

26. Ezio MOSNA. — *Culex pipiens autogenicus* - DDT - Resistenti e loro controllo con Octa - Klor e Esaclorocicloesano.

Riassunto. — L'A. descrive le ricerche fatte su *Culex pipiens autogenicus* resistenti all'azione del DDT ed i risultati ottenuti con i nuovi insetticidi, Octa-Klor e Esaclorocicloesano. Riporta inoltre le osservazioni esistenti nella letteratura degli ultimi 30 anni sullo sviluppo di ceppi resistenti contro riconosciuti insetticidi chimici in varie specie di insetti.

Résumé. — L'A. décrit les recherches faites sur les *Culex pipiens autogenicus* résistants à l'action du DDT et les résultats obtenus avec les nouveaux insecticides Octa-Klor et Hexachlorocyclohexane. Il rapporte d'ailleurs les observations trouvées dans la littérature des derniers 30 ans sur le développement de souches résistantes contre des insecticides chimiques reconnus dans des espèces différentes d'insectes.

Summary. — The A. describes a research work on DDT - resistant *Culex pipiens autogenicus* and the results obtained with the new insecticides Octa-Klor and Benzene Hexachloride. He reports the observations found in the literature about the development of strains, of several species of insects, resistant to chemical insecticides.

Zusammenfassung. — Der Verfasser beschreibt eine von ihm gemachte Untersuchung über gegen DDT widerstandsfähige *Culex pipiens autogenicus* und die mit den neuen Insekticiden Octa-Klor und Hexachlorcyclohexan erzielten Ergebnisse. Er bezieht sich ferner auf die in der Literatur gefundenen Beobachtungen über die Entwicklung, bei verschiedenen Insektenarten, von Stämmen, die gegen anerkannte chemische Insekticide widerstandsfähig sind.

Alla fine di maggio 1947, durante un'ispezione a Latina, ove da alcuni giorni si era iniziato per il secondo anno il trattamento a scopo antianofelico con soluzione al 5% di DDT in petrolio, si osservò che sulle pareti ed ancor più sui soffitti di alcune stanze da letto già trattate con DDT, vivevano ancora, indisturbati, numerosi individui di *Culex*, successivamente classificati *Culex pipiens autogenicus*. Si cercò subito di tro-

vare le cause di questo fatto per noi assolutamente nuovo e con nostra sorpresa si potè constatare che gli individui catturati in ambienti trattati con DDT, messi a contatto di porzioni della parete di una stanza intonacata a calce e trattata con una soluzione al 5% di DDT in petrolio, potevano sopravvivere ancora dopo un contatto di 48-72 ore con l'insetticida. In altri individui di *Culex pipiens autogenicus*, provenienti da Massarosa, e che manteniamo in allevamento nel nostro laboratorio da circa 12 anni, messi a contatto con l'insetticida nelle stesse condizioni, la mortalità si verificava, invece, nello spazio di 3-5 ore.

Per questi inattesi risultati, si credette opportuno, mentre si estendevano le ricerche nel campo pratico ed in laboratorio, di comunicare in una nota l'esistenza di *Culex pipiens autogenicus* resistenti all'azione del DDT e la possibilità che sotto la denominazione *Culex pipiens autogenicus* si aggruppavano due ceppi compresi nella stessa varietà, distinguibili, per il momento, in base al diverso grado di resistenza ad una medesima sostanza tossica, cioè il DDT.

Continuando nelle nostre ricerche, ci siamo interessati, anzitutto, di accertare se aumentando il quantitativo di DDT sulle superfici trattate si poteva vincere questa resistenza. Le nuove applicazioni di DDT, fino a raggiungere g 4-6-8 di sostanza pura per metro di superficie non portò alcun risultato: negli ambienti così trattati, i *Culex* continuarono a vivere indisturbati. Le prove fatte in laboratorio, confermarono i risultati negativi avuti nel campo pratico.

In seguito, i nostri controlli quotidiani ci fecero notare un altro fatto: mentre nelle case trattate si continuava a trovare in numero sempre più crescente *Culex* viventi, si potè contemporaneamente osservare sul pavimento di ambienti più facilmente ispezionabili un numero elevato di individui morti. Si doveva, pertanto, dedurre che non tutta la popolazione di *Culex pipiens autogenicus* era egualmente resistente al DDT.

Questa osservazione ci portò a studiare la popolazione generale dei focolai larvali di *Culex pipiens autogenicus*, rispetto all'azione del DDT.

I focolai larvali di questa varietà sono dati, in gran parte, dalle acque che, per l'innalzamento della falda acquea superficiale durante la stagione delle piogge, invadono gli scantinati di numerosi fabbricati; tali acque, in seguito a comunicazioni stabilitesi con fognature, a causa di danni causati dall'ultima guerra, sono ricche di materiali organici e quindi

favorevoli allo sviluppo della razza in questione. Sulle pareti e soffitti di questi scantinati, non trattati con DDT, era possibile durante il mese di giugno catturare migliaia di individui.

Abbiamo sottoposto al trattamento con DDT quattro gruppi di oltre cento individui, catturati nei suddetti scantinati, usando scatole con pareti di vetro trattate con una soluzione al 5% di DDT in petrolio. Dopo un contatto di 2-5 ore con l'insetticida si osservò una mortalità del 60-80%; i rimanenti individui potevano sopravvivere ancora dopo un contatto di oltre 48 ore. Questi risultati venivano a confermare le nostre osservazioni compiute in natura.

Lo studio sulla variabilità della popolazione di questi focolai rispetto all'azione del DDT, non potè essere continuato, dato che per le continue pressioni delle autorità locali e le proteste della popolazione, si dovette intervenire alla fine di giugno con misure antilarvali radicali.

In ulteriori ricerche, abbiamo cercato di poter stabilire se la proprietà dimostrata da molti individui di *Culex pipiens autogenicus* di resistere all'azione insetticida del DDT fosse trasmissibile alle generazioni successive.

Per queste ricerche abbiamo allestito nel nostro Laboratorio un'allevamento, partendo da quattro ovodeposizioni ottenute da *C. pipiens autogenicus* della zona di Latina, che avevano resistito per ben quattro giorni al contatto del DDT; sino ad oggi abbiamo raggiunto l'ottava generazione. Per lo studio della resistenza all'azione insetticida del DDT venne preparata una scatola a pareti di vetro smontabili, trattate con una soluzione di DDT in acetone; la quantità di prodotto puro fu di mg 0,2 per cm di superficie. Su 2-3 gruppi di 30 individui di tutte le otto generazioni venne così saggiata la resistenza al DDT ed i risultati osservati furono sempre eguali e costanti: tutti gli individui potevano sopravvivere dopo un contatto di 24-48 ore, pur avendo dato dopo circa un'ora di contatto con l'insetticida, segni di intossicazione.

Da questi risultati si può pertanto dedurre che i *Culex pipiens autogenicus* da noi allevati hanno la proprietà di resistere all'azione insetticida del DDT e che questa proprietà si trasmette alle generazioni successive.

L'osservazione di insetti che hanno sviluppato ceppi più resistenti a riconosciuti insetticidi chimici, ha già notevoli precedenti. In un recente

lavoro di Whitnall e Bradford vengono riportate le osservazioni esistenti in riguardo nella letteratura di questi ultimi 30 anni. Melander nel 1914, osservò che nello Stato di Washington le normali irrorazioni di solfuro di calcio non portavano più ad un completo successo nella lotta contro la Cocciniglia S. Josè, *Aspidiotus perniciosus*, Comst. Quayle (1916) dimostrò che un ceppo di Cocciniglia rossa del cedro, *Aonidiella aurantii*, Mask., scoperto in California, risultava resistente alle fumigazioni con acido cianidrico; tale fenomeno fu osservato anche in un'area del Sud Africa. Due altre specie di Coccidi, la Cocciniglia nera dell'olivo, *Saissetia oleae*, Bern (Quayle, 1916) e la Cocciniglia citricola, *Coccus pseudo magnoliarum*, Kuw (Quayle 1938), dimostrarono egualmente una aumentata resistenza al gas cianidrico, e la diffusione di questo ultimo insetto fu rapida. L'osservazione sullo sviluppo di resistenza di fronte a noti prodotti chimici non è limitata ai Coccidi, ma fu anche notata nei tarli di *Cydia (Carpocapsa) pomonella*, L. combattuta usualmente con irrorazioni di arseniato di piombo; nel Colorado, mentre nel 1900 due applicazioni dell'insetticida erano sufficienti per vincere i suddetti insetti, nel 1930 furono necessarie da 8-12 applicazioni per poter raggiungere gli stessi risultati (Hough, 1928-29, 1934). Lo stesso fatto fu pure osservato da entomologi nella Provincia del Capo nel Sud Africa. Nel 1942 fu segnalata per la prima volta una aumentata resistenza al tartaro emetico nelle Lepisme del cedro, *Scirtothrips citri*, Moulton, nella California, con l'interessante osservazione che il ceppo resistente si era sviluppato tre o quattro anni dopo il primo uso dell'insetticida. (Boyce, Persing e Bernhart, 1942). Smith (1946) dimostrò che il tartaro emetico era attivo contro le Lepisma degli agrumi del Sud Africa *S. aurantii*, Faure, nell'area di Rustenburg; nella zona di Nelspruit, invece, le Lepisma si dimostrarono resistenti allo stesso insetticida. Knipling (1942) osservò che il verme perforante, *Cochliomya americana*, Cushman e Patton, aveva sviluppata una resistenza alla fenotiazina, e che questa proprietà di resistere all'insetticida si trasmetteva alle generazioni successive. Du Toit, Graf e Bekker (1941), confermarono le segnalazioni di agricoltori sullo sviluppo di resistenza all'arsenico nelle zecche dei bovini, *B. decoloratus*, Koch, nel distretto Est di Londra; essi riuscirono ad isolare un ceppo di zecche arsenico resistente, morfologicamente non differenziabile dal *B. decolo-*

ratus. Successivamente anche Whitnall e Bradford (1947), separarono da zecche di bovini del Sud Africa, *B. decoloratus*, un ceppo arsenico resistente. Alle suddette osservazioni vanno aggiunte quelle di Saccà (1947) e di Wiesmann (1947) su mosche domestiche, resistenti all'azione del DDT, rispettivamente in Italia ed in Isvezia.

Questa proprietà di sviluppare una resistenza verso noti insetticidi chimici, sarebbe dovuta secondo Whitnall e Bradford ed altri autori al fatto che le ripetute applicazioni di prodotti chimici portano nella popolazione di alcuni insetti ad una selezione artificiale involontaria di quei mutanti che hanno la capacità di resistere al veleno usato; le successive generazioni di questi individui sviluppano ceppi che sono più difficilmente controllabili della popolazione generale.

A questo riguardo, in una recente conferenza tenuta all'Accademia Medica di Roma, Missiroli così si esprime:

« Evidentemente noi siamo ancora molto ignoranti della biologia degli insetti e dei loro rapporti con l'ambiente, per cui non siamo in grado di prevedere gli esiti della lotta contro tutte le specie dannose, neanche quando la lotta sembra terminare con lo sterminio. La natura sta sempre sperimentando seguendo metodi che a noi sembrano empirici perchè non conosciamo le leggi regolatrici. In ogni specie compaiono di frequente inaspettate, tenue mutazioni ed il nuovo carattere mutante, se è vantaggioso si estende a molti individui o a tutti gli individui della stessa specie, altrimenti scompare; si ha così un progresso della vita dell'insetto o qualche cosa simile a quello che l'uomo chiama progresso, che permette alla specie di sopravvivere, quando le condizioni ambientali mutano per opera della natura o per opera dell'uomo.

« In condizioni non turbate da eventi naturali o dall'uomo le specie esistenti in un dato luogo sono riunite l'una all'altra in un determinato equilibrio, per cui ogni anno le singole specie riappaiono con lo stesso numero di individui.

« L'equilibrio raggiunto si mantiene finchè le condizioni del biotopo non subiscono mutamenti, ma se il nostro intervento porta alla distruzione di una specie o di una varietà allora può prevalere la varietà meno favorita dalla natura, e perciò fino allora meno numerosa, purchè sia dotata della proprietà di resistere alle cause distruttrici da noi messe in opera ».

PRIME RICERCHE CON OCTA-KLOR E CON ESACLOROCICLOESANO

Mentre sono in corso da parte dei nostri entomologi ricerche sui caratteri morfologici e biologici sul ceppo di *Culex* resistente al DDT, ci siamo preoccupati di trovare nuovi insetticidi che abbiano energiche proprietà insetticide anche su questi Culicini.

La nostra attenzione fu portata su due nuovi prodotti, che da qualche anno vengono usati con successo dagli agricoltori nella lotta contro gli insetti nocivi delle piante e animali e cioè l'Octa-Klor e l'Esaclorocicloesano.

L'Octa-Klor (Chlordane tecnico) è un liquido denso, vischioso, di colore dell'ambra, dotato di odore tenue di resina; la sua formula empirica è $C_{10}H_6Cl_8$. E' insolubile in acqua, solubile nei comuni solventi organici, come l'acetone, il benzolo, il petrolio, l'etere. La sua azione insetticida si esplica per contatto, per ingestione e per le vie respiratorie.

L'Esaclorocicloesano si presenta sotto l'aspetto di una polvere bianca, dotata di odore penetrante di muffa; è insolubile in acqua, solubile nei comuni solventi organici. Chimicamente ha la formula bruta $C_6H_6Cl_6$ e da ciò si ha la sigla inglese di 666. Il potere insetticida gli deriva quasi unicamente da uno dei cinque isomeri e precisamente il γ e da qui il nome Gammexane, con cui gli inglesi sogliono designare anche il prodotto tecnico contenente il 10-12% di isomero attivo. Agisce sugli insetti soprattutto per contatto e per ingestione.

Le prime ricerche vennero fatte in laboratorio su *Culex* resistenti all'azione del DDT, provenienti dal nostro allevamento.

Per studiare l'azione insetticida residua dell'Octa-Klor, abbiamo usato una scatola a pareti di vetro, trattate con una soluzione di Octa-Klor in acetone; la quantità del prodotto usato fu di mg 0,1 di sostanza pura per cm di superficie. Da quattro mesi introduciamo nella scatola, numerosi *Culex* ad intervalli di 10 giorni e sino ad oggi il risultato è stato sempre eguale: la mortalità di tutti gli individui avviene nello spazio di 40-90 minuti. La ricerca continua ancora.

Contemporaneamente abbiamo esteso la ricerca anche nel campo pratico. Vennero trattate le pareti ed il soffitto di una piccola stanza da

letto di una casa alla periferia di Latina con una soluzione al 5% di Octa-Klor in petrolio; la quantità usata fu di un grammo di sostanza pura per metro di superficie. La camera era occupata da quattro persone, ed era stata precedentemente trattata con DDT. Mentre prima del trattamento con Octa-Klor si potevano catturare giornalmente numerosi *Culex*, in seguito, le successive ispezioni non hanno fatto rilevare la presenza di *Culicini* per un periodo di circa quattro mesi.

Per studiare l'azione per le vie respiratorie dell'Octa-Klor abbiamo collocato nelle prime due settimane dopo il trattamento, nella stessa stanza, ogni terzo giorno, delle gabbiette di tulle contenenti dei *Culex* resistenti, a circa 30 cm dalla parete trattata. Mentre durante la prima settimana si osservò la mortalità già dopo 4-6 ore dall'esposizione, nella successiva settimana occorrevano dalle 8 alle 12 ore per raggiungere lo stesso risultato. Una prova fatta dopo quattro settimane ha dato risultato negativo.

Delle 4 persone (due adulti e due bambini) che dormivano nella stanza, nessuna ha mai lamentato il minimo disturbo, neppure nei primi giorni dopo il trattamento.

Parallelamente a queste ricerche con Octa-Klor, vennero eseguite alcune prove in laboratorio con l'Esaclorocicloesano puro, usando sempre lo stesso procedimento. I risultati ottenuti su numerosi gruppi di *Culex* resistenti, sottoposti al contatto con una parete trattata con mg 0,1 di sostanza pura, sono stati sino ad oggi i seguenti: morte di tutti gli individui nello spazio di 10-15 minuti durante il primo mese dopo il trattamento, di 20-30 minuti nel secondo e terzo mese; ancor oggi, dopo oltre 4 mesi l'Esaclorocicloesano esplica la sua azione residuale, uccidendo i *Culex* nello spazio di 30-40 minuti.

Non è stato possibile estendere la ricerca anche nel campo pratico, non avendo a nostra disposizione sufficiente prodotto.

Dai risultati di queste prime ricerche si può dedurre che l'Octa-Klor e l'esaclorocicloesano esplicano una azione residua, sui *Culex* resistenti; la durata dell'azione residua dei due prodotti può valutarsi superiore ai 4 mesi. Questi prodotti ci consentono quindi di poter combattere nel campo pratico i *C. pipiens autogenicus* resistenti al DDT.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di malariologia. 25 febb. 1948.

BIBLIOGRAFIA

- A. M. BOYCE, C. O. PERSING e C. S. BARNHART, J. econ. Ent., 35, 790-791 (1942) (da WHITNALL e BRADFORD).
- W. S. HOUGH, J. econ. Ent., 21, 325-329 (1928) (da ibid.).
- W. S. HOUGH, J. agric. Res., 38, 245-256 (1929) (da ibid.).
- W. S. HOUGH, J. agric. Res., 48, 533-553 (1934) (da ibid.).
- E. F. KNIPLING, J. econ. Ent., 35, 63-64 (1942) (da ibid.).
- A. L. MELANDER, J. econ. Ent., 7, 167-173 (1914) (da ibid.).
- A. MISSIROLI, Riv. Parass., 8, 141-169 (1947).
- E. MOSNA, Riv. Parass., 8, 125-126 (1947).
- H. J. QUAYLE, Calif. Univ. J. Agric., 3, 333-358 (1916) (da WHITNALL e BRADFORD).
- H. J. QUAYLE, Hilgardia, 11, 138-210 (1938) (da ibid.).
- G. SACCÀ, Riv. Parass., 8, 127-128 (1947).
- R. DU TOIT, H. GRAF e P. M. BEKKER, J. S. Afr. vet. med. Ass., 12, 50-58 (1941) (da WHITNALL e BRADFORD).
- R. WIESMANN, Schweiz. Ent. Gesell., 20, 484-504 (1947).
- A. B. WHITNALL e B. BRADFORD, Bull. Ent. Res., 38, 353-372 (1947).
-