

Azione di alcuni esteri fosforici sul contenuto d'acqua del Coleottero *Tenebrio molitor* esposto a vari gradi di umidità ambiente (*)

Dopo aver saggiato l'effetto del para-diclorobenzene sul contenuto d'acqua del *Tenebrio molitor* esposto a vari gradi d'umidità ambiente (MARCUIZZI, 1958), si è voluto saggiare l'azione di alcuni insetticidi scelti tra quelli che determinano costantemente un aumento nella respirazione dell'animale, senza peraltro stimolarne l'attività motoria, e precisamente gli esteri fosforici Malathion e TEPP ⁽¹⁾. Si pensava che in questo modo si potesse rintracciare l'effetto del solo aumento della respirazione, in quanto, nel caso del para-diclorobenzene, ad un probabile aumento della respirazione si aggiunge l'aumento dell'attività motoria dell'animale (tremori, ecc.), che può influire sul metabolismo idrico dell'animale.

Un fine secondario della ricerca era quello di saggiare l'effetto dell'intossicazione sull'omeostasi del *T. molitor* per ciò che riguarda il contenuto d'acqua.

MATERIALE E TECNICA

Come si è detto, abbiamo usato i due esteri organo-fosforici Malathion e TEPP, entrambi inibitori reversibili della colinesterasi ⁽²⁾. Il Malathion (o Malathium) è un orto-ditiofosfato, e precisamente 0,0-dimetil-S(1,2-dicarbossietil)ditiofosfato; la sua solubilità in acqua è

(*) Lavoro stampato con il concorso finanziario del Gruppo di lavoro del C.N.R. per i prodotti fitoiatrici.

(1) Ringraziamo vivamente le Case che ci hanno fornito i campioni puri di dette sostanze, e precisamente per il Malathion, la SIAPA (Roma), per il TEPP la Montecatini (Milano).

(2) COLHOUN usa il TEPP in blatte, dove produce a volte sintomi simili a quelli da DDT o da piretrina. Secondo questo A. il TEPP determina inibizione della acetilcolinesterasi. STEGWEE usa il TEPP in *Musca domestica*, dove pure si ha inattivazione dell'acetilcolinesterasi.

145 p.p.m.; è miscibile con molti solventi organici (alcool, esteri, chetoni, eteri) e con olii vegetali. È poco solubile negli olii di petrolio. Abbiamo usato il prodotto tecnico, a purezza 95-97 %, che è un liquido di color bruno e odore agliaceo, a densità pari a 1,23 a 25° C.

Il TEPP è un pirofosfato, e precisamente un tetraetilpirofosfato, solubile in acqua, xilene, toluene, acetone, alcool, etere e tetracloruro di C. È quasi insolubile in petrolio. Abbiamo usato il prodotto fornitoci dalla ditta produttrice, che ha un titolo pari a 36,25 % del suo peso.

L'azione degli insetticidi avveniva mediante contatto; precisamente si usava una soluzione di estere fosforico in acetone che veniva lasciato evaporare in un tubetto, dentro al quale si metteva quindi l'animale.

Sebbene le nostre ricerche vertessero unicamente sulla larva del *Tenebrio molitor*, abbiamo voluto determinare la dose semiletale anche per gli stadi di pupa e di adulto, dal momento che mancava nella bibliografia qualsiasi cenno sull'azione degli esteri fosforici nel *T. molitor*.

La mortalità in larve mature, pupe e adulti esposti per 6 giorni all'azione del TEPP e del Malathion (sciolti in acetone) è la seguente (ogni dato rappresenta la media ottenuta da 10 esemplari).

I. TEPP

Concentrazione	0,045 % (=45 γ/es.)	0,09 % 90 γ	0,18 % 180 γ	0,37 % 370 γ	0,75 % 750 γ	Test (solo acetone)
Larva . . .	0 su 10	0 su 10	4 su 10	3 su 10	5 su 10	0 su 10
Pupa . . .	0 su 10	0 su 10	0 su 10	8 su 10	9 su 10	0 su 10
Adulto . .	2 su 10	6 su 10	10 su 10	10 su 10	10 su 10	0 su 10

II. Malathion

Concentrazione	0,035 % (=35 γ/es.)	0,07 % 70 γ	0,15 % 150 γ	0,30 % 300 γ	Test (solo acetone)
Larva	2 su 10	4 su 10	6 su 10	7 su 10	0 su 10
Pupa	0 su 10	0 su 10	5 su 10	5 su 10	0 su 10
Adulto	8 su 10	9 su 10	9 su 10	10 su 10	0 su 10

Si deduce che la dose semiletale (o L_{50} dei tossicologi) è, per il TEPP, 0,75 % per la larva, $\cong$ 0,25 % per la pupa, $\cong$ 0,08 per l'adulto; per il Malathion, 0,11 % per la larva, 0,15 % per la pupa e $<$ 0,03 % per l'adulto.

Una volta determinata la tossicità di ognuno dei due esteri fosforici, siamo passati a saggiare l'effetto dell'intossicazione sul contenuto in acqua degli animali studiati. Abbiamo esposto a tal fine larve ma-

ture di *Tenebrio molitor* all'azione dell'insetticida, in igrostati tenuti a umidità varie, da 0 a 100 % di umidità relativa. Il metodo con cui si ottenevano le varie umidità è quello già impiegato nei lavori precedenti sull'argomento da uno dei due AA. (cfr. MARCUZZI, 1956-1959). Per ogni determinazione sono state usate 10 larve.

RISULTATI OTTENUTI

L'esame del contenuto d'acqua di animali intossicati con Malathion (allo 0,30 %), rispettivamente con TEPP (allo 0,18 %), ed esposti a varie umidità per 7 giorni, porta ai risultati rappresentati nella tabella che segue e nei grafici I e II.

Umidità relativa (%)	Modificazioni del peso corporeo rispetto al peso iniziale		
	Test	Malathion	TEPP
0	— 7,33 ± 1,8	— 40,00 ± 6,9	— 39,69 ± 4,8
10	— 7,35 ± 1,7	— 34,87 ± 7,2	— 26,01 ± 13,8
40	— 8,16 ± 3,4	— 39,62 ± 2,8	— 31,21 ± 9,8
60	— 8,54 ± 2,8	— 35,38 ± 4,7	— 34,71 ± 11,0
76	— 5,89 ± 2,8	— 33,23 ± 11,4	— 20,95 ± 3,7
86	— 4,07 ± 2,4	— 37,68 ± 4,0	— 30,03 ± 13,8
92	— 4,10 ± 2,4	— 31,55 ± 5,4	— 16,96 ± 9,3
95	— 3,87 ± 1,4	— 25,73 ± 1,9	— 11,23 ± 2,7
100	+ 0,13 ± 2,8	— 3,91 ± 1,8	+ 4,69 ± 13,4

Come si vede, il contenuto d'acqua degli esemplari trattati è costantemente inferiore a quello dei controlli, eccezion fatta per il valore d'igrometria 100 %, limitatamente agli esemplari trattati con il TEPP.

Pure un effetto molto notevole dell'intossicazione prodotta da questi due esteri si nota sulla variabilità del contenuto d'acqua negli animali trattati, confrontata con quella dei controlli (fig. III). Da notare che nel grafico il σ (scostamento quadratico medio) è considerato sempre come positivo, indifferente se le modificazioni rispetto al peso iniziale sono positive o negative. La variabilità del contenuto d'acqua risulta del resto anche dal semplice esame del σ indicato per i valori dei grafici I e II.

Bisogna concludere perciò che, oltre ad aversi per effetto dell'intossicazione da estere fosforico una diminuzione nel contenuto d'acqua, questo presenta pure delle notevoli variazioni che esprimono l'alterazione dei poteri di omeostasi dell'animale.

Osservando poi l'effetto dell'umidità ambiente (umidità relativa)

su animali esposti per 7 giorni all'azione del Malathion (0,30 %) si nota che a 60 % di u.r. si ha la massima sopravvivenza e quindi il minimo di tossicità, a 100 % il minimo di sopravvivenza e quindi massimo di tossicità; osservando l'effetto dell'umidità ambiente su ani-

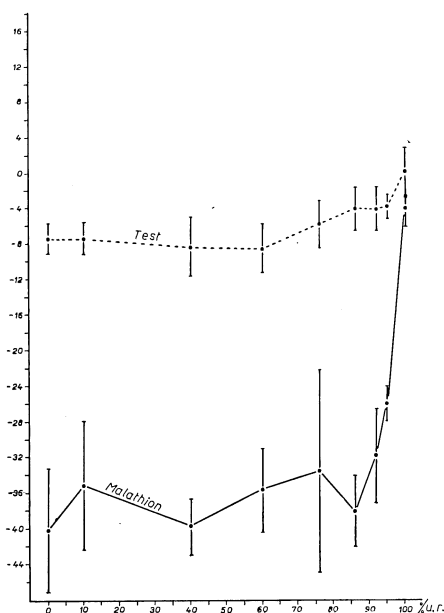


Fig. I - Modificazioni del contenuto d'acqua come effetto dell'esposizione a varie umidità ambiente in animali controllo e in animali sottoposti alla azione del Malathion.

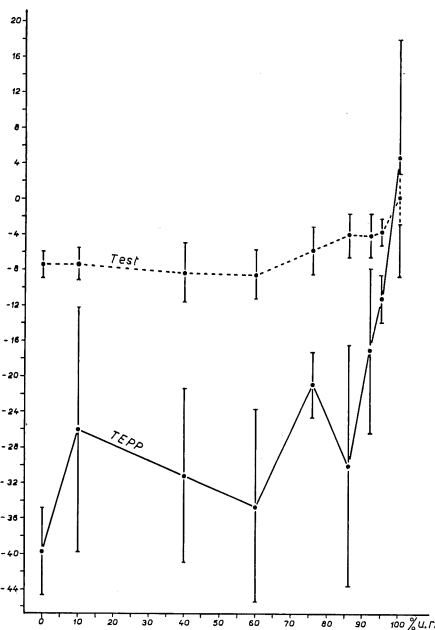


Fig. II - Modificazioni del contenuto d'acqua come effetto dell'esposizione a varie umidità ambiente in animali controllo e in animali sottoposti alla azione del TEPP.

mali esposti pure per 7 giorni all'azione del TEPP (0,37 %), si nota che la massima sopravvivenza e quindi il minimo di tossicità si ha all'umidità di 60 %, invece il minimo di sopravvivenza e quindi massimo di tossicità a 0 e 100 % u.r. (fig. IV).

DISCUSSIONE

Se confrontiamo i risultati ottenuti coi due esteri fosforici con quelli ottenuti da uno di noi (MARCUIZZI) con il para-diclorobenzene, notiamo anzitutto un effetto molto più notevole dei primi rispetto al

secondo, compresi i valori alti d'igrometria, eccezion fatta per il valore 100 % e per il solo TEPP (da notare che nel caso del para-diclorobenzene si aveva una non significatività delle differenze solo per il valore d'igrometria 92 %). Si dovrebbe pensare perciò che gli esteri fosforici producano una molto maggiore stimolazione della respirazione che il « globol ». Non sappiamo se, accanto all'aumentata respirazione caratteristica degli esteri fosforici in generale, si possa avere anche la costante apertura degli stigmi, come conseguenza dell'ipertono e dell'incoordinazione muscolare (cfr. ad es. FISCHETTI) ⁽³⁾.

Per quanto riguarda l'effetto dell'intossicazione sull'omeostasi del contenuto d'acqua, si può notare che entrambi i due insetticidi considerati producono un'alterazione nell'omeostasi stessa, maggiore di quella prodotta dal « globol » nel caso del TEPP, uguale invece nel caso del Malathion (calcolando la media dei σ trovati nelle singole esperienze, si ha: σ del para-diclorobenzene = 205,35 e 251,88 %, in media 228,61 % del σ del test; σ del TEPP = 392,84 %, σ del Malathion = 228,42 % del σ del test). Senza applicare i test statistici, possiamo presumere che il valore del σ , e di conseguenza della varianza, nel caso degli animali intossicati con il TEPP è senz'altro superiore a quello del σ (e della varianza) di animali intossicati con il Malathion, che risulta a sua volta uguale a quello di animali trattati con il « globol ».

Riferendoci ora ai risultati di altri AA. sull'azione di insetticidi sul ricambio idrico, ricordiamo che JONES (lavoro non citato nella nota sul para-diclorobenzene perché non era ancora uscito) trova che le larve del *Tenebrio molitor* trattate con DDT perdono peso da 2 a 4 volte più dei controlli; il volume di sangue, espresso come % del peso corporeo, non varia, tanto che bisogna concludere che l'acqua viene sottratta in egual misura dal sangue e dai tessuti. LUDWIG, ancora nel 1946, trova che sia le larve che gli adulti di *Popillia* perdono completamente la loro resistenza al disseccamento quando sono intossicate con DDT; gli adulti, che vivono in ambiente aereo secco, muoiono a causa della perdita d'acqua più presto delle larve che vivono nel suolo umido.

JOCHUM in varie specie di Insetti trova che l'intossicazione da « E 605 » (dietil-para-nitrofeniltiofosfato) determina un'abbondante

(3) Per determinare esattamente in quale misura l'aumento della respirazione interviene a produrre l'aumento di traspirazione nella larva del *Tenebrio molitor* abbiamo intenzione di dosare quanto prima il consumo di ossigeno in animali normali e in animali intossicati.

secrezione di tutti gli epiteli del tubo digerente; le secrezioni possono essere eliminate dalla bocca. Ne consegue diminuzione del contenuto d'acqua del corpo e più ancora del sangue.

In *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae* e *Tribolium confusum*,

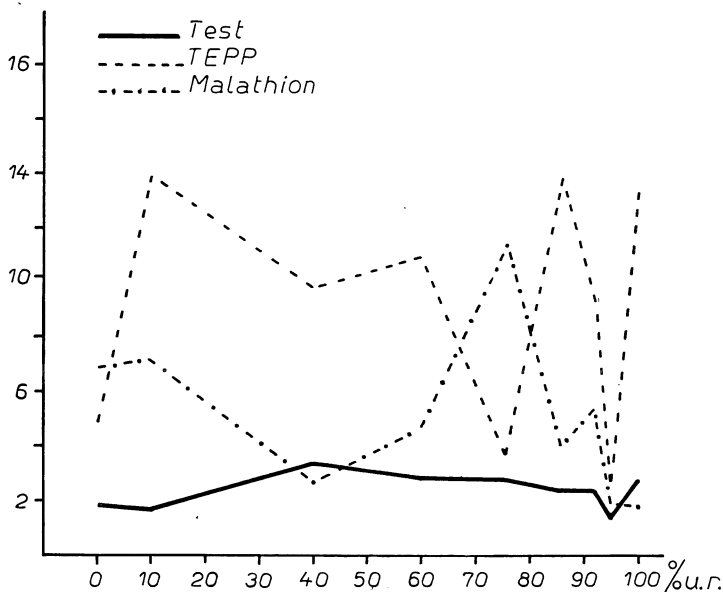


Fig. III - Scostamento quadratico medio delle modificazioni del peso corporeo rispetto al peso iniziale in animali esposti a varie umidità ambiente.

STRONG e SBUR trovano che coll'aumento del contenuto d'acqua dei grani si ha diminuzione della mortalità da Malathion. Le loro esperienze però si limitano ai gradi di umidità relativa tra 10 e 20 %. Questi AA. trovano « desiderabile aggiustare le dosi di Malathion per compensare gli effetti avversi del contenuto d'acqua e della temperatura dei grani ». HARRISON e SMITH, studiando l'effetto del Kelthane (p-clorofenil-tricloroetanol) sulle uova del *Tetranychus telarius*, trovano una maggior suscettibilità all'azione tossica coll'aumento dell'umidità (da 30 a 90 %). In *Dendrolimus*, infine, ci sarebbe la massima suscettibilità agli insetticidi a basse umidità (cfr. BROWN, p. 243).

Pur non essendoci nella letteratura molti dati sull'effetto degli insetticidi sul contenuto d'acqua, possiamo ritenere che gran parte

di queste sostanze determina — pur con meccanismi diversi — una riduzione nel contenuto d'acqua, riduzione che può interessare in diversa misura l'emolinfa e i tessuti. In quanto agli effetti dell'umidità ambiente sulla suscettibilità agli insetticidi, sembra che gli Insetti

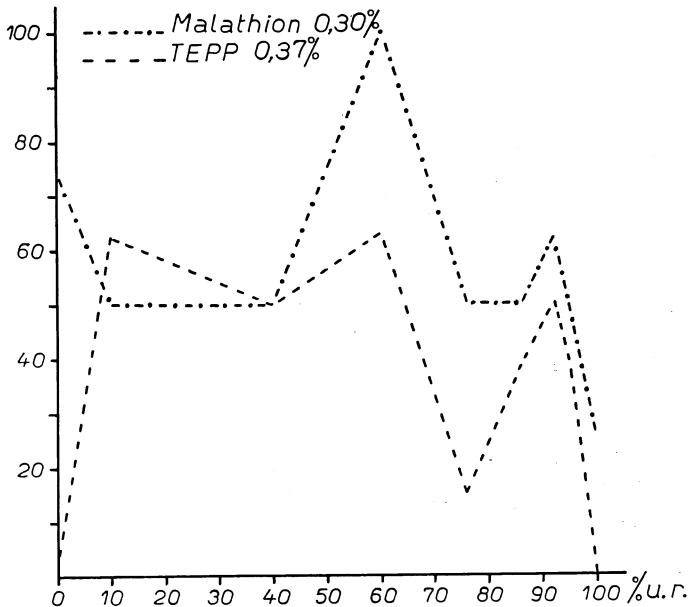


Fig. IV - Percentuale dei sopravvissuti al trattamento con esteri fosforici in esemplari tenuti a varie umidità ambiente.

saggiati sinora (*Dendrolimus*, *Sitophilus*, *Tribolium*) siano più sensibili a basse umidità: in questo senso il *Tenebrio molitor* avrebbe un comportamento eccezionale, e sarebbe simile in ciò agli Acari del tipo *Tetranychus telarius*.

Ma naturalmente sarebbe necessario estendere molto di più queste ricerche, anche da un punto di vista comparativo.

RIASSUNTO

In seguito all'esposizione di larve di *Tenebrio molitor* a varie concentrazioni dei due esteri fosforici TEPP e Malathion e a vari gradi di umidità ambiente, si

nota costantemente perdita di acqua maggiore negli esemplari trattati rispetto ai controlli. Inoltre il contenuto d'acqua dei primi presenta costantemente una variabilità di gran lunga superiore (differenza statisticamente significativa) rispetto a quella dei controlli.

SUMMARY

Following to the exposure of the mealworm larva to different concentrations of the phosphoric esthers TEPP and Malathion and to different relative humidities, there is in the treated specimens a loss of water constantly greater than in the test specimens. The water content of the former shows furthermore a variability much greater than that of the test specimens, the difference being statistically significant.

BIBLIOGRAFIA

- BROWN A. W. A., 1956 - *Insect control by chemicals*, New York e London.
- COLHOUN H., 1960 - *Blood factors in insecticidal poisoning*, XI Intern. Entom. Kongress, Wien (in corso di stampa).
- FISCHETTI B., 1958 - *Il Parathion e gli esteri organo-fosforici*, Napoli.
- HARRISON R. A. and SMITH A. G., 1960 - *Effect of relative humidity on the hatching and on toxicity of ovicides to eggs of the red spider mite, Tetranychus telarius (L.) (Acarina Tetranychidae)*, Nature, 186, 409.
- JOCHUM F., 1956 - *Modification des reactions dans l'organisme des insectes par le diethyl-para-nitrophenyl-thiophosphate*, Höfchen-Briefe, Bayer Pflanzenschutz-nachrichten, n. 6, 289.
- JONES J. C., 1957 - *DDT and the hemocyte picture of the mealworm Tenebrio molitor L.*, J. cell. compar. Physiol., 50, 423.
- LUDWIG D., 1946 - *The effect of DDT on the metabolism of the Japanese beetle, Popillia japonica*, Ann. Ent. Soc. Am., 39, 496.
- MARCUZZI G., 1958 - *L'osmoregolazione nel Tenebrio molitor L. (Coleoptera Tenebrionidae)*, Boll. Zool. agr. e Bachic. (s. II), 1, 117.
- MARCUZZI G., 1958 - *Effetto del p-diclorobenzene sul contenuto d'acqua del Tenebrio molitor esposto a diversi gradi di umidità ambiente*, Mem. Acc. Patav. Sc. Lett. Arti, 70, 111.
- MARCUZZI G. e MISTRELLO P., 1959 - *Il contenuto d'acqua del Tenebrio molitor L.*, Riv. Biol., 51, 343.
- STEGWEE D., 1960 - *Some observations on the mode of action of tetraethylpyrophosphate in Musca domestica*, XI Intern. Entom. Kongress, Wien (in corso di stampa).
- STRONG R. G. and SBUR D. E., 1960 - *Influence of grain moisture and storage temperature of the effectiveness of malathion as a grain protectant*, J. econ. Ent., 53, 341.