

RAFFAELE CAVALLORO - GIORGIO BONFANTI

Euratom - Servizio: Biologia - Settore: Entomologia
Centro Comune Ricerche Nucleari - Ispra

Possibilità dell'impiego di radiazioni ionizzanti contro
Acanthoscelides obsoletus Say (Coleoptera, Bruchidae),
a difesa dei legumi conservati (*)

INTRODUZIONE

Nella ricerca dei metodi e dei mezzi più idonei a combattere gli insetti dannosi all'agricoltura, assume sempre maggiore importanza l'uso delle radiazioni ionizzanti impiegate sia per la sterilizzazione dei maschi di certe specie, che per la protezione diretta dei raccolti: metodo essenzialmente biologico il primo, applicabile a specie che presentino adatti requisiti di comportamento e di ambiente, metodo fisico ed a carattere generale il secondo.

Le radiazioni ionizzanti offrono nuove prospettive alla soluzione di problemi entomologici applicati, anche perché l'uniformità delle applicazioni ne aumenta l'efficienza, laddove nei trattamenti convenzionali insorgono limitazioni dipendenti da fattori fisici di distribuzione e di penetrazione. Non si sono inoltre riscontrati fenomeni di resistenza da parte degli insetti o — almeno alle dosi normalmente impiegate — presenza di residui tossici, fattori entrambi che invece ostacolano spesso ed in modo grave l'impiego di insetticidi, massimamente di quelli organici di sintesi. Infatti la resistenza che talora le specie dannose mostrano di acquisire nei riguardi dei più potenti principi attivi, i residui che di tali insetticidi permangono nelle derrate di diretto consumo alimentare, nonché l'uso non sempre oculato di detti insetticidi, possono condurre verso squilibri biologici e rischi di grave entità.

Gli insetti presentano (CAVALLORO, 1961) una notevole resistenza ai raggi X o γ , che sono le radiazioni normalmente usate, e quindi per provocarne la rapida morte sono necessarie apparecchiature di

(*) Pubblicazione n. 304 della Divisione di Biologia dell'Euratom.

grande potenza. Tale difficoltà può venire facilmente superata in pratica impiegando con successo dosi relativamente basse, che risultino letali per gli stadi di uovo e di larva immatura e sterilizzanti per gli stadi successivi, per cui gli individui sopravvissuti saranno incapaci di dare luogo a prole.

Considerando gli insetti viventi a spese dei prodotti conservati, in generale si può dire che la loro polifagia favorisce l'attacco di una vastissima gamma di derrate, spesso rese del tutto inutilizzabili. Va aggiunto che la ridottissima conduttività termica del materiale attaccato impedisce la dispersione delle piccole quantità di calore generate dagli insetti nell'interno delle masse, favorendo così una proliferazione intensa degli insetti stessi e spesso l'insorgenza di altri agenti patogeni.

Il problema della difesa dei prodotti conservati in magazzino è particolarmente pressante ⁽¹⁾ e diverse sono state sinora le ricerche condotte con l'uso di radiazioni ionizzanti per la disinfestazione di derrate varie (HASSETT et al., 1952; PAPADOPOULOU, 1963; SARAVACOS et al., 1963; CAVALLORO, 1966), ma soprattutto esse hanno riguardato i cereali (KUPRIANOFF, 1956; CORNWELL et al., 1957; PEREDEL'SKY et al., 1958; DENNIS, 1961; JEFFERIES et al., 1961; PANDLEBURY et al., 1962; ANDREEV et al., 1963; CORNWELL, 1959 e 1966). Alle dosi impiegate non si verificano ovviamente danni alle qualità commerciali né, tanto meno, alterazioni delle caratteristiche organolettiche dei prodotti irraggiati. Alcune pratiche applicazioni sono infatti già in atto su scala industriale per grano, farina e derivati, ad esempio negli Stati Uniti d'America, in Turchia, nell'Unione delle Repubbliche Socialiste Sovietiche, ecc..

Per quanto riguarda la difesa dei legumi conservati, poche sono state le ricerche sinora effettuate con radiazioni sugli insetti che li danneggiano; le principali hanno riguardato saggi preliminari su uova di *Bruchus quadrimaculatus* F. (HUQUE, 1963), su vari stadi di *Callosobruchus chinensis* L. (QURAI'SHI et al., 1963) e *C. subinnotatus* Pic (HUQUE et al., 1964) ed indagini sull'individuazione delle dosi utili per la sterilizzazione di *Bruchus pisorum* L. e di *Acanthoscelides obsoletus* Say (ANDREEV et al., 1963; BAKER et al., 1954; PESSON, 1963).

(1) Le perdite medie che si verificano ad opera degli insetti in magazzino, tra il momento del raccolto e quello del consumo del prodotto, sono annualmente stimate (MARTELLI, 1964) pari ad una quantità di derrate tale che potrebbe costituire l'alimento per ben 130 milioni di persone!

Data l'incompletezza delle indagini, la scarsità e la frequente discordanza dei reperti riguardanti l'applicazione di tecniche di irraggiamento a difesa dei legumi conservati nella lotta contro l'*Acanthoscelides obsoletus* e nell'intento di apportare un utile contributo appurando le reali possibilità esistenti, si è indagato sul comportamento della specie a diverse dosi di radiazioni ionizzanti. A tale scopo, sono stati effettuati studi di radiosensibilità dei vari stadi dell'insetto in età nota e prove sulla sterilizzazione della specie; naturalmente, sono state condotte prove di difesa diretta dei prodotti infestati, al fine di stabilire le dosi minime utili di impiego.

L'*Acanthoscelides obsoletus* Say

Tra i Coleotteri Bruchidi infeudati alle Leguminose, indubbiamente il più dannoso è l'*Acanthoscelides obsoletus* Say, originario dell'America tropicale, di cui si sono trovati esemplari (LEPESME, 1944) in antichissime tombe indiane della valle d'Ica e della necropoli d'Ancon in Perù.



Fig. 1 - Semi di *Phaseolus multiflorus* Willd. infestati da *Acanthoscelides obsoletus* Say.

Ricordato con vari nomi sinonimi, i più comuni tra i quali *obtectus* Say (1831), *irresectus* Fahrs (1839), *pallidipes* Fahrs (1839), *subellipticus* Wall. (1857), *Breweri* Crotch. (1867), *fabae* Riley (1871), è oggi cosmopolita; mentre gli adulti sono ritenuti pollinofagi e gli-

cifagi, le larve hanno regime spermatofago obbligato, evolvendosi a spese di semi maturi freschi o secchi di numerose Leguminose, di preferenza del genere *Phaseolus*, non disdegnando peraltro semi di piante appartenenti ad altre famiglie, ad esempio a Graminacee.

I danni sono generalmente di grave entità, dato che i semi attaccati (fig. 1) vengono resi inutilizzabili anche quando non sono completamente distrutti. Elevato è il deprezzamento commerciale per la presenza delle gallerie praticate dalle larve, che ne diminuiscono grandemente la germinabilità; viene altresì fortemente ridotta la commestibilità in quanto che il prodotto assume un sapore disgustoso anche in casi di attacco leggero.

L'insetto adulto, di dimensioni comprese normalmente tra 2,3 e 4,2 mm di lunghezza ed 1,7 e 1,9 mm nel punto di massima larghezza, ha il corpo ricoperto da una fitta e corta pubescenza coricata grigio-brunastra, con peli fulvi sparsi ed aree glabre che determinano caratteristiche screziature particolarmente evidenti soprattutto sulle elitre. Di forma tozza, con capo piccolo brevemente prolungato in avanti, torace tronco-conico e addome subovale, presenta le zampe posteriori più lunghe e robuste delle anteriori e delle medie ed ali membranose bene sviluppate che permettono all'insetto di essere un buon volatore. Il Bruchide è dotato di spiccato fototropismo positivo e può accoppiarsi subito dopo lo sfarfallamento: la deposizione delle uova è stimolata fortemente dalla presenza di cibo.

L'uovo (fig. 2) ha forma ellittica, colore bianco pallido traslucido e corion leggermente rugoso; misura da 0,5 a 0,8 mm di lunghezza e da 0,2 a 0,3 mm di larghezza; viene debolmente incollato al substrato ed assume un deciso colore bianco latteo col progredire dell'incubazione.

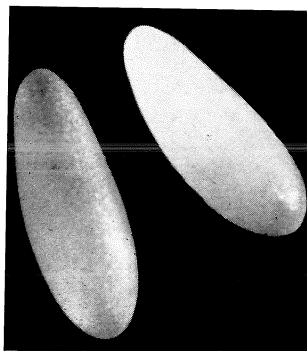


Fig. 2 - Uova di *Acanthoscelides obsoletus* Say (x 70).

Durante lo sviluppo postembrionale la specie presenta una subipermetabolia (GRANDI, 1966) nella quale si riscontrano due forme larvali successive: larve di I tipo, oligopode, e di II tipo, apode. La larva neonata è molto mobile, delicata, subcilindrica, provvista di tre esili paia di zampe toraciche, di placche protoraciche ed anali leggermente sclerificate e di lunghe setole addominali impropriamente dette « locomotrici » (BALACHOWSKY, 1962). Di colore bian-

castro e decisamente lucifuga, essa misura 0,5-0,9 mm di lunghezza e 0,2 mm in media nel punto di massima larghezza, mentre quella matura 3,5-5,0 mm di lunghezza, in estensione, e 2,3 mm in media di larghezza. Penetrata nel seme prescelto, alla prima muta diventa apoda; quindi assume una forma tozza, cirtosomatica, mentre la sua mobilità si attenua fortemente.

L'impupamento avviene in una cella che la larva matura prepara a ridosso del tegumento del seme nel quale si è evoluta; la pupa, exarata, ha dimensioni variabili fra 3,3 e 4,8 mm di lunghezza e misura 2,3 mm in media nel punto di massima larghezza, è glabra ed ha prima una colorazione biancastra, indi bianco-giallastra, che va diventando scura man mano che si approssima il momento dello sfarfallamento dell'adulto.

Le generazioni si succedono in numero variabile, a seconda delle condizioni ambientali e nutrizionali, sia in pieno campo che in magazzino: nel primo caso le uova sono deposte sui semi freschi prossimi alla maturazione, nel secondo su quelli conservati. L'intero ciclo biologico dell'insetto, allevato in laboratorio in condizioni rigorose di 27 °C di temperatura, 70 % di umidità relativa e su alimento costituito da semi secchi di *Phaseolus multiflorus* Willd., si compie in un periodo di 45-48 giorni.

MATERIALI E METODI

La necessità non solo di disporre di un elevatissimo numero di esemplari nei vari stadi, ma di conoscerne con esattezza l'età onde effettuare le prove di radiosensibilità su materiale uniforme, ha imposto la realizzazione di ampi allevamenti della specie. Questi sono stati effettuati in apposite scatole di plexiglas, su fagioli secchi della cultivar « fagiolo di Spagna bianco », tenuti in termoumidostato, al buio, in condizioni costanti di temperatura e di umidità relativa rispettivamente di 27 °C ($\pm 0,2$) e 70 % ($\pm 2,5$); ogni settimana venivano di regola allestiti due nuovi allevamenti.

Così operando, l'uovo schiude dopo 8 giorni d'incubazione e la larva neonata penetra nel fagiolo forando il tegumento ove è stato deposto l'uovo od in corrispondenza dei punti di contatto tra i semi. Eccezionale è la capacità di perforazione della larva neonata (talvolta sono state forate perfino le pareti in plexiglas, di 1 mm di spessore, delle scatole di allevamento!); in generale però essa impiega parec-

chie ore per compiere tale operazione; molto spesso tuttavia preferisce utilizzare, ove possibile, il foro praticato in precedenza da una altra larva. La durata dello sviluppo larvale è di 32 giorni e di 7 giorni quella della metamorfosi.

Gli adulti neosfarfallati di regola attendono qualche giorno prima di forare il sottile opercolo della cella pupale e di fuoruscire (fig.



Figg. 3-4 - *Acanthoscelides obsoletus* Say (x3). - 3. Adulto neosfarfallato che fuoriesce dalla cella pupale (a sinistra). - 4. Fagiolo aperto ad arte per mostrare erosioni, celle pupali, larve e pupe (a destra).

3). Essi depongono i germi entro i primi venti giorni di vita con punte massime dal 3° al 6° giorno: il numero di uova deposte ⁽²⁾ è stato in media di 70 per ogni femmina con massimi di 85.

Le ricerche sono state condotte su insetti di età nota negli stadi di uovo, di pupa e di adulto, in campioni uniformi sempre costituiti da 100 elementi, e su materiale infestato contenente in modo eterogeneo tutti gli stadi dell'insetto.

⁽²⁾ Si verifica talvolta, improvvisamente, un forte calo di fecondità della specie; le cause del fenomeno non sono conosciute. È interessante segnalare che a ciò si avviava con successo fornendo agli adulti un piccolo quantitativo di miele posto sulla superficie interna del coperchio delle scatole di allevamento. È stato osservato che tale alimento, oltre che consentire la ripresa regolare delle ovideposizioni, causa una maggiore longevità degli insetti stessi.

Per ottenere uova di una data età, si è operato partendo da adulti coetanei che venivano dapprima messi in provettoni vuoti per due giorni e quindi, sfruttando la loro naturale tendenza a dirigersi verso le sorgenti luminose, fatti passare in altri contenenti fagioli: lo stimolo da questi offerto induceva in breve tempo le femmine all'ovideposizione. Dopo un periodo di tempo sufficiente ad ottenere la quantità di uova desiderata, si provvedeva con lo stesso metodo fototropico a fare uscire gli adulti; venivano quindi raccolte le uova, tutte pertanto coetanee o quasi.

Più laborioso è stato il metodo impiegato per la preparazione dei campioni di pupe, occorrendo ad una ad una estrarle con estrema delicatezza dalle rispettive celle pupali, previa asportazione mediante bisturi del tegumento del fagiolo infestato (fig. 4); la loro età è stata calcolata in base alla comparsa della pigmentazione oculare (fig. 5), che si manifesta 4 giorni prima del termine della metamorfosi, e ricontrollata poi risalendo a ritroso dal momento di sfarfallamento dell'adulto.

Onde disporre con sicurezza di individui vergini, lo stesso metodo è stato adottato anche per gli adulti, prelevati dalle rispettive celle quando erano in procinto di fuoruscire dal seme; per la distinzione dei sessi, date le incertezze che comportava l'esame dei caratteri di curvatura del margine distale dell'ultimo urosterno (PERRIS, 1874) o quello della porzione di pigidio visibile dorsalmente (HALSTEAD, 1963), è stato escogitato un nuovo sistema. Esso consiste nell'esame diretto dei genitali esterni: esercitando una lieve pressione sull'addome mediante una pinzetta di finissima lamierina d'acciaio a delicatissima presa — che non lede in alcun modo l'insetto neosfarfallato il cui esoscheletro è molto elastico e cedevole — si provoca l'estroflessione dell'ovopositore nelle femmine (fig. 6) e di una parte dell'edeago nei maschi (fig. 7), chiaramente visibili il primo ad occhio nudo ed il secondo con soli 10 ingrandimenti.

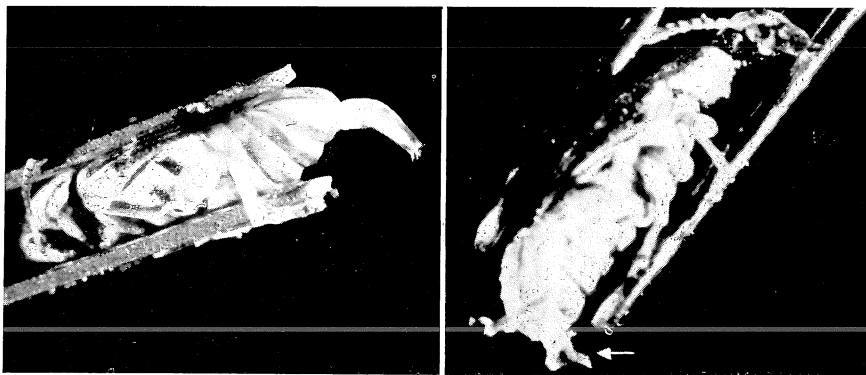
I campioni di materiale infestato sono stati preparati con fagioli secchi contenenti insetti in tutti i diversi stadi di sviluppo ed attaccati in media per il 25 %.



Fig. 5 - Pupa di *Acanthoscelides obsoletus* Say, al momento della comparsa della pigmentazione oculare (x7).

La sorgente di radiazioni ionizzanti impiegata nelle ricerche è stata un generatore di raggi X, modello Seifert 300, ad anticatodo di wolframio raffreddato con olio circolante, e con filtro effettivo di vetro più olio equivalente a 3 mm di alluminio.

Per le prove sugli insetti, l'apparecchio, funzionante a 10 mA e 220 KV, erogava un flusso di intensità costante pari a 650 r/min nel



Figg. 6-7 - *Acanthoscelides obsoletus* Say (x 15). - 6. Femmina, con ovopositore estroflesso (a sinistra). - 7. Maschio, con edeago estroflesso (a destra).

punto ove era messo il materiale da irraggiare; per le prove sui legumi infestati, fermi restando gli altri dati, l'apparecchio funzionava a 250 KV e forniva una dose unitaria costante di 850 r/min, con un diaframma supplementare di piombo, applicato a contatto del filtro in vetro più olio, ad apertura circolare del diametro di 80 mm.

Gli insetti sono stati irraggiati ponendoli entro provette in vetro a pareti sottili ed applicando queste all'estremità di un apposito apparecchio all'uopo predisposto il quale ne consentiva la rotazione a velocità costante di 60 giri al minuto, allo scopo di ottenere la perfetta uniformità di irraggiamento di tutto il materiale. I fagioli infestati, invece, sono stati irraggiati sopra un blocco di plexiglas alla distanza di 20 cm dal « focus » dell'apparecchio.

Con apposita sonda veniva costantemente controllato il flusso erogato e la dose effettivamente fornita al campione, tenendo conto così anche dell'eventuale dispersione (effetto « back-scattering ») dovuta allo spessore del contenitore entro il quale era posto il materiale entomologico; le singole dosi, sempre date in un'unica soluzione, erano

determinate dal tempo di esposizione. Si è calcolato l'ordine di grandezza dell'errore che è risultato del 10 % circa.

Per ogni prova sono state effettuate almeno quattro replicazioni ed i dati ottenuti elaborati con il calcolo statistico; tutti i campioni, sia di insetti che di materiale infestato, sono sempre stati irraggiati nelle stesse condizioni ed in ambiente a temperatura costante di 25 °C.

RISULTATI E CONCLUSIONI

Le ricerche condotte sulla radiosensibilità e sulla sterilizzazione della specie e quelle riguardanti la difesa diretta dei prodotti infestati, hanno portato a risultati particolarmente interessanti e positivi: si è potuto infatti precisare con esattezza la risposta dell'*Acanthoscelides obsoletus* alle radiazioni ionizzanti ed appurare la possibilità di applicazione delle tecniche di irraggiamento a difesa dei legumi conservati.

Nello stadio di uovo la radiosensibilità dell'insetto è superiore che in qualsiasi altro stadio di vita, e risulta tanto più elevata quanto più l'uovo si trova verso l'inizio del differenziamento embrionale.

Sono state considerate uova in tre diverse età, deposte in un intervallo di 4 ore; i risultati di ogni prova sono stati rilevati alla schiusura delle uova stesse ed il loro esame (Tab. I) mostra in modo chiaro la grande radioresistenza manifestata dalle uova prossime alla

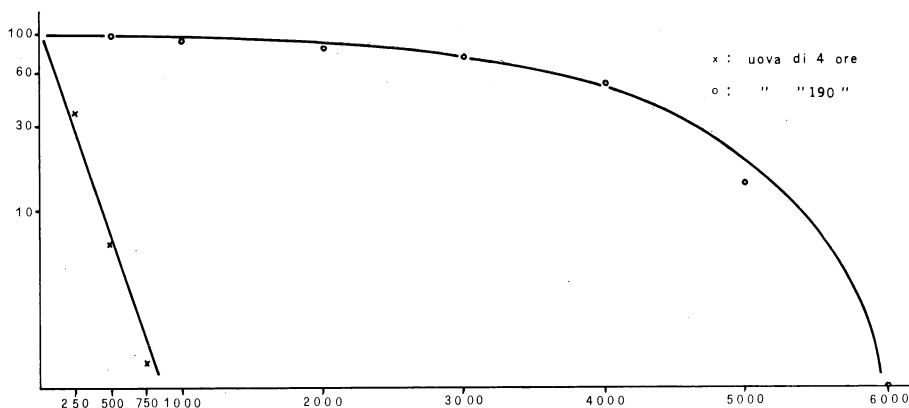


Fig. 8 - Effetto di alcune dosi d'irraggiamento sulla mortalità di uova di *Acanthoscelides obsoletus* Say in due diverse età (valori espressi in percentuale del testimone). In ascissa: dose (r). In ordinata: n. sopravvissuti (%).

schiusa, rispetto a quelle che si trovano nelle prime fasi del differenziamento embrionale. Infatti, alla dose di 250 r, ad esempio, si ha — rispetto al testimone — circa il 36 % di schiusa in uova di 4 ore di età, mentre per raggiungere risultati simili in uova di 100 e 190 ore occorrono rispettivamente dosi di 600 r e di ben 4500 r circa; le curve di mortalità (fig. 8) indicano in modo esplicito tale comportamento, strettamente connesso al grado di sviluppo embrionale dell'insetto. È interessante notare come la radioresistenza manifestata con il procedere dello sviluppo embrionale abbia un incremento molto marcato dopo la blastocinesi, al punto che le dosi necessarie per ottenere lo stesso effetto subiscono un aumento dell'ordine di ben 5 volte.

TABELLA I. - Irraggiamento di uova di *Acanthoscelides obsoletus* Say: effetto di alcune dosi sulla schiusura, in materiale di tre diverse età (valori medi di 4 replicazioni)

Dose (r)	Età (h)	Schiusura (%)
Testimone	4	85,5 ± 2,8
250	4	30,7 ± 4,1
500	4	5,7 ± 3,5
750	4	1,2 ± 0,5
1000	4	0
Testimone	100	86,7 ± 3,1
500	100	74,0 ± 3,5
1000	100	0,2 ± 0,2
1500	100	0
Testimone	190	89,2 ± 1,8
500	190	87,5 ± 1,8
1000	190	81,0 ± 2,1
2000	190	72,2 ± 2,8
3000	190	65,2 ± 2,5
4000	190	45,2 ± 4,9
5000	190	12,5 ± 2,0
6000	190	0,7 ± 0,5
7000	190	0

La durata dell'incubazione non viene in generale modificata dall'irraggiamento: soltanto per le uova prossime alla schiusura si è rilevato un certo ritardo in diretto rapporto con la dose, notando una graduale attenuazione della vitalità della larva in procinto di sgusciare, che palesa difficoltà nel rompere gli involucri protettivi dell'uovo.

È stato comunque appurato che sono sufficienti dosi molto basse di radiazioni ionizzanti inflitte alle uova, per impedire il completamento del ciclo biologico dell'insetto. Infatti non giungono al termine dello stadio larvale oltre il 95 % delle larve schiuse da uova di 4 ore di età irraggiate alla dose di 250 r, e così per uova di 100 ore irraggiate a 500 r e di 190 ore a 1000 r; con dosi superiori nessuna delle larve sgusciate porta a termine il proprio sviluppo.

La sensibilità della pupa alle radiazioni ionizzanti è nettamente inferiore a quella dell'uovo e notevolmente superiore a quella dell'adulto.

I dati ottenuti (Tab. II) mostrano chiaramente tale comportamento; la DL 50 si colloca intorno ai 13000 r. Le prove sono state effettuate su pupe irraggiate 4 giorni prima del termine della metamorfosi con rilevamento dei risultati allo sfarfallamento degli insetti.

TABELLA II. - *Irraggiamento di pupe di Acanthoscelides obsoletus Say: effetto di alcune dosi su individui trattati quattro giorni prima del termine della metamorfosi* (valori medi di 4 replicazioni)

Dose (r)	Sfarfallamento (%)	Osservazioni
Testimone	100	Ciclo biologico regolare
2000	93	Fecondità e fertilità ridotte, rispettivamente del 45 % e dell'88 %; comparsa di depigmentazioni in elitre e zampe nel 17 % degli adulti
5000	86,7	Fecondità ridotta del 91 % e nessuna schiusura delle uova deposte; il 10 % degli adulti presenta anomalie
10000	58	Nessuna ovideposizione; anomalie nella proporzione del 3 %
15000	42	Scarsa vitalità in tutti gli individui; nessuna ovideposizione; circa il 20 % degli adulti presenta le zampe posteriori paralizzate
20000	29,8	Scarsa vitalità in tutti gli individui; nessuna ovideposizione; paralisi delle zampe posteriori nella proporzione del 50 %
30000	6,9	Vitalità molto ridotta, con pronunciata paralisi agli arti; nessuna ovideposizione

La curva di mortalità che indica la sopravvivenza in funzione della dose d'irraggiamento, risulta a debole pendenza (fig. 9): il materiale non si comporta quindi in modo uniforme rispetto alla radiosensibilità.

Ciò trova conferma d'altronde anche nel diverso manifestarsi di anomalie morfologiche (fig. 10), che riguarda in vario modo (depigmentazioni, alterazioni teratologiche delle ali, paralisi degli arti, ecc.) una certa percentuale degli insetti irraggiati.

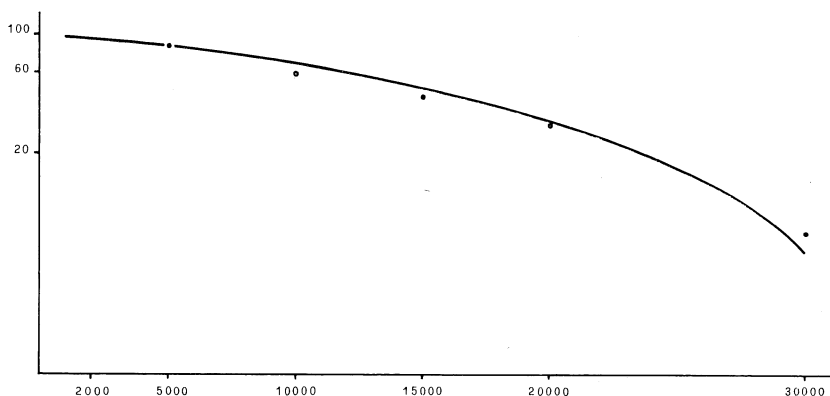


Fig. 9 - Curva di radiosensibilità di pupe di *Acanthoscelides obsoletus* Say, in funzione della dose. In ascissa: dose (r). In ordinata: n. sopravvissuti (%).

Di particolare interesse risultano due fatti: la scarsa vitalità e le alterazioni, che si notano ad irradiazioni superanti i 10000 r, probabilmente ostacolano la fuoruscita degli adulti alloggiati nella cella pupale; inoltre, gli adulti provenienti da pupe irraggiate a 5000 r non sono più capaci di deporre uova fertili.

Eccezionalmente elevata è la resistenza degli adulti alle radiazioni ionizzanti, sebbene con un comportamento che non si discosta molto da quello osservato per le pupe.

Gli adulti sono stati irraggiati il terzo giorno successivo allo sfarfallamento, rilevando poi i valori del TS 50 (tempo di sopravvivenza della metà degli individui). La curva relativa (fig. 11), che esprime il rapporto tra detti valori di sopravvivenza e le dosi, dimostra la grande radioresistenza dell'insetto: basti notare, ad esempio, che occorrono dosi di ben 220000 r per causare in una settimana la morte di soltanto metà degli adulti irraggiati.

Fino a 100000 r non sono state rilevate differenze significative nella longevità degli individui irraggiati, rispetto al testimone; a dosi superiori a 160000 r l'insetto manifesta un fenomeno di letargo di

breve durata dopo l'irraggiamento, durante il quale non reagisce nemmeno a violenti stimoli luminosi o meccanici, per riprendere in seguito un comportamento apparentemente normale.

È tuttavia fatto di grande rilievo che l'insetto adulto non arreca alcun danno alle derrate su cui depone i germi e quindi è sufficiente pervenire alla sua sterilizzazione per renderlo totalmente innocuo.

Sulla sterilizzazione della specie sono state condotte accurate ricerche, irraggiando le pupe 4 giorni prima del termine della metamorfosi e gli adulti nel giorno dello sfarfallamento, tenendo altresì distinti in ogni caso i due sessi ed effettuando tutte le possibili combinazioni di accoppiamento fra individui irradiati e fertili. I risultati ottenuti hanno portato a confermare la maggiore radiosensibilità delle pupe rispetto agli adulti, hanno messo in luce una maggiore sensibilità dei maschi rispetto alle fem-



Fig. 10 - Alterazioni teratologiche e depigmentazioni in adulto di *Acanthoscelides obsoletus* Say sfarfallato da pupa irraggiata con 5000 r (x 15).

TABELLA III. - *Influenza dell'irraggiamento di pupe di Acanthoscelides obsoletus Say sulla discendenza (valori medi di 4 replicazioni)*

* ♂ = maschi provenienti da pupe irraggiate

* ♀ = femmine provenienti da pupe irraggiate

Dose (r)	Accoppiamenti (20 × 20)	Fecondità (n. uova deposte)	Fertilità (n. uova schiuse)	Adulti sfarfallati (n.)
Testimone	♂ × ♀	918,0 ± 57,0	594,0 ± 62,1	192,5 ± 52,8
1000	* ♂ × * ♀	756,8 ± 8,7	271,8 ± 18,5	65,2 ± 10,4
2000	* ♂ × * ♀	546,6 ± 34,6	41,1 ± 4,2	0
4000	* ♂ × * ♀	213,8 ± 39,0	1,1 ± 0,7	0
6000	* ♂ × * ♀	30,0 ± 10,3	0	0
1000	* ♂ × ♀	791,4 ± 41,5	233,6 ± 29,1	61,0 ± 25,0
2000	* ♂ × ♀	1110,7 ± 29,0	84,5 ± 3,0	2,1 ± 1,1
4000	* ♂ × ♀	670,8 ± 30,9	5,3 ± 1,3	0
6000	* ♂ × ♀	1319,1 ± 38,2	0	0
1000	♂ × * ♀	803,2 ± 13,7	570,3 ± 17,9	95,2 ± 23,0
2000	♂ × * ♀	438,4 ± 41,5	210,2 ± 12,0	8,7 ± 8,7
4000	♂ × * ♀	160,6 ± 11,1	33,9 ± 4,7	1,0 ± 0,7
6000	♂ × * ♀	45,0 ± 12,0	8,0 ± 2,4	0

mine, ed hanno fatto conoscere con esattezza l'effetto sulla discendenza delle diverse dosi di radiazioni ionizzanti date ai genitori.

Gli elementi relativi all'irraggiamento delle pupe (Tab. III) conseguiti su gruppi di 20 coppie indicano in 4000 e 6000 r, rispetti-

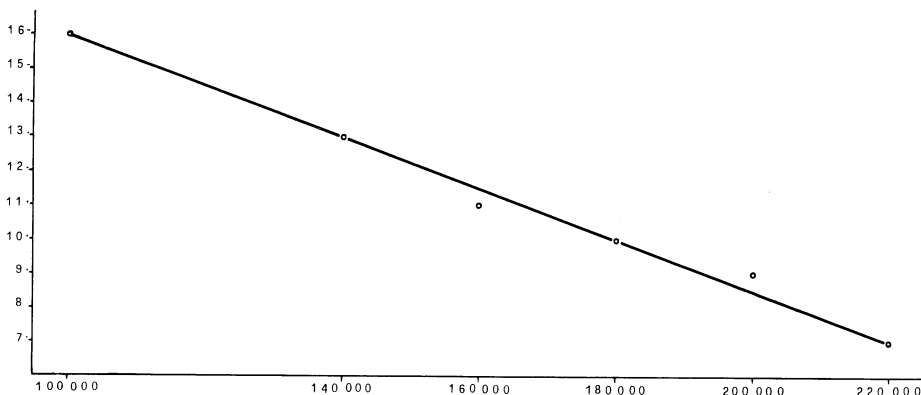


Fig. 11 - Curva di radiosensibilità di adulti di *Acanthoscelides obsoletus* Say, in funzione della dose: tempo di sopravvivenza della metà degli individui (TS 50). In ascissa: dose (r). In ordinata: tempo (gg).

vamente per i maschi e per le femmine, le dosi alle quali si ottiene interruzione totale nella discendenza quando questi individui si accoppiano con altri indenni; per contro, in individui di entrambi i sessi sfarfallati da pupe irraggiate ed accoppiati tra loro, tale dose discende a 2000 r. La diminuzione di fecondità e di fertilità è in rapporto diretto con la dose d'irraggiamento (fig. 12).

Quando l'irraggiamento interessa gli adulti — sicuramente vergini e tenuti per maggiore sicurezza a sessi separati anche durante il trattamento — in base alle varie possibili combinazioni di accoppiamento tra insetti normali ed irraggiati in gruppi di 10 coppie, si è visto (Tab. IV) che le dosi di sterilizzazione sono dell'ordine di 5000 r per i maschi e di 10000 r per le femmine. Le uova deposte da femmine normali accoppiate con maschi irraggiati a 7500 r non schiudono, mentre se l'irraggiamento è stato effettuato soltanto sulle femmine occorrono dosi doppie per ottenere lo stesso risultato. La maggiore resistenza manifestata dallo stadio adulto, rispetto a quello di pupa, è molto più marcata per le femmine che per i maschi. Gli ef-

fetti di dosi diverse sulla fecondità e sulla fertilità rispecchiano in generale (fig. 13) quanto constatato per le pupe, con una più irregolare riduzione della fecondità delle femmine all'aumentare della dose.

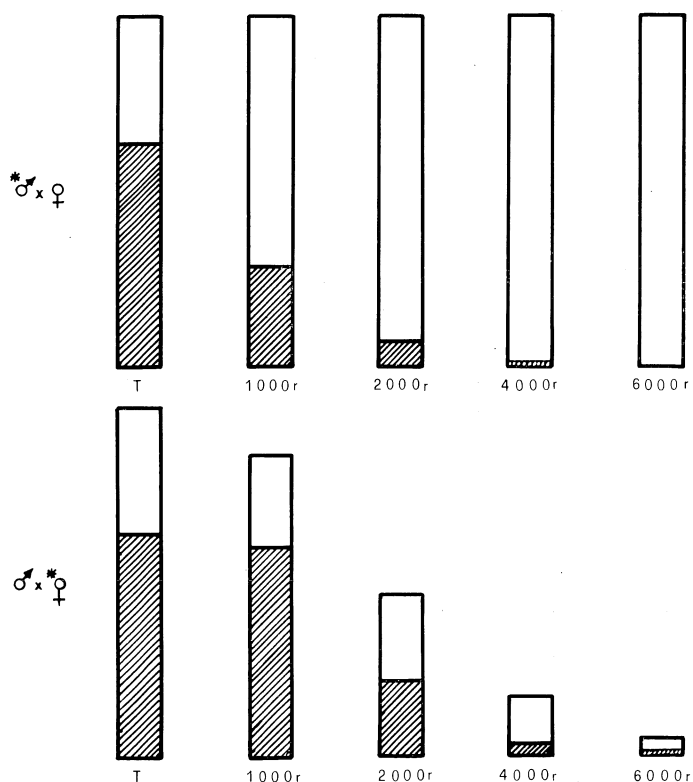


Fig. 12 - Comportamento della fecondità (intera colonna) e fertilità (parte con tratteggio) di adulti di *Acanthoscelides obsoletus* Say, ottenuti da pupe irraggiate a diverse dosi (valori espressi in percentuale).

Per ciò che riguarda la difesa diretta dei prodotti infestati, le ricerche sono state effettuate allo scopo di ottenere precise indicazioni sulla possibile applicazione pratica delle radiazioni ionizzanti: i risultati sono stati quanto mai interessanti ed utili, permettendo anche di individuare la dose d'impiego più conveniente. Infatti, operando su materiale predisposto con la tecnica descritta, si sono potuti appurare gli effetti di diverse dosi d'irraggiamento su fagioli con-

servati attaccati da *A. obsoletus* e contenenti tutti gli stadi di vita dell'insetto. Si è anche controllata la capacità degli adulti di diffondere l'infestazione prelevandoli al momento dello sfarfallamento e inserendoli in appositi nuovi allevamenti allestiti con fagioli sani.

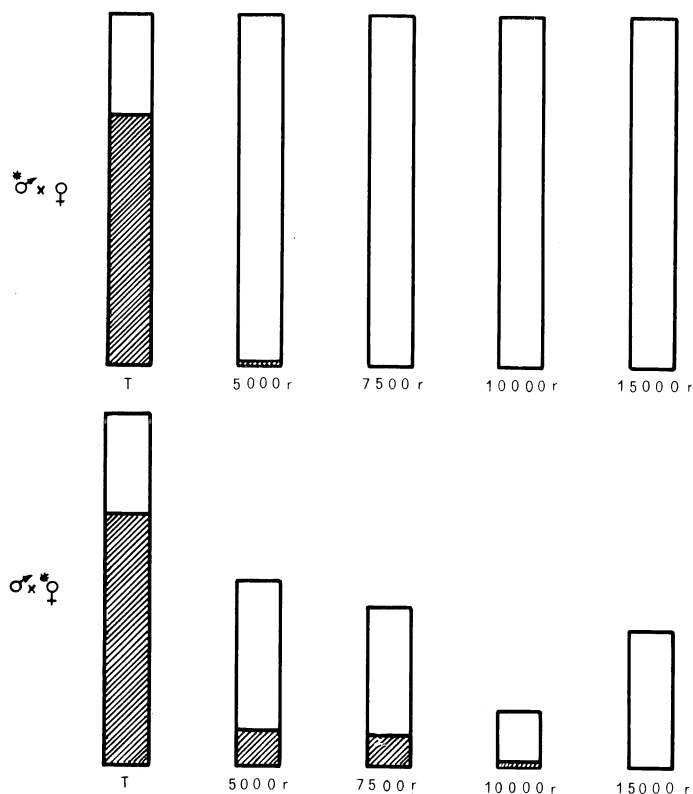


Fig. 13 - Comportamento della fecondità (intera colonna) e fertilità (parte con tratteggio) di adulti di *Acanthoscelides obsoletus* Say, irraggiati a diverse dosi (valori espressi in percentuale).

Le osservazioni effettuate hanno portato a rilevare un effetto stimolante sullo sfarfallamento degli insetti quando si impiegano basse dosi di radiazioni ionizzanti, mentre a dosi elevate si ha una forte, manifesta inibizione. I dati più indicativi (Tab. V) — tenendo ovviamente conto del ciclo biologico dell'insetto nelle condizioni sperimentali di allevamento — dimostrano come dosi di 15000 r risultino totalmente letali per uova, larve, pupe e limitino grandemente la fuo-

ruscita degli adulti sfarfallati per incapacità di forare l'opercolo della cella pupale nel tegumento del fagiolo.

TABELLA IV. - *Influenza dell'irraggiamento di adulti di Acanthoscelides obsoletus Say sulla discendenza* (valori medi di 4 replicazioni)
* = individui irraggiati

Dose (r)	Accoppiamenti (10 × 10)	Fecondità (n. uova deposte)	Fertilità (n. uova schiuse)	Adulti sfarfallati (n.)
Testimone	♂ × ♀	448,2 ± 15,8	320,7 ± 13,1	120,5 ± 19,8
5000	* ♂ × * ♀	261,9 ± 6,0	0,7 ± 0,4	0
7500	* ♂ × * ♀	191,8 ± 12,2	0	0
5000	* ♂ × ♀	529,2 ± 61,1	5,1 ± 1,1	0
7500	* ♂ × ♀	339,6 ± 53,7	0	0
5000	♂ × * ♀	238,4 ± 32,1	44,5 ± 8,0	7,4 ± 3,0
7500	♂ × * ♀	201,0 ± 52,0	35,8 ± 10,8	3,0 ± 1,2
10000	♂ × * ♀	67,3 ± 11,1	4,2 ± 1,2	0
15000	♂ × * ♀	173,1 ± 6,0	0	0

TABELLA V. - *Effetto di dosi diverse d'irraggiamento su fagioli infestati da Acanthoscelides obsoletus Say* (valori medi di 4 replicazioni)

Dose (r)	N. adulti sfarfallati entro giorni			Osservazioni
	5	13	50	
Testimone	25,2	248,5	454,5	Gravi danni al prodotto; ciclo biologico dell'insetto regolare
5000	30,5	74,2	74,2	Nessun ulteriore attacco al prodotto; nessuna ovideposizione fertile
10000	26,7	29,2	29,2	Nessun ulteriore attacco al prodotto; nessuna ovideposizione fertile
15000	1,2	1,2	1,2	Nessun ulteriore attacco al prodotto; nessuna ovideposizione fertile

Dosi di 10000 e 5000 r sono letali per uova e larve e riducono fortemente la capacità delle pupe di portare a termine il ciclo di vita; tutti gli adulti, comunque, non danno più discendenza quando sfarfallano da fagioli irradiati a 5000 r.

Pertanto — tenendo sempre presente che occorre intervenire a difesa delle derrate attaccate al primo manifestarsi del danno ed in considerazione altresì della maggiore radiosensibilità degli stadi preimmaginali dell'insetto — si raggiunge la totale protezione della der-

rata con la dose di 5000 r, che impedisce agli insetti adulti, non direttamente dannosi e quindi indipendentemente dalla durata della loro sopravvivenza, di deporre uova fertili.

I risultati delle varie ricerche effettuate consentono quindi di concludere che l'impiego delle radiazioni ionizzanti a difesa dei legumi conservati è possibile e particolarmente indicato per la lotta contro l'*A. obsoletus*, non solo mediante la eventuale diffusione dei maschi sterili, ma con irradiazione diretta delle partite da proteggere.

RIASSUNTO

L'uso delle radiazioni ionizzanti, che rivestono grande importanza per la risoluzione di particolari problemi entomologici, è stato saggiato per proteggere i legumi dai gravi attacchi arrecati dal Coleottero Bruchide *Acanthoscelides obsoletus* Say, le cui larve, a regime strettamente spermatofago, si evolvono di preferenza a spese di semi del genere *Phaseolus*.

Illustrato l'insetto, precisate le condizioni sperimentali di allevamento per disporre di materiale abbondante e coetaneo e descritte le tecniche usate per la preparazione dei campioni, per gli irraggiamenti e per il rilevamento dei dati, sono presentati e discussi i risultati ottenuti. Tali risultati si presentano interessanti e positivi ed indicano chiaramente la possibilità di una pratica applicazione del metodo.

In particolare, sono state condotte ricerche sulla radiosensibilità dei vari stadi dell'insetto e sulle dosi occorrenti per la sterilizzazione, nonché prove di difesa diretta di fagioli infestati nei quali erano rappresentati i diversi gradi di attacco. Si è così trovato che la radiosensibilità diminuisce con il procedere dello sviluppo dell'insetto e che i maschi sono più sensibili delle femmine. Le dosi sterilizzanti sono dell'ordine di 4000 e 5000 r per i maschi e di 6000 e 10000 r per le femmine, rispettivamente irraggiando gli insetti 4 giorni prima del termine della metamorfosi e nel giorno stesso del loro sfarfallamento. Si può infine asserire che la difesa dei legumi conservati è perseguibile con irraggiamenti di 5000 r, dose alla quale tutti gli adulti che sfarfallano non sono più in grado di dare discendenza alcuna.

Le radiazioni ionizzanti, quindi, possono essere validamente impiegate, sia per la sterilizzazione dei maschi dell'*A. obsoletus*, che per l'irraggiamento diretto del prodotto da difendere.

SUMMARY

An investigation has been made of the application of ionizing radiations, which are becoming more and more important in controlling insect pests, to protect legume seeds from damage caused by *Acanthoscelides obsoletus* Say (*Bruchidae, Coleoptera*). This insect, the larvae of which are strictly seed-eating attack particularly the genus *Phaseolus*.

Techniques were developed to obtain large numbers of insects of well-defined age for the X-irradiation experiments. The radiosensitivity of the insect was found to vary inversely with its degree of development. Males are more sensitive than females: the sterilization exposure doses are 4000 and

5000 r for males irradiated respectively 4 days before the end of pupation and on the first day of emergence of the adult, while for the females the corresponding doses are 6000 and 10000 r.

Trials made on stored seed infested by insects at all developmental stages have shown that an exposure of 5000 r gives adequate protection, the insects still reaching adulthood after this treatment being all sterile.

It is concluded that ionizing radiation can be successfully used to control *A. obsoletus*, either by means of the sterile male technique or by direct irradiation of the stored product.

BIBLIOGRAFIA

- ANDREEV S. V., MARTENS B. K., MOLSHTSANOVA V. A., SAMONLOVA Z. I., 1963 - Radioisotopes and radiation in animal and plant insect pest control. (in: Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance, Vienna, 115-132).
- BAKER V. H., TABOADA O., WIAIT D. E., 1954 - Lethal effects of electrons on insects which infest wheat, flour and beans. II. *Agric. Engng, St. Joseph, Mich.*, 35, 407.
- BALACHOWSKY A. S., 1962 - Entomologie appliquée à l'agriculture. I. (1^o) Coléoptères. Paris.
- CAVALLORO R., 1961 - L'impiego delle radiazioni ionizzanti e degli isotopi radioattivi in entomologia agraria. *Tabacco, Roma*, LXV, 1-16.
- CAVALLORO R., 1966 - Effets de l'irradiation gamma sur *Lasioderma serricornis* F. *Act. 4ème Congr. scient. int. du Tabac, Athènes* (in corso di stampa).
- CORNWELL P. B., 1959 - The disinfestation of foods, particularly grain. *Int. J. appl. Radiat. Isotopes*, 6, 188-193.
- CORNWELL P. B., 1966 - The entomology of radiation disinfestation of grain. Oxford.
- CORNWELL P. B., CROOK L. J., BULL J. O., 1957 - Lethal and sterilizing effects of gamma radiation on insects infesting commodities. *Nature, Lond.*, 179, 670-672.
- DENNIS N. M., 1961 - The effects of gamma-ray irradiation on certain species of stored-product insects. *J. econ. Ent.*, 54, 211-212.
- GRANDI G., 1966 - Istituzioni di entomologia generale. Bologna.
- HALSTEAD D. G. H., 1963 - External sex differences in stored-products Coleoptera. *Bull. ent. Res.*, 54, 119-134.
- HASSETT C. C., JENKINS D. W., 1952 - Use of fission products for insect control. *Nucleonics*, 10, 42-46.
- HUQUE H., 1963 - Preliminary studies on irradiation of some common stored-grain insects in Pakistan. (in: Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance, Vienna 455-463).
- HUQUE H., KHAN M. A., 1964 - Possibilities of controlling *Callosobruchus subinnotatus* Pic (Bruchidae) by gamma rays. *Fd. Irrad.*, 4, A2-A7.
- JEFFERIES D. J., BANHAM E. J., 1961 - The effects of continuous and fractionated doses of gamma radiation on the survival and fertility of *Sitophilus granarius* (*Calandra granaria*) L. *UKAEA, AERE*, R-3503, 1-48.
- KUPRIANOFF J., 1956 - Die Möglichkeiten der Anwendung Ionisierender Strahlen bei Getreide und Getreideprodukten. *Getreide Mehl.*, 6, 81-85.
- LEPESME P., 1944 - Les Coléoptères des denrées alimentaires et des produits industriels entreposés. Paris.
- MARTELLI M., 1964 - Conquiste e problemi dell'entomologia applicata. Milano.
- PANDLEBURY J. B., JEFFERIES D. J., BANHAM E. J., BULL J. O., 1962 - Some effects of gamma radiation on the Lesser Grain Borer (*Rhizopertha dominica* F.), Tropical Warehouse Moth (*Cadra cautella* Wlk.), Indian Meal Moth (*Plodia interpunctella* Hübn.) and the Cigarette Beetle (*Lasioderma serricornis* F.). *UKAEA, AERE*, R-4003, 1-23.

- PAPODOPOULOU C. P., 1963 - Disinfestation of dried figs by gamma radiation. (in: Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance, Vienna, 485-491).
- PEREDEL'SKY A. A., RODIONOVA L. Z., BIBERGAL A. V., RUMYANTSEV P. D., PERTSOVSKY E. S., 1958 - Development of a method for controlling insect pests of stored grain by means of ionizing radiation. *Trans. All-Un. Sci. Res. Inst. of Grains and Products of Processed Grain*, 35, 28-42.
- PERRIS E., 1874 - Sur le *Bruchus irresectus* Fähr.. *Abeille, Paris*, 11, 9-16.
- PESSON P., 1963 - Some experimental data on cobalt-60 radiation doses capable of arresting insect infestation of cereals and flour. *Fd. Irrad.*, 3, A18-A21.
- PESSON P., 1963 - Utilisation des radiations ionisantes (^{60}Co) pour la protection des denrées contre les insectes nuisibles. Recherches relatives à la détermination des doses utiles pour assurer la stérilité des insectes. *Ind. agric.*, 80, 211-225.
- QURAI'SHI M. S., METIN M., 1963 - Radiosensitivity of various stages of *Callosobruchus chinensis* L. (in: Radiation and Radioisotopes Applied to Insects of Agricultural Importance, Vienna, 479-484).
- RASULOV F. K., ANASTASIEV S. A., 1963 - The control of warehouse pests by gamma radiation. *Vest. sel'-khoz. Nauki, Mosk.*, 9, 34-35.
- SARAVACOS G., MACRIS B., 1963 - Radiation preservation of grapes and some other greek fruits. *Fd. Irrad.*, 4, A19-A21.