασμῶν ἀκολουθοῦν τὰς συχνότητας τῶν ἀπλῶν μενδελιανῶν διασχίσεων ἐνός γόνου, ἐντός τῶν στατιμῶν ὁρίων τοῦ σφάλματος ἐκ τυχαίας δειγματοληψίας.

Ἐκ τοῦ πίνακος 2, εἷς τόν ὁποῖον χρησιμοποιοῦνται ἀθροιστικῶς τὰ δεδομένα τοῦ πίνακος 1, προκύπτει ὅτι ἡ ὑπόθεσις μας, κατά τήν ὁποίαν αἱ ταχύτερον κινούμεναι ζῶναι ἐλέγχονται ὑφ' ἐνός γόνου D, δέν δύναται νά ἀπορριφθῆ ἐπί 179 τέκνων (358 γαμετῶν). Ὄντως ἡ πιθανότης ἰσοῦται πρὸς 80% - 70% ($\chi^2 = 1,737$, B.E = 4).

Πίναξ 1

Κατηγορία	Γονεῖς	Τέκνα	Συν. τέκν.	χ^2	BE	P
I	D ₁ D ₂ X D ₁ D ₂	D ₁ D ₁ (17) D ₁ D ₂ (31) D ₂ D ₂ (19)	67	$\chi^2 = 0,383$	2	0,90 > P > 0,80
II	D ₁ D ₁ X D ₁ D ₂	D ₁ D ₁ (16) D ₁ D ₂ (15)	31	$\chi^2 = 0,032$	1	0,90 > P > 0,80
III	D ₁ D ₂ X D ₂ D ₂	D ₁ D ₂ (31) D ₂ D ₂ (22)	53	$\chi^2 = 1,322$	1	0,30 > P > 0,20
IV	D ₁ D ₁ X D ₁ D ₁	(D ₁ D ₁ (28))	28			

Πίναξ 2

Ἀθροιστικὴ χρησιμοποίησις τῶν δοκιμασιῶν τοῦ χ τοῦ πίνακος 1

Κατηγορία	B.E.	χ^2
I	2	0,383
II	1	0,032
III	1	1,322
Σύνολον	4	1,737
0,80 > P > 0,70		

Κάτωθι τῶν ζωνῶν τοῦ γόνου D παρατηρεῖται σειρά ζωνῶν (έμετρήθησαν μέχρις ἑννέα ζῶναι). Αἱ ζῶναι αὗται καταλαμβάνουν τόν χῶρον κάτωθι τῶν ζωνῶν τῶν ἐλεγχομένων υπό τοῦ γόνου D καί φθάνουν ἕως τό σημεῖον τῆς ἐφαρμογῆς τῶν δειγμάτων. Παρατηρήθη μία προοδευτική ἐλάττωσις τῆς ἐντάσεως τοῦ χρωματισμοῦ εἰς τό ἕν τρίτον περίπου ἀπό τῆς πρώτης πρός τήν τελευταίαν ζώνην. Παρατηρήθη ἐπί πλέον μία προοδευτική ἐλάττωσις τῆς μεταξύ τῶν ζωνῶν ἀποστάσεως. Ἡ ἀπόστασις αὕτη μειοῦται εἰς τό ἥμισυ τῆς ἀμέσως προηγουμένης ἀποστάσεως. Καί τό τμήμα τοῦτό τοῦ ἠλεκτροφορήματος δεικνύει ἀπό ἀτόμου εἰς ἄτομον πολυμορφισμόν. Ἦτοι, δύνανται ἅπασαι αἱ ζῶναι νά κινῶνται ταχύτερον ἢ βραδύτερον ἢ ἅπασαι αἱ ζῶναι νά ἐμφανίζονται διπλαῖ, λόγω συνυπάρξεως τῶν ταχυτέρων καί τῶν βραδυτέρων ζωνῶν εἰς ἕν καί τό αὐτό ἄτομον.

Εἰς τήν οἰκογένειαν Σ 42 ὁ θῆλυς γονεύς εἶχε τήν ταχύτεραν καί βραδυτέραν ζώνην (διπλοῦν σύνολον), ἐνῶ ὁ ἄρρην τήν ταχύτεραν (ἀπλοῦν σύνολον).

Ἐπί συνόλου 22 τέκνων τῆς ὡς ἄνω διασταυρώσεως, 12 τέκνα ἔφερον ἅπαντα διπλαῖ τὰς ζώνας, ἐνῶ τά ἕτερα 10 ἀπλάς.

Εἰς τὰς οἰκογενείας Σ 4, Σ 7 καί Σ 8 (αἱ ὑπόλοιποι δέν ἔδωσαν καλῶς ἀναγνωσίμους μορφάς), ὅλοι οἱ γονεῖς εἶχον τὰς ταχύτερον κινουμένας μορφάς. Τό σύνολον τῶν τέκνων τῶν οἰκογενειῶν αὐτῶν ἀνῆλθεν εἰς 64. Οὐδέν τῶν τέκνων τούτων παρουσίασε διάφορον ἠλεκτροφορητικὴν μορφήν τῆς τῶν γονέων.

Τά ἀνωτέρω ἐρμηνεύονται διά τῆς ὑποθέσεως ὅτι τό σύνολον τῶν ζωνῶν αὐτῶν ἐλέγχεται ὑφ' ἑνός γόνου (E) ἔχοντος δύο ἀλληλομόρφους (E_1, E_2) ἐκ τῶν ὁποίων ὁ E_1 δίδει τὰς ταχύτερον κινουμένας ζώνας, ὁ δέ E_2 τὰς βραδυτέρον κινουμένας τοιαύτας, ἐνῶ ἡ ὑπαρξίς καί τῶν δύο τὰς διπλαῖ εἰς τό σύνολον ζώνας.

Ὁ πίναξ 3 παρουσιάζει τὰ δεδομένα τῶν τεσσάρων αὐτῶν οἰκογενειῶν ταξινομημένα συμφώνως πρός τήν ἀνωτέρω διατυπωθεῖσαν ὑπόθεσιν.

Ἐκ τοῦ πίνακος τούτου συμπεραίνεται ὅτι :

α) Ἐπί συνόλου 86 ἀτόμων, τὰ ὁποῖα προέκυψαν ἐξ 172 γαμετῶν, οὐδέν ἀντιβαίνει πρός τήν ὑπόθεσίν μας.

β) Ἡ πιθανότης νά εἶναι ἀληθής ἡ ὑπόθεσις αὕτη εἶναι

80%-70% ($\chi^2 = 0,182$, B.E. = 1).

Πίναξ 3

Κατ.	Γονεΐς	Τέκνα	Συν	Γαμέται	BE	χ^2	P
I	$E_1 E_1 X$	$E_1 E_1 E_1 E_1 (64)$	64	$64 \cdot 2 = 128$			
II	$E_1 E_1 X$	$E_1 E_2 E_1 E_2 (12) E_1 E_1 (10)$	22	$22 \cdot 2 = 44$	1	$\chi^2 = 0,182$	$0,80 > P > 0,70$
	Σύνολον		86	172	1	$\chi^2 = 0,182$	$0,80 > P > 0,70$

Έν τών άνωτέρω συνάγεται ότι αί άλκαλιναί φωσφατάσαι του άκμαίου ρυθμίζονται υπό δύο γόνων, τών D καί E.

Τά δεδομένα διασχίσεως, ώς καί οί παρατηρηθέντες πολυμορφισμοί, ήρμηνεύθησαν διά τής παραδοχής δύο άλληλομόρφων είς έναστον γόνον.

Είς άτομα διαφόρου προελεύσεως παρατηρήθησαν διά τόν γόνον D καί άλλοι πολυμορφισμοί, διάφοροι τών προερχομένων έν τών D_1 καί D_2 .

2. Σχηματισμός ύβριδίου ένζύμου είς τόν γόνον D.

Χαρακτηριστικόν όλων τών έτεροζυγωτών άτόμων ($D_1 D_2$) είναι ότι ταϋτα έμφανίζουν, έντός τών άναμενομένων δύο ζωνών, τών άντιστοιχουσών είς τά ίσοένζυμα, τά έλεγχόμενα υπό τών D_1 καί D_2 , καί ένδιάμεσον μεταξύ τούτων ζώνην καλουμένην "ύβρίδιον ένζυμον" (D. Schwartz, 1960).

Είς τόν γόνον τουτον τό ύβρίδιον ένζυμον άποτελεΐται έν πεπτιδίων συντιθεμένων υπό τών άλληλομόρφων D_1 καί D_2 . Μόνον ή συνύπαρξις άμφοτέρων δίδει ύβρίδιον ένζυμον.

Ός ύβρίδια ένζυμα χαρακτηρίζονται καί μορφαί ένζυμων, άποτελούμεναι έν πεπτιδίων διαφορετικών γόνων (R.D. Cahn et al., 1962). Έ τοιαύτη όμως όνοματολογία δέν θά άκολουθηθῆ είς τήν παρούσαν διατριβήν.

Άναφέρονται πολλαί περιπτώσεις δημιουργίας ύβριδίων ένζύμων υπό άλληλομόρφων του αύτου γόνου. Ό C.R. Shaw (1965) άναφέρει 19 τοιαύτας περιπτώσεις, ό δέ E. Ζοϋρος (1968) περιέγραφε δημιουργίαν ύβριδίου ένζύμου είς τόν γόνον B τών έστερασών του άκμαίου του δάκου.

Έ ύπαρξις τής τρίτης ζώνης είς τόν γόνον D δύναται νά έρμηνευθῆ κατ'άνάλογον τρόπον μέ τόν προταθέντα υπό του D. Schwartz (1960) ήτοι διά τής ύποθέσεως τών διμε-

ρών πεπτιδίων. Συμφώνως προς τήν ἄποψιν ταύτην, ὁ ἀλληλόμορφος D_1 συνθέτει πεπτίδια d_1 , ὁ δέ D_2 πεπτίδια d_2 . Τό ἐνεργόν ἔνζυμον ἀποτελεῖται ἐκ δύο πεπτιδίων. Ὡς ἐκ τούτου, ἄτομον γονοτύπου D_1D_1 συνθέτει πεπτίδια d_1 , τὰ ὅποια τελειῶς ἐνούμενα ἀνά δύο, δίδουν πεπτίδια τῆς μορφῆς d_1d_1 , τὰ ὅποια ἀποτελοῦν τό ἐνεργόν ἔνζυμον καί δίδουν τήν ζώνην τήν ἀντιστοιχοῦσαν εἰς τόν ἀλληλόμορφον D_1 . Τό αὐτό συμβαίνει καί μέ τόν ἀλληλόμορφον D_2 . Ἄτομον ἕτεροζυγώτῳ D_1D_2 συνθέτει πεπτίδια d_1 καί d_2 , τὰ ὅποια, ἐνούμενα ἀνά δύο παράγουν τρία εἴδη ἰσοενζύμων, τὰ d_1d_1 , d_2d_2 καί d_1d_2 . Τό ἰσοένζυμον d_1d_2 ἀποτελεῖ τό ὑβρίδιον ἔνζυμον, ἡ ζώνη τοῦ ὁποίου ἐμφανίζεται μεταξύ τῶν ζωνῶν D_1 καί D_2 , ὡς ἔχουσα προφανῶς ἐνδιάμεσον κινήτικότητα. Τά ἔνζυμα d_1d_1 καί d_2d_2 καλοῦνται αὐτοδιμερῆ, τό δέ d_1d_2 ἀλλοδιμερές.

Ὁ γόνος E δέν δημιουργεῖ ὑβρίδιον ἔνζυμον. Οὗτος δίδει μίαν σειρᾶν ζωνῶν, ὡς ἀνωτέρω περιεγράφη. Φαίνεται ὅτι ἐκάστη ζώνη τῆς σειρᾶς ἔχει διάφορον ἀριθμόν πεπτιδίων, καθὼς βαίνομεν πρός τό σημεῖον τῆς τοποθετήσεως τῶν δειγμάτων.

Τά ἀνωτέρω ἐνεφανίσθησαν καί εἰς τήν περίπτωσιν καθ' ἣν ἐγένετο χρῆσις πήγματος ἀμύλου. Πρόκειται πιθανώτατα περί πολυμερῶν μορφῶν, ἥτοι περί δημιουργίας πρωτεΐνικοῦ τμήματος μέ ποικίλλοντα ἀριθμόν συναπτομένων πεπτιδίων, τοῦ αὐτοῦ πάντοτε τύπου.

3. Οἱ γόνοι εἶναι αὐτοσωματικοί

Οἱ G. Frizzi καί A. Springhetti (1953), ὡς καί ὁ C. B. Krimbas (1963) περιέγραψαν τὰ μιτωτικά χρωματοσώματα τοῦ δάκιου. Ὁ δάκιος φέρει συμφώνως πρός τὰς ἐργασίας αὐτᾶς πέντε ζεύγη αὐτοσωματιῶν καί ἓν ζεῦγος φυλετιῶν χρωματοσωμάτων.

Τό θῆλυ ἄτομον εἶναι ὁμογαμετικόν (XX), τό δέ ἄρρεν ἕτερογαμετικόν (XY). Ἐπί πλέον ὁ C. B. Krimbas (1963) περιέγραψε τό μέν X ὡς μικρόν ἀκροκεντριόν χρωματόσωμα, τό δέ Y ὡς ἔχον πολύ μικρόν μέγεθος.

Τό γεγονός ὅτι παρατηρήθησαν ἄρρενα ἄτομα ἕτεροζυ-

διά διασκελισμοῦ δέ τά :

$$\begin{matrix} \text{♀} & \text{♀} \\ \text{♀} & \text{♀} \end{matrix} D_1 D_2 \text{ καί } \begin{matrix} \text{♂} & \text{♂} \\ \text{♂} & \text{♂} \end{matrix} D_1 D_1$$

Ἀντιστρόφως εἰς τήν δευτέραν περίπτωσιν τά ἄνευ διασκελισμοῦ παραγόμενα τέκνα θά ἦσαν :

$$\begin{matrix} \text{♀} & \text{♀} \\ \text{♀} & \text{♀} \end{matrix} D_1 D_2 \text{ καί } \begin{matrix} \text{♂} & \text{♂} \\ \text{♂} & \text{♂} \end{matrix} D_1 D_1$$

διά διασκελισμοῦ δέ τά :

$$\begin{matrix} \text{♀} & \text{♀} \\ \text{♀} & \text{♀} \end{matrix} D_1 D_1 \text{ καί } \begin{matrix} \text{♂} & \text{♂} \\ \text{♂} & \text{♂} \end{matrix} D_1 D_2$$

Δεδομένου ὅτι ἀναμένονται τά ἐκ διασκελισμοῦ ἄτομα νά εἶναι ὀλιγώτερα τῶν προερχομένων ἐκ γαμετῶν γονεϊκῆς προελεύσεως, αἱ τέσσαρες αὗται κατηγορίαι ἀτόμων θά ἔδει νά μή ἔχουν τάς αὐτάς συχνότητας.

Τά τέκνα τῆς οἰκογενείας Σ 42 ἔχουν ὡς ἀπολούθως :

$\begin{matrix} \text{♀} & \text{♀} \\ \text{♀} & \text{♀} \end{matrix} D_1 D_2 & D_1 D_1$	$\begin{matrix} \text{♂} & \text{♂} \\ \text{♂} & \text{♂} \end{matrix} D_1 D_2 & D_1 D_1$
6 & 6	9 & 10
$\chi^2 = 0,000$, B.E.=1	$\chi^2 = 0,054$, B.E.=1
P = 1	0,90 > P > 0,80

Ἡ πιθανότης ὅπως ἡ σχέσις $D_1 D_2 : D_1 D_1$ ἰσοῦται πρὸς τὴν μονάδα, εἰς τὰ θήλεα τέκνα εἶναι ἴση πρὸς 100% ($\chi^2 = 0,000$, B.E.=1), εἰς δέ τὰ ἄρρενα τέκνα εἶναι 90%-80% ($\chi^2 = 0,054$, B.E.=1).

Ἐκ τῶν ἀνωτέρω συνάγεται ὅτι δέν ὑπάρχει ἔνδειξις ὅτι ὁ γόνος οὗτος ἐδράζεται ἐπὶ τυχόν ὑπάρχοντος ὁμολόγου τμήματος τοῦ ζεύγους τῶν φυλετικῶν χρωματισμάτων.

Ἀντίστοιχος ἔνδειξις δέν ὑφίσταται, ὡς ἐκ τῆς φύσεως τῶν δεδομένων διά τὸν γόνον E. Ὁ πολυμορφισμὸς τοῦ γόνου E δέν εἶναι τόσο συχνός, τό γεγονός δέ τοῦτο δέν ἐπέτρεψε τὴν ἀνεύρεσιν ἀντιστοίχου περιπτώσεως διασχίσεως.

Ὑπαρξίς συνδέσεως μεταξύ τῶν γονῶν D καὶ E δέν δύναται νά ἐλεγχθῆ, ὡς ἐκ τῆς φύσεως τῶν δεδομένων διασχίσεως.

II. ΚΛΗΡΟΝΟΜΙΚΟΤΗΣ ΕΣΤΕΡΑΣΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΗΣ ΚΑΙ ΝΥΜΦΗΣ

1. Αριθμός τῶν γόνων.

Εἰς τὰ δύο ταῦτα στάδια τοῦ ἐντόμου ἀπαντᾷ πολυμορφισμός, ὁ ὁποῖος δύναται νά διαχωρισθῆ εἰς δύο κατηγορίας, εἰς τόν πολυμορφισμόν τοῦ γόνου Β τοῦ ἀκμαίου, ὁ ὁποῖος δρᾷ καί εἰς τὰ στάδια ταῦτα καί ἕτερον νέον, εὐρισκόμενον κάτωθι αὐτοῦ. Δράσις τοῦ γόνου Α δέν παρατηρήθη.

Εἰς τόν νέον τοῦτον πολυμορφισμόν παρατηροῦνται διάφοροι βιοχημικοὶ φαινότυποι. Τά ἄτομα δύναται νά φέρουν μίαν μόνον ζώνην ἢ δύο τοιαύτας. Τρεῖς ζῶναι παρατηροῦνται μέ ὑψηλὴν σχετικῶς συχνότητα εἰς τοὺς μελετηθέντας πληθυσμούς, αἱ C_1, C_2 καί C_3 . Παρατηρήθησαν καί ἄλλαι ζῶναι εἰς πολὺ μικροτέραν συχνότητα.

Διὰ νά διαπιστώσωμεν ἐάν ὁ παρατηρηθεῖς νέος πολυμορφισμός εἶναι κληρονομικός, ἐδημιουργήσαμεν 40 οἰκογενεῖας. Ὅσον ἀφορᾷ εἰς τόν γόνον C, εἶναι ἀδύνατος ἡ πιστοποίησης τοῦ γονοτύπου τῶν γονέων, καθ' ὅσον τὰ τέλεια ἄτομα δέν δεικνύουν τὰς ζώνας C. Εἶναι ὅμως δυνατόν δι' ἀπλῆς μενδελιανῆς ὑποθέσεως, ἥτοι τῆς ὑπάρξεως ἑνός γόνου μέ πολλαπλοῦς ἀλληλομόρφους, νά ἐρμηνευθοῦν τὰ ἀποτελέσματα τῶν διασταυρώσεων καί νά καθορισθοῦν οἱ πιθανοὶ γονότυποι τῶν γονέων. Τά ὁμοζυγώτᾳ ἄτομα εἶναι τὰ φέροντα μίαν μόνον ζώνην κατὰ τὴν ὑπόθεσιν ταύτην, ἐνῶ τὰ ἑτεροζυγώτᾳ δύο διαφόρους.

Οὕτω τὰ δεδομένα τῶν μελετηθεισῶν οἰκογενειῶν δύνανται νά καταταγοῦν εἰς τὰς ἀκολούθους κατηγορίας :

Πίναξ 4

Κατ	Γονεῖς	Τέκνα	Συν. τέκ.	Συν. γαμ.	BE	χ^2	P
I	$C_2 C_2 \times C_2 C_2$	$C_2 C_2$ (67)	67	134			
II	$C_2 C_2 \times C_2 C_3$	$C_2 C_2$ (89) $C_2 C_3$ (82)	171	342	1	$\chi^2=0,211$	$0,80 > P > 0,70$
III	$C_1 C_2 \times C_2 C_3$	$C_1 C_2$ (19) $C_1 C_3$ (22) $C_2 C_3$ (16) $C_2 C_2$ (27)	84	168	3	$\chi^2=3,141$	$0,50 > P > 0,30$
	Σύνολον		322	644	4	$\chi^2=3,352$	$0,70 > P > 0,50$

Ὁ πίναξ 4 περιλαμβάνει τοὺς ὑποτιθεμένους φαινοτύπους τῶν γονέων καί τοὺς παρατηρηθέντας τοιοῦτους τῶν τέκνων, τόν ἀριθμόν τῶν τέκνων ἐκάστου φαινοτύπου, ὡς καί τόν ἔλεγχον τῆς διασχίσεως, περιλαμβάνων τὰς τιμὰς τοῦ χ^2

καί τās πιθανότητας P, διά τās οποίας ή υπόθεσις τήν όποίαν διατυποῦμεν εἶναι ἀληθής.

Ἐκ τοῦ πίνακος τούτου συνάγονται τά ἀκόλουθα συμπεράσματα :

α) Ἡ σύνθεσις τῶν ἑστερασῶν τῶν μή ἐλεγχομένων ὑπό τοῦ γόνου Β τῶν σταδίων τῆς προνύμφης καί νύμφης, ἐλέγχεται ὑφ' ἑνός γόνου μέ τρεῖς τούλάχιστον ἀλληλομόρφους, τοὺς C_1, C_2, C_3 . Ἐκάστη ζώνη ἀποτελεῖ διάφορον ἰσοένζυμον ἐλεγχομένη ὑφ' ὀρισμένου καί τοῦ αὐτοῦ ἀλληλομόρφου (C_1 ἢ C_2 ἢ C_3) τοῦ γόνου C.

β) Διά τόν γόνον τοῦτον αἱ ἠλεκτροφορητικά μορφά τῶν τέκνων πρέπει νά προκύπτουν ἐκ τῶν τῶν γονέων ὡς οἱ δυνατοί συνδυασμοί αὐτῶν. Ἦτοι ἕναστος ἄτομον φέρει ἀνά μίαν ζώνην ἐξ ἐκάστου γονέως.

γ) Αἱ συχνότητες αὗται τῶν δυνατῶν συνδυασμῶν ἀκολουθοῦν ἀπλᾶς μενδελιανᾶς διασχίσεις ἐντός τῶν στατιστικῶν ὀρίων τοῦ σφάλματος ἐκ τυχαίας δειγματοληψίας.

δ) Ἡ υπόθεσις μας ὅτι αἱ ζῶναι αὗται ἐλέγχονται ὑφ' ἑνός γόνου C ἐπαληθεύεται ἐπί 332 τέκνων (644 γαμετῶν) μέ πιθανότητα 80%-70% ($\chi^2 = 3,352$, B.E.=4).

2. Ὁ πολυμορφισμός τοῦ γόνου.

Πλήν τῶν τριῶν ἀλληλομόρφων C_1, C_2 καί C_3 , διά τοὺς ὁποίους παρουσιάσθησαν δεδομένα διασχίσεως, παρατηρήθησαν εἰς ἄτομα διαφόρου προελεύσεως διάφοροι αὐτῶν ζῶναι, προφανῶς προκύπτουσαι ἐκ τῆς ὑπάρξεως καί ἑτέρων ἀλληλομόρφων, δι' οὓς ὅμως δέν κατέστη δυνατή ἡ ὑπαρξίς δεδομένων διασχίσεως, λόγω τῆς μικρᾶς συχνότητος αὐτῶν.

3. Ὁ γόνος εἶναι αὐτοσωματικός.

Εἰς τήν κατηγορίαν III τοῦ πίνακος 4 καί οἱ δύο γονεῖς πρέπει νά εἶναι ἑτεροζυγωτοί διά τόν γόνον C, ἦτοι καί ὁ ἄρρην γονεύς θά πρέπει νά εἶναι ἑτεροζυγωτός. Διάγνωσις τοῦ φύλου εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης (X. Νικολόπουλος 1961) δέν ἐγένετο, οὕτω, δέν κατέστη δυνατόν νά διερευνηθῇ κατά πόσον ὁ γόνος C ἐδράζεται ἐπί τυχόν ὑπάρχοντος ὁμολόγου τμήματος τῶν φυλετικῶν χρωματοσωμάτων.

Σύνδεσις μεταξύ τῶν γόνων Β καί C δέν δύναται νά ἀνευρεθῇ, ὡς ἐκ τῆς φύσεως τῶν δεδομένων διασχίσεως.

Γ Ο Ν Ε Ι Σ	Τ έ κ ν α			
	Β' Γόνος		C Γόνος	
Αριθμός τέκνων	9	8	10	7

Σχήμα 2. Διάσχισις οίκογενείας K 30
 διά τόν γόνον C, πιθανοί ήλεκτροφορητικοί
 φαινότυποι τών γονέων και άριθμός εύρεθέν-
 των τέκνων ένασστης φαινοτυπικής κατηγορίας.

4. Χαρακτηρισμός.

Διά τόν χαρακτηρισμόν τών έστερασών του γόνου C έ-
 χρησιμοποιήθη ή υπό του K.B. Augustinsson (1961) προταθει-
 σα κατάταξις τών έστερασών. Βεβαίως πολλαί μορφάί έστε-
 ρασών έχουν τοιαύτας ιδιότητες, ώστε νά μή είναι δυνατός
 ό χαρακτηρισμός αύτών και ή άκριβής κατάταξις των.

Παρουσία όργανοφωσφοριου έστερος Dimethoate (Rogor
 του οίκου Montecatini) παρατηρεΐται παρεμποδισις, αλλά ή
 συγκέντρωσις του όργανοφωσφοριου έστερος, ήτις παρεμπο-
 δίζει τάς έστεράσας C, είναι μεγαλύτερα της παρεμποδιζού-
 σης τάς έστεράσας A και περίπου ή αύτή ήτις παρεμποδίζει
 τάς έστεράσας B τών άκμαίων: όντως 2% Dimethoate παρεμπο-
 δίζει τάς έστεράσας C. Αί έστεράσαι C ύδρολύουν τήν ύδρο-
 χλωρικήν βενζούλ-χολίνην και ώς εκ τούτου κατατάσσονται
 εις τάς χολινεστεράσας. Ύδρολύουν επίσης τό α-βουτυριόν
 ναφθύλιον, κατατασσόμεναι ούτω εις τάς ψευδοχολινεστερά-
 σας. Τό γεγονός ότι ύδρολύουν τό έννεανιόν-AS-ναφθύλιον
 και τό α-λαυριόν ναφθύλιον, τείνει νά τάς κατατάξη εις

τάς λιπάσας.

"Αρα αἱ ἔστεράσαι C κατατάσσονται εἰς τάς μὴ εἰδικάς ἔστεράσας (ἢ ψευδοχολινεστεράσας) ἢ εἰς τάς λιπάσας.

Δ. ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΔΥΟ ΓΟΝΩΝ ΤΩΝ ΕΣΤΕΡΑΣΩΝ ΤΟΥ ΑΚΜΑΙΟΥ
ΤΟΥ ΠΑΗΘΥΣΜΟΥ ΤΩΝ ΑΓΙΩΝ ΑΠΟΣΤΟΛΩΝ ΔΙΑ ΔΕΥΤΕΡΟΝ
ΚΑΤΑ ΣΕΙΡΑΝ ΕΤΟΣ.

Κατά τό έτος 1966 ό Ε. Ζοϋρος προέβη εις έντεταμένην δειγματοληψίαν τοϋ φυσικοϋ πληθυσμοϋ τοϋ δάκου επί ενός έλαιώνος (έλαιών Β) τών 'Αγίων 'Αποστόλων 'Αττικής, διά νά προσδιορίση τάς συχνότητας τών γονοτύπων καί ίδια τών άλληλομόρφων τών πολυμορφικών έστερασιικών γόνων Α καί Β τοϋ άκμαίου έντόμου (Ε. Ζοϋρος 1968). 'Η δειγματοληψία αύτη έγένητο τήν 26-29 'Οκτωβρίου.

'Εθεωρήθη σκόπιμον όπως πραγματοποιηθή καί έτέρα δειγματοληψία τοϋ πληθυσμοϋ τούτου, διά νά διαπιστωθή κατά πόσον ό πολυμορφισμός τών γόνων Α καί Β εύρίσκεται εις σταθεράν ίσορροπίαν, κατά πόσον δηλαδή αί συχνότητες τών διαφόρων άλληλομόρφων δέν έχουν μεταβληθή. 'Η δειγματοληψία αύτη έπρίθη άναγκαία, διότι ό πληθυσμός θά ύφίστατο διά πρώτην φοράν έλεγχον τοϋ μεγέθους του διά τής χρήσεως Dimethoate καί οϋτω θά παρεΐχε μίαν μιράν εικόνα τής γενετικής δομής τοϋ πληθυσμοϋ διά τόν πολυμορφισμόν τών γόνων Α καί Β πρό τής έπιδράσεως διά Dimethoate. Δεδομένου έξ άλλου ότι τό κύριον μέρος τής παρούσης διατριβής αναφέρεται εις τάς προβλεπομένας δράσεις έπιλογής εις τούς γόνους Α καί Β διά τής χρήσεως Dimethoate, έθεωρήθη άναγκαία ή διαπίστωσις τών κάτωθι:

α. Κατά πόσον ό πολυμορφισμός είναι όντως σταθερός πρό τής έπιδράσεως όργανοφωσφορικών έστέρων.

β. Ποία ή δομή ενός τουλάχιστον πληθυσμοϋ πρό τής έπιδράσεως, ώστε εις τό άπώτερον μέλλον νά καταστή δυνατή ή σύγκρισις τής μελλοντικής μέ τήν προτέραν δομήν αύτοϋ. Θά είναι έξ άλλου ένδιαφέρον νά διαπιστωθή εις τό μέλλον κατά πόσον ή έν τῷ 'Εργαστηρίῳ εύρεσις δράσεως έπιλογής επί τών συστημάτων τούτων, θά παρατηρηθή άργότερον έν τῇ φύσει.

1. Υλικόν καί μέθοδος.

'Η δειγματοληψία έγένητο ως καί κατά τό προηγούμενον έτος 1966 καί κατά μήνα Σεπτέμβριον (23-27/9/67).

'Ο έλαιών οϋτος εύρίσκεται βορείως καί εις άπόστασιν 3 χιλομέτρων από τοϋ χωρίου "Άγιοι 'Απόστολοι, έντεινόμενος παραλιακῶς επί μήκους 2,5 περίπου χιλιομέτρων. 'Η κά-

τωθι τῶν ἐλαιοδένδρων ἐπιφάνεια καλλιεργεῖται δι' ἄρδευ-
ομένων κηπευτικῶν. Οὐδέποτε κατά τό παρελθόν ἐγένετο ἐ-
πί τῶν ἐλαιοδένδρων ψευασμός.

Διά τήν σύλληψιν τῶν ἐντόμων ἐχρησιμοποιήθησαν 33
παγίδες. Ἐντός ἐκάστης παγίδος ἐτοποθετεῖτο τεμάχιον "ἀ-
φρολέξ" ἐμβαπτισμένον εἰς προσελκυστικόν διάλυμα τῆς
ἀιολούθου συνθέσεως :

100 cm³ ὕδωρ

5 cm³ ὑδρολυμένη πρωτεΐνη Staley N^o 7
4 gm⁶ (NH₄)₂SO₄

Τό pH τοῦ διαλύματος ἦτο 4,4.

Τά ἔντομα συνελαμβάνοντο ζῶντα δι' εἰδικοῦ ἀναρρο -
φητήρος καί μετεφέροντο ζῶντα εἰς τό Ἐργαστήριον πρός
ἠλεκτροφόρησιν. Αἱ συνθήκαι ἠλεκτροφορήσεως ἦσαν ἀκρι-
βῶς αἱ αὐταί ὡς καί τοῦ προηγουμένου ἔτους. Ἐχρησιμοπο-
ήθησαν δηλαδή διά τήν ἠλεκτροφόρησιν τά ρυθμιστικά δια-
λύματα τοῦ Roulik (ἰδέ τεχνική ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν). Τά
λοιπά μέχρι καί τῆς χρήσεως, ἐγένοντο ὡς διά τήν περι-
πτωσιν τῶν ἑστερασῶν τῶν σταδίων τῆς προνύμφης καί τῆς
νύμφης (ἰδέ κεφάλαιον Β).

Ἡλεκτροφορήθησαν 312 ἄτομα διά τόν γόνον Α καί 281
διά τόν γόνον Β. Οἱ ἀριθμοί οὗτοι διαφέρουν, διότι ἡ
ἀνάγνωσις 276 ἀτόμων καί διά τούς δύο γόνους κατέστη δυ-
νατή, ἐνῶ εἰς ἕτερα 5 ἄτομα ἀνεγνώσθη μόνον τό σύστημα
Β, ἐνῶ εἰς ἕτερα 36 μόνον τό σύστημα Α.

2. Ἑῤρεσις νέων ἀλληλομόρφων

Ἐῤρέθησαν νέοι ἀλληλόμορφοι διά τούς γόνους Α καί
Β, οἱ Α₁₁₂, Α₃₄, Α₇₈ διά τόν γόνον Α, καί Β₀ διά τόν γό-
νον Β. Διά τούς ἀλληλομόρφους τούτους δέν ὑπάρχουν δε-
δομένα διασχίσεως, ἡ δέ συχνότης αὐτῶν εἶναι πολύ μι-
κρά. Πάντως θεωροῦνται ὡς νέοι ἀλληλόμορφοι, διότι ἰ-
σχύουν τά ὑπό τοῦ Ε. Ζούρου (1968) χρησιμοποιηθέντα κρι-
τήρια διά τούς ἀλληλομόρφους Α₀₀, Α₀ καί Α₀₁ τοῦ γόνου
Α καί Β₅₆₆ καί Β₈ τοῦ γόνου Β.

Οὕτω, κατά τάς δύο ὡς ἄνω δειγματοληψίας, ὁ ἀρι-
θμός τῶν ἀλληλομόρφων τοῦ Α γόνου ἀνῆλθεν εἰς 17, ἐκ τῶν
ὁποίων "εἶς" μή ἐνεργός, ἐπί συνόλου 786 ἠλεκτροφορηθέν-
των ἀτόμων, ὁ δέ ἀριθμός τῶν ἀλληλομόρφων τοῦ Β συστήμα-

τος ανήλθεν εις 13, εν των οποίων "εις" μή ενεργός, επί συνόλου 750 ηλεκτροφορηθέντων ατόμων.

3. Συχνότητες αλληλομόρφων.

Αί συχνότητες των αλληλομόρφων της δειγματοληψίας του έτους 1966 (E. Ζουῦρος 1968), ως και του έτους 1967, παρατίθενται εις μέν τον πίνακα 5 διά τον γόνον A, εις δέ τον πίνακα 6 διά τον γόνον B. Οί πίνακες επί πλέον περιέχουν και τάς διαφοράς των συχνοτήτων των αλληλομόρφων.

Αί αναφερόμεναι εις τούς πίνακας αυτούς συχνότητες των αλληλομόρφων υπελογίσθησαν :

α) Διά τούς ενεργούς αλληλομόρφους εν της εξίσωσης :

$$a_i^2 - 2a_i + (A_i -) + \sum_{j=1}^n (A_i A_j) = 0$$

όπου a_i ή συχνότης του ενεργού αλληλομόρφου A_i . Διά του $(A_i -)$ παριστῶνται άτομα φαινοτύπου $(A_i -)$ έχοντα γονότυπον $A_i A_i$ ή $A_i A_c$, όπου A_c ό σιγῶν αλληλόμορφος. Τά άτομα $(A_i A_j)$ είναι τά έτεροζυγωτά διά δύο ενεργούς αλληλομόρφους, τούς A_i και A_j . Ως πραγματικά λύσεις της εξίσωσης ταύτης ελήφθησαν αι θετικαι και μικρότεροι της μονάδος τιμαί του a_i .

Κατά τον άνωτέρω τρόπον έγένετο και ό προσδιορισμός της συχνότητος των αλληλομόρφων του γόνου B.

β) Διά τούς σιγῶντας αλληλομόρφους A_c και B_c ή συχνότης υπελογίσθη ως διαφορά της συνολικῆς συχνότητος των ενεργῶν εν της μονάδος.

Ως προκύπτει εν των πινάκων 5 και 6 αλλά και εν της στατιστικῆς αναλύσεως όμοιογενείας των δύο δειγματοληψιῶν ως πρός τάς συχνότητας των γονοτύπων (ως αναφέρονται εις άκολουθοῦσαν παράγραφον και εις τούς πίνακας 10 και 11) ό πληθυσμός των 'Αγίων 'Αποστόλων δέν μετεβλήθη. Αί συχνότητες παραμένουν εν πολλοῖς αι αύται, έντός των όρίων του σφάλματος εν τυχαίας δειγματοληψίας.

4. Δοκιμασία παμμειξίας διά τούς γόνους A και B.

Είς τον πίνακα 7 αναγράφεται αναλυτικῶς διά τον γόνον A ή δοκιμασία πρός εύρεσιν τυχόν ύπαρχούσης άποικίσεως εν

Πίναξ 5

Αἱ συχνότητες τῶν ἀλληλομόρφων τοῦ γόνου A ὡς εὑρέθησαν κατὰ τὰς δειγματοληψίας τῶν ἐτῶν 1966 καὶ 1967

Γόνος A

Ἀλ/ρφος	Συχνότητες		Διαφορά
	1966	1967	
A ₀₀	0,00105	-	0,00105
A ₀	0,01266	0,00801	0,00465
A ₁	0,00105	-	0,00105
A ₁	0,13947	0,11390	0,02557
A ₁₁₂	-	0,00160	-0,00160
A ₁₂	0,04865	0,04079	0,00768
A ₂	0,43558	0,45404	-0,01846
A ₂₃	0,00847	0,01616	-0,00769
A ₃	0,05533	0,03424	0,02109
A ₃₄	-	0,00160	-0,00160
A ₄	0,02456	0,03590	-0,01134
A ₅	0,02456	0,01616	0,00840
A ₆	0,00844	0,02434	-0,01590
A ₇	0,08713	0,06802	0,01911
A ₇₈	-	0,00321	-0,00321
A ₈	0,03434	0,01603	0,01831
A ₉	-	-	-
A _ς	0,11871	0,16600	-0,04729
N(ἀρ. άτομ)	474	312	

τῆς παμμεξίας τῶν συχνότητων τῶν γονοτύπων. Ἡ στατιστικὴ δοκιμασία τοῦ χ^2 διὰ $\chi^2 = 6,432$ καὶ 4 βαθμούς ἐλευθερίας, ἢτοι ἡ πιθανότης P τὸ δεῖγμα νὰ μὴ ἀποκλίνῃ τῆς παμμεξίας ἰσοῦται μὲ 0,20 - 0,10.

Πίναξ 6

Αί συχνότητες τών ἀλληλομόρφων τοῦ γόνου Β ὡς εὑρέθησαν κατὰ τάς δειγματοληψίας τών ἐτῶν 1966 καί 1967

Γόνος Β

Ἀλληλόμορφος	Συχνότητες		Διαφορά
	1966	1967	
B ₀	-	0,00177	-0,00177
B ₁	0,00107	0,00712	-0,00605
B ₂	0,04807	0,04739	0,00068
B ₃	0,02046	0,01615	0,00431
B ₄	0,62203	0,63713	-0,01510
B ₄₅	0,03198	0,01068	0,02130
B ₅	0,03693	0,05677	-0,01984
B ₅₆	0,01279	0,01068	0,00211
B ₅₆₆	0,00426	-	0,00426
B ₆	0,07533	0,06625	0,00908
B ₇	0,09987	0,10319	-0,00332
B ₈	0,00320	-	0,00320
B _ς	0,04401	0,04287	0,00114
N (ἀρ. άτομ)	469	281	

Τό αὐτό ἐγένετο καί διά τόν γόνον Β μέ τήν ἀκόλουθον διαφοράν : οἱ ἀλληλόμορφοι B₆ καί B₇ ἐλήφθησαν ὡς εἰς (B₆₋₇) ἵνα μειωθοῦν αἱ ἀνεξάρτητοι μεταβληταί καί ὑπάρξῃ τοῦλάχιστον εἰς βαθμός ἐλευθερίας.

Οὕτω ἐκ τοῦ πίνακος 8 καθίσταται φανερόν ὅτι ὁ πληθυσμός δέν ἀποκλίνει τῆς παμμειξίας ($\chi^2 = 1,591$ διά Β.Ε. = $1, 0,30 > P > 0,20$).

5. Ἴσορροπία συνδέσεως μεταξύ τών γόνων Α καί Β.

Εἰς τόν πίνακα 9 δίδονται τά ἀποτελέσματα ἐλέγχου τῆς ὑποθέσεως ὑπάρξεως ἰσορροπίας συνδέσεως μεταξύ τών δύο γό-

Πίναξ 7

Δοκιμασία παμμειλίας του πληθυσμού διά τόν γόνον Α

Φαινότυποι	'Αριθμός παρατηρηθέντων ατόμων (O)	'Αριθμός θεωρητ. άναμεν. ατόμων (E)	$\frac{D^2}{E}$
A ₁ -	15	16	0,062
A ₁ A ₂	31	32	0,031
A ₁ A ₇	6	5	0,200
A ₁₂ -	9	5	3,200
A ₁₂ A ₂	8	12	1,333
A ₂ -	113	111	0,036
A ₂ A ₃	10	10	0,000
A ₂ A ₄	10	10	0,000
A ₂ A ₆	6	7	0,143
A ₂ A ₇	23	19	0,842
A ₂ A ₈	5	5	0,000
A ₇ -	7	8	0,125
A _ς A _ς	7	9	0,444
Λοιπά	62	63	0,016
Σύνολον	312	312	6,432
$\chi^2 = 6,432, \text{ B.E.} = 4$ $0,20 > P > 0,10$			

νων. 'Η υπόθεσις ότι υπάρχει ίσορροπία συνδέσεως γίνεται παραδεικτική μέ πιθανότητα 70%-50% ($\chi^2=4,999$, B.E. = 7).

6. Έλεγχος όμοιογενείας γονοτύπων τών δύο δειγματοληψιών.

Είς τούς πίνακας 10 καί 11 δίδεται έν λεπτομερεία ό στατιστικός έλεγχος τής όμοιογενείας τών συχνοτήτων τών γονοτύπων τών δύο δειγματοληψιών, τόσον διά τόν γόνον Α, όσον καί διά τόν γόνον Β.

Πίναξ 8

Δοκιμασία παρεξέλιξης του πληθυσμού διά τόν γόνον Β

Φαινότυποι	'Αριθμός παρατηθέντων ατόμων (O)	'Αριθμός θεωρητ. άναμεν. ατόμων (E)	$\frac{D^2}{E}$
B ₂ B ₄	14	17	0,529
B ₂ B ₆₋₇	6	5	0,200
B ₃ B ₄	6	6	0,000
B ₄ -	125	126	0,008
B ₄ B ₅	20	20	0,000
B ₄ B ₆₋₇	65	64	0,016
B ₆₋₇	12	14	0,286
Λοιπά	33	29	0,552
Σύνολον	281	281	1,591
$\chi^2 = 1,591, \text{ B.E.} = 1$ $0,30 > P > 0,20$			

Πίναξ 9

"Έλεγχος τής ύπάρξεως ίσορροπίας συνδέσεως μεταξύ τών γόνων Α καί Β.

Φαινότυπος	'Αριθμός παρατηρηθέντων ατόμων(O)	'Αριθμός θεωρητικώς άναμ. ατόμων (E)	$\frac{D^2}{E}$
A ₁ -B ₄ -	3	6	1,500
A ₁ A ₂ B ₄ -	10	12	0,333
A ₂ -B ₂ B ₄	4	5	0,200
A ₂ -B ₄ -	41	37	0,432
A ₂ -B ₄ -B ₆	6	7	0,143
A ₂ -B ₄ B ₇	9	10	0,100
A ₂ A ₇ B ₄ -	11	7	2,286
Λοιπά	185	184	0,005
	276	276	4,999
$\chi^2 = 4,999, \text{ B.E.} = 7$ $0,70 > P > 0,50$			

Πίναξ 10

Δοκιμασία ομοιογενείας γονοτύπων γόνου Α τών έτων 1966 και 1967.
 (Ο) αριθμός παρατηρηθέντων ατόμων.
 (Ε) αριθμός αναμενομένων ατόμων.

Φαινότυποι	1966		1967		Σύνολον	
	(Ο)	(Ε)	(Ο)	(Ε)	(Ο) ή (Ε)	(Ε)
A ₁ -	21	20	13	14	34	
A ₁ A ₂	61	52	26	35	87	
A ₁ A ₇	8	8	6	6	14	
A ₁₂ -	12	12	8	8	20	
A ₁₂ A ₂	17	14	6	9	23	
A ₂ -	139	141	98	96	237	
A ₂ A ₃	30	24	10	16	40	
A ₂ A ₄	11	12	9	8	20	
A ₂ A ₅	10	8	3	5	13	
A ₂ A ₇	34	33	22	23	56	
A ₂ A ₈	11	9	4	6	15	
A ₇ -	7	8	6	5	13	
A _ς A _ς	13	12	7	8	20	
Λοιπά	100	116	94	78	194	
Σύνολον	474		312		786	
$\chi^2 = 18,524, \text{ B.E} = 13$ $0,20 > P > 0,10$						

Έκ τής στατιστικῆς δοκιμασίας τοῦ χ^2 ομοιογενείας διά τόν γόνον Α (πίναξ 10), προκύπτει ὅτι ὁ πληθυσμός εἶναι ομοιογενῆς ὡς πρός τήν συχνότητα τῶν γονοτύπων, P μεταξύ 20%-10%, ($\chi^2 = 18,524, \text{ B.E} = 13$), ὁμοίως δέ διά τόν γόνον Β (πίναξ 11), P μεταξύ 70%-50%, ($\chi^2 = 8,033, \text{ B.E} = 10$).

7. Ὁ πληθυσμός εὐρίσκεται ἐν ἰσορροπία.

Λόγω τῆς ὑπάρξεως παμμειξίας τῶν γόνων Α καί Β καί

Πίναξ 11

Δοκιμασία ομοιογενείας γονοτύπων
γόνου B τῶν ἐτῶν 1966 καί 1967.
(O) ἀριθμός παρατηρηθέντων ἀτόμων.
(E) ἀριθμός ἀναμενομένων ἀτόμων.

Φαινότυποι	1966		1967		Σύνολον (O) ή (E)
	(O)	(E)	(O)	(E)	
B ₂ B ₄	22	22	13	13	35
B ₃ B ₄	11	11	6	6	17
B ₄ ⁻	203	201	118	120	321
B ₄ B ₄₅	20	15	4	9	24
B ₄ B ₅	22	26	19	15	41
B ₄ B ₅₆	10	10	6	6	16
B ₄ B ₆	42	41	24	25	66
B ₄ B ₇	65	63	35	37	100
B ₆ ⁻	8	8	5	5	13
B ₇ ⁻	9	11	9	7	18
Λοιπά	57	61	42	38	99
Σύνολον	469		281		750
$\chi^2 = 8,033, \text{ B.E} = 10$ $0,70 > P > 0,50$					

λόγω τῆς ομοιογενείας τῶν γονοτύπων τοῦ A καί τοῦ B γόνου
κατά τὰ δύο ἔτη, φαίνεται ὅτι ὁ πληθυσμός εὑρίσκεται ἐν
ἰσορροπία καί διά τόν γόνον A καί διά τόν γόνον B.

Ε. ΣΧΕΣΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΕΣΤΕΡΑΣΙΚΩΝ ΦΑΙΝΟΤΥΠΩΝ ΚΑΙ
ΤΗΣ ΣΧΕΤΙΚΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΟΣ ΤΩΝ ΦΕΡΟΝΤΩΝ
ΤΟΥΤΟΥΣ ΑΚΜΑΙΩΝ ΑΤΟΜΩΝ ΔΑΚΟΥ ΕΙΣ ΤΟΥΣ
ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟΥΣ ΕΣΤΕΡΑΣ

Ἡ ἐπίδρασις ὀργανοφωσφοριῶν ἐστέρων εἰς τὰ ἔντομα προκαλεῖ σειρὰν συμπτωμάτων. Οὕτω, κατ' ἀρχὰς παρατηρεῖται μία νευρική διέγερσις, ἣτις ἀκολουθεῖται ὑπὸ μιᾶς νευρικής ὑπερδιεγέρσεως. Ἔπονται τοῦ σταδίου τούτου νευρικοί σπασμοὶ καθ' ὅλον τὸ σῶμα. Ἀποκορύφωμα τῶν συμπτωμάτων εἶναι μία παράλυσις τοῦ ἔντομου. Τὸ ἔντομον ἀκολουθῶς ἀποθνήσκει, ἀλλ' εἰς τινὰς περιπτώσεις δύναται νὰ παρατηρηθῇ μία βαθμιαία ἐπαναφορὰ τοῦ ἔντομου εἰς τὴν πρό τῆς ἐπίδράσεως τῶν ὀργανοφωσφοριῶν ἐστέρων φυσιολογικὴν κατάστασιν.

Ὡς γνωστὸν, οἱ ὀργανοφωσφορινοὶ ἐστέρες παρεμποδίζουν *in vitro* διαφόρους ἐστεράσας καὶ εἰδικώτερον τὰς χολινεστεράσας.

Ἡδη διὰ τῶν πειραμάτων τῶν L. E. Chadwick καὶ D. L. Hill (1947), ὡς ἀναφέρεται ὑπὸ τοῦ R. D. O'Brien εἰς τὸ Toxic Phosphorus Esters, Academic Press 1960, διεπιστώθη τὸ πρῶτον εἰς τὴν *Blatta Americana* ἡ ὑπαρξίς θετικῆς συσχέτισεως καὶ συμμεταβολῆς μεταξὺ τῆς παρεμποδίσεως τῶν χολινεστερασῶν τόσο *in vitro* ὅσον καὶ *in vivo* καὶ τῆς θνησιμότητος κατόπιν ἐπίδράσεως τοῦ ὀργανοφωσφορινοῦ ἐστέρος D.F.P.

Ἀκολουθῶς οἱ Metcalf καὶ March (1949) διεπίστωσαν εἰς μελίσσας συσχέτισιν μεταξὺ συμπτωμάτων ἐκ δηλητηριάσεως διὰ χρήσεως παραθείου καὶ TEPP καὶ παρεμποδίσεως τῶν χολινεστερασῶν. Οὕτω 50% παρεμπόδισις τῶν χολινεστερασῶν δημιουργεῖ νευρικήν ὑπερδιέγερσιν, 65% παρεμπόδισις πτώσιν τοῦ ἔντομου, 90% παρεμπόδισις παράλυσιν καὶ, τέλος, 98% παρεμπόδισις τὸν θάνατον.

Οἱ Chamberlain καὶ Hoskins (1951), πειραματιζόμενοι μὲ 18 διαφόρους ὀργανοφωσφορινοὺς ἐστέρας εἰς τὴν *Blatta Americana*, διεπίστωσαν ὅτι ὠρισμένοι ἐκ τῶν ἐστέρων τούτων παρεμποδίζουν ταχύτερον καὶ ἄλλοι βραδύτερον τὰς χολινεστεράσας. Ἄτομα ὑποστάντα παρεμπόδισιν 85% τῶν χολινεστερασῶν δύναται νὰ ἐπιβιώσουν καὶ νὰ παρουσιάσουν μετὰ 24 ὥρας μόνον 35% παρεμπόδισιν.

Τὸ φαινόμενον τῆς ἐκ νέου ἀύξεσεως τῆς δραστηριότητος τῶν χολινεστερασῶν μετὰ παρεμπόδισιν εἰς σχεδὸν ἀ-

βιώσιμα όρια, έμελετήθη έπισταμένως ύπό τών D.C. Mengle καί J.E. Casida (1958) είς τήν οίικιακήν μυΐαν. Οί άνωτέρω έρευνηταί έπειραματίσθησαν μέ 8 διαφόρους όργανοφωσφορικούς έστερας μεταξύ τών όποιών συγκαταλέγονται τό Dimethoate, τό παραθεΐον, τό μεθυλ-παραθεΐον καί τό μαλαθειόν. Μετά πάροδον 1280 min άπό τής έπιδράσεως διά δόσεως LD 50 τά έπιζήσαντα έντομα ένεφάνιζον καί πάλιν χολινεστερασιικήν δραστηκότητα, όσην καί πρό τής έπιδράσεως. Είς τό μεσοδιάστημα όμως μεταξύ έπιδράσεως καί 1280 min ή δραστηκότης τών χολινεστερασών ήτο ήλαττωμένη. Εΐδικώς, διά τό Dimethoate τά άτομα ήδύναντο νά έμφανίσουν τό 20% τής πρό τής έπιδράσεως δραστηκότητος του ένζύμου, ήτις καί έλαμβάνετο ως 100%.

Κατόπιν τούτων, ως καί έτέρων συναφών παρατηρήσεων, διετυπώθη ή "ύπόθεσις τής χολινεστεράσεως". Κατ'αύτην ό μετά τήν έπίδρασιν όργανοφωσφοριών έστερων έπερχόμενος θάνατος του έντόμου όφείλεται είς τήν παρεμπόδισιν τών χολινεστερασών τούτου είς άρισμένον ποσοστόν. Τό μέγεθος τής παρεμπόδισεως έξαρτάται έν του είδους του όργανοφωσφορικού έστερος, του ταξινομικού είδους του έντόμου, τών συνθηκών έπιδράσεως, ως καί έτέρων παραγόντων.

Συμφώνως πρός τήν ύπόθεσιν ταύτην, ή παρεμπόδισις τών χολινεστερασών προκαλεΐ ύπερβολικήν συγκέντρωσιν άκετυλοχολίνης, άποτέλεσμα τής όποιας είναι ή άποδιοργάνωσις τής νευρικής λειτουργίας (πιθανώς διά τής καταστροφής τής πολώσεως είς τά νεύρα) μέ άποτέλεσμα τόν θάνατον.

"Ηδη άπό του 1950 οί Lord καί Potter ήμφεσβήτησαν τήν όρθότητα τής ύποθέσεως ταύτης. Έτόνισαν δέ ότι ύπάρχει μικρά συσχέτισις μεταξύ τοξικότητος καί in vitro άντιχολινεστερασιικής δραστηκότητος." Ηδη πρώτος ό Chadwick (1947) άνέφερεν ότι ώρισμένα έπιζήσαντα άτομα τής Blatta Americana είχον παρημποδισμένην δραστηκότητα χολινεστερασών κατά 90%, ένψ έτερα άτομα έθνησκον μέ παρεμπόδισιν μόνον 10%. Ο K. V. Asperen (1958) παρετήρησεν ότι αί οίικιακαί μυΐαι έπιπτον κατόπιν έπιδράσεως μέ D.D.V. P., ότε ή δραστηκότης τών χολινεστερασών αύτων είχε παρεμπόδισθή μόνον κατά 27%, ένψ τών άλιεστερασών κατά 83%. Παρά τάς παρατηρήσεις ταύτας όμως ή ύπόθεσις τής χολινεστεράσεως τυγχάνει γενικής σχεδόν παραδοχής.

Ούτω οί C. Voss καί F. Matsumura (1964) εύρον ότι είς τό Tetranychus Urticae ή άνθεκτικότης στελεχών είς τό παραθεΐον ήτο διεσταυρωμένη άνθεκτικότης καί διά τούς

όργανοφωσφορικούς έστερας συστόξ και μετασυστόξ. Συγχρό-
νως τά στελέχη διεκρίνοντο διά τήν ηύξημένην δραστηριότη-
τα τών άνετυλχολινεστερασών έν συγκρίσει πρός μή άνθε-
νικιά στελέχη. Οί έρευνηταί άπέδωσαν τήν άνθειτικότητα
ταύτην είς τήν ηύξημένην δραστηριότητα τών άνετυλχολινε-
στερασών και ώνόμασαν ταύτην άνετυλχολινεστερασιικήν άν-
τίστασιν.

Έν αντιθέσει πρός τούς όργανοφωσφορικούς έστερας, οί
χλωριωμένοι ύδρογονάνθρακες δέν φαίνεται νά έπιδροϋν επί
τών χολινεστερασών. Ούτω ό E.H. Colhoun (1959) ώς άναφέ-
ρεται ύπό τοϋ R.D. O'Brien είς τό Toxic Phosphorus Esters,
Academic Press (1960) εύρεν ότι κατόπιν έπιδράσεως DDT
είς τήν Blatta Americana ούδεμία παρεμπόδισις τής χολι-
νεστερασιικής δραστηριότητος παρατηρήθη.

Ένδιαφέρουσα είναι ή έργασία τών K. Van Asperen και
M.E. Van Mazijk (1965). Οί έρευνηταί οϋτοι παρατήρησαν ό-
τι στελέχη τής οικιακής μυίας, άνθεινικιά είς τούς όργανο-
φωσφορικούς έστερας, χαρακτηρίζονται άπό τήν έλλειψιν μι-
ας ώρισμένης ήλεκτροφορητικής έστεράσης, μιās άλισταερά-
σης. Τοϋτο έν πρώτης όψεως φαίνεται παράδοξον και άντι-
κειμενον πρός τά γενικώς παραδεκτά. Η τεραιτέρω όμως έ-
ρευνα τοϋ προβλήματος έδειξεν ότι άπαντα τά άνθεινικιά
στελέχη έχουν μιαν φωσφατάση, ήτις ύδρολύει τούς όργα-
νοφωσφορικούς έστερας είς μή τοξικά συστατικά. Οί έρευ-
νηταί υποθέτουν ότι διά μεταλλαγής ή έν λόγω άλισταερά-
ση μετετρέπη είς τήν είδιικήν ταύτην φωσφατάση ύδρολύ-
ουσα τούς όργανοφωσφορικούς έστερας. "Οθεν είς τήν περι-
πτωσιν αύτήν ό μηχανισμός άνθεινικιότητος δέν βασίζεται
είς ποσοτικές διαφοράς χολινεστερασών, άλλ'είς τήν ύπαρ-
ξιν νέου ένζύμου ύδρολύοντος τόν τοξικόν παράγοντα.

Είς τά θηλαστικά, ώς και είς τά έντομα, φαίνεται ό-
τι ή δράσις τών όργανοφωσφορικών έστερων είναι όμοία. Ό
H. S. Hope (1954), ώς άναφέρεται ύπό τοϋ R.D. O'Brien είς
τό Toxic Phosphorus Esters Academic Press 1960, έδειξεν,
ότι αί άνετυλχολινεστεράσαι τών θηλαστικών παρεμποδίζον-
ται κατά τόν ίδιον τρόπον, ώς και τών έντόμων, ύπό τών
όργανοφωσφορικών έστερων.

Τά διάφορα είδη τών έστερασών δύνανται νά κατατα-
γοϋν διαφοροτρόπως. Ακολουθοϋντες τήν προταθεισαν ύπό
τοϋ K.B. Augustinsson (1961) κατάταξιν, δυνάμεθα νά δια-
χωρίσωμεν τάς χολινεστεράσας είς δύο κατηγορίας : α) τάς
άληθείς χολινεστεράσας, είς τάς όποίας υπάγονται και αί

άνετυλχολινεστεράσαι, καί β) τάς ψευδεΐς ή μή είδιδικάς χολινεστεράσας.

Αί έστεράσαι τοῦ άιμαίου τοῦ δάκου έμελετήθησαν υπό τοῦ Ε. Ζούρου (1968). Ο έρευνητής οὔτος περιέγραφε δύο κληρονομούμενα πολυμορφικά συστήματα έστερασών, τάς έστεράσας Α καί τάς έστεράσας Β. Ένι τούτων, αί Α άπαντοῦν είς τήν κεφαλήν, τόν θώρακα, άλλ' ούχί είς τήν κοιλίαν τοῦ έντόμου.

Ένι τής μελέτης τών βιοχημικῶν χαρακτηριστικῶν τών έστερασών τούτων, ήτοι, ύδρολύσεως διαφόρων ύποστρωμάτων, παρεμποδίσεως υπό διαφόρων παρεμποδιστῶν, καί ένεργοποίησεως υπό διαφόρων ένεργοποιητῶν, ο Ε. Ζούρος κατέληξεν είς τό συμπέρασμα ὅτι αί έστεράσαι Α είναι άλληθεΐς χολινεστεράσαι, ήτοι άνετυλχολινεστεράσαι. Η σύνθεσις τών έστερασών Α έλέγχεται ύφ' ένός γόνου με πολλαπλοῦς άλληλομόρφους. Έναςτος άλληλόμορφος έλέγχει τήν σύνθεσιν δραστικοῦ ένζυμου, πλήν "ένός", τοῦ σιγῶντος, ὅστις δέν δύναται νά συνθέσῃ δραστικόν ένζυμον ή τοῦλάχιστον ένζυμον τό ὁποῖον νά ύδρολύῃ τό χρησιμοποιηθέν διά τήν άνίχνευσιν τών έστερασών ύπόστρωμα, τό α-όξιμόν ναφθύλιον.

Αί έστεράσαι Β άπαντοῦν έφ' ὄλοικλήρου τοῦ σώματος τοῦ έντόμου. Διά τών ίδίων τεχνικῶν έδείχθη ὅτι αὔται είναι ψευδεΐς χολινεστεράσαι ή λιπάσαι. Αί έστεράσαι Β έλέγχονται έπίσης ύφ' ένός γόνου, ὅστις έμφανίζεται υπό τήν μορφήν πολλαπλῶν άλληλομόρφων. Οί δραστικοί άλληλόμορφοι δύναται νά συνθέσουν πεπτίδια, τά ὁποῖα ένούμενα ανά δύο σχηματίζουν δραστικόν ίσοένζυμον, ένῶ "είς" άλληλόμορφος εύρέθη σιγῶν.

Διά συγκεντρώσεως 1% Dimethoate δύναται νά παρεμποδισθῇ έκλεκτικῶς τό σύστημα Α in vitro, ένῶ τό σύστημα Β παρεμποδίζεται πλήρως διά διπλασίας τής άνωτέρω συγκεντρώσεως. Κατά τόν θάνατον τοῦ έντόμου διά τής έπιδράσεως Dimethoate παρατηρήθη ὅτι παρεμποδίζεται κατά πρῶτον τό σύστημα Α, άκολούθως δέ τό σύστημα Β.

"Ατομα πληθυσμοῦ δάκου διαφέρουν, ὅθεν, τόσον ποσοτικῶς, ὅσον καί ποιοτικῶς ὡς πρός άρισμένας χολινεστεράσας, αί δέ διαφοραί αὔται είναι κληρονομικαί. Αί ποιοτικαί διαφοραί ὀφείλονται είς τήν ύπαρξιν πολλαπλῶν δραστικῶν άλληλομόρφων, οί ὁποῖοι έλέγχουν τήν σύνθεσιν διαφόρων δραστικῶν ίσοενζύμων. Αί ποσοστικαί διαφοραί ὀφείλονται κατά μέγα μέρος είς τήν ύπαρξιν σιγῶντων άλληλομόρφων." Ατομα ὁμοζυγωτά διά τόν σιγῶντα άλληλόμορφον δέν παράγουν τήν έν

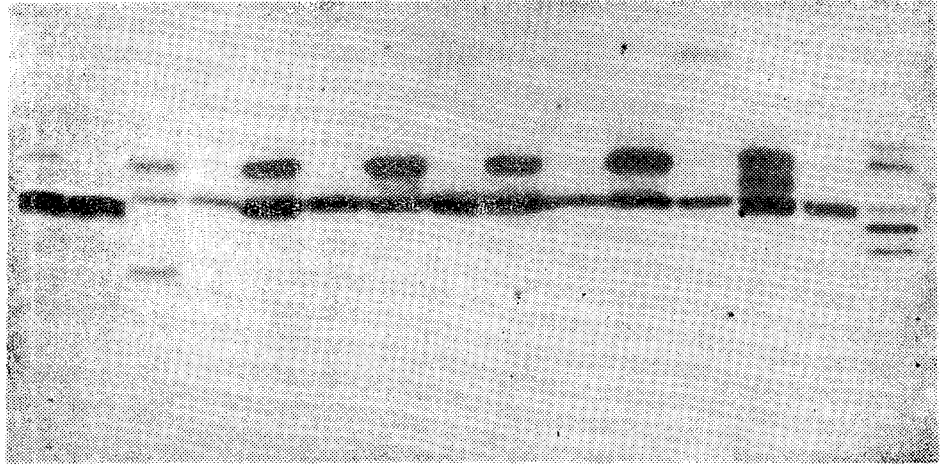
λόγω έστεράσην. Θα ήδύνατο νά υποθέση τις ότι τά έτεροζυγωτά διά τόν σιγώντα άλληλόμορφον άτομα παράγουν τήν ήμισειαν ποσότητα δραστηοϋ ένζύμου τών όμοζυγωτών διά τόν αύτόν δραστηόν άλληλόμορφον ή τών έτεροζυγωτών διά δύο διαφόρου δραστηοδότητος άλληλομόρφους. Τά άνωτέρω ίσχύουν έφ' όσον δεχθώμεν ότι οί σιγώντες άλληλόμορφοι δέν παράγουν δραστηόν ένζυμον. Υπάρχει πάντοτε ή πιθανότης τοιοϋτον ένζυμον νά παράγεται υπό τοϋ σιγώντος άλληλομόρφου, αλλά νά μή καθίσταται δυνατή ή άνίχνευσις αύτοϋ, διότι δέν ύδρολύει είδιαιώς τό χρησιμοποιούμενον διά τήν χρῶσιν τών ήλεκτροφορημάτων υπόστρωμα. Πέραν τής όφειλομένης είς τήν ύπαρξιν σιγώντος άλληλομόρφου ποσοστικής άνομοιομορφίας τών έτόμων, παρατηρήθη και έτέρα, σπανιωτέρα όφειλομένη είς τήν ύπαρξιν χρωματοσωμάτων, φερόντων διπλοποίησιν διά δύο δραστηοϋς άλληλομόρφους τοϋ γόνου Α.

Η ύπαρξις ποσοστικῶν και ποιοτικῶν κληρονομικῶν διαφορῶν τῶν χολινεστερασῶν τοϋ άκμαίου, μάς ώθησε νά έρευνησωμεν :

α) Κατά πόσον ύφίσταται διαφορικῆ θνησιμότης ή διαφορικῆ άνθικτικότης ένδηλουμένη δι' έπιδράσεως διά τῆς αύτῆς ποσότητος όργανοφωσφοριοϋ έστερος.

β) Κατά πόσον ή τυχόν διαπιστουμένη αύτη διαφορικῆ άνθικτικότης όφείλεται είς τόν πολυμορφισμόν τῶν χολινεστερασῶν, ως θα άνέμενε τις έν τῆς "υποθέσεως τῆς χολινεστεράσης".

Τά πειράματα τά άναφερόμενα είς τό θέμα τοϋτο άναλύονται διεξοδικῶς κατωτέρω. Είς τά έν λόγω πειράματα έχρησιμοποιήθη άποκλειστικῶς ό όργανοφωσφορικός έστήρ Dimethoate , διά τοϋ όποίου από έτῶν, σχεδόν κατ' άποκλειστικότητα, καταπολεμεΐται είς τήν χώραν μας ό δάκος τῆς έλαίας.



Εικόν 3

'Ηλεκτροφόρημα αίμαϊων δάκου.' Εξ άριστερών προς τά δεξιά και ανά δύο θέσεις ήλεκτροφορήθη τό αυτό άτομον. Είς τήν άριστεράν θέσιν ήλεκτροφορήθη ή νεφική και ό θώραξ και είς τήν δεξιάν ή κοιλία, ήτοι έξ άριστερών προς τά δεξιά έχομεν:
(Κεφ-Θωρ) - (κοιλ) - (νεφ-Θωρ) - (κοιλ)...όλοκληρον άτομον.

1. 'Υλιόν.

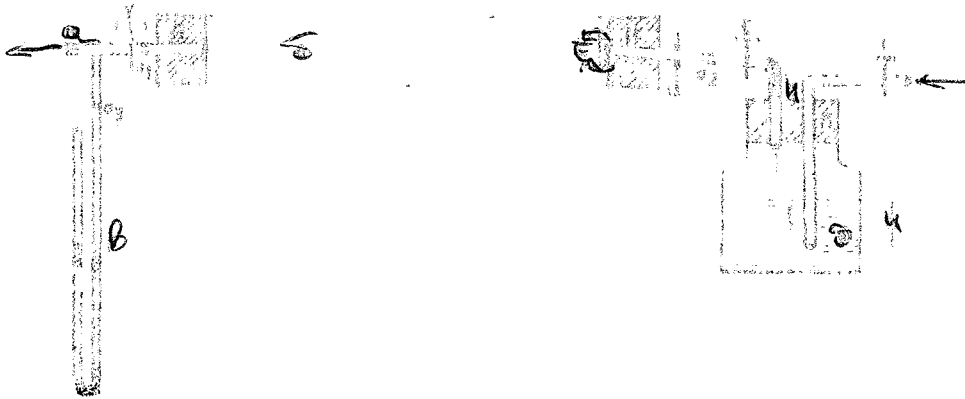
Διά νά διαπιστώσωμεν εάν άτομα δάκου διαφόρου γονοτύπου ως προς τάς έστεράσας Α και Β, παρουσιάζουν διάφορον βαθμόν άντοχής εναντι των όργανοφωσφορικων έστερων, έχρησιμοποιήσαμεν αίμαϊα δάκου εκ του πληθυσμού Στυλίδος. 'Αίμαϊα εκ του άνωτέρω πληθυσμού ώσοτήκησαν είς τό 'Εργαστήριον και επί των αίμαϊων τέκνων έγέγοντο αι επίδράσεις ως θά ίδωμεν κατωτέρω.

Τό χρησιμοποιηθέν L-Dimethoate ήτο παρασιεύασμα του οϊκου Montecatini , περιεκτικότητος 94-96% και είδικου βάρους 0,895 g/cm³, έχρησιμοποιεϊτο δέ ως είχεν. 'Η επίδρασις έγένετο υπό τήν μορφήν μίγματος άτμων Dimethoate και άέρος.

2. Μέθοδος και τρόπος επίδράσεως.

'Η επίδρασις του μίγματος έγένετο τή βοηθεία ύφ'ήμων έπινοηθείσης και κατασκευασθείσης συσκευής, ήτις είκονί-

ζεται εἰς τό σχεδιάγραμμα 1.



Σχεδιάγραμμα 1

Συσκευή ἐπιδράσεως ἀτμῶν Dimethoate .

α) Ἐξοδος πρὸς ἀντλίαν κενοῦ. β) Ὑδραργυρινὸν μανόμετρον. γ) Στρόφιγξ. δ) Ὑάλινος σωλήν. ε) Ἐλασμα. ζ) Στρόφιγξ. η) Φίλτρον βάμβακος. θ) Ὑγρὸν σκευάσμα Dimethoate . ι) Στρόφιγξ. σ₁, σ₂, σ₃) Συνδέσεις, π) Πώματα. d) Διάμετρος ἐσωτερικῆ ὑάλινου σωλήνος ἴση πρὸς 0,3 cm . h) Ἀπόστασις ἐμβαπτίσεως σωλήνος ἐντὸς τοῦ σκευάσματος Dimethoate ἴση πρὸς 5 cm.

Αὕτη ἀποτελεῖται βασικῶς ἀπὸ μίαν ἀντλίαν κενοῦ, ἓν ὑδραργυρινὸν μανόμετρον, ἓνα ὑάλινον σωλήνα καὶ τό δοχεῖον τό περιέχον τὸν ὀργανοφωσφορικὸν ἐστέρα. Ὅλαι αἱ συνδέσεις εἶναι ἀεροστεγεῖς.

Ἡ ἐπίδρασις ἐλάμβανε χώραν εἰς θερμοκρασίαν 20°C καὶ σχετικὴν ὑγρασίαν 60%. Οὕτω εἴχομεν σταθεράν τήν θερμοκρασίαν, τήν σχετικὴν ὑγρασίαν, καὶ τό ἀναρροφητικὸν κενόν. Ἡ ἐπιδρῶσα ποσότης ἀτμῶν Dimethoate ἠλέγχετο διὰ ρυθμίσεως τοῦ χρόνου. Διὰ τοῦ τρόπου αὐτοῦ ποσότης ἀέρος διήρχετο μέσῳ τοῦ Dimethoate παρασύρουσα ποσότητα ἀτμῶν Dimethoate . Τό μῖγμα ἀέρος ἀτμῶν ὁμογενοποιεῖτο διὰ τῆς διόδου αὐτοῦ μέσῳ φίλτρου ἐκ βάμβακος,

είς δέ τόν σωλήνα τόν περιέχοντα τά έντομα είχομεν όμοιογενή καταμερισμόν τοῦ μίγματος, λόγω προσικρούσεως αὐτοῦ επί τοῦ ἐλάσματος καί τελικῶς είχομεν έξοδον τοῦ μίγματος ἐκ τοῦ σωλήνος πρὸς τήν ἀντλίαν κενοῦ. Οὕτω ὑνάμεθα νά εἴπωμεν ὅτι είς δύο διαφόρους ἐπιδράσεις μέ σταθεράς τάς ἀνωτέρω μεταβλητάς, είχομεν ἐφ' ἐκάστου ἐντόμου τήν αὐτήν ἐπιδρῶσαν ποσότητα ἀτμῶν Dimethoate, ὡς τοῦτο προκύπτει καί ἐκ τῆς δοκιμασίας τῆς όμοιογενείας τοῦ πειραματισμοῦ. Ὑγροποίησις ἀτμῶν Dimethoate ἐπί τῶν παρεϊῶν τοῦ σωλήνος δέν παρατηρήθη.

Μετά τήν ἐπίδρασιν τά έντομα ἐφέροντο ἐντός τοῦ θαλάμου ἐκτροπῆς (θερμοκρασία $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$, σχετικῆ ὑγρασία 65%), ἐτοποθετοῦντο δέ ἐντός κλωβοῦ ἀπομακρυνόμενα ἀλλήλων καί ἠκολούθει διαχωρισμός αὐτῶν, ὡς ἀναφέρεται κατωτέρω.

3. Τά προκαταρτινά πειράματα.

Τά προκαταρτινά ταῦτα πειράματα είχον διερευνητικόν σκοπόν, ὅσον ἀφορᾷ ἀφ' ἐνός μέν είς τήν ἀνεύρεσιν ὑπαρχούσης πιθανῆς σχέσεως μεταξύ ἐστερασιῶν φαινοτύπων καί τῆς σχετικῆς ἀνθεκτικότητος τῶν ἐχόντων αὐτοῦς ἐντόμων είς τήν ἐπίδρασιν ἀτμῶν Dimethoate, ἀφ' ἑτέρου δέ είς τόν προσδιορισμόν τῶν συνθηκῶν ἐπιδράσεως.

Πλήν τοῦ χρόνου (t) αἱ λοιπαί συνθηκῆαι ἐπιδράσεως διετηροῦντο σταθεραί (θερμοκρασία 20°C , διαφορά στάθμης ὑδραργύρου 64 cm, ὑγρασία 60%). Διά τῆς μεταβολῆς τοῦ χρόνου ἐπιδράσεως, ὡς ἤδη ἐλέχθη, ἐπετυγχάνετο ὁ καθορισμός τῆς ἐπιδρῶσης ποσότητος τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος.

Μετά παρέλευσιν 24 ὥρῶν ἀπό τῆς ἐπιδράσεως, ἐγένετο ὁ διαχωρισμός τῶν ἐντόμων είς δύο κατηγορίας, τήν τῶν νεκρῶν καί τήν τῶν ἐπιζησάντων. Διά τῆς ἠλεκτροφορήσεως καθωρίζετο ὁ φαινότυπος τῶν ἀτόμων, ὅσον ἀφορᾷ τοῦς γόνους Α καί Β.

Οἱ φαινότυποι τῶν ἀτόμων ἀναφέρονται είς τά ἀποτελέσματα ὡς ἀνήκοντες είς δύο τάξεις, είς τήν τάξιν τῶν ἐτεροζυγωτῶν καί είς τήν τάξιν τῶν ὁμοζυγωτῶν ἀτόμων. Κατά ταῦτα ἐτεροζυγωτά εἶναι τά διά δύο διαφόρους δραστικούς ἀλληλομόρφους ἐτεροζυγωτά ἄτομα, ἐμφανίζοντα δύο ζῶνας είς τό σύστημα Α, καί τρεῖς ζῶνας είς τό σύστημα Β. Ὁμοζυγωτά ὀνομάζονται τά ἄτομα τά ὅποια ἐμφανίζουν μίαν ἢ οὐδεμίαν ζώνην, ἥτοι τά ὁμοζυγωτά δι' ἓνα δραστικόν

άλληλόμορφον ή τά έτεροζυγωτά διά τόν σιγώντα άλληλόμορφον. Ο συμβολισμός ούτος προεκρίθη διότι καθίσταται έν τών πραγμάτων άδύνατος ή άκριβής γνώσις τοϋ γονοτύπου άτόμου παρουσιάζοντος μίαν ήλεκτροφορητικήν ζώνην. Τό άτομον τοϋτο δύναται νά εΐναι είτε όμοζυγωτόν είτε έτεροζυγωτόν διά τόν σιγώντα άλληλόμορφον. Μόνον διά καταλήλων διασταυρώσεων θά ήδύνατο νά καταστῆ γνωστός ό άκριβής γονότυπος τοϋ άτόμου, ιδία δέ εάν ύπήρχεν εις τήν διάθεσιν μας στελέχος όμοζυγωτόν διά τόν σιγώντα άλληλόμορφον. Η κατασκευή τοιούτου στελέχους δέν καθίσταται δυνατή, διότι ή μέθοδος τῆς έν τῷ 'Εργαστηρίῳ έκτροφῆς τοϋ έντόμου δέν έπιτρέπει τοϋτο πρός τό παρόν. Ήξ άλλου ό μέγας αριθμός άτόμων τά όποια έχρησιμοποιήθησαν τόσον εις τά προκαταρτινά, όσον και εις τά κύρια πειράματα, δέν καθιστά εύχερηή τήν έπακριβῆ διά διασταυρώσεων γνώσιν τοϋ γονοτύπου ένός εκάστου τούτων.

Εις τόν πίνακα (12) αναγράφονται τά άποτελέσματα τεσσάρων μικροϋ αριθμοϋ προκαταρτικῶν πειραμάτων. Καθίσταται φανερόν έν τών τεσσάρων τούτων πειραμάτων, ότι ή άνθικτικότης τῶν άτόμων αύξάνει μέ τήν ήλικίαν τῶν άκμαίων. Ως έν τούτου άπεφασίσθη όπως τά εις τό μέλλον χρησιμοποιηθησόμενα άτομα εΐναι πάντοτε τῆς αύτῆς περιπού ήλικίας. Επίσης δέν φαίνεται ότι ύπάρχει διαφορά τῆς σχετικῆς άνθικτικότητος εις τά όργανοφωσφορικά, όφειλομένη εις διαφοράν τοϋ φύλου. Οντως άρρενα και θήλεα άτομα τῆς αύτῆς ήλικίας, δέν διαφέρουν ως πρός τό ποσοστόν τῶν έπιζώντων, έφ' όσον αί συνθήκαι πειραματισμοϋ εΐναι αί αύταί.

Πίναξ 12

Πείραμα	Χρόνος έπιδρ.	Φύλον	Ηλικ.	αριθ. άτόμ.	αριθ. έπιζ.	Έτεροζυγωτά (διαφορά συχνότητος εις έπιζήσαντα από τῆς τοϋ συνόλου)	
						Γόνος Α	Γόνος Β
1	30 sec	♂ ♂	1 ήμ.	9	2	+ 33%	+6%
2	45 sec	♂ ♂	3 ήμ.	10	5	+ 20%	+10%
3	60 sec	♂ ♂	4 ήμ.	14	5	+ 44%	+23%
4	60 sec	♀ ♀	4 ήμ.	12	4	+ 38%	-17%

Και εις τά τέσσαρα ταϋτα πειράματα παρατηρεΐται ότι τά έτεροζυγωτά άτομα διά τόν γόνον Α έμφανίζονται εις μεγαλυτέραν συχνότητα μεταξύ τῶν έπιζώντων άτόμων. Τοϋτο δέν φαίνεται νά ίσχύη εις τόν γόνον Β.

Είς τόν πίνακα (12) καί είς τήν τελευταίαν στήλην αὐτοῦ, ἔχει ἀναγραφῆ ἡ διαφορά συχνότητος τῶν ἑτεροζυγ-
τῶν ἀτόμων εἰς τήν κατηγορίαν τῶν ἐπιζησάντων ἀτόμων ἀπό
τήν συχνότητα τῶν ἑτεροζυγῶν ἀτόμων εἰς τό σύνολον τῶν
ὑποστάντων τήν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορινοῦ. Καί εἰς
τά τέσσαρα περράματα διά τόν γόνον Α ἡ φορά εἶναι ἡ αὐτή.

Δέν εἶναι στατιστικῶς ὀρθόν νά ἀθροισθοῦν τά ἀποτε-
λέσματα τῶν τεσσάρων πειραμάτων, διότι ἡ ἡλικία τῶν ἀτό-
μων καί αἱ συνθῆκαι ἐπιδράσεως δέν ἦσαν αἱ αὐταί. Παρά
ταῦτα τό κοινόν γνώρισμα τῶν ἐπιζησάντων ἀτόμων εἶναι ὅ-
τι ἐπέζησαν τῆς ἐπιδράσεως τοῦ ὀργανοφωσφορινοῦ ἐστέρος,
ἐνῶ τό κοινόν γνώρισμά τῶν νεκρῶν ἀτόμων εἶναι ὅτι δέν ἤ-
δυνήθησαν νά ἐπιζήσουν τοιαύτης ἐπιδράσεως. Ἡ ἀθροιστική
χρήσις τῶν ἀποτελεσμάτων τῶν τεσσάρων δοκιμῶν θά ἦδύνατο
νά παράσχη, διερευνητικῶς μόνον πληροφορίαν τινά, ὡς πρός
τά ἀποτελέσματα τῆς ἐπιδράσεως, πληροφορίαν ἐπί τῆς ὀ-
ποίας θά ἦδύνατο νά στηριχθῆ ὁ ὑπόλοιπος πειραματισμός.
Εἰς τόν πίνακα 13 ἐπιχειρεῖται στατιστική ἀνάλυσις καί
τῶν τεσσάρων δοκιμῶν συγχρόνως. Καθίσταται φανερόν ὅτι
διά μέν τόν γόνον Α δέν ὑπάρχει ὁμοιογένεια μεταξύ ἐπι-
ζώντων καί νεκρῶν ἀτόμων, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν συχνότητα
τῶν ὁμοζυγῶν καί τῶν ἑτεροζυγῶν ἀτόμων. Ἀντιθέτως τοιαύτη
ὁμοιογένεια παρατηρεῖται διά τόν γόνον Β.

Πίναξ 13

Γ ό ν ο ς Α					Γ ό ν ο ς Β						
		Ἐτεροζ.		Ὁμοζ.			Ἐτεροζ.		Ὁμοζυγ.		
Ἐπιζ.	12	(7)	4	(9)	16	Ἐπιζ.	8	(9)	8	(7)	16
Νεκρά	8	(13)	21	(16)	29	Νεκρά	16	(15)	13	(14)	29
	20		25		45		24		21		45
$\chi^2 = 9,835, \text{B.E.} = 1$ $0,01 > P > 0,001$					$\chi^2 = 0,392, \text{B.E.} = 1$ $0,70 > P > 0,50$						

Ἡ πιθανότης νά εἶναι ὁμοιογενής ἡ κατανομή ἑτεροζυ-
γῶν καί ὁμοζυγῶν ἀτόμων εἰς τά ἐπιζήσαντα καί νεκρά
ἄτομα διά τόν γόνον Α, κυμαίνεται μεταξύ 1% καί 1%. Δύο
ὑποθέσεις δύναται νά διατυπωθοῦν διά νά ἐξηγηθῆ ἡ διαφο-
ρά αὕτη. Ἡ πρώτη εἶναι ὅτι ὄντως ἄτομα διαφόρου ἡλεκτρο-
φορητικοῦ φαινοτύπου διά τόν γόνον Α διαφέρουν ὡς πρὸς
τήν σχετικὴν ἀνθεκτικότητα αὐτῶν εἰς τήν ἐπίδρασιν τοῦ

όργανοφωσφορινοῦ ἑστέρος. Ἡ δευτέρα ἐξήγησις θά ἦτο ὅτι εἰς τὰ νεκρά ἄτομα ἔχουν παρεμποδισθῆ διά τῆς ἐπιδράσεως τοῦ ὄργανοφωσφορινοῦ ὠρισμένα ἰσοένζυμα, οὕτως ὥστε ἡ διαφορά αὐτή νά ὀφείλεται εἰς τήν ὑφ' ἡμῶν ἀκολούθουμένην τεχνικήν. Τόσον ἡ χρῶσις τῶν ἰσοενζύμων τοῦ συστήματος Α, ὅσον καί ἡ γενική ὄψις τοῦ ἠλεκτροφορήματος δέν καθιστοῦν πιθανήν τήν δευτέραν ταυτην ὑπόθεσιν, τούλάχιστον διά τὰς τέσσαρας αὐτάς προπαρατηρητικὰς δοκιμάς.

Κατόπιν τούτων ἀπεφασίσθη ὅπως ἐπιχειρηθοῦν πειράματα εἰς μεγάλην κλίμακα περιλαμβάνοντα δηλαδή μέγαλον ἀριθμόν ἀτόμων τῆς αὐτῆς ἡλικίας.

Διά νά κατοχυρωθῆ τό πειραματικόν ἀποτέλεσμα ἔναντι τῆς προηγουμένως διατυπωθείσης δευτέρας ὑποθέσεώς μας, ἀπεφασίσθη ὅπως τμήμα τοῦ ὑλικοῦ ἀποτελέσει μάρτυρα. Τά ἀνήκοντα εἰς τόν μάρτυρα ἄτομα δέν θά ὑφίσταντο τήν ἐπίδρασιν τοῦ ὄργανοφωσφορινοῦ ἑστέρος. Ἡ συχνότης τῶν ἑτεροζυγωτῶν ἀτόμων τοῦ μάρτυρος θά ἔπρεπε νά μή εἶναι στατιστικῶς διάφορος τῆς συχνότητος τῶν ἑτεροζυγωτῶν ἀτόμων εἰς τό σύνολον τῶν νεκρῶν καί τῶν ἐπιζήσαντων, ἤτοι τῶν ἀτόμων τὰ ὁποῖα ὑπέστησαν τήν ἐπίδρασιν τοῦ Dimethoate .

Τόσον εἰς τὰς τέσσαρας προπαρατηρητικὰς δοκιμάς, ὅσον καί εἰς τὰ ἐπακολούθησαντα δύο πειράματα, τῶν ὁποίων τὰ ἀποτελέσματα θά ἀναφερθοῦν κατωτέρω, ἐγένετο χρῆσις τῶν ρυθμιστικῶν διαλυμάτων τοῦ Roulik κατά τήν ἠλεκτροφόρησιν τῶν ἐντόμων. Τά ἔντομα τῶν δύο πειραμάτων, τὰ ὁποῖα ἐπηκολούθησαν, εἶχον ἡλικίαν μεταξύ 5 καί 11 ἡμερῶν καί προήρχοντο ἐκ τοῦ αὐτοῦ πληθυσμοῦ. Τά ἄτομα αὐτά ἐτοποθετοῦντο ὡς ἀκιμαῖα ἐντός πληθυσμιακοῦ κλωβοῦ. Τῆς βοήθειᾳ εἰδικῆς συσκευῆς ἀναρροφήσεως ἐλαμβάνοντο ἐκ τοῦ κλωβοῦ τούτου τὰ 2/3 τῶν ἀτόμων καί ἐτοποθετοῦντο ἐντός τῆς συσκευῆς εἰς ἣν θά ὑφίσταντο τήν ἐπίδρασιν, χωρίς νά ὑφίστανται νάρκωσιν. Τά ἔντομα ταῦτα ἀπετέλουν τό δείγμα ἐπί τοῦ ὁποίου θά ἐπέδρα ὁ ὄργανοφωσφορινός ἐστήρ. Τά ἐναπομείναντα ἄτομα ἐντός τοῦ κλωβοῦ, ἀπετέλουν τόν μάρτυρα. Αἱ συνθήκαι ἐπιδράσεως καί διά τὰ δύο αὐτά πειράματα ἦσαν αἱ ἀκόλουθοι: θερμοκρασία 20°C, ὑγρασία 60%, διαφορά στάθμης ὑδραργύρου 64cm, καί χρόνος ἐπιδράσεως 60sec.

Λόγω τῆς σχετικῶς μεγάλης ἡλικίας τῶν ἐντόμων, τό ποσοστόν τῆς θνησιμότητος ἦτο μικρόν. Μετά πάροδον 72 ὡρῶν ἀπό τῆς ἐπιδράσεως, ἐγένετο ὁ διαχωρισμός μεταξύ

ἐπιζώντων καί νεκρῶν ἀτόμων, οὕτως ὥστε νά μή ὑπάρχη ἀμφιβολία ὡς πρός τήν μελλοντικήν τύχην ὀρισμένων ἀτόμων, τά ὅποια εἶχον ὑποστή μερικὴν παράλυσιν. Ἐπιηκολούθει ἡλεκτροφόρησις τῶν ἐπιζώντων καί νεκρῶν ἀτόμων τοῦ δείγματος, ὡς καί τῶν ἀτόμων τοῦ μάρτυρος κατὰ τά εἰωθότα. Διά τόν γόνον A παρατηρήθη ἀνομοιογένεια μεταξύ μάρτυρος καί δείγματος. "Οὕτως τά ἑτεροζυγωτά ἄτομα εἰς τόν μάρτυρα εἶχον συχνότητα ὑψηλοτέραν τῆς τοῦ δείγματος καί ἡ διαφορά αὕτη τῶν συχνοτήτων ἦτο στατιστικῶς σημαντική." Ἀλλωστε καί ἡ ὄψις πολλῶν ἡλεκτροφορημάτων ἐδείκνυε μερικὴν τοῦλάχιστον καταστροφὴν τῶν ἑστερασῶν τοῦ συστήματος A τῶν ἀτόμων τοῦ δείγματος. Κατέστη λοιπόν φανερόν ὅτι ἡ ἀκολούθηθεῖσα τεχνικὴ δέν ἦτο ἡ ἀρμόζουσα διὰ τὴν ἐξαγωγήν ἀσφαλῶν συμπερασμάτων.

Ἐν ἀντιθέσει πρός τό σύστημα A, τό σύστημα B παρεῖχε σαφεῖς καί εὐνόως ἀναγνώσιμους εἰκόνας. Ἡ ποιότης τῶν ἡλεκτροφορημάτων καθίστα ἀπίθανον τὴν καταστροφὴν τῶν ἑστερασῶν τοῦ συστήματος B, εἰς τοιοῦτον τοῦλάχιστον βαθμόν, ὥστε νά μή δύναται νά διαγνωσθῇ ὁ ἀληθὴς φαινότυπος τῶν ἀτόμων.

Ὁ πίναξ 14 δίδει τά ἀποτελέσματα τῶν παρατηρήσεων τῶν δύο πειραμάτων διὰ τό σύστημα B.

Πίναξ 14

Γόνος B

	α' Πείραμα			β' Πείραμα		
	Ἑτεροζ.	Ὅμοζ.	Σύνολον	Ἑτεροζ.	Ὅμοζ.	Σύνολον
Ἐπιζήσ.	40	47	87	75	79	154
Νεκρά	19	36	55	22	33	55
Δεῖγμα	59	83	142	97	112	209
Μάρτυρ	47	43	90	51	42	93
Σύνολον	106	126	232	148	154	302

Παρά ταῦτα ἡ δοκιμασία ὁμοιογενείας μεταξύ δείγματος καί μάρτυρος, ὡς πρός τὴν συχνότητα τῶν ὁμοζυγωτῶν καί ἑτεροζυγωτῶν ἀτόμων, ἔδωκεν ἀποτελέσματα οὐχί ἀπολύτως ἱκανοποιητικὰ. Οὕτω, διὰ μὲν τό πρῶτον πείραμα καί ἓνα βαθμόν ἐλευθερίας τό χ^2 ἰσοῦται πρός 2,635, ἥτοι ἡ πιθανότης ὁμοιογενείας εἶχε τιμὴν μεταξύ 20%-10%, διὰ δέ τό δεῦτερον πείραμα ἡ πιθανότης αὕτη εἶχε τιμὴν μεταξύ 30%-20%, (B. F. =

Πίναξ 15

Κινητικότητα							
Γόνος Β							
	Ήσυχα		Κινούμενα		χ^2	Β.Ε.	P
	Έτεροζ.	Όμοζ.	Έτερ.	Όμοζ.			
Πείραμα α	59	83	47	43	2,635	1	0,20-0,10
Πείραμα β	97	112	51	42	1,554	1	0,30-0,20
Πείραμα γ	38	57	52	43	4,138	1	0,05-0,02
Πείραμα δ	30	34	44	61	0,899	1	0,70-0,50
Πείραμα ε	47	65	53	42	3,817	1	0,10-0,05
Σύνολον	271	351	247	231	7,183	1	0,01-0,001
Γόνος Α							
Πείραμα γ	48	49	45	50	0,083	1	0,80-0,70
Πείραμα δ	32	31	56	51	0,100	1	0,80-0,70
Πείραμα ε	48	63	47	49	0,704	1	0,50-0,30
Σύνολον	128	143	148	150	0,254	1	0,70-0,50
Όμοιογένεια							
Γόνος Β							
1.	Όμοιογένεια	ήσυχων	(έτερ/όμοζ.)		1,745	4	0,80-0,70
2.	"	κινουμ.	(έτερ/όμοζ.)		5,256	4	0,30-0,20
3.	"	5 πειραμ.	(έτερ/όμοζ.)		1,588	4	0,90-0,80
4.	"	5 πειραμ.	(ήσυχ/κινουμ.)	49,856		4	<<0,001
5.	"	ήσυχ/κιν.	(έτερ/όμοζ.)		7,183	1	0,01-0,001
6.	"	ήσυχ/κιν. τών	(γ-δ-ε). (έτερ./όμοζ.)		3,699	1	0,10-0,05
Γόνος Α							
1.	Όμοιογένεια	ήσυχων	(έτερ/όμοζ.)		0,997	2	0,70-0,50
2.	"	κινουμ.	(έτερ/όμοζ.)		0,546	2	0,80-0,70
3.	"	3 πειραμ.	(έτερ/όμοζ.)		1,353	2	0,70-0,50
4.	"	πειραμ.	(ήσυχ/κινουμ.)		6,834	2	0,05-0,02
5.	"	ήσυχ/κινουμ.	(έτερ/όμοζ.)		0,254	1	0,70-0,50

= 1, $\chi^2=1,554$). Η όμοιογένεια αυτή, αν και μικρά, θα ήδύνατο να έκληφθη ως ικανοποιητική, εάν δεν παρατηρείτο συγχρόνως ότι και εις τά δύο πειράματα ο μάρτυς περιείχε περισσότερα έτεροζυγωτά άτομα τών όμοζυγωτών. Τουτό ενέβαλε εις σκέψεις, κατά πόσον δηλαδή ο όργανοφωσφοριός έστήρ δεν παρημποδίζεν ίσοένζυμά τινα και τοϋ συστήματος Β. Η έξήγησις αυτή όμως δεν ήδύνατο εύόλως να γίνη άποδεικτή, άφ' ενός μέν διότι ή ποιότης τών ήλεκτροφορημάτων ήτο τοιαύτη, ώστε να μή δικαιολογηται τοιούτου είδους έξήγησις, άφ' έτέρου δέ διότι θα έπρεπε δύο συγχρόνως ίσοένζυμα να παρεμποδίζωνται εις ώρισμένα έτεροζυγωτά άτομα τοϋ δείγματος, ένω τό τρίτον ίσοένζυμον να αναγιγνώσκεται εύχερως, διά να δικαιολογηται ή διαφορική συχνότης μεταξύ έτεροζυγωτών τοϋ μάρτυρος και τοϋ δείγματος.

Κατόπιν τούτων έσκέφθημεν ότι δυνατόν ή λήψις τοϋ δείγματος να είναι τοιαύτη, ώστε τά άτομα αυτού πρό και ανεξαρτήτως τής επίδράσεως τοϋ όργανοφωσφοριού έστέρος να διαφέρουν ως πρός τούς γονοτύπους τοϋ συστήματος Β, άπό τόν μάρτυρα. Η δι' άναρροφήσεως λήψις τών άτόμων τοϋ δείγματος έπιτρέπει τήν έπιλογήν τών ήσύχων, ήτοι τών μη κινουμένων άτόμων, τά όποια θα χρησιμοποιηθοϋν ως δείγμα. Οντως, ο πειραματιστής τείνει να συλλάβη διά τοϋ άναρροφητήρος τά επί τών παρειών τοϋ κλωβοϋ εύρισκόμενα άτομα μέ μεγαλυτέραν συχνότητα άπό τά έντός τοϋ κλωβοϋ ίπτάμενα.

Πρός έξακρίβωσιν τής άνωτέρω ύποθέσεως διενηργήθησαν τρία επί πλέον πειράματα διαχωρισμοϋ τών άτόμων ως πρός τήν κινήτικότητα αυτών. Ούδέν τών οϋτω διαχωριζόμενων άτόμων ύφίστατο τήν επίδρασιν τοϋ όργανοφωσφοριού έστέρος, αλλά, εύθύς μετά τόν διαχωρισμόν, τά άτομα ήλεκτροφοροϋντο διά να πιστοποιηθοϋν οι έστερασινοί φαινότυποι τούτων.

Είς τόν πίνακα 15 αναγράφονται τά άποτελέσματα τών τριών αυτών πειραμάτων (πειράματα γ, δ, ε) όμοϋ μετά τών άποτελεσμάτων τών δύο πρώτων πειραμάτων. Είς άπαντα τά πειράματα, πλην ενός, τοϋ δ, παρατηρείται και πάλιν ότι τά ήσυχα άτομα έμφανίζουν συχνότητα όμοζυγωτών άτόμων, ύψηλοτέραν τής τών κινουμένων, εις μίαν δέ περίπτωσιν (πειράμα γ) ή διαφορά αυτή είναι στατιστικώς σημαντική ($0,05 > P > 0,02$). Είς τόν πίνακα 15 δίδονται έν συνεχεία στατιστικά έδοκιμασίαι διά τήν όμοιογένειαν τών 5 άναφερθέντων πειραμάτων. Οί χρησιμοποιηθέντες πληθυσμοί και τών πέντε πειραμάτων είναι όμοιογενείς ως πρός τήν συχνότη-

τα τῶν ἑτεροζυγῶτων καὶ ὁμοζυγῶτων ἀτόμων. Ἐπίσης ἡ κατηγορία τῶν ἡσύχων ἀτόμων εἶναι ὁμοιογενῆς καὶ εἰς τὰ πέντε πειράματα, ὡς πρὸς τὴν συχνότητα τῶν ἑτεροζυγῶτων καὶ ὁμοζυγῶτων ἀτόμων. Τὸ αὐτὸ ἰσχύει καὶ διὰ τὰ κινούμενα ἄτομα. Ἀνομοιογένεια παρατηρεῖται ὡς πρὸς τὰς συχνότητας τῶν ἡσύχων καὶ τῶν κινουμένων ἀτόμων μεταξύ τῶν πέντε πειραμάτων. Ἡ ἀνομοιογένεια αὕτη ὀφείλεται εἰς τὸ ὅτι τὰ κριτήρια πρὸς διαχωρισμὸν μεταξύ ἡσύχων καὶ κινουμένων ἀτόμων δὲν ἦσαν πάντοτε τὰ αὐτά. Ἡ ἀνομοιογένεια αὕτη ὀφείλεται ἐν πολλοῖς εἰς τὸ πείραμα δ.

Αἱ ἀνωτέρω διαπιστώσεις ἐπιτρέπουν τὴν ἀθροιστικὴν χρῆσιν καὶ τῶν πέντε πειραμάτων, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν ἀπάντησιν τοῦ ἀκολούθου ἐρωτήματος, κατὰ πόσον δηλαδὴ διαφέρει ἡ συχνότης τῶν ἑτεροζυγῶτων ἀτόμων εἰς τὰ ἡσυχα καὶ τὰ κινούμενα ἄτομα.

Ἡ στατιστικὴ δοκιμασία τῆς ὁμοιογενείας δεικνύει ὅτι ἡ συχνότης τῶν ἑτεροζυγῶτων ἀτόμων εἶναι ὑψηλότερα εἰς τὰ κινούμενα ἄτομα, διότι ἡ πιθανότης ἔχει τιμὴν μεταξύ 0,01 καὶ 0,001.

Πλὴν τοῦ ἐνδιαφέροντος τὸ ὁποῖον παρουσιάζει ἡ παρατήρησις αὕτη, ὅτι δηλαδὴ οἱ γονότυποι τοῦ γόνου Β, ἢτοι οἱ γονότυποι γόνου καθορίζοντος μίαν ψευδοχολινεστεράσην, προσδίδουν καὶ διάφορον κινητικότητα ἢ διάφορον ἀντίδρασιν τῶν ἀτόμων εἰς ἐρέθισμα, ὡς εἶναι ἡ προσέγγισις τοῦ ἀναρροφητήρος, αὕτη ἐπέβαλε τὸν διαχωρισμὸν μαρτύρων καὶ δειγμάτων κατὰ διάφορον τρόπον εἰς τὰ ἐπακολουθήσαντα πειράματα.

Πρὶν ἐπανέλθωμεν εἰς τὸ θέμα τῆς σχετικῆς ἀνθεκτικότητος εἰς τοὺς ὀργανοφωσφορικὸς ἐστέρας, εἶναι σκόπιμον νὰ ἐπισημάνωμεν τὰ ἀκόλουθα : ἐάν ἄτομα ἑτεροζυγῶτα διὰ τὸν γόνον Β δεικνύουν μεγαλύτεραν κινητικότητα, εἶναι πιθανόν εἰς τὰς μεταξύ τῶν πληθυσμῶν μεταναστεύσεις νὰ λαμβάνουν μέρος συχνότερον τὰ ἑτεροζυγῶτα διὰ τὸν γόνον Β ἄτομα. Τοῦτο θὰ ἐπέτρεπε τὸν ἐμπλουτισμὸν ἐνὸς πληθυσμοῦ λόγῳ τῆς ὑπάρξεως μικρᾶς μεταναστεύσεως, μέ περισσοτέρους ἀλληλομόρφους, παρὰ ἐάν ἀδιακρίτως μετηνάστευον ὁμοζυγῶτα ἢ ἑτεροζυγῶτα ἄτομα μέ τὴν αὐτὴν πιθανότητα μεταναστεύσεως. Ἡ ἀπάλειψις τῶν ἀλληλομόρφων, κυρίως τῶν ἐχόντων μικρὰς συχνότητας, λόγῳ τοῦ φαινομένου τῆς γενετικῆς παρεκκλίσεως, θὰ ἠδύνατο νὰ ἰσοροπηθῇ ἀποτελεσματικώτερον διὰ τῆς μεταναστεύσεως καὶ οὕτω νὰ ἐξηγηθῇ ἡ διατήρησις τοῦ πολυμορφισμοῦ. Εἰς τὸν πίνακα (15) ἀνευρίσκονται ἐν συνεχείᾳ τὰ ἀντίστοιχα δε-

δομένα διά τόν γόνον Α, τόσον εἰς ἕναστον πείραμα, ὅσον καί εἰς τό σύνολον τῶν τριῶν πειραμάτων (γ,δ,ε). Παρατηροῦμεν ὅτι ὡς πρός τοὺς γονοτύπους τοῦ γόνου Α, τά ἥσυχα ἄτομα δέν διαφέρουν τῶν κινουμένων.

4. Τά κύρια πειράματα.

Κατά τήν σχεδίασιν τῶν κυρίων πειραμάτων ἐλήφθησαν ὑπ' ὄψιν αἱ δυσχέρειαι καί αἱ παρατηρήσεις αἱ ὁποῖαι προέκυψαν ἐν τῆς σειρᾶς τῶν προκαταρτικῶν πειραμάτων. Οὕτω ὁ πειραματισμός μεταβλήθη ὡς ἀκολούθως :

Πρῶτον, ὁ διαχωρισμός τοῦ μάρτυρος καί τοῦ δείγμα - τος ἐγένετο εἰς τό στάδιον τῆς νύμφης, οὕτως ὥστε νά μή παρεμβάλληται παράγων ἐπιλογῆς, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τήν κινή - τικότητα τῶν ἀκμαίων ἐντόμων. Ἀκολούθως, μετά τόν πειρα - ματισμόν, τά ἔντομα ἐποθετοῦντο ἐντός κλωβοῦ καί μειά πάροδον τριῶν μόνον ὥρῶν ἐγένετο ὁ διαχωρισμός τῶν ἐντό - μων εἰς τὰς ἀκολούθους τρεῖς κατηγορίας :

α) Εἰς ὅσα ἵπταντο ἢ ἀνήρχοντο ἐπί τῶν πλευρῶν τοῦ κλωβοῦ. Ταῦτα ἐχαρακτηρίζοντο ὡς ἐ π ι ζ ῆ σ α ν τ α.

β) Εἰς τὰ εὐρισκόμενα ἐν ὑπτία κατακλίσει, ἀλλά πα - ρουσιάζοντα μερικᾶς ἀντανικλαστικᾶς κινήσεις. Ταῦτα ἐχα - ρακτηρίζοντο ὡς ἐ ν δ ι ἄ μ ε σ α.

γ) Εἰς τὰ οὐδεμίαν κίνησιν παρουσιάζοντα, ἔχοντα τοὺς πόδας συνεπιυγμένους ἔμπροσθεν τοῦ θώρακος καί πολλάκις τὰς πτέρυγας ἐτεταμένας καθέτως πρός τόν ἄξονα τοῦ σώ - ματος αὐτῶν. Ταῦτα ἐχαρακτηρίζοντο ὡς ν ε κ ρ ἄ.

Παρέστη ἀνάγκη νά πραγματοποιηθῇ ἡ διαλογή τῶν ἐν - τόμων τρεῖς ὥρας μετά τήν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος, διότι παρατηρήθη ὅτι κατ' αὐτόν τόν τρόπον ἠδύ - ναντο νά ἀναγνωσθοῦν εὐχερῶς τὰ ἰσοένζυμα τὰ καθοριζόμε - να ὑπό τοῦ γόνου Α. Βεβαίως κατ' αὐτόν τόν τρόπον δέν κα - θίστατο δυνατή ἡ πλήρης κατάταξις ἀπάντων τῶν ἀτόμων εἰς νεκρά καί εἰς ἐπιζήσαντα, δεδομένου ὅτι μία, σημαντική τόν ἀριθμόν, κατηγορία ἀτόμων εἶχεν ὑποστῆ μερικὴν τού - λάχιστον παράλυσιν. Πρόκειται περί τῆς κατηγορίας τῶν ἐν - διαμέσων.

Ἐν γενομένης ἐτέρας δοκιμῆς κατέστη σαφές ὅτι διά ἄτομα τῆς αὐτῆς ἡλικίας μέ τά χρησιμοποιηθέντα εἰς τὰ κύ - ρια πειράματα καί ὑπό τὰς αὐτάς συνθήκας ἐπιδράσεως τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος, τὰ μετά τρίωρον διαχωρισθέντα ὡς ἐνδιάμεσα ἄτομα, ἀπέθνησκον κατὰ πλειοψηφίαν μετά πα -

ρέλευσιν τριῶν ἡμερῶν. Ὡστε ἡ κατηγορία τῶν ἐνδιαμέσων ἀτόμων οὐσιαστικῶς ἀνήκει εἰς τὰ νεκρά.

Τά λεπτομερῆ ἀποτελέσματα δοκιμῆς, τοιαύτης φύσεως, εἶναι τὰ ἀκόλουθα : 29 ἀκιμαῖα ἄτομα 6 ἡμερῶν ὑπέστησαν τήν αὐτήν ἐπίδρασιν ἀτμῶν Dimethoate, ὡς καί τὰ δείγματα τῶν τεσσάρων κυρίων πειραμάτων. Τά ἄτομα παρηκολούθηθησαν ἐπὶ χρονικόν διάστημα 60 ἡμερῶν πρὸς διαπίστωσιν τῆς τελικῆς κατανομῆς τῶν ἐνδιαμέσων.

Ὁ πίναξ 16 δεικνύει τὰ παρατηρηθέντα ἀποτελέσματα τοιαύτης ἐπιδράσεως.

Πίναξ 16

	3 h	24h	36h	48h	72h	1440h
Ἐπιζήσαντα	7	7	7	7	7	7
Ἐνδιάμεσα	14	5	3	1	0	0
Νεκρά	8	17	19	21	22	22
Σύνολον	29	29	29	29	29	29

Μετά πάροδον 72 ὥρῶν τό σύνολον τῆς κατηγορίας τῶν ἐνδιαμέσων κατενεμήθη εἰς τήν κατηγορίαν τῶν νεκρῶν. Μετά πάροδον ἐτέρων 1440 ὥρῶν οὐδέν ἐκ τῶν 7 ἐπιζησάντων ἀπεβίωσεν.

Ἄλλωστε αἱ στατιστικαί δοκιμασίαι ὁμοιογενείας μεταξὺ νεκρῶν καί ἐνδιαμέσων, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς γονοτύπους τοῦ γόνου A, δεικνύουν καί εἰς τὰ τέσσαρα πειράματα ὅτι ὄντως τὰ νεκρά καί τὰ ἐνδιάμεσα ἀνήκουν εἰς τήν αὐτήν κατηγορίαν, ἥτις διαφέρει ἀπὸ ἀπόψεως ὁμοιογενείας τῆς κατογορίας τῶν ἐπιζησάντων.

Μετά παρέλευσιν τριῶρου ἀπὸ τῆς ἐπιδράσεως καί μετά τό πέρας τῆς διαλογῆς τῶν ἐντόμων εἰς τὰς τρεῖς ἀνωτέρω κατηγορίας καί μέχρι τῆς ἠλεκτροφορήσεως, τὰ ἄτομα ἐτοποθετοῦντο ἐντός κλεισμένων δοκιμαστικῶν σωλήνων εἰς θερμοκρασίαν -20°C πρὸς ἀποφυγὴν καταστροφῆς τῶν μὴ παρεμποδισθειῶν ὑπὸ τοῦ ὀργανοφωσφορικῶ ἑστέρος ἑστερασῶν.

Μία ἐτέρα καινοτομία συνίσταται εἰς τήν χρησιμοποίησιν συστημάτων ἡραιομένων ρυθμιστικῶν διαλυμάτων τοῦ AsH_3 . Ὄντως, παρατηρήθη ὅτι τὰ ἠλεκτροφορήματα εἰς τὰ ὁποῖα ἐχρησιμοποιήθησαν τὰ ρυθμιστικά αὐτά διαλύματα, χρῶννυνται ἐντονώτερον εἰς τὰς ζώνας τῆς ἑστερασικῆς δράσεως, ἐνῶ τό ὑπόλοιπον τμήμα τοῦ ἠλεκτροφορήματος πα-

ραμένει σχεδόν λευκόν. Κατ'αυτόν τόν τρόπον δημιουργούνται καλλίτεροι συνθήκαι άναγνώσεως τών έστερασιών ένζύμων.

Διά τών τριών τούτων κυρίων τροποποιήσεων, δημιουργούνται συνθήκαι τοιαύται, ούτως ώστε νά καθορίζηται άνευ άμφιβολίας ό φαινότυπος τών άτόμων. Ότι δέν υπάρχει έκλεκτική παρεμπόδισις ώρισμένων ζωνών ίσοένζύμων και ότι, ως έν τούτου, ό καθορισμός τών φαινοτύπων δέν είναι λανθασμένος, δεικνύεται και έν τών άποτελεσμάτων δοκιμασιών όμοιογενείας μεταξύ μαρτύρων και δειγμάτων τών τεσσάρων πειραμάτων, ως θά αναφερθῆ κατωτέρω. Η χρησιμοποίησις ήραιομένων διαλυμάτων του Ashton αντί τῆς τών του Poulik, δημιουργεί έν πρόβλημα ως πρός τήν ταύτισιν τών ζωνών τών ίσοένζύμων τών καθοριζομένων υπό τών γόνων A και B. Αί ζώναι αύται είναι λεπτότεροι, χρώννυνται έντονώτερον, αλλά μετά τό πέρας τῆς ήλεκτροφορήσεως εύρίσκονται είς διαφόρους άποστάσεις από τάς συνήθεις επί ήλεκτροφορημάτων μέ ρυθμιστικά διαλύματα του Poulik. Η άπόστασις τῆς ταχύτερον κινουμένης ζώνης του συστήματος A από τῆς βραδύτερον κινουμένης τοιαύτης, είναι περίπου 6,5 cm είς τό σύστημα Ashton, έναντι 5cm είς τό σύστημα του Poulik. Αί αντίστοιχοι άποστάσεις διά τό σύστημα B είναι 3,3 cm διά τό σύστημα Ashton, έναντι 2,5 cm διά τό σύστημα του Poulik.

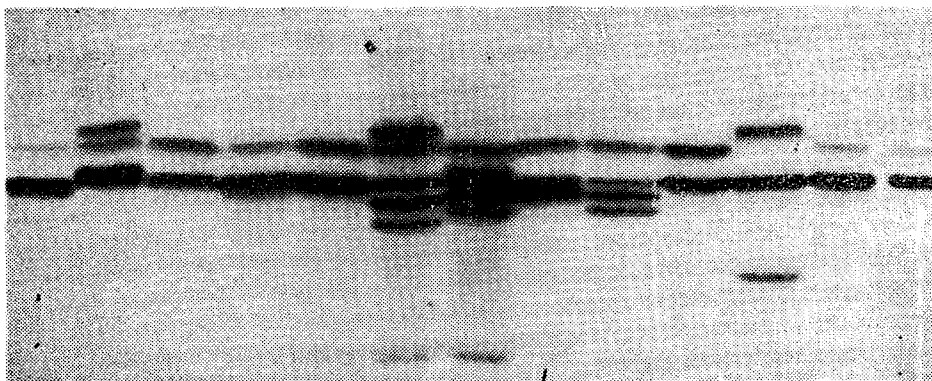
Κατέστη ούτω επάναγκες νά καθορισθῆ ή αντίσταιχία τών διαφόρων ζωνών μεταξύ τών δύο μεθόδων τῆς ήλεκτροφορήσεως. Διά τουτο τά αύτά άτομα ήλεκτροφορήθησαν είς διά τών δύο διαφόρων ρυθμιστικιών διαλυμάτων. Ούτω εύρέθη ότι αί σχετικαί θέσεις τών διαφόρων ίσοένζύμων τόσον διά τό A, όσον και διά τό B σύστημα, δέν διαφέρουν άλλήλων, είς τά συστήματα ήλεκτροφορήσεως.

Αί αντίστοιχοι ζώναι χαρακτηρίζονται είς μέν τό σύστημα του Poulik διά κεφαλαίων γραμμάτων, είς δέ τό σύστημα του Ashton διά μικρών γραμμάτων, αλλά φέρουν πάντοτε τόν αυτόν δείκτην - αριθμόν, όστις χαρακτηρίζει τό αυτό ίσοένζυμον. Αί συνθήκαι πειραματισμοῦ και είς τά τέσσαρα κύρια πειράματα ήσαν αί ακόλουθοι : Η ήλικία τών έντόμων ήτο έξ ήμερών και ή επίδρασις τών άτμών του Dimethoate έγένετο είς θερμοκρασίαν 20° C, ύγρασίαν 60%, υπό διαφοράν στάθμης ύδραργύρου 64 cm και επί 4 min. Είς άς περιπτώσεις καθίστατο άναγκαϊον διά τόν πλήρη καθορισμόν τών φαινοτύπων τών άτόμων τών γόνων A και B, έγένετο παρεμπόδισις διά συγιεντρώσεως 1% Dimethoate κατά τήν

χρῶσιν ἐπὶ τοῦ ἑνὸς ἡμίσεος τοῦ ἠλεκτροφορήματος, ἐνῶ ἐπὶ τοῦ ἑτέρου ἢ χρῶσις ἐγένετο ἄνευ παρεμποδίσσεως. Οὕτω τὸ ἐν ἠλεκτροφόρημα ἐχρῶννυτο μόνον διὰ τὸ Β σύστημα, ἐνῶ τὸ ἕτερον καὶ διὰ τὸ Α καὶ διὰ τὸ Β σύστημα.

Εἰς τὸν πίνακα 17 ἀναγράφονται συνοπτικῶς τὰ ἀποτελέσματα τῶν τεσσάρων πειραμάτων (III, IV, V, VI). Ὁ πίναξ δεικνύει τὸν ἀριθμὸν τῶν ἑτεροζυγῶν καὶ ὁμοζυγῶν ἀτόμων εἰς τὸν μάρτυρα, εἰς τὰ νεκρά, τὰ ἐνδιάμεσα, τὰ ἐπιζήσαντα καὶ εἰς τὸ σύνολον δείγματος (νεκρά-ἐνδιάμεσα-ἐπιζήσαντα) διὰ τὸν γόνον Α.

Ὁ πίναξ 18 δίδει τὰς ἀντιστοιχίας πληροφορίας διὰ τὸν γόνον Β.



Εἰκὼν 4

Ἡλεκτροφόρημα νεκρῶν V βασιικοῦ πειράματος. Οἱ φαινότυποι ἐξ ἀριστερῶν πρὸς τὰ δεξιὰ ἔχουν ὡς κατωθί :

α_2^- , $\alpha_1\alpha_2$, α_2^- , $\alpha_2\alpha_4$, α_2^- , $\alpha_1\alpha_2$, $\alpha_2\alpha_3$, α_2^- , α_2^- , α_2^- , $\alpha_1\alpha_8$, α_2^- , α_2^- , β_4^- , $\beta_2\beta_4$, β_4^- , β_4^- , β_4^- , $\beta_4\beta_6$, $\beta_4\beta_5$, $\beta_4\beta_5$, $\beta_4\beta_5$, β_4^- , β_4^- , β_4^- , β_4^-

Καὶ εἰς τὰ τέσσαρα πειράματα παρατηρεῖται ἡ ἰδίαια καταύθυνσις κατανομῆς, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς φαινοτύπους τοῦ γόνου Α. Οὕτω τὰ νεκρά καὶ τὰ ἐνδιάμεσα ἄτομα δεικνύουν μεγαλυτέραν συχνότητα τῶν ὁμοζυγῶν, ἐνῶ τὰ ἐπιζήσαντα μικροτέραν τοιαύτην. Τοῦτο ὅμως δέν παρατηρεῖται διὰ τὸν γόνον Β, διότι οἱ μάρτυρες, τὰ νεκρά, τὰ ἐνδιάμεσα καὶ τὰ ἐπιζήσαντα ἄτομα δέν διαφέρουν ὡς πρὸς τὰς συχνότητας τῶν ἑτεροζυγῶν ἀτόμων.

Εἰς τὸν πίνακα 19 δίδονται τὰ ἀποτελέσματα τῶν στατιστικῶν δοκιμασιῶν ὁμοιογενείας ἐντὸς ἐκάστου πειράμα-

Πίναξ 17

Γόνος Α

	Έτεροζυγωτά	Όμοζυγωτά	Σύνολον
<u>Πείραμα III</u>			
Μάρτυς	68	71	139
Νεκρά	29	37	66
'Ενδιάμεσα	33	51	84
'Επιζήσαντα	33	18	51
Δείγμα (N-E-E)	95	106	201
<u>Πείραμα IV</u>			
Μάρτυς	78	72	150
Νεκρά	22	30	52
'Ενδιάμεσα	32	38	70
'Επιζήσαντα	38	20	58
Δείγμα (N-E-E)	92	88	180
<u>Πείραμα V</u>			
Μάρτυς	94	99	193
Νεκρά	23	44	67
'Ενδιάμεσα	45	56	101
'Επιζήσαντα	38	20	58
Δείγμα (N-E-E)	106	120	226
<u>Πείραμα VI</u>			
Μάρτυς	93	82	175
Νεκρά	20	29	49
'Ενδιάμεσα	44	59	103
'Επιζήσαντα	41	27	68
Δείγμα (N-E-E)	105	117	220

Πίναξ 18

Γόνος Β

	Έτεροζυγωτά	Όμοζυγωτά	Σύνολον
<u>Πείραμα III</u>			
Μάρτυς	66	73	139
Νεκρά	32	34	66
Ένδιάμεσα	41	43	84
Έπιζήσαντα	22	29	51
Δείγμα (N-E-E)	95	106	201
<u>Πείραμα IV</u>			
Μάρτυς	80	70	150
Νεκρά	27	25	52
Ένδιάμεσα	27	43	70
Έπιζήσαντα	25	33	58
Δείγμα (N-E-E)	79	101	180
<u>Πείραμα V</u>			
Μάρτυς	93	100	193
Νεκρά	31	36	67
Ένδιάμεσα	47	54	101
Έπιζήσαντα	31	27	58
Δείγμα (N-E-E)	109	117	226
<u>Πείραμα VI</u>			
Μάρτυς	78	95	173
Νεκρά	24	25	49
Ένδιάμεσα	50	53	103
Έπιζήσαντα	27	41	68
Δείγμα (N-E-E)	101	119	220

Πίναξ 19

Όμοιογένεια εντός είδατου πειράματος (έτεροζ/όμοζ.)

Γόνος Α

Πειράμ.	Μάρτυς Δείγμα		Νειρά			Ενδιάμεσα νειρά			Επιζήσαντα			
	Χ ²	Β.Ε.	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ
III	0,041	1	0,90-0,80	5,022	1	0,05-0,02	0,447	1	0,70-0,50	8,071	1	0,01-0,001
IV	0,050	1	0,90-0,80	5,292	1	0,05-0,02	0,135	1	0,80-0,70	4,582	1	0,05-0,02
V	0,154	1	0,70-0,50	12,875	1	<0,001	1,649	1	0,20-0,10	6,920	1	0,01-0,001
VI	1,025	1	0,50-0,30	5,069	1	0,05-0,02	0,124	1	0,80-0,70	4,785	1	0,05-0,02

Πίναξ 20

Όμοιογένεια εντός είδατου πειράματος (έτερ./όμοζυγ.)

Γόνος Β

Πειράμ.	Μάρτυς Δείγμα		Νειρά			Ενδιάμεσα Νειρά			Επιζήσαντα			
	Χ ²	Β.Ε.	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ	Χ ²	ΒΕ	Ρ
III	0,000	1	1	0,559	1	0,50-0,30	0,000	1	1	0,515	1	0,50-0,30
IV	3,134	1	0,10-0,05	0,585	1	0,50-0,30	2,174	1	0,20-0,10	0,131	1	0,80-0,70
V	0,000	1	1	0,515	1	0,50-0,30	0,000	1	1	0,977	1	0,50-0,30
VI	0,042	1	0,90-0,80	1,257	1	0,30-0,20	0,000	1	1	1,577	1	0,30-0,20

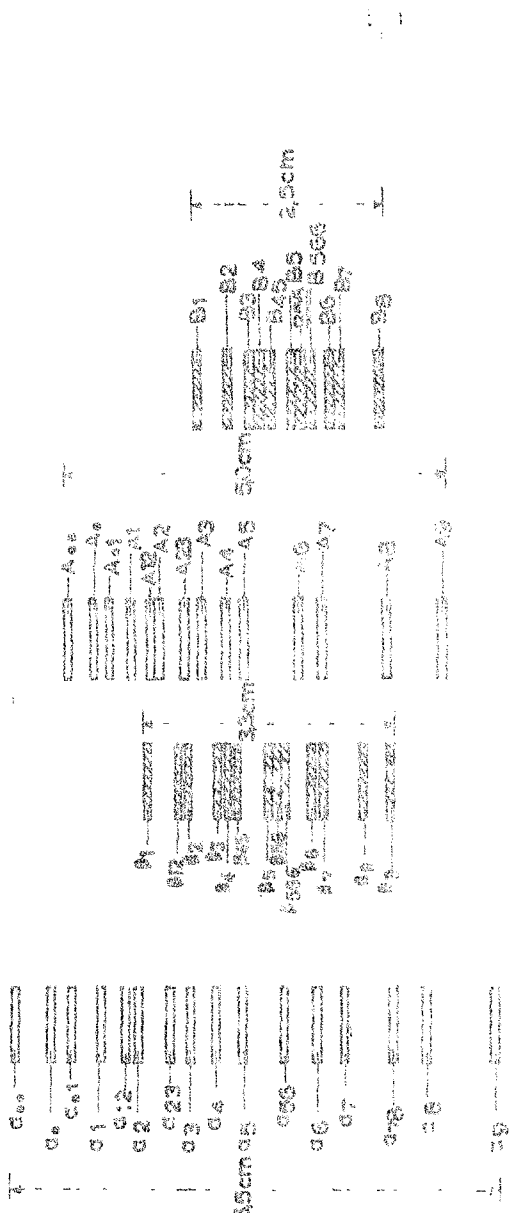
Ⓘ Μετωπική γοαμμή Ιόντων Βορίου 4 cm Ⓜ Μετωπική γοαμμή Ιόντων Βορίου 12 cm

Ⓘ

Ⓘ

Ⓜ

Ⓜ



Ⓘ

Σχῆμα 3

Σχῆμα 3. Θέσεις τῶν ἀλληλομόρφων τῶν γόνων Δ καί Β εἰς τὰ δύο χρησιμοποιηθέντα πυθμιστικά διαλύματα. Ⓘ εἰς τὸ ἡραιωμένον τοῦ ASHTON καὶ Ⓜ εἰς τὸ τοῦ ROULIK.

τος, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς γονοτύπους τοῦ γόνου Α.

Εἰς ἅπαντα τὰ πειράματα οἱ μάρτυρες δέν διαφέρουν τῶν δειγμάτων, ἥται τοῦ συνόλου τῶν ἐντόμων τὰ ὁποῖα ὑπέστησαν τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος. Τοῦτο δειννύει καὶ ποσοτικῶς ὅτι δέν ὑπῆρξεν ἐιλεκτικὴ παρεμπόδισις ὠρισμένων ζωνῶν ἰσοενζύμων εἰς τὰ ὑποστάντα τὴν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος ἄτομα. Ἄλλως τε καὶ ποιοτικῶς τοῦτο καθίσταται φανερόν, διότι διὰ τῶν τροποποιήσεων τῆς τεχνικῆς, τὰ ἠλεκτροφορήματα ἐδείκνυον καλὰ καὶ σαφῶς ἀναγνωσίμους εἰκόνας.

Τὰ νεκρὰ ἄτομα δέν διαφέρουν ἐπίσης τῶν ἐνδιαμέσων. Καὶ τοῦτο ἀνεμένετο, διότι, ὡς πρότερον ἐλέχθη εἰς προηγθεῖσαν δοκιμασίαν, κατὰ μεγάλην πλειοψηφίαν τὰ ἐνδιάμεσα ἄτομα ἀπέθνησκον μετὰ παρέλευσιν τριημέρου. Τὰ ἐπιζήσαντα ὅμως ἄτομα διαφέρουν τόσον τῶν νεκρῶν, ὅσον καὶ τῶν ἐνδιαμέσων ἀτόμων καὶ εἰς τὰ τέσσαρα πειράματα. Ἡ πιθανότης ὁμοιογενείας εἰς ἀπάσας τὰς περιπτώσεις ἦτο κατωτέρα τοῦ 5%, εἰς δύο περιπτώσεις κατωτέρα τοῦ 1% καὶ εἰς μίαν κατωτέρα τοῦ 1%. Ἡδη καὶ μέ μὴ παραμετρικὴν ἀνάλυσιν τῶν ἀποτελεσμάτων τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ἀποδεικνύεται ἡ σημαντικότης τῶν ἀποτελεσμάτων.

Ὀντως, ἐάν ὑποτεθῆ ὅτι εἰς ἓν τῶν τεσσάρων πειραμάτων ὑφίσταται ὠρισμένη σειρά, ἥτοι εἰς τὰ νεκρὰ καὶ εἰς τὰ ἐνδιάμεσα τὰ ὁμοζυγωτὰ εἶναι συχνότερα τῶν ἑτεροζυγωτῶν, εἰς δέ τὰ ἐπιζήσαντα τὰ ἑτεροζυγωτὰ εἶναι συχνότερα τῶν ὁμοζυγωτῶν, ἡ πιθανότης νὰ εὔρεθῆ ἡ αὐτὴ σειρά ἀκριβῶς καὶ εἰς τὰ ἕτερα τρία πειράματα ἰσοῦται μέ $(\frac{1}{4})^3 = 1,7\%$.

Ὁ πίναξ 20 δίδει τὴν ἀντίστοιχον ἀνάλυσιν τῶν δεδομένων τοῦ πίνακος 18 διὰ τὸν γόνον Β.

Καὶ εἰς αὐτὴν τὴν περίπτωσιν ὁ μάρτυς δέν διαφέρει τοῦ δείγματος καὶ εἰς τὰ τέσσαρα πειράματα, τὰ νεκρὰ δέν διαφέρουν τῶν ἐνδιαμέσων, οὔτε τὰ νεκρὰ τῶν ἐπιζησάντων, οὔδὲ τὰ ἐπιζήσαντα τῶν ἐνδιαμέσων.

Εἶναι σκόπιμον νὰ ἐρευνηθῆ κατὰ πόσον δύναται νὰ χρησιμοποιηθοῦν ἀθροιστικῶς τὰ δεδομένα καὶ τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ὥστε νὰ ἀυξηθῆ ἔτι περαιτέρω ἡ σημαντικότης τῶν ἀποτελεσμάτων.

Διὰ νὰ εἶναι θεμιτὴ ἡ ἀθροιστικὴ χρησιμοποίησις τῶν ἀποτελεσμάτων, θὰ πρέπει καὶ τὰ τέσσαρα πειράματα νὰ εἶ-

Πίναξ 21

Όμοιογένεια μεταξύ τῶν τεσσάρων πειραμάτων

Γόνος Α

	χ^2	ΒΕ	P
1. Πειραματισμοῦ κατὰ κατηγορίαν δειγμάτων (νεκρά, ἐνδιάμεσα, ἐπιζήσαντα)	8,568	6	0,20-0,10
2. Μεταξύ νεκρῶν (ἐτεροζ.-ὁμοζυγῳτά)	1,327	3	0,80-0,70
3. Μεταξύ ἐνδιαμέσων (ἐτεροζ.-ὁμοζυγ.)	0,832	3	0,90-0,80
4. Μεταξύ ἐπιζησάντων (ἐτεροζ.-ὁμοζυγ.)	0,413	3	0,95-0,90
5. Μεταξύ 4 δειγμάτων (ἐτεροζ.-ὁμοζυγ.)	0,813	3	0,90-0,80
6. Μεταξύ 4 μαρτύρων (ἐτεροζ.-ὁμοζυγ.)	0,919	3	0,90-0,80
7. Μεταξύ 4 πειραμάτων (ἐτεροζ.-ὁμοζυγ.)	1,166	3	0,80-0,70
8. Μεταξύ 4 πειραμάτων μαρτύρων-δειγμάτων (ἐτεροζυγῳτά - ὁμοζυγῳτά)	0,885	1	0,50-0,30
9. Μεταξύ 4 πειραμάτων Νεκρά-Ἐπιζήσαντα (ἐτεροζυγῳτά - ὁμοζυγῳτά)	26,790	1	«0,001
10. Μεταξύ 4 πειραμάτων Ἐνδιάμεσα-Νεκρά (ἐτεροζυγῳτά - ὁμοζυγῳτά)	0,465	1	0,50-0,30
11. Μεταξύ 4 πειραμάτων Ἐπιζήσαντα-Ἐνδιάμ. (ἐτεροζυγῳτά-Ὀμοζυγῳτά)	25,389	1	«0,001

ναί ὁμοιογενῆ μεταξύ των.

Εἰς τόν πίνακα 21 ἀναγράφονται τὰ ἀποτελέσματα τῶν δοκιμασιῶν ὁμοιογενείας μεταξύ τῶν τεσσάρων πειραμάτων διά τόν γόνον Α, εἰς δέ τόν πίνακα 22 αἱ ἀντίστοιχοι δοκιμασίαι διά τόν γόνον Β.

Ἡ πρώτη δοκιμασία ἀναφέρεται εἰς τό εἶδος τοῦ πειραματισμοῦ, ἥτοι τήν τυχόν ὑπάρχουσαν ἀνομοιογένειαν εἰς κατανομήν νεκρῶν, ἐνδιαμέσων καί ἐπιζησάντων ἐκάστου δειγματος. Ἡ πιθανότης, τὰ δείγματα νά εἶναι ὁμοιογενῆ, εἶναι ἀνωτέρα τοῦ 10%.

Ἡ δευτέρα δοκιμασία ἀναφέρεται εἰς τήν ὁμοιογένειαν μεταξύ τῶν νεκρῶν ἀτόμων καί τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ὅσον

Πίναξ 22

Όμοιογένεια μεταξύ τεσσάρων πειραμάτων

Γόνος Β

	χ^2	ΒΕ	P
1. Πειραματισμοῦ κατά κατηγορίαν δειγμάτων (νεκρά, ένδιάμεσα, έπιζήσαντα)	8,568	6	0,20-0,10
2. Μεταξύ νεκρῶν (έτεροζυγωτά-όμοζυγ.)	0,547	3	0,95-0,90
3. Μεταξύ ένδιαμέσων (έτεροζ.-όμοζυγ)	1,983	3	0,70-0,50
4. Μεταξύ έπιζησόντων(έτεροζυγ.-όμοζ)	0,754	3	0,90-0,80
5. Μεταξύ 4 δειγμάτων(έτεροζ.-όμοζυγ)	0,941	3	0,90-0,80
6. Μεταξύ 4 μαρτύρων (έτεροζ.-όμοζυγ)	2,169	3	0,70-0,50
7. Μεταξύ 4 πειραμάτων(έτεροζ.-όμοζ.)	0,774	3	0,90-0,80
8. Μεταξύ 4 πειραμάτων μαρτύρων-δειγμάτων (έτεροζυγωτά-όμοζυγωτά)	0,537	1	0,50-0,30
9. Μεταξύ 4 πειραμάτων νεκρά-έπιζήσαντα (έτεροζυγωτά-όμοζυγωτά)	0,856	1	0,50-0,30
10. Μεταξύ 4 πειραμάτων ένδιάμεσα-νεκρά (έτεροζυγωτά-όμοζυγωτά)	0,454	1	0,70-0,50
11. Μεταξύ 4 πειραμάτων έπιζήσαντα-ένδιάμεσα (έτεροζυγωτά-όμοζυγωτά)	0,114	1	0,80-0,70

άφορᾷ εἰς τήν κατανομήν τῶν έτεροζυγωτῶν καί τῶν όμοζυγωτῶν άτομων.

Δέν ὑπάρχει άνομοιογένεια, τόσον διά τόν γόνον Α, ὅσον καί διά τόν γόνον Β.

Ἡ τρίτη δοκιμασία αναφέρεται εἰς τήν όμοιογένειαν μεταξύ τῶν ένδιαμέσων άτομων τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ὅσον άφορᾷ εἰς τήν κατανομήν τῶν έτεροζυγωτῶν καί τῶν όμοζυγωτῶν άτομων. Καί εἰς τήν περίπτωσιν ταύτην δέν παρατηρεῖται στατιστικῶς σημαντική διαφορά, τόσον διά τόν γόνον Α, ὅσον καί διά τόν γόνον Β.

Ἡ τετάρτη δοκιμασία εἶναι ἡ αὐτή μέ τάς προηγουμένης, άλλ'άφορᾷ εἰς τά έπιζήσαντα άτομα. Καί εἰς τήν περίπτωσιν ταύτην τά άποτελέσματα δεικνύουν όμοιογένειαν.

Ἡ πέμπτη δοκιμασία ἀναφέρεται εἰς τὴν ὁμοιογένειαν μεταξὺ τῶν δειγμάτων τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς γονοτύπους αὐτῶν. Τὰ δείγματα εἶναι ὁμοιογενῆ καὶ διὰ τὸν γόνον A καὶ διὰ τὸν γόνον B. Τὸ αὐτὸ ἄλλωστε συμβαίνει καὶ διὰ τοὺς μάρτυρας τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ἀλλὰ καὶ διὰ τὰ σύνολα μαρτύρων καὶ δειγμάτων τῶν τεσσάρων πειραμάτων.

Ἡ ὀγδόη δοκιμασία ἀναφέρεται εἰς τὴν ὁμοιογένειαν συνόλου μαρτύρων καὶ συνόλου δειγμάτων τῶν τεσσάρων πειραμάτων, ὡς πρὸς τὴν συχνότητα τῶν ἑτεροζυγῶν καὶ τῶν ὁμοζυγῶν ἀτόμων. Τὰ δείγματα εἶναι ὁμοιογενῆ καὶ διὰ τὸν γόνον A καὶ διὰ τὸν γόνον B, ὡς ἀνεμένετο κατόπιν τῆς νέας μεθόδου διαχωρισμοῦ μαρτύρων καὶ δειγμάτων.

Πίναξ 23

Ἀθροιστικὴ χρησιμοποίησις τῶν δεδομένων τῶν τεσσάρων πειραμάτων

Γόνος A

	Ἑτεροζυγῶν	Ὅμοζυγῶν	Σύνολον
Νεκρά	94	140	234
Ἐπιζήσαντα	150	85	235
Ἐνδιάμεσα	154	204	358
Δεῖγμα	398	429	827
Μάρτυς	333	324	657
Σύνολον (Δ-Μ)	731	753	1484

Ἡ ὑπαρξίς τῶν ὁμοιογενειῶν αὐτῶν μᾶς ἐπιτρέπει τὴν χρησιμοποίησιν τῶν δεδομένων τῶν τεσσάρων πειραμάτων ἀθροιστικῶς. Τὰ δεδομένα ταῦτα ἀναφέρονται εἰς τοὺς πίνακας 23 καὶ 24. Ὁ πειραματισμὸς ἐγένετο ἐπὶ συνόλου 1500 περίπου ἀτόμων.

Διὰ τὸν γόνον A ὑφίσταται λίαν σημαντικὴ ἀνομοιογένεια μεταξὺ νεκρῶν καὶ ἐπιζησάντων, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τοὺς γονοτύπους αὐτῶν. Ἡ πιθανότης ὁμοιογενείας εἶναι πολὺ μικρότερα τοῦ 1%. Τὸ αὐτὸ συμβαίνει καὶ διὰ τὴν ὁμοιογένειαν μεταξὺ ἐπιζησάντων καὶ ἐνδιαμέσων διὰ τὸν γόνον A. Καὶ εἰς αὐτὴν τὴν περίπτωσιν ἡ πιθανότης ὁμοιογενείας εἶναι πολὺ μικρότερα τοῦ 1%. Ἀντιθέτως, δέν ὑπάρχει ἀνομοιογένεια μεταξὺ ἐνδιαμέσων καὶ νεκρῶν διὰ τὸν γόνον A.

Αἱ ἀντίστοιχοι τρεῖς δοκιμασίαι διὰ τὸν γόνον B, δεικνύουν, ὅτι δέν ὑπάρχει ἀνομοιογένεια.

Τό ἀκόλουθον γενικόν συμπέρασμα δύναται νά ἐξαχθῆ :
τά ἐπιζῶντα ἄτομα εἶναι ἑτεροζυγωτά διά τόν γόνον A μέ
πολύ μεγαλυτέραν συχνότητα τῆς εὐρισκομένης εἰς τά ἐν-
διάμεσα καί τά νεκρά.

Ἐν ἄτομον ἑτεροζυγωτόν διά
τόν γόνον A ἔχει πολύ μεγαλυτέ-
ραν πιθανότητα νά ἐπιζήσῃ ἐνός
ὁμοζυγωτοῦ ἄτόμου.

Τά ἀνωτέρω ἀποτελέσματα δύναται νά ἐξηγηθοῦν κατά
τρεις διαφόρους τρόπους :

1) Ἡ παρατηρηθεῖσα διαφορά κατανομῆς τῶν ἑτεροζυ-
γωτῶν καί τῶν ὁμοζυγωτῶν ἀτόμων εἰς τὰς κατηγορίας τῶν
νεκρῶν - ἐνδιαμέσων ἀφ' ἐνός καί τῶν
ἐπιζήσαντων ἀφ' ἑτέρου, θά ἠδύνατο νά ἐρμη-
νευθῆ ὡς ἐπιλογή ἐναντίον τοῦ παρουσιάζοντος τήν ὑψη-
λοτέραν συχνότητα ἀλληλομόρφου a_2 .

Πίναξ 24

Ἀθροιστική χρησιμοποίησις τῶν δεδομένων τῶν
τεσσάρων πειραμάτων

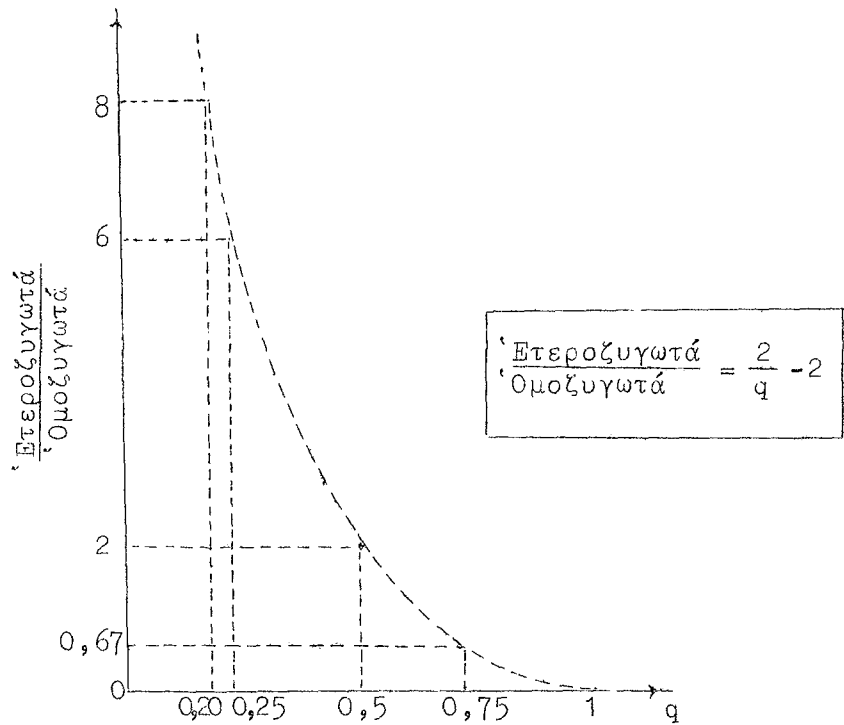
Γόνος B

	Ἑτεροζυγωτά	Ὁμοζυγωτά	Σύνολον
Νεκρά	114	120	234
Ἐπιζήσαντα	105	130	235
Ἐνδιάμεσα	165	193	358
Δεῖγμα	384	443	827
Μάρτυς	317	338	655
Σύνολον (Δ-Μ)	701	781	1482

Ὄντως ἀλληλόμορφος ἀπαντῶμενος εἰς πληθυσμόν μέ συ-
χνότητα q ἐμφανίζεται εἰς ὁμοζυγωτά καί εἰς ἑτεροζυγωτά
δι' αὐτόν ἄτομα. Ἐάν ὁ πληθυσμός εἶναι παμμεικτικὸς, τά
ὁμοζυγωτά ταῦτα ἄτομα ἐμφανίζονται μέ συχνότητα q^2 , τά
δέ ἑτεροζυγωτά μέ συχνότητα $2q(1-q)$. Ὁ λόγος τῆς συχνό-
τητος τῶν ἑτεροζυγωτῶν πρὸς τά ὁμοζυγωτά ἄτομα διά τόν

ἐν λόγω ἀλληλόμορφον θά εἶναι $\frac{2q-2q^2}{q^2} = \frac{2}{q} - 2$. Ἡ μεταβο-
λή τοῦ λόγου τῶν ἑτεροζυγωτῶν πρὸς τά ὁμοζυγωτά συναρ -

τήσει τῆς μεταβολῆς τῆς συχνότητος τοῦ ἐν λόγῳ ἀλληλομόρφου, δίδεται ἐν γραφικῇ παραστάσει εἰς τό σχεδιάγραμμα 2.



Σχεδιάγραμμα 2. Καμπύλη μεταβολῆς τοῦ λόγου τῶν ἑτεροζυγωτῶν πρὸς τὰ ὁμοζυγωτὰ ἄτομα, συναρτήσει τῆς συχνότητος q τοῦ ἐν λόγῳ ἀλληλομόρφου, μέ ὑπαρξιν παμμειξίας.

Ἐξ αὐτοῦ προκύπτει ὅτι ἡ ἐπιλογή ἐναντίον τοῦ ἀλληλομόρφου θά ἀλλοιώνῃ τὰς σχετικὰς συχνότητα τῶν ἑτεροζυγωτῶν ὡς πρὸς τὰ ὁμοζυγωτὰ ἄτομα καί ἡ ἀλλοίωσις αὕτη θά εἶναι συνάρτησις τῆς συχνότητος τοῦ ἐν λόγῳ ἀλληλομόρφου. Δηλαδή ὅσον ἡ συχνότης τοῦ ἀλληλομόρφου εἶναι μεγαλυτέρα, τόσον ὁ λόγος εἶναι μικρότερος, τόσον δηλαδή τὰ ἑτεροζυγωτὰ ἄτομα εἶναι σχετικῶς συχνότερα τῶν ὁμοζυγωτῶν. Θά ἦ δυνατό λοιπόν νά ὑποτεθῇ ὅτι ἡ ἐπιλογή ἐναντίον τοῦ πλέον συχνοῦ ἀλληλομόρφου, τόσον εἰς ὁμοζυγωτὴν ὅσον καί εἰς

έτεροζυγωτήν κατάστασιν, θά ήδύνατο νά παρουσιάση είς τά έπιζώντα άτομα περισσότερα έτεροζυγωτά τών όμοζυγωτών, ιδία έάν ληφθή ύπ' όψιν ότι οί υπόλοιποι δραστηοί άλληλόμορφοι λόγω τής μικράς συχνότητος ένός έκάστου έξ αύτών, έμφανίζονται είς τόν πληθυσμόν υπό έτεροζυγωτήν μάλλον ή όμοζυγωτήν κατάστασιν.

Διά νά έλεγχθή κατά πόσον τοϋτο συμβαίνει, ύπελογίσθησαν τά άκόλουθα δεδομένα.

Ο άριθμός τών άτόμων τών φαινοτύπων a_2 -καί a_n (όπου a_n οίοσδήποτε έτερος ένεργός άλληλόμορφος πλην τοϋ a_2) ώς καί ό άριθμός τών άτόμων τών γονοτύπων $a_2 a_n$ καί $a_n a_n$ (όπου a_n διάφορος τοϋ a_2 καί τοϋ a_n δραστηός άλληλόμορφος) τόσον είς τήν τάξιν τών νεκρών-ένδιαμέσων, όσον καί είς τήν τάξιν τών έπιζήσαντων.

Επί τών τεσσάρων κυρίων πειραμάτων, οί λόγοι $\frac{a_2}{a_n}$ καί $\frac{a_2 a_n}{a_n a_n}$ δέν θά έπρεπε νά διαφέρουν μεταξύ τών τάξεων νεκρών-ένδιαμέσων άφ' ένός καί έπιζήσαντων άφ' έτέρου. Οντως, έπιλογή έναντίον τοϋ a_2 θά είχεν ώς άποτέλεσμα οί άνωτέρω λόγοι νά είναι άμφότεροι μικρότεροι είς τήν τάξιν τών έπιζήσαντων έν συγκρίσει πρός τούς άντιστοιχούς τής τάξεως τών ένδιαμέσων-νεκρών.

Ο πίναξ 25 δεικνύει ότι τοϋτο δέν συμβαίνει καί ότι οί λόγοι δέν διαφέρουν στατιστικώς μεταξύ των. "Ωστε ή ύπόθεσις αύτη δέον νά άπορριφθή.

Πίναξ 25

Γόνος A

"Ελεγχος ύποθέσεως έπιλογής έναντίον τοϋ άλληλομόρφου a_2

	$a_s a_s$	a_2	a_n	$\frac{a_2}{a_n}$	$a_2 a_n$	$a_n a_n$	$\frac{a_2 a_n}{a_n a_n}$	Σύνολ
Νεκρά-ένδιαμέσσα	12	248	81	3,062	184	67	2,746	592
Έπιζήσανια	2	57	29	1,966	116	31	3,742	235
<u>Όμοιογένεια</u>								
					χ^2	BE	P	
1.	$\frac{a_2}{a_n}$	μεταξύ νεκρ.-ένδιαμ.	πρός τόν τών έπιζ.		2,701	1	0,20-0,10	
2.	$\frac{a_2 a_n}{a_n a_n}$	"	"	"	1,454	1	0,30-0,20	

2) Ἐτέρα ὑπόθεσις δυναμένη νά ἐξηγήσῃ τά ἀποτελέσματα τῶν κυρίων πειραμάτων, θά ἦτο ἐπιλογή εἰς τά ἐπιζήσαντα δι' ἄτομα ἑτεροζυγωτά διά δύο διαφόρους ἑνεργούς ἀλληλομόρφους. Τά ἐν λόγῳ ἄτομα θά ἦσαν καί τά πλέον ἀνθετικῶς ἑναντι τῶν ὁμοζυγωτῶν διά δραστηνῶν ἢ σιγῶντα ἀλληλόμορφον.

3) Καί ἑτέρα ὑπόθεσις δύναται νά ἐξηγήσῃ τά ὡς ἄνω ἀποτελέσματα. Ἄτομα ἑτεροζυγωτά διά τόν σιγῶντα ἀλληλόμορφον καί δι' ἕτερον ἑνεργόν, τά ὅποια κατατάσσονται φαινοτυπικῶς εἰς τά ὁμοζυγωτά, θά ἦσαν ὀλιγώτερον ἀνθετικῶς, ἀφ' ἑνός μὲν τῶν ὁμοζυγωτῶν δι' ἑνεργόν ἀλληλόμορφον, ἀφ' ἑτέρου δέ τῶν ἑτεροζυγωτῶν διά δύο ἑνεργούς ἀλληλομόρφους.

Κατά ταῦτα ἡ ἐπιλογή θά συνίστατο εἰς ἐπιλογὴν ἑναντίον τοῦ ἀλληλομόρφου a_2 . Τά ἄτομα, ὁμοζυγωτά ἢ ἑτεροζυγωτά διά τόν σιγῶντα ἀλληλόμορφον, θά ἔθνησκον κατά προτίμησιν καί ὡς ἐκ τούτου διά τῆς μεθόδου ταξινομήσεως τῶν ἀποτελεσμάτων θά ἐνεφανίζετο ὀλιγώτερον συχνή ἢ τάξις τῶν ὁμοζυγωτῶν ἀτόμων, λόγῳ ἀκριβῶς τῆς θνησιμότητος τῶν ἑτεροζυγωτῶν δι' τόν σιγῶντα ἀλληλόμορφον ἀτόμων, τά ὅποια ἀναγιγνώσκονται ὡς ὁμοζυγωτά.

Ἐτέρα ὑπόθεσις δέν δύναται νά διατυπωθῇ.

Διά νά ἐξακριβωθῇ τό εἶδος τῆς ἐπιλογῆς ἐγένοντο δύο ἐπί πλέον πειράματα. Εἰς τά πειράματα ταῦτα ἐχρησιμοποιήθησαν ἄτομα τῆς γενεᾶς F_2 , δύο διαφόρων οἰκογενειῶν, τῶν ὁποίων οἱ γονεῖς ἦσαν γνωστῶν γονοτύπων. Οἱ γονεῖς τῆς μιᾶς οἰκογενείας, τῆς K_1 , ἦσαν ἀμφότεροι ἑτεροζυγωτοί διά δύο διαφόρους ἑνεργούς ἀλληλομόρφους: ($\varphi a_2 a_6 \times \sigma^* a_1 a_2$). Εἰς τόν πληθυσμόν τοῦτον τῆς F_2 δέν ἀνευρίσκετο σιγῶν ἀλληλόμορφος. Τά ἄτομα εἶχον ἅπαντα γονοτύπους ὁμοζυγωτούς ἢ ἑτεροζυγωτούς δι' ἑνεργούς ἀλληλομόρφους μόνον. Εἰς περὶπτωσιν καθ' ἣν ἡ ἐπιλογή ἐγένετο ὑπὲρ τῶν ἑτεροζυγωτῶν ἀτόμων διά δύο ἑνεργούς ἀλληλομόρφους, θά ἔπρεπε ἐπί τῶν 157 ἀτόμων τῆς δευτέρας ταύτης θυγατρικῆς γενεᾶς, νά παρατηρηθοῦν τά αὐτά ἀποτελέσματα ὡς καί εἰς τά τέσσαρα κύρια πειράματα.

Εἰς τόν πίνακα 26 ὅμως, εἰς ὃν ἀναγράφονται τά ἀποτελέσματα τοιαύτης ἐπιδράσεως, δέν ἐμφανίζονται ἀποτελέσματα ὅμοια μέ τά τῶν τεσσάρων κυρίων πειραμάτων. Ἡ συχνότης τῶν ἑτεροζυγωτῶν ἀτόμων εἶναι ἡ αὐτή, τόσον εἰς τήν τάξιν τῶν ἐνδιαμέσων καί νεκρῶν, ὅσον καί εἰς τήν τάξιν τῶν ἐπιζησάντων.

Πίναξ 26

Δεδομένα ἐκ τῆς ἐπιδράσεως ἐπὶ τῆς F₂ γενεᾶς τῆς οἰογενείας K₁ καὶ ἀποτελέσματα δοκιμασίας ὁμοιογενείας μεταξύ ἐνδιαμέσων-νεκρῶν καὶ ἐπιζησάντων (ἐτεροζυγωτά-ὁμοζυγωτά)

	Ἐτεροζυγωτά	Ὁμοζυγωτά	Σύνολον
Ἐνδιαμέσων-νεκρῶν	45	26	71
Ἐπιζησάντων	49	37	86
Σύνολον	94	63	157
$\chi^2=0,428, \text{ B.E.}=1$ $0,70 > P > 0,50$			

Ἐκ τούτου συμπεραίνεται ὅτι ἡ ἐπιλογή λαμβάνει χώραν ἐναντίον τοῦ σιγῶντος ἀλληλομόρφου, τόσον εἰς ὁμοζυγωτὴν ὅσον καὶ εἰς ἑτεροζυγωτὴν κατάστασιν.

Πρὸς ἐπαλήθευσιν τοῦ ἀνωτέρω συμπεράσματος, ἐχρησιμοποιήθησαν τέκνα τῆς F₂ γενεᾶς τῆς ἑτέρας οἰογενείας K₅, οἱ γονεῖς τῆς ὁποίας εἶχον τοὺς ἀνολούθους γονοτύπους: ♀ a₃ a₅ X ♂ a₂ a₂. Εἰς τὴν δευτέραν ταύτην θυγατρικὴν γενεάν ὁ ἀλληλόμορφος a₅ ἀπαντᾷ μέ συχνότητα 25%.

Εἰς τὸν πίνακα 27 ἀναγράφονται τὰ ἀποτελέσματα τὰ προελθόντα ἐκ τοιαύτης ἐπιδράσεως.

Πίναξ 27

Δεδομένα ἐκ τῆς ἐπιδράσεως ἐπὶ τῆς F₂ γενεᾶς τῆς οἰογενείας K₅ καὶ ἀποτελέσματα δοκιμασίας ὁμοιογενείας ἐπ' αὐτῶν μεταξύ ἐνδιαμέσων-νεκρῶν καὶ ἐπιζησάντων(ἐτεροζυγωτά-ὁμοζυγωτά).

	Ἐτεροζυγωτά	Ὁμοζυγωτά (a ₅ a ₅)	Σύνολον
Ἐνδιαμέσων - Νεκρῶν	11	33	52
Ἐπιζησάντων	11	14	25
Σύνολον	22	47	77
$\chi^2 = 4,674, \text{ B.E.} = 1$ $0,05 > P > 0,02$			

Είναι εμφανές ότι τά αποτελέσματα συμπίπτουν μετά των τεσσάρων κυρίων πειραμάτων, ως ανεμένετο, και ή σύμπτωσις αύτη όφείλεται είς τήν παρουσίαν του σιγώντος άλληλομόρφου, όστις άπαντά είς ύψηλοτέρα συχνότητα.

Πίναξ 28

Παμμειξίαι είς τάς κατηγορίας των νεκρών-ένδιαμέσων και συνολικώς είς τά III, IV, V, και VI πειράματα.

Γόνος Α

Αλ/φος	Νεκρ.-'Ενδιαμ.	Δειγμ.-Μαρτ.	Διαφοραί	Διαφοραί επί τοίς % συνολ. συχν.
α_{00}	0,00084	0,00101	-0,00017	- 17%
α_0	0,00169	0,00202	-0,00033	- 16%
α_{01}	0,01019	0,00676	0,00343	51%
α_1	0,10993	0,13087	-0,02094	- 16%
α_{12}	-	0,00034	-0,00034	-100%
α_2	0,48013	0,49197	-0,01184	- 2,4%
α_3	0,01790	0,02421	-0,00631	- 26%
α_4	0,02740	0,02733	0,00007	0,3%
α_5	0,02740	0,03533	-0,00793	- 22%
α_{56}	0,00169	0,00135	0,00034	25%
α_6	0,01446	0,01631	-0,00185	- 11%
α_7	0,07823	0,09034	-0,01211	- 13%
α_{78}	0,00084	0,00034	0,00050	147%
α_8	0,05292	0,04692	0,00600	13%
α_9	0,00254	0,00101	0,00153	151%
α_5	0,17384	0,12389	0,04995	40%
(άρ. άτ)	592	1.484		
Δόκιμ.	$\chi^2=13,132$ BE=7	$\chi^2= 20,383$ BE=18		
Παμμειξ.	0,10 > P > 0,05	0,50 > P > 0,30		

Χαρακτηριστικόν επί πλέον είναι τά όντώ άνευρεθέν-
τα άτομα $\alpha_5 \alpha_5$ άνευρίσκονται εις τήν τάξιν τών ένδιαμέσων
-νεκρών.

Πίναξ 29

Συχνότητες άλληλομόρφων, δοκιμασία παμμειξίας
Γόνος Β

Άλ/ρφοι	Νεκρά	Ένδιαμέσα	Επιζήσαντα	Δείγματα
β_1	0,00643	0,00560	0,00851	0,00663
β_{12}	-	-	0,00213	0,00060
β_2	0,05946	0,05308	0,05920	0,05534
β_3	0,00427	-	0,00213	0,00544
β_4	0,65408	0,67851	0,65482	0,66466
$\beta_{4,5}$	0,00858	0,01541	0,00638	0,01149
β_5	0,04592	0,03410	0,03245	0,03696
β_{56}	-	0,00270	0,00213	0,00181
β_6	0,07319	0,08153	0,06148	0,07344
β_7	0,10208	0,09224	0,10557	0,09857
β_8	0,00427	0,00140	0,00213	0,00242
β_9	0,00214	-	-	0,00060
β_5	0,03744	0,03536	0,06307	0,04202
(άρ.άτ.)	234	358	235	827
Δοκιμασία	$\chi^2=2,867$ BE=1	$\chi^2=1,959$ BE=1	$\chi^2=2,448$ BE=1	$\chi^2=11,017$ BE=6
Παμμειξίας	$0,10 > P > 0,05$ $\beta_6 + \beta_7 = \beta_{6-7}$	$0,20 > P > 0,10$ $\beta_6 + \beta_7 = \beta_{6-7}$	$0,20 > P > 0,10$ $\beta_6 + \beta_7 = \beta$	$0,10 > P > 0,05$ β_6, β_7

Είναι λοιπόν βέβαιον ότι αί παρατηρηθεΐσαι διαφο-
ραί όφείλονται εις έπιλογήν έναντίον τοϋ σίγϋντος άλλη-
λομόρφου. Τοϋτο άλλωστε δεικνύει και ό πίναξ 25 εις όν
αναγράφεται ό αριθμός τών ατόμων $\alpha_5 \alpha_5$, τά όποΐα άνευρέ-
θησαν εις τάς τάξεις τών νεκρών και ένδιαμέσων ατόμων,
άφ'ένός και τών έπιζησάντων ατόμων άφ'έτέρου εις τό σύ-
νολον τών τεσσάρων κυρίων πειραμάτων.

Όθεν ή έπιλογή γίνεται άφ'ένός μέν, έναντίον τών άτόμων τά όποΐα εΐναι όμοζυγωτά διά τόν σιγώντα άλληλόμορφον, άφ'έτέρου δέ έναντίον τών άτόμων τά όποΐα εΐναι έτεροζυγωτά δι'αυτόν. Ότι δέν άλλοιοϋνται σημαντικώς αί συχνότητες τών διαφόρων δραστικων άλληλομόρφων, ίδία τών έχόντων συχνότητα άνωτέραν του 5%, άλλ'ότι παρατηρείται μία σημαντική άλλαγή είς τήν συχνότητα του σιγώντος άλληλομόρφου είς τά έπιζήσαντα άτομα, διαφαίνεται εκ του πίνακος 28.

Είς τόν έν λόγω πίνακα άναγράφονται αί συχνότητες άπάντων τών άλληλομόρφων διά τόν γόνον Α, άφ'ένός μέν είς τήν κατηγορίαν τών νεκρών και ένδιαμέσων άτόμων, άφ'έτέρου δέ είς τό σύνολον τών δειγμάτων και μαρτύρων.

Όντως, ώς δεικνύουν αί είς τόν πίνακα 28 άναγραφόμεναι δοκιμασίαι διά του χ^2 , οί πληθυσμοί τών νεκρών και ένδιαμέσων άτόμων άφ'ένός μέν, τών δειγμάτων και μαρτύρων άφ'έτέρου, δύναται νά θεωρηθοϋν παμμεικτικοί και οϋτω δύναται νά υπολογισθῆ ή συχνότης τών διαφόρων άλληλομόρφων ώς τουτο έπεξηγήθη είς τό κεφάλαιον Δ.

Άντιθέτως, τό σύνολον τών έπιζήσαντων και τών τεσσάρων πειραμάτων άποκλίνει τῆς παμμειξίας και διά τουτο δέν έπεχειρήθη ή έντίμησις τών συχνότητων τών άλληλομόρφων αύτών. Η διαφορά τῆς συχνότητος του σιγώντος άλληλομόρφου μεταξύ του πληθυσμοϋ τών ένδιαμέσων και μαρτύρων άφ'ένός, και του πληθυσμοϋ του συνόλου τών άτόμων τά όποΐα έχρησιμοποιήθησαν είς τά τέσσαρα κύρια πειράματα (δειγμάτων και μαρτύρων) άφ'έτέρου, εΐναι σημαντική (5%) και κατανέμεται είς μή σημαντικές διαφοράς μεταξύ τών λοιπων συχνων δραστικων άλληλομόρφων, οϋτως ώστε τό σύνολον τών συχρητήτων νά ίσοϋται μέ τήν μονάδα. Τοϋτο δεικνύει ότι δέν ύφίσταται έπιλογή ύπέρ ένός ή ώρισμένων συχνων ένεργων άλληλομόρφων.

Είς τήν τελευταίαν στήλην του πίνακος 28 άναγράφονται αί διαφοραί τών συχνότητων ώς επί τοΐς ένατόν διαφοραί επί τῆς συχνότητος του πληθυσμοϋ: μάρτυρες-δείγματα. Διά τούς σπανίους άλληλομόρφους αί επί τοΐς ένατόν διαφοραί δύναται νά εΐναι μεγάλαι, τουτο όμως όφείλεται είς τήν μικράν συχνότητα τούτων και είς τήν τυχαίαν κατανομήν των μεταξύ νεκρων και ένδιαμέσων ή μεταξύ έπιζήσαντων. Δι'αυτόν τόν λόγον δέν δύναται νά θεωρηθοϋν ώς στατιστικώς σημαντικάί.

Είναι ενδιαφέρον να συγκριθούν οι συχνότητες του πίνακος 28 με τις συχνότητες της αναφερομένης εις τον πίνακα 5. Τα χρησιμοποιηθέντα διά τον πειραματισμόν άτομα δέν προήρχοντο απ' ευθείας από φυσικούς πληθυσμούς αλλά από εργαστηριακάς έκτροφάς άτόμων προερχομένων έκ του πληθυσμού της Στυλίδος. Είναι προφανές ότι οι συχνότητες των άλληλομόρφων του γόνου A εις τον πληθυσμόν της Στυλίδος δέν διαφέρουν σημαντικώς των συχνοτήτων του πληθυσμού των 'Αγίων 'Αποστόλων. Τοῦτο φαίνεται ότι ίσχύει και διά τον γόνον B συγκρίνοντας τους πίνακας 6 και 29. Είς τον πίνακα 29 αναγράφονται οι συχνότητες των άλληλομόρφων του γόνου B εις την τάξιν των νεκρών άτόμων, των ένδιαμέσων, των έπιζησάντων και του συνόλου των δειγμάτων των τεσσάρων κυρίων πειραμάτων. "Απαντες οι άνωτέρω πληθυσμοί είναι παμμεικτικοί, ως δεινύουν οι δοκιμασίαι παμμειξίας, οι άναγραφόμεναι εις τον έν λόγω πίνακα.

Διά να πραγματοποιηθούν οι δοκιμασίαι παμμειξίας εις τις τάξεις των νεκρών, των ένδιαμέσων και των έπιζησάντων άτόμων, παρέστη ανάγκη όπως οι άλληλόμορφοι β_g και β_γ συγχωνευθούν εις μιαν και την αύτην ιάξιν.

Είς τα προκαταρκτικά πειράματα άνευρέθη ότι δέν υπάρχει διάφορος συμπεριφορά, όσον άφορά εις την άνθετικότητα εις τό Dimethoate μεταξύ των άρρένων και θηλέων άτόμων. Ο αριθμός των χρησιμοποιηθέντων άτόμων ήτο μικρός. Ός εκ τούτου τό θέμα διερευνήθη έτι περαιτέρω διά της χρησιμοποίησεως των άτόμων των πειραμάτων α και β άφ' ενός και των τεσσάρων κυρίων πειραμάτων άφ' έτέρου.

Όσον έντός εκάστου πειράματος όσον και εις τό σύνολον των πειραμάτων III, IV, V, VI, φαίνεται ότι δέν υπάρχει διαφορά θνησιμότητος μεταξύ άρρένων και θηλέων άτόμων (πίναξ 30).

Τά έπιζήσαντα της έπιδράσεως του όργανοφωσφορικού έστερος άτομα παρηκολουθήθησαν επί μακρόν χρονικό διάστημα. Ευρέθη ότι ταῦτα δέν είχαν διάφορον βιωσιμότητα των άτόμων των μή υποστάντων την έπίδρασιν του όργανοφωσφορικού έστερος.

Άκολούθως διερευνήθη κατά πόσον τά έπιζήσαντα άτομα ήσαν γόνιμα. Προς τον σκοπόν αυτόν έλήφθη δείγμα 90 (άρρένων και θηλέων) άτόμων ήλικίας 6 ήμερών, τά όποια υπέστησαν έπίδρασιν άτμών Dimethoate υπό τις αύτάς

συνθήκας ως και τὰ άτομα τῶν τεσσάρων κυρίων πειραμάτων.
 Ἐν τούτων ἐπέζησαν 30 άτομα ἐν τῶν ὁποίων 13 ἄρρενα καὶ
 17 θήλεα.

Πίναξ 30

Δεδομένα κατανομῆς θηλέων καὶ ἀρρένων ἀτό-
 μων εἰς τὰς ἕξ ἐπιδράσεις καὶ ἀποτελέσματα
 ὁμοιογενοῦς κατανομῆς θηλέων καὶ ἀρρένων ἀ-
 τόμων.

	α		β		III		IV		V		VI	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Νευρά	26	24	20	32	30	29	23	29	29	32	21	28
Ἐνδιαμ.	-	-	-	-	46	38	34	36	47	48	52	50
Ἐπιζήσ.	39	48	51	89	18	22	26	31	22	23	31	34
Σύνολ.	65	72	71	121	94	89	83	96	98	103	104	112
	$\chi^2=0.506$		$\chi^2=0,113$		$\chi^2=1,332$		$\chi^2=0,285$		$\chi^2=1,901$		$\chi^2=1,901$	
	B.E.=1		B.E.=1		B.E.=2		B.E.=2		B.E.=2		B.E.=2	
	0,50 > P > 0,30		0,80 > P > 0,70		0,70 > P > 0,50		0,90 > P > 0,80		0,50 > P > 0,30		0,50 > P > 0,30	
Δοκιμασίαι ὁμοιογενείας ἐπὶ τῶν ἐπιδράσεων α, β καὶ III, IV, V καὶ VI ἀθροιστικῶς												
	<u>α+β</u>				<u>III+IV+V+VI</u>							
	$\chi^2=0,938$				$\chi^2=1,512$							
	B.E.=1				B.E.=2							
	0,50 > P > 0,30				0,50 > P > 0,30							

Τά μεν ἄρρενα ἐτοποθετήθησαν κενωρισμένως ἕναστον μετὰ παρθένου θήλεος τὰ δέ θήλεα κενωρισμένως ἕναστον μετ' ἄρρενος τῆς αὐτῆς ἡλικίας ἐντός ἀτομικῶν κλωβῶν. Συγχρόνως ἵνα χρησιμοποιηθοῦν ὡς μάρτυρες ἐδημιουργήθησαν ἕτεραι τριάκοντα διασταυρώσεις ἀτόμων ἡλικίας 6 ἡμερῶν. Μετὰ πάροδον τριάκοντα ἡμερῶν ἐλήφθησαν τέκνα ἐκ τῶν 10 διασταυρώσεων τῶν ἄρρένων τὰ ὅποια ὑπέστησαν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος (ποσοστὸν 77%), ἐκ τῶν 13 οἰκογενειῶν τῶν θηλέων (ποσοστὸν 76%) καί ἐξ 24 τῶν μαρτύρων (ποσοστὸν 80%). Οὐδέν τῶν ἐπιζησάντων ἔθανεν ἐντός τοῦ χρονικοῦ διαστήματος τῶν τριάκοντα ἡμερῶν.

Ἐκ τούτου συμπεραίνεται ὅτι ὁ ὀργανοφωσφορικός ἐστὴρ δέν "ἐστείρωσεν" ὀλιγῶς τὰ ἐπιζήσαντα ἄτομα. Ἀκριβῆς μέτρησις τῶν ἀπογόνων δέν ἐγένετο καί οὕτω δέν δύναμεθα νά ἀποκλείσωμεν τήν ὑπόθεσιν, ἐάν τὰ ὑποστάντα τήν ἐπίδρασιν τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος ἐπιζήσαντα ἄτομα ὑπέστησαν μερικὴν "στείρωσιν".

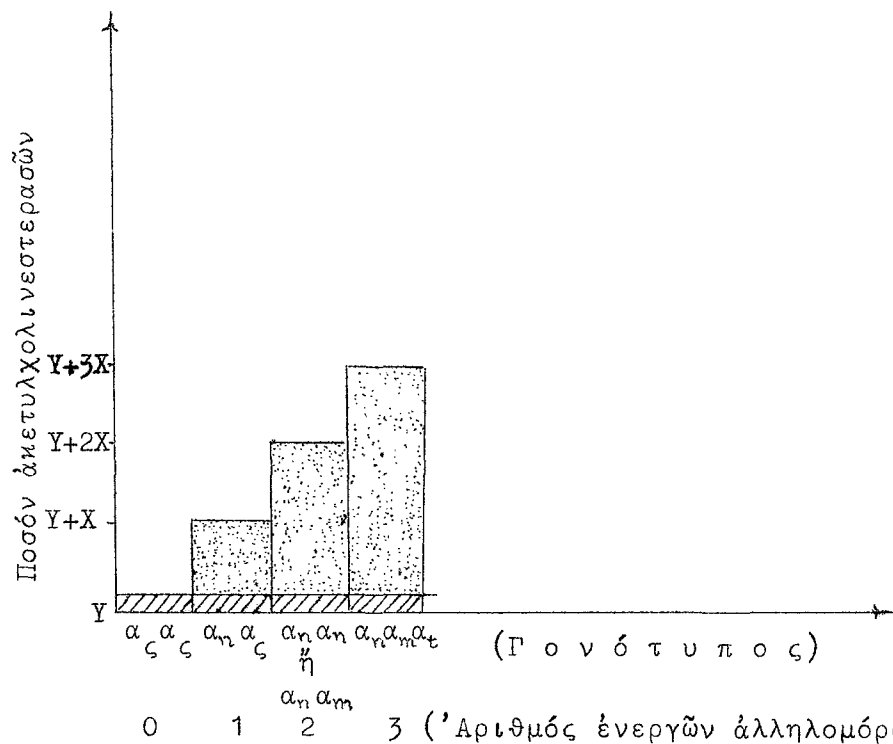
Ὁ ὀργανοφωσφορικός ἐστὴρ δρᾷ ὡς παράγων ἐπιλογῆς ἐναντίον τῶν ἀτόμων τὰ ὅποια φέρουν ἄπαξ ἢ δις τόν σιγῶντα ἀλληλόμορφον τοῦ γόνου Α. Δύναται νά θεωρηθῆ ὅτι ἐν μόριον Dimethoate παρεμποδίζει ἐν μόριον ἀκετυλχολινεστεράσης, σχηματίζον ἀδρενές σύμπλοκον κατὰ μίαν μὴ ἀντιστρεπτήν ἀντίδρασιν. Τὰ ἀποτελέσματα τῆς ἀνωτέρω μελέτης ἐπιβεβαιώνουν τήν θέσιν ταύτην. Ἄτομα ὁμοζυγωτά διὰ τόν σιγῶντα ἀλληλόμορφον εὐρίσκονται εἰς τούς φυσικοὺς πληθυσμούς καί ἐπιζοῦν. Τοῦτο δεικνύει ἢ ὅτι ὁ ἀλληλόμορφος οὗτος παράγει ἐνεργόν ἐνζυμον τοῦ ίδίου. εἴδους ὡς καί οἱ λοιποὶ ἐνεργοὶ ἀλληλόμορφοι, ἢ ὅτι τὰ ἄτομα περιέχουν εἰς τόν γονότυπον αὐτόν καί ἐτέρους γόνους δυναμένους νά συνθέσουν ἀνάλογα ἐνζυμα.

Ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων τῶν ιεσοῶρων πειραμάτων ὠρθό-μεθα νά υἱοθετήσωμεν τήν δευτέραν ὑπόθεσιν. Οὕτω τὰ ἄτομα $a_5 a_5$ περιέχουν Y ποσότητα ἀκετυλχολινεστεράσης ἢ ἐτέρων ἐνζύμων ἐχόντων ἀκετυλχολινεστερασιανήν δραστηριότητα, τὰ ἄτομα $a_1 a_5$ Y+X τὰ δέ $a_1 a_1$ καί $a_1 a_1$ Y+2X. Διὰ τὰς χρησιμοποιηθείσας δόσεις ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος φαίνεται ὅτι παρεμποδίζεται τοιαύτη ποσότης ἐνζύμου εἰς τὰ ἄτομα τὰ ἔχοντα Y καί Y+X ποσότητα δραστικοῦ ἐνζύμου, ὥστε ταῦτα νά θνήσκουν ἐκλεκτικῶς. Τὰ ἀποτελέσματά μας ἐξηγοῦνται ἐάν θεωρηθῆ ὅτι ὁ σιγῶν ἀλληλόμορφος δέν παράγει δραστικόν ἐνζυμον.

Εἰς τό ἐξετασθέν σύνολον τῶν 1.484 ἀτόμων, ἀνευρέ-

θήσαν τέσσερα τά όποία έφερον τρεΐς ένεργούς άλληλομόρ-
φους ($\alpha_2\alpha_4\alpha_7$, $\alpha_2\alpha_5\alpha_7$, $\alpha_1\alpha_2\alpha_8$ και $\alpha_2\alpha_4\alpha_8$).

Ό Ε. Ζοϋρος (1968) έμελέτησε τήν διάσχισιν οΐογε-
νεΐας, τά άτομα τής όποιας παρουσίαζον συγχρόνως τρεΐς
διαφόρους ένεργούς άλληλομόρφους (οΐογένεια 256) και κα-
τέληξεν εις τό συμπέρασμα ότι έπρόκειτο πιθανώτατα περι
διπλοποιήσεως. Η διάσχισις τών άτόμων με 3 διαφόρους άλ-
ληλομόρφους δέν έμελετήθη ύφ'ήμών, διότι ό φαινότυπος τού-
των έπιστοποιήθη ότε ειχον ήδη ήλειτροφορηθή. Έν πάση πε-
ριπτώσει δύναται νά ύποτεθη ότι τά έν λόγω άτομα θα έφε-
ρον $Y+3X$ ποσότητα ένζύμου. Έν τών τεσσάρων αύτών άτόμων
τρια άνευρέθησαν εις τούς μάρτυρας, ένψ τό πρώτον άνευ-
ρέθη μεταξύ τών έπιζησάντων του V πειράματος. Τοϋτο άλ-
λωστε αναμένεται εάν ή ύπόθεσις μας είναι άληθής.



Σχεδιάγραμμα 3

Σχηματική παράστασις ποσού άνετυλχολινε-
στερασών τό όποϊον περιέχεται έντός άν-
μαΐου δάκνου, συναρτήσει του άριθμου τών
ένεργών άλληλομόρφων του γόνου A τούς ό-
ποΐους φέρει.

[νουΑ)

Δύο τινά δύναται νά προβλεφθῆ ὅτι θά συμβοῦν εἰς τούς φυσικούς πληθυσμούς τοῦ θάκου τῆς ἐλαίας μετά συ- νεχῆ καί πολυετῆ ἐπίδρασιν Dimethoate διά τήν καταπο- λέμησιν τοῦ ἐντόμου τούτου. Ἐφ' ἐνός μὲν, οἱ σιγῶντες ἀλληλόμορφοι θά τείνουν νά ἐξαλειφθοῦν ἐκ τοῦ πληθυσμοῦ, ἐνῶ ἡ συχνότης τῶν ἀτόμων τά ὅποια φέρουν μίαν διπλοποί- ησιν θά τείνη νά αὐξηθῆ. Ἡ τοιαύτη αὐξησις τῆς συχνότη- τος θά δημιουργήσῃ ἄτομα μέ τέσσαρας ἐνεργούς ἀλληλομόρ- φους, ἥτοι ἄτομα φέροντα ποσότητα ἐνζύμου Y+4X. Ἀποτελέ- σμα τῆς ἀλλαγῆς τῆς γενετικῆς δομῆς τῶν πληθυσμῶν, ὅσον ἀφορᾷ τόν γόνον A, θά εἶναι καί ἡ αὐξησις τῆς ἀνθεκτικό- τητος τῶν ἀτόμων τούτων εἰς τό Dimethoate καί πιθανῶς εἰς ὅλους τούς ὀργανοφωσφορινοῦς ἐστέρας.

ΣΤ. ΚΡΙΤΙΚΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Διά τοῦ ἐκτεθέντος μηχανισμοῦ δέν δύναται νά ἀναμένεται μεγάλη αὐξήσις τῆς ἀνθεκτικότητος τῶν φυσιῶν πληθυσμῶν τοῦ δάκου ἔναντι τῶν ὀργανοφωσφορικῶν ἐστέρων. Ὀντως δύναται νά διαχωρισθοῦν διάφοροι κατηγορίαι μηχανισμῶν, αἱ ὁποῖαι προσδίδουν ἀνθεκτικότητα εἰς τά ἐντομοκτόνα εἰς τά διάφορα εἶδη ἐντόμων.

Εἰς μίαν πρώτην κατηγορίαν συγκαταλλέγονται μηχανισμοί οἱ ὁποῖοι προσδίδουν μικράν ἀνθεκτικότητα ἔναντι τῶν ἐντομοκτόνων, διότι ἀναφέρονται εἰς τήν τροποποίησιν φαινοτυπικῶν χαρακτηριστικῶν, τά ὁποῖα δέν ἔχουν ἄμεσον σχέση μέ τήν δρᾶσιν τοῦ ἐντομοκτόνου. Οὕτω ἀλλαγῆ εἰς τήν θέσιν νυμφώσεως δύναται νά προκαλέσῃ ἀνθεκτικότητα εἰς τό D.D.T. εἰς πειραματικούς κλωβούς πληθυσμῶν, ὅπου τό ἐντομοκτόνον τίθεται εἰς ὠρισμένα σημεῖα τοῦ κλωβοῦ. Ἐν γένει ἅπασαι αἱ φαινοτυπικαί, μορφολογικαί, ἀνατομικαί, ἠθολογικαί καί οἰκολογικαί ἀλλαγαί αἱ ὁποῖαι καθιστοῦν δυνατήν τήν εἴσοδον μικροτέρας ποσότητος ἐντομοκτόνου ἐντός τοῦ σώματος τοῦ ἀτόμου, δύναται νά προσδώσῃ μίαν ταπεινήν ἀνθεκτικότητα.

Εἰς μίαν δευτέραν κατηγορίαν θά ἡδύνατο νά ὑπαχθῆ ὁ περιγραφεῖς ἀνωτέρω μηχανισμός. Ἡ ἀνθεκτικότης εἰς τήν περίπτωσιν ταύτην ὀφείλεται εἰς τό γεγονός ὅτι τό ἔντομον ἔχει μεγαλυτέραν ποσότητα ἀκετυλχολινεστεράσης. Ἡ αὐτή ποσότης ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος παρεμποδίζει μεγαλυτέραν ἀναλογίαν μορίων τοῦ ἐνζύμου εἰς τά ἄτομα τά ἔχοντα μικροτέραν ποσότητα τούτου. Εἰς τοιοῦτος μηχανισμός ἐπίσης δέν ἀναμένεται νά προσδώσῃ μεγάλην ἀνθεκτικότητα εἰς τά ἄτομα τοῦ πληθυσμοῦ.

Μία τρίτη κατηγορία περιλαμβάνει μηχανισμούς οἱ ὁποῖοι προσδίδουν μεγαλυτέραν ἀνθεκτικότητα. Εἰς αὐτούς συγκαταλλέγονται αἱ μεταλλαγαί αἱ ὁποῖαι καθιστοῦν τό ἔντομον ἱκανόν νά συνθέσῃ ἔνζυμα ἀποικοδομοῦντα τό ἐντομοκτόνον εἰς μή τοξικά παράγωγα.

Τά θηλαστικά περιέχουν ἔνζυμα ὑδρολύοντα τούς καρβοξυλικούς ἐστέρας (COOR) ἢ τούς καρβοξυαμιδικούς δεσμούς (COHNR). Συνέπεια τῆς δράσεως τῶν καρβοξυεστερασῶν καί τῶν καρβοξυαμιδασῶν εἶναι ἡ πτώσις τῆς δραστηότητος τῶν ὀργανοφωσφορικῶν ἐστέρων. Τοιοῦτους δεσμούς περιέχουν τό Dimethoate ($-CONHCH_3$) καί τό Malathion ($-COOC_2H_5$). Εἶναι ἐπίσης γνωστά ἔνζυμα μέ φωσφατασικήν δρᾶσιν προκαλοῦντα πτώσιν τῆς δραστηότητος τοῦ ὀργανοφωσφορικοῦ ἐστέρος εἰς

τούς ιστούς θηλαστικών.

Οι Mounter et al, (1955) παρατήρησαν την ύπαρξιν του ένζυμου D.F.Ράση εις τούς ιστούς θηλαστικών, τό όποιον προκαλεϊ πτώσιν τής δραστηριότητος του όργανοφωσφορικου έστερος D.F.P. Όμοίως, ώς ό R.D. Ό'Brien (1956) άναφέρει ότι οι ιστοί θηλαστικών περιέχουν όξειδάσας αι όποϊαι έλαττοϋν τήν δραστηριότητα των όργανοφωσφορικων έστερων. Είς τά έντομα χαρακτηριστική έν προκειμένω είναι ή περιπτωσης άνθειτικότητος των άκμαίων και των προνυμφών του έντόμου Aedes Aegypti εις τό D.D.T. (R.J. Wood 1967). Τα άνθειτικά στελέχη περιέχουν γόνον όστις συνθέτει ένζυμον όνομασθέν D.D.T. Dehydrochlorinase, τό όποϊον μετατρέπει τό τοξικόν D.D.T. εις τό μικροτέρας δραστηριότητος D.D.E.

Οι K. Van Asperen και F.J. Oppenoorth (1959) έμελέτησαν τήν άνθειτικότητα εις τούς όργανοφωσφορικούς έστερας πολλών στελεχών τής οϊνιακής μυίας. Απαρτα τά άνθειτικά στελέχη παρουσίαζον μίαν άσυνήθως μικράν στάθμην του ένζυμου άλισταεράση α, ένζυμου υδρολύοντος άλιφατικών έστερας και παρεμποδιζομένου υπό των όργανοφωσφορικων έστερων.

Τό χαρακτηριστικόν τουτο έκληρονομεϊτο ώς εις γόνος και ώφείλετο εις μεταλλαγήν του γόνου του συνθέτοντος τό ένζυμον τής άλισταεράσης α. Ό μεταλλαγμένος γόνος δέν ήδύνατο νά συνθέση δραστικόν ένζυμον άλισταεράσης, αλλά προφανώς ειδικήν φωσφατάσην, ήτις ήδύνατο νά υδρολύση τούς όργανοφωσφορικούς έστερας. Τά άτομα των άνθειτικων στελεχών περιείχον όντως επί πλέον μίαν φωσφατάσην υδρολύουσαν τούς έν λόγω τοξικούς όργανοφωσφορικούς έστερας.

Ό F.J. Oppenoorth (1959) διεσταύρωσε Δανικόν στέλεχος οϊνιακής μυίας άνθειτικόν εις τό Diazinon μέ έτερον εύπαθές. Κατόπιν έπιλογής των απογόνων διά μιράν ποσότητα άλισταεράσης μέσω τεσσάρων διαδοχικων άναδρόμων διασταυρώσεων, εύρεν ότι ειχε συγχρόνως έπιλεγή ύψηλή δραστηριότης καταστροφής του Diazinon. Διά διασταυρώσεων μεθ' έτέρου στελεχους άνθειτικου εις τό Malathion ήδυνήθη νά πιστοποιήση ότι ή άνθειτικότης εις τό Malathion, ή άνθειτικότης εις τό Diazinon, ώς και ή μειωμένη άλισταεράσική δραστηριότης, όφείλονται εις άλληλομόρφους του ίδιου γόνου α, οι όποιοι ώνομάσθησαν α_g, α_r και α₊. Τό άνθειτικόν εις τό Malathion στέλεχος ήτο όμοζυγώ-

τόν διά τόν πρῶτον ἀλληλόμορφον ($\alpha_G \alpha_G$), τό ἀνθεικτιόν εἰς τό Diazinon ἦτο ὁμοζυγῶτον διά τόν δεύτερον ἀλληλόμορφον ($\alpha_F \alpha_F$), ἐνῶ τὰ εὐαίσθητα ἄτομα τὰ ὁποῖα περιεῖχον μεγάλην ποσότητα ἀλυστεράσης εἶχον τόν γονότυπον ++ (F.J. Oppenorth καί K. Van Asperen (1961)).

Οἱ F.J. Oppenorth καί K. Van Asperen (1961) εὔρον ὅτι ὁ μὲν ἀλληλόμορφος α_G συνθέτει ἔνζυμον τό ὁποῖον διασπᾶ τούς μεθυλ-φωσφορινοῦς ἐστέρας καί ὡς ἐκ τούτου καθιστᾶ τὰ ἄτομα ἀνθεικτικά εἰς τό Malathion, ὁ δέ ἀλληλόμορφος α_F συνθέτει ἔνζυμον τό ὁποῖον καταστρέφει τούς αἰθυλ-φωσφορινοῦς ἐστέρας. Ὁ γόνος οὗτος ἐχαρτογραφήθη ὑπό τῶν M.G. Franco καί F.J. Oppenorth (1962) τῆς βοήθειᾳ τῶν γόνων α_n (Aristapedia) καί car (ὀφθαλμοί χρώματος καρμίνης) οἱ ὁποῖοι ἐδράζονται ὁμοῦ μετά τοῦ γόνου α εἰς τό ὑπ' ἀριθ. 5 ζευγος χρωματοσωμάτων.

Οἱ F. Matsumura καί C.J. Hogendijk (1964) εὔρον ὅτι στελέχη οἰκιακῶν μυιῶν ἀνθεικτικά εἰς τό Malathion περιέχουν μίαν ἀσυνήθως ὑψηλήν δραστηριότητα τοῦ ἐνζύμου καρβοξυεστεράση, τό ὁποῖον ὑδρολύει τό Malathion εἰς ἓν μονοκάρβοξυλικόν ὄξύ.

Οἱ μηχανισμοί τῆς τρίτης ταύτης κατηγορίας φαίνεται ὅτι εἶναι οἱ πλέον ἀποτελεσματικοί καί προσδίδουν μεγαλύτεραν ἀνθεικτικότητα εἰς τό ἔντομον.

Διά τῆς μελέτης τῆς σχέσεως τῆς σχετικῆς ἀνθεικτικότητος εἰς τούς ὀργανοφωσφορινοῦς ἐστέρας καί τῶν ἐστερασικῶν γονοτύπων διά τόν γόνον A τοῦ δάκου τῆς ἐλαίας, τρία τινά ἐγένοντο ἐπί πλέον ἐμφανῆ.

1) Ἡ ὑπόθεσις τῆς χολνεστεράσης ἐξηγεῖ τὰ πειραματικά δεδομένα καί ὡς ἐκ τούτου ἐπαληθεύεται ἐκ τῶν πειραματικῶν δεδομένων. Φαίνεται ὅτι ὄντως τούλάχιστον ὑπό τὰς συνθήκας τοῦ πειραματισμοῦ μας, ὁ θάνατος τοῦ ἔντομου ὀφείλεται εἰς τήν παρεμπόδισιν τῶν ἀνετυλχολινεστερασῶν ὑπό τοῦ ὀργανοφωσφορινοῦ ἐστέρος.

2) Ὁ σιγῶν ἀλληλόμορφος δέν συνθέτει ἀνετυλχολινεστεράσην, πιθανότατα δέ δέν συνθέσει ἐστεράσην. Κατά πόσον ὁ σιγῶν ἀλληλόμορφος συνθέτει ἕτερον εἶδος ἐνζύμου ἢ πλήρως ἀδρανές πολυπεπτιδίου ἢ τμήμα πολυπεπτιδίου ἢ οὐδέν, δέν δύναται νά προκύψῃ ἐκ τῶν ἀποτελεσμάτων μας, οὐδέ νά λεχθῆ ὅτι ὁ σιγῶν ἀλληλόμορφος ἀποτελεῖ ὁμοιογενῆ ἢ ἕτερογενῆ κατηγορίαν ἀλληλομόρφων.

3) Ἡ περίπτωσης ἐπιλογῆς ἐναντίον σιγῶντος ἀλληλομόρφου ὑπάγεται εἰς κλασσικὴν περίπτωσιν ἐπιλογῆς ἐναντίον ἑνός ἀλληλομόρφου. Ἡ πιθανὴ ἐπιλογή ὑπὲρ τῶν διπλοποιήσεων διὰ δύο ἐνεργοῦς ἀλληλομόρφους, δέν εἶναι τι ἄγνωστον εἰς τὴν νεωτέραν ἐξελικτικὴν θεωρίαν. Ὄντως, εἰς τόν ἄνθρωπον ἢ μυοσφαιρίνη καὶ τὰ πολυπεπτίδια τῶν διαφόρων τύπων αἰμοσφαιρινῶν (πολυπεπτίδια ε, γ, α, β, καὶ δ) φαίνεται ὅτι προέρχονται ἐκ τοιοῦτου εἴδους διπλοποιήσεων. Τό αὐτό φαίνεται ὅτι συμβαίνει καί εἰς τὰς ἀπτοσφαιρίνας, ὡς καὶ εἰς τὴν περίπτωσιν τῶν βαρέων καὶ ἐλαφρῶν ἀλύσεων τῶν ἀνοσοποιητικῶν πρωτεϊνῶν (ἀνοσοποιητικαὶ σφαιρίναι).

Z. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

A. Τῆ βοηθεία τῆς ἠλεκτροφορήσεως ἐμελετήθη ἡ κληρονομικότης τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀιμαίου καί τῶν ἐστερασῶν τῶν σταδίων προνύμφης καί νύμφης. Εὐρέθησαν δέ ἐκ τῶν δεδομένων διασχίσεως τὰ ἀκόλουθα:

1. Δύο γόνοι κληθέντες D καί E ἐλέγχουν τήν σύνθεσιν τῶν ἀλκαλικῶν φωσφατασῶν τοῦ ἀιμαίου.
2. Αἱ ἐστεράσαι τῶν σταδίων τῆς προνύμφης καί νύμφης ἐλέγχονται ὑπό δύο γόνων τοῦ γνωστοῦ ἤδη B καί ἐτέρου ἀγνώστου μέχρι σήμερον, κληθέντος C.
3. Οἱ ἀλληλόμορφοι τῶν γόνων τούτων συνθέτουν ἰσοἔνζυμα μέ διάφορον ἠλεκτροφορητικὴν κινητικότητα. Οἱ γόνοι D καί E ἔχουν τοῦλάχιστον δύο ἀλληλομόρφους, ὁ δέ γόνος C τοῦλάχιστον τρεῖς.
4. Αἱ ἀλκαλικαί φωσφατάσαι τοῦ γόνου D ὁροῦν ὡς διμερεῖς, τὰ ἑτεροζυγωτά διά τόν γόνον αὐτόν ἄτομα παρουσιάζουν ὑβρίδιον ἔνζυμον.
5. Ἐκαστος ἀλληλόμορφος τοῦ γόνου E δίδει σειρὰν ἀπό ἠλεκτροφορητικῆς ζώνας, εἰς τὰς ὁποίας φαίνεται ὅτι παρουσιάζεται διάφορος ἀριθμός συναπτομένων πεπτιδίων.
6. Οἱ γόνοι D, E καί C φαίνεται ὅτι εἶναι αὐτοσωματικοί. Εἰδικῶς ὁ D δέν ἐδράζεται ἐπὶ τυχόν ὑπάρχοντος ὁμολόγου τμήματος τοῦ ζεύγους τῶν φυλετικῶν χρωματοσωμάτων.

B. Αἱ ἐστεράσαι C ὑπάγονται εἰς τήν κατηγορίαν τῶν λιπασῶν ἢ τῶν ψευδοχολινεστερασῶν.

Γ. Ἡ μελέτη, διά δεύτερον κατὰ σειρὰν ἔτος, φυσικοῦ πληθυσμοῦ δάκτου, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὰς ἐστεράσας τοῦ ἀιμαίου (γόνοι A καί B), ἔδειξεν ὅτι δέν ὑπάρχει σημαντικὴ μεταβολή τῆς συχνότητος τῶν ἀλληλομόρφων καί τῆς συχνότητος τῶν γονοτύπων καί ὡς ἐκ τούτου συμπεραίνεται ὅτι ὁ πληθυσμός εὐρίσκεται ἐν ἰσορροπία.

Δ. Ἀιμαῖα ἄτομα ἑτεροζυγωτά διά τόν γόνον B παρουσιάζουν ἔναντι τῶν ὁμοζυγωτῶν ἠύξημένην κινητικότητα.

E. 1. Εὐρέθη ἀκετυλχολινεστερασιική ἀνθεκτικότης τῶν ἀιμαίων τοῦ δάκτου ἔναντι τοῦ ὀργανοφωσφορινοῦ ἐστέρος Dimethoate, ἐμφανισθεῖσα ὡς ἐπιλογή ἔναντιον τοῦ σιγῶντος ἀλληλομόρφου (α_c) εἰς ὁμοζυγωτὴν καί ἑτεροζυγωτὴν κατάστασιν.

2. Δέν παρατηρήθη έπιλογή είς τούς άλληλομόρφους τοϋ γόνου Β, όσον άφορᾷ είς τήν βιωσιμότητα μετ' έπίδρασιν τοϋ όργανοφωσφορικού έστερος.

3. "Αρρενα και θήλεα άτομα συμπεριφέρονται όμοίως, όσον άφορᾷ είς τήν άνθεκτικότητα είς τόν όργανοφωσφορικόν έστερα Dimethoate.

4. Δέν προκαλείται όλική "στείρωσις" άρρένων ή θηλέων άτόμων μετά από έπίδρασιν δι' όργανοφωσφορικού έστερος Dimethoate.

5. Δέν παρατηρήθη διαφορά θνησιμότητος μεταξύ έπιζησάντων και μή ύπιστάντων τήν έπίδρασιν τοϋ όργανοφωσφορικού έντόμων.

H. S U M M A R Y

Three new genes of the olive fruit fly Dacus oleae (Gmel) have been studied by starch and polyacrylamide gel electrophoresis, namely genes C,D. and E.

Gene C controls the synthesis of a pseudocholinesterase or a lipase at the pupal stage, and genes D and E of adults alkaline phosphatases.

The segregation of three alleles have been studied for gene C two for gene D and E. Each gene synthesizes different isoenzymes bands.

The frequency of the alleles of the genes A and B, described by Zouros (1968) and controlling the synthesis of adult esterases, have been studied, in a sample taken from Aghii Apostoli natural population in 1967. This is the second sample taken from this natural population for the estimation of allelic frequencies of genes A and B, the previous one, of 1966, been described by Zouros (1968). There is no significant difference between the two samples: the natural population seems to be at a stable equilibrium for genes A and B.

The sample revealed the presence of three alleles for gene A and one for gene B besides those described by Zouros (1968). The silent allele(s) of both genes have been also found in same frequency.

Adults homozygotes for gene B seems to be more quiet than heterozygotes for that gene.

Adults dacus flies subjected to the action of dimethoate, an organophosphorus ester used for control the flies, show differential mortality in relation to their genotypes for gene A (an acetylcholinesterase gene) .Flies homozygotes or heterozygotes for the silent allele(s) are more frequent between dead individuals after the action of dimethoate in comparison with the control.

For the doses of the dimethoate used, the organophosphorus ester act as a selective agent against the silent allele(s). This is a form of selection for the quantity of acetylcholinesterase.

No selection has been found for gene B alleles.

Adults males and females show the same susceptibility to dimethoate. This depends on their age.

Flies that survived to dimethoate action are not sterile.

Θ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ashton G.C. and Braden A.W.(1961) Serum b-globulin polymorphism in mice.
Australia J.Exp. Biol.Med.Sci. 14:248.
2. Asperen K. Van (1958) Mode of action of organophosphorus insecticides.
Nature 181:355.
3. Asperen K. Van, Oppenoorth F.J. and Mazijk M.Van(1959) Relation between electrophoretic esterase patterns and organophosphate resistance in *Musca domestica* :
Entomol. Exp.Appl. 8:163.
4. Asperen K. Van and Mazijk M.Van (1965) Agar gel electrophoretic esterases patterns in houseflies.
Nature 205:1291-92.
5. Augustinsson K.B.(1961) Multiple forms of esterases invertebrate blood plasma.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 94: 844.
6. Beckman L. and Johnson F.M.(1963) Variations in larval alkaline phosphatases controlled by *Aph.* alleles in *D. melanogaster*.
Genetics 49:829.
7. Cahn R.D.(1962) Nature and development of lactic dehydrogenases.
Science 136: 362-69.
8. Chamberlain W.F. and Hoskins W.M.(1951) The inhibition of cholinesterase in the American Roach by organic insecticides and related phosphorus containing compounds.
J.Econom.Entom. 44:177.
9. Franco M.G. and Oppenoorth F.J.(1962) Genetical experiments on the gene for low aliesterase activity and organophosphates resistance in *Musca domestica*. Entom.Exp. Appl. 5:119-123.
10. Frizzi G. and Springhetti A.(1953) Prime ricerche citogenetiche sul "*Dacus oleae* Gmel ".
La Ricerca Scientifica 23:1613-20.

11. Harris R.L., Wearden S. and Roan C.C.(1961) Preliminary study of the genetics of housefly resistance to malathion.
J. Econ. Ent. 54: 40-45.
12. Hirojoshi T.(1961) The linkage map of housefly .
Genetics 46:1373-80.
13. Hope H.S.(1954) Inhibition of the acetylcholinesterases of the locust nerve cord, by some organic phosphorus esters.
Ann. Appl.Biol. 41:248.
14. Krimbas C.B.(1963) A contribution to the cytogenetics of "Dacus oleae"Gmel. The salivary gland and mitotic chromosomes.
Caryologia 16: 371-76.
15. Lord K.A. and Potter G.(1950) Mechanism of action of organophosphorus compounds as insecticides.
Nature 166:893.
16. Matsumura F. and Hogendijk C.J.(1964) The enzymatic degradation of malathion in organophosphate resistance and susceptible strains of *Musca domestica*.
Entomol. Exp. Appl. 7:105-14.
17. Mengle D.C. and Casida J.E. (1958) Inhibition and recovery of brain cholinesterases activity in houseflies poisoned with organophosphate and carbamate compounds.
J. Econ. Entomol. 51:750.
18. Metcalf R.L. and March R.B.(1949) Studies of the mode of action of parathion and its derivatives and their toxicity to insects.
J.Econ.Entomol.42:721.
19. Mouthier L.A.(1955) J.Biochemical Chem. 226:867.
20. Nguy V.D. and Bursive J.R. (1960) Studies of the genetics of resistance to parathion and malathion in the housefly.
Bull. Wed Meth. Org. 22:531-42.
21. Νικολόπουλος Χ.(1961) Παρατηρήσεις επί τῶν ἀρρένων καί θηλέων γονάδων τῶν προνυμφῶν τοῦ *Dacus oleae* Gmel. ΑΘΗΝΑΙ.

22. O' Brien R.D. (1956) The inhibition of cholinesterase and succinoxidase by malathion and its isomer. J. Econ. Entom. 49:484.
23. O' Brien R.D. (1960) Toxic phosphorus ester (ACADEMIC PRESS).
24. Oppenoorth F.J. (1963) Genetics of OP-resistance in-
sect.
Toxicologists Inform. Service Bulletin 6:120.
25. Oppenoorth F.J. (1959) Genetics of resistance to organophosphorus compounds and low aliesterases activity in the housefly.
Entomol.Exp.Appl.2:304-19.
26. Oppenoorth F.J. and Asperen K.Van (1961) The detoxi-
cation enzymes causing organophosphates resistan-
ce in the housefly.
Entomol.Exp. Appl. 4:311-333.
27. Oppenoorth F.J. (1965a) Some cases resistance caused
by the alternation of enzymes.
Proceedings of the Twel.Intern.Congress of Ento-
mology London pp 240-43.
28. Poulik M.D. (1957) Starch gel electrophoresis in dis-
continuous system.
Nature 180: 1477.
29. Schwartz D. (1960) Genetics studies on mutant enzymes
in maize. Synthesis of hybrid enzymes by hetero-
zygotes.
Proc. Nat.Acad.Sci.V.S.46:1210-16.
30. Shaw C.R. (1965) Electrophoretic variation in enzymes.
Science 149:936-42.
31. Tzerakakis M.E. (1967) Final technical report. page 22.
32. Voss G. and Matsumura F. (1964) Resistance to organo-
phosphorus compounds in the two-spotted Spider
Mite.
Nature 202:319-20.
33. Wright J.M. and Pal.P. (1967) Genetics of insect ve-
ctors of disease (ESLEVIER PUBLISHING COMPANY).

34. Wood R.J.(1967) A comparative genetical study on DDT resistance in adults and larvae of mosquito *Aedes Aegypti* L.
Genetical Research 10:219-28.
35. Χριστοδούλου Κ.Ξ.(1965) Συμβολή εις τήν μελέτην τῶν ἐνζύμων τῆς κνήσεως καί τοῦ πολυμορφισμοῦ τῶν ἐνζύμων τοῦ πλακοῦντος.
Διατριβή ἐπί διδακτορία. ΑΘΗΝΑΙ.
36. Ζοῦρος Ε.Γ.(1968) Ἡ γενετική μελέτη δύο γόνων ἐστερασῶν τοῦ ἀκμαίου τοῦ δάκου τῆς ἐλαίας καί ἡ χρῆσις τούτων διά τήν ἀνεύρεσιν τῶν γονίμων συζεύξεων τῶν θηλέων ἀτόμων ἐν τῇ φύσει.
Διατριβή ἐπί διδακτορία. ΑΘΗΝΑΙ.