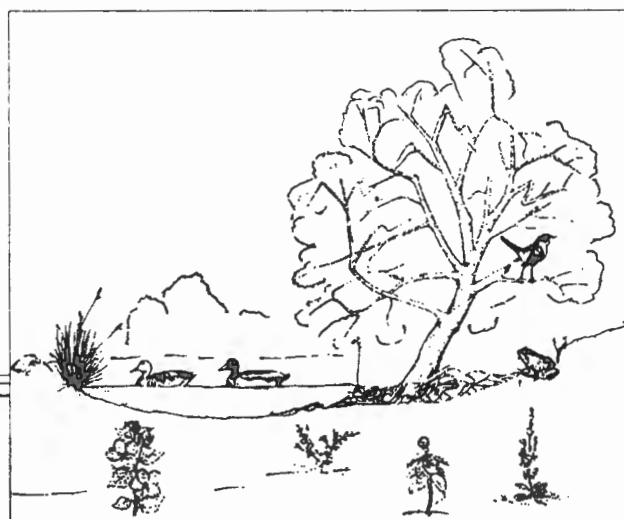


IGIENE AMBIENTALE



IMPATTO AMBIENTALE E SANITARIO DI DUE INSETTICIDI COMUNEMENTE IMPIEGATI NELLA LOTTA CONTRO LE LARVE DI ZANZARA: TEMEPHOS E *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Giorgio Celli* e Romeo Bellini**

INTRODUZIONE

Lo stimolo per l'approntamento di questo lavoro è frutto dell'interesse per la salvaguardia ambientale che l'Azienda Municipalizzata Ambiente di Ravenna (AMA) ha sviluppato nel corso delle sue attività di controllo dei Culicidi nocivi.

In generale l'utilizzo di notevoli quantità di insetticidi in campo igienico sanitario richiede un continuo approfondimento delle conoscenze onde poter individuare su basi scientifiche le metodologie d'intervento più opportune.

Nel nostro Paese, nel settore della disinfestazione, molte sono le lacune da colmare soprattutto per quanto riguarda le conoscenze biologiche di base e la consapevolezza sui rischi ambientali e sanitari legati all'uso dei presidi medico-chirurgici. Questo lavoro,

che non ha pretese esaustive ma semplicemente illustrative della complessità dell'approccio al problema del rischio tossicologico ambientale, vuole essere un contributo per lo sviluppo della sensibilità ecologica dei tecnici disinfestatori.

Una delle domande cui i responsabili delle strutture addette alla disinfestazione devono spesso far fronte può essere così riassunta: fino a che punto è lecito nel nostro paese, ove i problemi sanitari legati alle zanzare sono al momento attuale assai modesti, fare ampio ricorso a insetticidi di sintesi - con conseguenti inevitabili effetti secondari - quando potrebbero essere impiegati, in molti casi, prodotti microbiologici?

Evidentemente esiste una molteplicità di risposte in considerazione anche dei fattori di natura extra-tecnica che pongono stretti vincoli alla scelta. Allora - in modo "più complesso" - il senso di questo lavoro può essere quello di fornire più elementi da porre sulla bilancia dalla parte della natura.

Per la stesura di questo documento si è fatto

* Istituto di Entomologia "Guido Grandi" dell'Università degli Studi di Bologna

** Centro Agricoltura e Ambiente di Crevalcore

riferimento alla letteratura cui è stato possibile accedere in tempi brevi e, nei casi di indisponibilità dei lavori originali, all'ottimo lavoro redatto da Moreau (1988) per il WHO.

CARATTERI GENERALI

Temephos

Temephos è un insetticida organofosforico che nella nomenclatura IUPAC è riportato col nome O, O, O' -tetrametil, O, O'-tiodi -p- fenilen bis (fosforotioato).

E' stato sviluppato e commercializzato a partire dal 1965 dall'American Cyanamid Co. sotto diversi nomi commerciali; in Italia i più conosciuti sono ABATE e ABATHION. E' praticamente insolubile in acqua (0,27 mg/l a 20°C) e stabile a 25°C in acque dolci e saline; l'ottimo di stabilità si ha a pH 5-7 e l'idrolisi si verifica a pH <2 o >9. E' uno dei principi attivi (p.a.) più largamente usati in tutto il mondo nelle campagne di lotta ai vettori, considerata la buona attività per contatto che esplica contro larve di varie specie di Culicidi, Ceratopogonidi, Simulidi, e contro *Cyclops* sp. (un Crostaceo vettore del nematode *Dracunculus medinensis*).

La Commissione di Esperti sugli Insetticidi dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) autorizza da tempo l'uso di temephos in acque potabili alla dose di 1 mg/l. La sua tossicità nei confronti delle larve di zanzara è molto alta come si può desumere dalla tab. 1.

Bacillus thuringiensis var. *israelensis* (*B.th.i.*)

B.th. è un batterio aerobico, gram-positivo appartenente alla famiglia Bacillaceae. *B.th.i.* è una delle 34 varietà in cui viene attualmente suddiviso *B.th.* sulla base di caratterizzazioni sierologiche e fenotipiche (De Barjac e Frachon, 1990). La sua scoperta risale al 1976 quando Goldberg e Margalit lo isolarono da larve di *Culex pipiens* trovate morte in un focolaio in Israele.

TAB. 1 Valori di tossicità nei confronti di larve di *Culex pipiens* dei p.a. più usati (Salis e al., 1990)

	DL ₅₀ (mg/l)
temephos	0,0035
fenthion	0,03
fenitrothion	0,11
chlorpyrifos-metyl	0,18
phentoato	0,15

Tra le varie colonie isolate e coltivate in laboratorio quella che sembrò fornire i risultati più interessanti, denominata ONR 60A, è stata studiata e descritta in dettaglio da De Barjac dell'Istituto Pasteur di Parigi. Durante la fase di sporogenesi il batterio produce, sotto forma di cristalli proteici parasporali, una protossina termolabile denominata δ -endotossina. Quando le spore e i cristalli vengono ingeriti da un organismo sensibile, dotato cioè di apparato digerente con caratteristiche ben precise, la protossina - entrando in contatto con l'epitelio intestinale - viene attivata e provoca in breve tempo la paralisi delle funzioni, la disgregazione cellulare e quindi la morte dell'individuo. Oltre a questa azione tipica di *B.th.*, la δ -endotossina del ceppo *israelensis* svolge azione emolitica e neurotossica (Himeno, 1987).

In particolare sembra che l'attività di *B.th.i.* sia dovuta all'azione combinata di almeno quattro polipeptidi di 135, 125, 68 e 28 KDa. Nessuno dei polipeptidi sembra essere indispensabile per sviluppare l'azione tossica e l'effetto combinato complessivo è sempre maggiore di qualsiasi combinazione parziale (Delécluse et al., 1991). Dal punto di vista biochimico il meccanismo d'azione si può così riassumere: la tossina interagisce coi recettori situati su cellule sensibili scatenando una serie di reazioni a catena. Ne risulta una forte stimolazione dell'ingresso di Na⁺ e K⁺ che, concentrandosi all'interno della cellula, determinano citolisi (Himeno, 1987).

La selettività d'azione di *B.th.i.* è legata al fatto che la tossina non si scioglie in acqua né se ingerita da organismi con intestino medio di pH <10 e non dotata di specifici sistemi enzimatici attivatori. Il prodotto agisce quindi esclusivamente per ingestione. E' stato evidenziato che alcuni ceppi di *B.th.i.* producono anche un'altra tossina detta β -esotossina che risulta altamente tossica nei confronti dei mammiferi. Le formulazioni commercializzate in Occidente provengono da ceppi che non producono questa tossina e devono sottostare a precise norme tecniche durante il processo produttivo tali da evitare rischi di contenere β -esotossina anche in piccole quantità.

B.th.i. presenta un largo campo d'impiego contro larve di zanzare appartenenti ai generi *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Psorophora*, *Mansonia*, *Coquillettidia* oltre a diverse specie di Simulidi. In genere l'efficacia è maggiore per le larve di Culicini rispetto alle larve di Anofelini. Queste ultime infatti, nutrendosi in vicinanza della superficie dell'acqua, permangono meno tempo a contatto col batterio che tende a sedimentare velocemente.

Il modo adottato internazionalmente per espi-

mere l'efficacia larvicida dei formulati commerciali a base di *B.th.* è il saggio biologico comparativo con un prodotto standard di riferimento. Nel caso di *B.th.i.* la polvere primaria siglata IPS/78 è stata messa a punto nei laboratori dell'Istituto Pasteur di Parigi. A questo prodotto è stato convenzionalmente attribuito il titolo di 1000 Unità Tossiche Internazionali (I.T.U.) per mg nei confronti di larve di IV stadio di *Aedes aegypti*. E' stato inoltre stilato un protocollo di laboratorio in modo da rendere comparabili i dati ottenuti con le diverse polveri primarie o formulati commerciali nei laboratori di tutto il mondo.

PERSISTENZA E DEGRADAZIONE NELL'AMBIENTE

Temephos

Temephos è considerato p.a. scarsamente persistente in ambiente naturale. Dopo dieci interventi settimanali su un corso d'acqua alla dose di 0,11 Kg/ha di p.a. non si è riscontrato accumulo nell'acqua e nel fango di fondo. Impiegando la dose molto alta di 1,12 Kg/ha di p.a. non si è rinvenuto l'insetticida quattro ore dopo il trattamento del corso d'acqua e alla stessa dose si sono rinvenute solo tracce del prodotto a una settimana dal trattamento di uno stagno (Bowman e Orloski, 1966). In stagni sperimentali con fondo argilloso e melmoso si è riscontrato un forte adsorbimento sulla superficie di fondo e una veloce scomparsa del prodotto dalla fase supernatante. Con suolo sabbioso si è rilevata bassissima stabilità del prodotto e maggior fissazione e degradazione rispetto al fondo argilloso. La sedimentazione è risultata in genere molto rapida.

In condizioni di laboratorio, utilizzando terreno umido, la degradazione di temephos è stata valutata in 48 h a 28,5 °C (Mestres e Chevallier, 1971; Mestres et al., 1971). In prove condotte nella valle del Tennessee, in aree soggette ad allagamenti periodici, sedi di focolai di diverse specie di *Aedes*, si è riscontrato che temephos era quasi completamente inefficace a 7 giorni dal trattamento (Cooney e Pickard, 1974).

In New Jersey, in ambienti salmastri si è verificata la distribuzione di temephos nell'habitat: dopo somministrazioni, sia granulari che liquide, la concentrazione di p.a. nella zona sub-superficiale è risultata estremamente bassa (da 2,41 a 0,48 mg/l dopo 0,5 e 5 h rispettivamente).

Temephos nelle 24 h è in gran parte adsorbito sulle superfici vegetali o di altro materiale mostrando maggior affinità per le sostanze organiche che per i solidi che costituiscono il fango di fondo; la quota di

prodotto che migra nel suolo in seguito alle variazioni di livello legate alle maree è estremamente bassa (Bush, 1975).

Dall'analisi dell'acqua di stagni trattati mediante elicottero alla dose di 73 ml/ha di p.a., Lores et al. (1985) hanno rilevato che temephos rimane intatto nell'acqua fino a 48 h. Nel campo della lotta contro *Simulium ochraceum*, quindi con somministrazioni in acque correnti, è stato osservato che temephos si distribuisce in gran parte sul substrato di fondo nell'arco di 10 m dal punto di applicazione (Umino et al., 1983). Da successive prove di laboratorio si determinò che il brevissimo trasporto di temephos in alcuni fiumi del Guatemala era dovuto al rapido e forte adsorbimento della molecola da parte della sabbia e che il successivo rilascio era assai scarso (Umino e Suzuki, 1984).

In contenitori esposti a condizioni naturali Bowman et al. (1968) osservarono un comportamento caratteristico di temephos, che considerarono molto interessante. In pratica l'adsorbimento del prodotto era sì marcato, ma la molecola resisteva alla degradazione e poteva esplicare un'azione prolungata nel tempo passando lentamente in soluzione. Essi considerarono questo fenomeno come un "sistema naturale di lento rilascio". Questo comportamento era stato osservato anche da Blinn e Pasarela (1966) in mini-ecosistemi artificiali dove temephos sembrava alquanto resistente alla degradazione; la molecola risultava infatti il componente principale dei residui, mentre il prodotto metabolico principale era rappresentato da anidride solforosa (Blinn, 1968).

Hughes et al. (1980) hanno confermato che l'adsorbimento di temephos sulle superfici in polietilene di vasche sperimentali era più marcato rispetto a quello sui sedimenti di fondo. Il fenomeno consentiva di prolungare i turni di intervento attraverso un meccanismo di lento rilascio. D'altro canto, in bacini di decantazione, il forte adsorbimento da parte della sostanza organica diminuiva l'efficacia del prodotto (Daorai e Menzer, 1977).

Infine, confrontando il comportamento di diversi formulati, Carey et al. (1976) hanno potuto evidenziare che prodotti granulari permettono di mantenere nell'acqua concentrazioni di p.a. più elevate e per un tempo più lungo. Da un recente studio condotto in Sardegna si può rilevare che temephos è p.a. a rapida degradazione con tempo di emivita in acqua tampinata di 3,5 gg, di gran lunga più breve rispetto ad altri organofosforici comunemente impiegati nella lotta alle zanzare (Salis et al., 1990).

Bacillus thuringiensis var. israelensis

Biologia Ambientale n° 3-4/1992

In considerazione della generale elevata vulnerabilità dei prodotti microbiologici, molti studi sono stati finalizzati al controllo della stabilità di *B.th.i.* nelle condizioni ambientali più disparate.

Studi condotti in Russia hanno mostrato una sostanziale stabilità della vitalità delle spore mantenute per 1 anno a T di -30 e 5 °C. Una riduzione del 50% nella vitalità delle spore si è registrata invece conservando il prodotto a 18-22, 28 e 37 °C per 6 mesi. Tuttavia si è avuta perdita di patogenicità nei confronti di larve di *Ae. aegypti* solo dopo 1 anno di conservazione a 28 e 37 °C. A T di 18-22 °C nessuna perdita si è registrata fino a 18 mesi di conservazione (Sokolova et al., 1987).

In Cina, Chen et al. (1984) hanno osservato stabilità dell'azione biologica a pH compreso tra 3 e 11 e a 20-30 °C; riduzione dell'80% dopo esposizione per 3 h a 70 °C; perdita totale di patogenicità dopo 1 h a 90 °C. Sembra che i ceppi di *B.th.* rispondano in modo diverso alla devitalizzazione delle spore. Alcuni perdono patogenicità, suggerendo il ruolo importante svolto dalle spore; altri ne risentono solo lievemente, lasciando pensare che sono i cristalli da soli a determinare gran parte della tossicità (Li et al., 1987).

Effettuando saggi biologici su *B.th.i.*, Mulligan III et al. (1980) non hanno trovato alcuna perdita di azione larvicida in seguito a devitalizzazione delle spore per mezzo di raggi UV di origine naturale. Chen et al. (1984) in Cina hanno individuato la luce solare come fattore di riduzione di vitalità delle spore e patogenicità del batterio, mentre raggi UV non determinavano alcun decremento di attività. Infine Lacey e Smittle (1985) hanno riscontrato decremento di patogenicità nei confronti di *Ae. aegypti* quando le spore erano devitalizzate mediante esposizione a raggi gamma.

La durata dell'efficacia di una formulazione liquida è risultata di 1 anno a temperatura ambiente, le polveri primarie possono essere conservate per mesi in laboratorio o in frigorifero senza perdere efficacia. L'attività biologica del materiale viene persa rapidamente in soluzione di etanolo mentre si mantiene in acqua distillata a temperature comprese fra 10 e 35 °C (Mulligan III et al., 1980; Sinègre et al., 1981).

Mediante saggi biologici Sinègre et al. (1981) hanno rilevato che temperature dell'acqua di 19-33 °C non influenzano l'efficacia larvicida che, invece, diminuisce sotto i 19 °C e sopra i 33 °C. Inoltre la presenza di cloro libero nell'acqua inibisce e distrugge la δ -endotossina tanto che è possibile parlare di relazione inversa tra contenuto in cloro libero e mortalità larvale. Immettendo terra nelle vasche di pro-

va, l'efficacia di *B.th.i.* viene ridotta a causa dell'adsorbimento sulle particelle di fondo, fuori dalla zona di alimentazione delle larve.

Mulligan et al. (1980) hanno ritrovato minor efficacia in acqua contenente solidi sospesi e sostanza organica, anche se trattata in autoclave, rispetto ad acqua potabile. Comportamento analogo è stato descritto da Ramoska et al. (1982) che hanno osservato diminuzione di efficacia in acqua con solidi sospesi (particelle di argilla) in quantità a partire da 0,5 mg/ml.

Il fattore fondamentale nel determinare la caduta di patogenicità era la dimensione delle particelle che dovevano essere < 147 μ ; particelle di dimensioni superiori sembravano non influenzare l'efficacia del prodotto. L'effetto inattivante si aveva anche se le particelle erano sedimentate sul fondo. Margalit et al. (1983) in Israele hanno potuto evidenziare perdita di efficacia di *B.th.i.* proporzionale alla diminuzione delle dimensioni delle particelle di fango da 400 a 50 μ . Ancora Margalit e Bobroglo (1984), confrontando l'azione di diverse sostanze sull'efficacia larvicida di *B.th.i.*, indicano con effetto decrescente: fango proveniente da un terreno di loess, sostanza organica in decomposizione, fango inorganico, gel di silice.

Sinègre (1981) afferma che il problema dell'adsorbimento e sedimentazione è il principale ostacolo alla persistenza d'azione di *B.th.i.* in ambiente naturale. Utilizzando dosi corrispondenti alla DL₁₀₀ nessun formulato testato ha avuto effetti residui superiori alle 48 ore.

Anche in stagni artificiali in Canada l'azione residua di *B.th.i.* nei confronti di *Aedes vexans* è risultata assai scarsa, sempre inferiore alle 24 h (Sebastien, Brust, 1981). In generale, si è concordi nel ritenere che la messa a punto di nuove formulazioni è la strada attualmente percorribile per aumentare l'efficacia residuale di *B.th.i.*

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEI MICRORGANISMI ACQUATICI

Temephos

L'azione di temephos sui microrganismi che compongono le catene trofiche delle acque superficiali è stata studiata in laboratorio e in campo. Effettuando prove in vasche di polietilene Butcher et al. (1975), con dosi pari 0,025-0,1 mg/l, hanno registrato un aumento pronunciato del pH e dell'ossigeno disciolto e una diminuzione dell'anidride carbonica totale e

disciolta rispetto a vasche di controllo. La fioritura algale è stata più lunga nelle vasche trattate, anche se le concentrazioni batteriche non sono differite.

Confrontando la crescita su substrato artificiale in laboratorio di 7 specie di alghe tipiche delle raccolte di acqua dolce è emersa la forte variabilità nella risposta a molecole insetticide. Il tasso di crescita di *Anabaena flos-aquae*, un'alga fissatrice di azoto, è aumentato del 22% con 10 g/l di temephos e del 58% con 100 g/l utilizzando un substrato senza azoto. La dose di 10 g/l ha invece inibito la crescita dell'alga verde *Chlorella pyrenoidosa* e della diatomea *Navicula pelliculosa*. Non si sono invece registrate variazioni significative a carico della diatomea *Navicula minima*, delle alghe verdi *Coccochloris penicostis*, *Oscillatoria sp.* e *Anabaena flos-aquae*, se coltivata in assenza di azoto (Birmingham e Colman, 1977).

L'effetto stimolante sull'azoto fissazione delle alghe è confermato da un altro studio di laboratorio su *Aphanizomenon flos-aquae* che ha aumentato del 500% il tasso di fissazione in presenza di 0,5 mg/l. La ragione di questo forte incremento non è completamente chiara, ma sembra si tratti di un effetto chimico diretto piuttosto che attribuibile alla diminuzione dell'attività di pascolamento dello zooplankton (Wurtsbaugh e Apperson, 1978).

Testando l'azione di diversi p.a. su 4 specie di fitoplancton marino (*Dunaliella euchlora*, *Skeletonema costatum*, *Phaedactylum tricornutum*, *Cyclotella nana*), Derby e Ruber (1971) hanno verificato che temephos è meno tossico di fenthion, propoxur e DDT, ma inibisce comunque la fotosintesi in maniera sensibile.

E' stato studiato anche l'effetto sugli organismi ossidatori dell'azoto ammoniacale negli estuari: con concentrazioni inferiori a 10 mg/l non si è registrata diminuzione dell'attività nitrificante in laboratorio (Jones e Hood, 1980). Grant e Payne (1982) utilizzando batteri denitrificanti presenti nei sedimenti di stagni salmastri trattati con 10-100 mg/l di temephos concludevano che si trattava di uno degli inibitori di denitrificazione meno attivi.

Su colture del batterio *Vibrio natriegens* e dell'alga *Chlorella vulgaris* Low-Goh et al. (1981) hanno effettuato diversi tipi di prove. Con concentrazioni molto alte (30-100 mg/l) non si aveva crescita alcuna nelle prime 5,5 ore di incubazione; a concentrazioni più basse (0,2; 0,3; 1; 3 mg/l) non si registrava alcun effetto sulla crescita dell'alga mentre veniva prolungata la fase di avvio della crescita del batterio. A concentrazioni intermedie (10-40 mg/l) il numero di cellule dell'alga presenti nel substrato era drastica-

mente ridotto nel primo giorno di incubazione e non venivano rinvenute cellule a partire dal secondo giorno; anche la crescita di *V. natriegens* veniva depressa, ma la dose letale era di 100 mg/l.

Testando l'azione di temephos su batteri di diversi gruppi (coliformi, enterococchi, amilolitici, lipolitici, e proteolitici) isolati da vasche di decantazione di liquami di polli Steelman et al. (1967), utilizzando 1 mg/l di p.a., rilevarono mortalità nulla dopo 24 ore e bassissima dopo 48 ore. Gli insetticidi più attivi nel deprimere lo sviluppo dei batteri furono chlorpyrifos e bromophos mentre poco tossici risultarono, insieme a temephos, malathion e fenthion. Daorai e Menzer (1977) hanno evidenziato che alcuni batteri presenti nelle vasche di decantazione possono scindere temephos in composti idrosolubili e inattivarne l'azione.

La necessità di compiere interventi larvicidi contro le zanzare che si sviluppano nei bacini di depurazione degli zuccherifici in cui va preservata l'attività microbica ha spinto la Soc. Eridania (1990) a compiere saggi biologici in laboratorio. Si è riscontrata inibizione dell'attività della flora microbica ossidatrice proporzionale alle concentrazioni testate (5, 10, 100, 1000 mg/l di p.a.). Blocco totale si è avuto solo con 1000 mg/l. Le concentrazioni rinvenute nei bacini trattati sono risultate di 0,12-0,64 µg/l, quindi molto al di sotto dei livelli attivi.

Per quanto riguarda l'impiego contro i Simulidi, la somministrazione di temephos nei fiumi fa spesso registrare intense fioriture algali che sono state messe in relazione con la diminuzione dell'attività di competizione e predazione da parte dello zooplankton. Questi "bloom" algali possono ripercuotersi in maniera diversa sulle catene trofiche favorendo il pullulare di alcuni gruppi di organismi e sfavorendone altri (Yasuno et al., 1982).

Bacillus thuringiensis var. israelensis

Non risulta siano stati intrapresi studi specifici su eventuali effetti dell'uso di *B.th.i.* sui microrganismi acquatici. Trattandosi di un microrganismo non in grado di moltiplicarsi al di fuori dell'ospite, probabilmente questo tipo di indagine non viene ritenuto necessario.

D'altra parte alte concentrazioni microbiche, come spesso si verificano nei focolai di zanzare, non sembrano esplicare effetti evidenti sull'efficacia dei prodotti come evidenziato da Mulligan III et al. (1980) e Chen et al. (1984).

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEGLI INSETTI NON BERSAGLIO

Temephos

Esiste una lunga serie di lavori sull'argomento: verranno qui presi in esame solo i più significativi e illuminanti. Il gruppo di insetti più abbondante e a larga diffusione nel terreno è quello dei Collemboli che, mostrando buona sensibilità agli agenti tossici, sono stati utilizzati per diverse prove.

Tomlin (1975), incorporando il p.a. in sabbia umida, espose diverse specie a concentrazioni variabili da 0,001 a 10 mg/kg: non si è verificata alcuna mortalità per *Onychiurus justus porteri* e *Hypogastrura armata*; per *Folsomia candida* la mortalità è risultata nulla fino a 1 mg/kg, ma è salita al 100% utilizzando 5 mg/kg.

Temephos è risultato tra i meno tossici dei 17 insetticidi testati, anche se l'Autore consiglia molta prudenza nell'estendere la validità di questi risultati ad altre specie di Collemboli, considerata la forte variabilità di risposta anche tra specie molto simili.

In Jugoslavia, in prove condotte in ambienti naturali comunemente trattati con larvicidi nelle campagne di lotta contro le zanzare, Zgomba et al. (1983) hanno rilevato una forte tossicità di temephos (dose 0,15 kg/ha di p.a.) nei confronti dei Collemboli acquatici per cui raccomandano molta attenzione nell'utilizzo di questo prodotto in ambienti assai vulnerabili come quelli acquatici.

La tossicità di residui di temephos è stata testata su 3 specie di imenotteri Apoidei. L'insetticida era somministrato su un campo d'erba medica (0,56 kg/ha), indi campioni di foglie trattate erano offerti agli insetti in gabbia: dopo 24 h la mortalità è risultata del 21% per *Megachile rotundata*, 12% per *Nomia melanderi*, 9% per *Apis mellifera* (Johansen, 1972).

In un altro studio (Johansen et al., 1983) è stato analizzato il tempo necessario per far diminuire la mortalità sotto il 25% sempre utilizzando gabbie di esposizione. I tempi registrati sono stati: 2-40 h per *M. rotundata*, <2-15 h per *N. melanderi* e <2 per *A. mellifera*. L'Autore ricorda che prodotti con tempi di 2 h possono essere considerati sicuri qualora applicati nel periodo di non bottinamento dei pronubi, mentre prodotti con tempi di 8 h presentano basso rischio. La variabilità nelle risposte ottenute è da ricondurre in gran parte alle diverse temperature (temperature basse mantengono attivo il prodotto più a lungo).

In un altro esperimento di laboratorio si sono confrontate le tossicità di 5 insetticidi (DDT, mala-

thion, temephos, iodofenphos, permethrin) nei riguardi di due predatori di larve di zanzara: un Notoctide (*Anisop sardea*) e un Odonato (*Crocothemis erythraea*). Le conclusioni sono assai positive per temephos, che è risultato il meno tossico tra i prodotti testati e non ha mostrato tossicità nei confronti di *A. sardea* (Mohsen et al., 1985).

Altre specie di insetti non bersaglio (*Baëtis parvus* e *Hydropsyche californica*) sono state utilizzate in prove tossicometriche su diversi insetticidi. I due piretroidi testati (K-Othrin e FMC-45497) hanno mostrato tossicità più elevata nei confronti degli Efemerotteri rispetto ai Simulidi; chlorpyrifos-methyl è risultato più tossico per *B. parvus* che per i Simulidi; temephos ha mostrato livelli di tossicità simile per le specie bersaglio e le non-bersaglio (Mohsen e Mulla, 1981).

L'estrema variabilità nella sensibilità di specie tassonomicamente vicine è stata messa in luce assai chiaramente da una sperimentazione condotta con acqua corrente in laboratorio. L'Efemerottero *Baëtis rhodani* è risultato più sensibile ($DL_{90-95} = 0,001-0,002$ mg/l) seguito dalla libellula *Agriion* sp. ($DL_{90-95} = 0,04-0,05$ mg/l), dal Tricottero *Brachycentrus* sp. ($DL_{90-95} = 0,1-0,2$ mg/l) e da un altro Tricottero, *Hydropsyche* sp. ($DL_{90-95} = 0,5-1,0$ mg/l) (Muirhead-Thomson, 1978).

In un altro studio è stata confrontata la sensibilità relativa di *Baëtis parvus* con quella di *Hydropsyche californica*. A 24 ore dalla somministrazione la DL_{50} è risultata rispettivamente di 0,0097 e 0,018 mg/l e la DL_{90} di 1,3 e 4,0 mg/l. *B. parvus* ha presentato dunque sensibilità simile a quella di *Simulium virgatum* (l'insetto bersaglio in questione) (Mohsen e Mulla, 1981). Sempre in corso d'acqua simulato in laboratorio, utilizzando due specie di Tricotteri predatori (*Rhyacophila dorsalis* e *Hydropsyche pellucidula*), a dosi pari alla DL_{90} per larve mature di *Simulium* si è avuto un tasso di sopravvivenza molto alto (Muirhead-Thomson, 1979).

In un recente studio Helgen et al. (1988) hanno evidenziato l'alta suscettibilità di *Chaoborus americanus*, che può giocare un ruolo essenziale nelle biocenosi di bacini d'acqua predando zooplancton e altri piccoli organismi, incluse larve di primo stadio di zanzara. Per *C. americanus* si è registrata in laboratorio una DL_{50} di 1,2 µg/l a 24 h, quindi simile a quella delle larve di zanzara. In ambiente naturale la sensibilità è risultata ancora maggiore. In un esperimento di campo, utilizzando la dose di 0,012 kg/ha per il controllo di *Anopheles quadrimaculatus* e *Culex* sp. lungo il perimetro di due laghi in Tennessee,

non si è registrato alcun effetto a carico di larve e adulti di Ditiscidi, adulti di Idrofilidi, larve di Odonati e Collemboli (Moore e Breeland, 1967).

Trattando un lago infestato da *Notonecta undulata*, un Notonectide predatore che in questo caso era diventato insetto bersaglio in quanto pungeva i bagnanti, alle dosi di 0,03 mg/l (0,44 kg/ha) si aveva mortalità completa del rincote. A 24 ore dal trattamento si rinvenivano 31 specie di insetti, a 48 ore solo 21. Tra queste ultime 17 specie erano Coleotteri, 3 emitteri e 1 Odonato. Nessuna specie di Dittero o Collembolo era rinvenuta viva; sulla superficie si notavano milioni di larve morte o moribonde di *Chaoborus* (Fales et al., 1968).

Alla dose di 0,034 kg/ha sono stati trattati focolai di *Aedes*, provocando l'eradicazione del Tricottero *Limnephilus indivisus* ed effetti sensibili sulle giovani larve di libellula mentre le larve mature non erano intaccate (Porter e Gojmerac, 1969).

Trattamenti frequenti a basse dosi (4 interventi bisettimanali alla dose di 0,035 kg/ha) non hanno provocato danni rilevabili sulle biocenosi di stagni salmastri in New Jersey; non sono emersi inoltre problemi da accumulo alla fine della serie di trattamenti (Campbell e Denno, 1976).

In Giappone, trattando con dosi progressive di temephos due piccoli ruscelli infestati da Simulidi, si è potuta registrare buona correlazione tra dose e numero di specie bentoniche trasportate dalla corrente (drift). Le specie risultate dello stesso livello di sensibilità dei Simulidi sono *Baëtis* sp., *Isoperla* sp., *Dolophilodes* sp. e *Anisogammarus* sp. (1 mg/l). Altre 20 specie hanno iniziato il drifting alla dose di 5 mg/l, mentre la gran parte delle specie si stacca dal fondo con 10 mg/l; solo alcune specie di Odonati iniziano il drift con 20 mg/l (Yasuno et al., 1981).

Da un altro studio condotto in Giappone si può avere conferma dei risultati precedenti. Alle dosi di 1 mg/l *Anisogammarus annandalei* "drifta" immediatamente dopo il passaggio dei due insetticidi testati (temephos e fenitrothion); *Baëtis* sp., *Epeorus* sp., *Perla quadrata* mostrano comportamento analogo a quello di *Simulium* con picco di drift più anticipato per fenitrothion che per temephos (Hasegawa et al., 1982).

Yasuno et al. (1982) hanno notato a tre mesi di distanza dal trattamento antisimulidico un forte incremento di Chironomidi seguito dall'aumento di *Baëtis* sp. Gli Autori mettono in relazione questo fenomeno con la riduzione dei competitori e predatori delle alghe che costituiscono ottimo alimento per i Chironomidi. Infatti molti macroinvertebrati bento-

nici sono scomparsi (Efemerotteri e Plecotteri in modo particolare) e i Chironomidi sono stati in grado di ricolonizzare il ruscello assai rapidamente, raggiungendo densità superiori a quelle pre-trattamento. Inoltre le specie di Chironomidi non erano le stesse di prima dell'intervento.

Stesso fenomeno è stato osservato da Yasuno et al. (1985) in seguito a un trattamento con 5 mg/l per 30 min che, riducendo notevolmente lo zoobenthos, provocò notevole fioritura algale e successiva infestazione di Chironomidi. Anche qui i Tricotteri ricomparivano più tardi. Tra i Chironomidi, che pure sono considerati sensibili a temephos, si trovano specie poco sensibili o tolleranti, come è il caso di *Procladius* sp. che subiva un forte incremento dopo trattamento di vasche di allevamento di anguilla alla dose di 0,075 mg/l (Sato e Yasuno, 1979).

In Canada, Frost (1980) utilizzando una formulazione microgranulare alla stessa dose in periodi stagionali diversi ha evidenziato una correlazione molto precisa tra azione di temephos (contro organismi bersaglio e non) e temperatura dell'acqua: nessun effetto si è avuto in maggio con 2-6 °C mentre forti mortalità si sono registrate in agosto con più di 20 °C.

In un'altra prova condotta in 4 corsi d'acqua infestati da Simulidi e utilizzando dosi di 0,059-0,091 mg/l per 18-23 min di una formulazione microgranulare si sono registrati significativi incrementi di drift a carico di Chironomidi, Tricotteri, Efemerotteri e Plecotteri a dosi più basse rispetto a quelle normalmente utilizzate sotto forma di emulsione concentrata (Frost e Sinniah, 1982).

Back et al. (1983) hanno trattato una torbiera, focolaio di zanzare, con temephos granulare ed hanno osservato per 5 giorni l'impatto sugli organismi macrobentonici di tre ruscelli drenanti. L'azione di temephos sulle larve di zanzara è passata da 100% a 0% a 5 giorni dal trattamento. L'incremento del drift, nei confronti di un ruscello testimone ove si è mantenuto costante, è stato di 11,8 volte per i Plecotteri, 4,7 per gli Efemerotteri, 3 per i Ditteri. Gli organismi più sensibili che hanno contribuito all'aumento riscontrato nei 3 ordini sono stati: *Podmosta macdunnoughi* (Nemouride), *Baëtis* sp., Chironomidae. Gli Autori concludono che la formulazione testata esplica un impatto inferiore a quello della corrispondente formulazione liquida sulle biocenosi dei corsi d'acqua.

I fiumi del bacino del Volta nell'Africa occidentale sono sotto controllo da tempo nell'ambito del Programma di Controllo dell'Oncocercosi. Diversi ricercatori hanno studiato l'impatto di temephos sugli invertebrati non bersaglio. A tutte le dosi usate (0,025-

0,1 mg/l) si sono registrati fenomeni di drift. Il distacco dai substrati inizia subito dopo il passaggio dell'insetticida con la corrente, raggiungendo velocemente un picco per poi ritornare a valori normali 24 h dopo il trattamento. Tra i taxa più sensibili ricordiamo: Baetidae, Caenidae, Chironomidae, Tricotteri (specialmente il genere *Macronema*) (Dejoux e Elovard, 1977; Elovard e Jestin, 1982; Dejoux, 1983).

Sempre in Africa occidentale, utilizzando dosi abituali nella lotta antisimulidica (0,1 mg/l per 10 min), si è avuta una mortalità di circa il 50% degli oltre 4000 individui osservati (appartenenti a 41 specie) dopo 24 ore (Dejoux, 1982). Ed infine ricordiamo uno studio condotto in India sugli effetti cronici di temephos. Il Nepide predatore *Laccotrephes griseus* è stato nutrito per 28 giorni con larve di *Cx. quinquefasciatus* trattate con dosi subletali (0,05-0,25 mg/l). La crescita e la fecondità dell'emittero è risultata ridotta al crescere della dose. A 0,25 mg/l si è avuta atrofia degli ovari (Methavan e Jayakumar, 1987).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

Un intenso lavoro è stato compiuto per verificare il grado di selettività d'azione di *B.th.i.* nei confronti di insetti appartenenti a taxa molto lontani tra loro. In "Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980" di H.D. Burges si trova in appendice, a cura di Krieg e Langenbruch, una vasta raccolta di dati sull'argomento. Sintetizziamo tali dati nella seguente tabella:

Specie testata	Az. tossica in laboratorio	Autore(*)
COLEOTTERI		
<i>Berosus</i> sp.	no	Morawcrik e Schetter
<i>Coelambus</i> sp.	no	Morawcrik e Schetter
Gyrinidae	no	Weiser e Vankova, 1978
<i>Laccophilus</i> sp.	no	Morawcrik e Schetter
DITTERI		
<i>Chaoborus</i> sp.	no	Krieg
<i>Chironomus</i> sp.	si	Weiser e Vankova, 1978
<i>C. tumni</i>	si	Rieger e Schnetter
<i>Culicoides</i> sp.	no	de Barjac e Larget
<i>Diamesa</i> sp.	si	Weiser e Vankova, 1978
<i>Drosophila melanogaster</i>	no	de Barjac e Larget
<i>Phorbia brassicae</i>	no	Hassan e Krieg
<i>Musca domestica</i>	no	de Barjac e Larget
EFEMEROTTERI		
<i>Caenis lactea</i>	no	Weiser e Vankova, 1978
<i>Cloëon</i> sp.	no	Krieg

<i>Ephemera danica</i>	no	Weiser e Vankova, 1978
<i>Leptophlebia</i> sp.	no	Weiser e Vankova, 1978

EMITTERI

<i>Notonecta glauca</i>	no	Krieg
<i>Sigara</i> sp.	no	Krieg

IMENOTTERI

<i>Trichogramma evanescens</i>	no	Hassan e Krieg
--------------------------------	----	----------------

LEPIDOTTERI

<i>Aporia crataegi</i>	si	Vankova e Weiser, 1978
<i>Ephesia kueiniella</i>	no	de Barjac, 1978
<i>Euproctis chrysorrhoea</i>	si	Vankova e Weiser, 1978
<i>Malacosoma neustria</i>	si	Vankova e Weiser, 1978
<i>Plutella xylostella</i>	no	de Barjac, 1978
<i>Spodoptera litura</i>	no	de Barjac, 1978

TRICOTTERI

<i>Chaetopteryx</i> sp.	no	Weiser e Vankova, 1978
<i>Hydropsyche pellucida</i>	si	Weiser e Vankova, 1978
<i>Potamophylax rotundipennis</i>	si	Weiser e Vankova, 1978

(*) Ove non è specificato l'anno si deve intendere come osservazioni non pubblicate

Nel documento WHO/VBC/79.750 si riporta che i Dixidi sono gli unici insetti che risultano sensibili a *B.th.i.* alle stesse dosi attive contro i Culicidi, mentre i Chironomidi risentono di dosaggi più elevati. Nessun effetto è stato riscontrato a carico di Efemerotteri e Coleotteri acquatici.

28 specie di organismi acquatici testati in laboratorio in California non hanno evidenziato alcun danno, se si esclude *Chironomus attenuatus* che è risultato suscettibile come i Culicidi e i Simulidi (Garcia et al., 1981).

In Francia, Larget e de Barjac (1981), testando *B.th.i.* su diverse specie di Ditteri dannosi e non, riportano come unica specie suscettibile *Chironomus plumosus*, ma a dosi molto più alte di quelle usate per i Culicidi.

Sinègre et al. (1980), prelevando da focolai culicidici del Sud della Francia numerosi organismi, avevano concluso che solo le larve di Chironomidi erano sensibili agli stessi livelli di *B.th.i.* usati per la lotta alle zanzare ($DL_{50} = 0,1$ mg/l con esposizione di 24 h). Trattando ambienti che simulavano condizioni naturali e controllando gli effetti su 28 specie, solo le larve di Chironomidi sono risultate suscettibili in modo lieve (Miura et al., 1980).

Ali (1981) ha controllato per 4 settimane le popolazioni di Chironomidi in stagni sperimentali trattati

con 0,25-2,5 p.p.m. di *B.th.i.*. Si sono avute riduzioni del 18-88% dei Chironomini e Tanitarsini presenti. La dose più alta non aveva alcun effetto su Rotiferi, Ostracodi, Corixidi, Notonectidi e Coleotteri. Ali et al. (1981) hanno condotto saggi biologici con diversi formulati di *B.th.i.* per confrontare la sensibilità di alcune specie di Chironomidi (*Glyptotendipes paripes*, *Chironomus crassicaudatus*, *C. decorus*, *Tanytarsus* sp.) con quella di due specie di Culicidi (*Aedes aegypti*, *Cx. quinquefasciatus*). Le larve di zanzara sono risultate 13-75 volte più sensibili di quelle dei Chironomidi. In questi ultimi le larve di I stadio sono più sensibili di quelle di III. In ambienti assai diversi come è il caso di focolai di *Anopheles stephensi* e *Culex pipiens* in Belgio, controllando due specie non bersaglio (*Chironomus plumosus* e *Limnephilus flavicornis*), Lebrun e Vlayen (1981) non hanno notato alcun effetto dannoso.

Sinègre et al. (1990) hanno studiato la dinamica di popolazione di 3 specie di Chironomidi (*Chironomus salinarius*, *C. halophilus*, *C. plumosus*) che colonizzavano aree trattate sperimentalmente con 8 insetticidi. Alle dosi normalmente usate contro le zanzare, solo *B.th.i.*, *B. sphaericus* e diflubenzuron non hanno prodotto ripercussioni evidenti. Fenitrothion, temephos, chlorpyrifos, deltametrina ed S 31183 (juvеноide) invece hanno avuto impatto notevole.

Purcell (1981) in Florida, trattando focolai salmastri di *Aedes taeniorhynchus* e controllando 38 specie non bersaglio, segnala la sola diminuzione di *Notonecta indica* che comunque potrebbe anche aver migrato dallo stagno trattato.

Mulla et al. (1982), utilizzando dosi 5 volte superiori a quelle consigliate per la lotta contro le zanzare, non hanno riscontrato effetti di tossicità acuta su Efemerotteri, Odonati e Coleotteri. Catturando in natura alcuni predatori di larve di zanzara e nutrendoli con larve di *Culex quinquefasciatus* preventivamente esposte a *B.th.i.* e *B. sphaericus*, Ali e Mulla (1987) non hanno notato effetti sulla durata di vita e sulla muta di *Notonecta undulata* (Notonectide), *Tar-netrum corruptum* (Libellulide) e *Enallagma civile* (Cenagrionide). Utilizzando la dose di 100 mg/l di un formulato sperimentale pari a 1449 volte la DL_{50} a 24 h per larve di *Ae. vexans* non si è avuto alcun effetto su 4 specie di Coleotteri acquatici (Gharib e Hilsenhoff, 1988).

Dopo applicazioni per via orale, a concentrazioni di 5 miliardi di spore e cristalli/ml, adulti di *Trichogramma cacoeciae* non hanno accusato decremento alcuno di parassitizzazione a carico di uova di *Sitotroga cerealella*. Inoltre la dose di 100 milioni/ml di

spore e cristalli somministrata per 7 gg ad *Apis mellifera* non ha prodotto effetti patogeni (Krieg et al., 1980).

Dejoux, nel documento redatto per il WHO (1979), riporta una pressochè assoluta selettività d'azione di *B.th.i.* utilizzato come antisimulidico alla dose di 0,2 mg/l per 10 min (polvere primaria). Nessuna delle seguenti famiglie riportate è risultata "driftare" in conseguenza dell'intervento: Chironomidae, Rhagionidae, Ceratopogonidae, Baetidae, Tricorythidae, Caenidae, Elmidae, Hydrophilidae, Libellulidae, Agrionidae, Hydropsychidae, Leptoceridae, Philopotamidae, Hydroptilidae, Perlidae, Pyralidae. L'Autore conclude che si tratta sicuramente del prodotto antisimulidico più selettivo mai testato.

A conclusioni analoghe sono giunti Autori impegnati nella lotta contro i Simulidi in altre regioni del globo (Colbo e Undeen, 1980; Molloy e Jamnback, 1981; Gibbs et al., 1986) mentre, utilizzando dosi elevate (5,28 g/l per 15 min), Back et al. (1985) hanno registrato un sensibile effetto su larve di Blephariceridae e di Chironomidae.

Pistrang e Burger (1984) in un ruscello del New Hampshire trattato con 10 mg/l per 1 min hanno registrato mortalità a carico di Chironomidi e drift per 2 specie di Efemerotteri e 2 specie di Tricotteri, effetti da attribuire all'azione di *B.th.i.*

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEI CROSTACEI

Temephos

I Crostacei acquatici rappresentano un anello importantissimo per la stabilità delle biocenosi che si sviluppano sia in acque lentiche che correnti. Alcuni gruppi presentano poi forte sensibilità agli agenti inquinanti, insetticidi in particolar modo, essendo la loro fisiologia molto simile a quella degli insetti. Sono stati per questo oggetto di numerosi studi tossicologici sia in laboratorio che in campo. La suscettibilità a temephos di alcuni microcrostacei è stata valutata in laboratorio: *Cyclops spartinus* (Copepode) ha mostrato mortalità inferiore al 10% con dosi di 1 mg/l dopo 24 h; *Diaptomus* sp. (Copepode) è risultato molto sensibile: 30% di mortalità a 0,001 mg/l e 90% a 0,01 mg/l dopo 24 h. Molto poco sensibile, invece, *Cyprinotus incongruens* (Ostracode) con 10% mortalità a 1 mg/l e 70% a 10 mg/l, sempre dopo 24 h (Ruber e Baskar, 1968).

La DL_{50} dopo 24 h per nauplii di *Thermocyclops hyalinus* (Copepode), il microcrostaceo dominante nei fiumi del bacino del Volta, è risultata 0,23 mg/l,

mentre la DL_{50} per gli adulti è stata 0,20 mg/l (Samman e Pugh Thomas, 1978). In prove condotte in acquari che simulavano condizioni naturali utilizzando un formulato granulare alla dose di 2,8 e 5,6 Kg/ha, si è registrata mortalità completa dei Cladoceri *Ceriodaphnia* e *Simocephalus* ed effetti leggeri sui Copepodi *Cyclops*, *Eucyclops* e *Ectocyclops* (Didia et al., 1975). *Daphnia magna* (Cladoceri) risulta avere una DL_{100} a 2 h pari a 0,5 mg/l e 1 mg/l dopo 20 min (Tevan e Lang, 1975).

Crostacei zooplanctonici raccolti in risaie della Malesia ed esposti a dosi di temephos in laboratorio hanno mostrato ampia variabilità di risposta: *Diaphanosoma* e *Moinodaphnia* (Cladoceri) sono risultati altamente suscettibili con $DL_{50} < 0,1$ mg/l (simile alle DL_{50} per *Culex tritaeniorhynchus*) mentre il Copepode *Tropodiptomus* sp. ha presentato $DL_{50} = 0,58$ mg/l (Yap et al., 1982).

Anche Crostacei marini sono stati saggiati in laboratorio (Maggi, 1973; Amiard-Triquet et al., 1981). Per *Artemia salina* (anostraco) la DL_{50} a 96 h è risultata 0,35 mg/l; per i Decapodi *Palaemonetes varians*, *Crangon crangon*, *Clinabarns misanthropus*, *Carcinus maenas* rispettivamente 0,75-1,55-6,5 e 0,15 mg/l.

E' stato investigato riguardo il comportamento di migrazione di *Gammarus fasciatus*, un Anfipode assai importante nelle catene trofiche dei fiumi, in relazione a somministrazioni di temephos in un ruscello simulato in laboratorio. Concentrazioni inferiori alla DL_{10} a 24 h (2 mg/l) inibiscono la migrazione contro corrente del Crostaceo (Ruber e Kocor, 1976). Studiando un altro Anfipode, *G. mucronatus*, mediante esposizioni a dosi sub-letali si è registrata inibizione dell'attività respiratoria con 0,1 mg/l per 24 h e nessun effetto con 0,01 mg/l (Ruber e La France, 1983).

Come la tossicità sia correlata, oltre che al tempo di esposizione, anche alla temperatura emerge dal lavoro condotto da Yasuno et al. (1978) su *Anisogammarus* sp. (Anfipode). Alla dose di 2 mg/l la mortalità raddoppia passando da 10 a 20 °C.

In uno studio assai approfondito condotto in Minnesota (Helgen et al., 1988) sono state, tra l'altro, condotte prove di laboratorio a carico di *Daphnia pulex*, *Diaptomus laptopus* e un gruppo misto di Ciclopoidi. *D. pulex* è risultato il più sensibile degli organismi testati con mortalità del 100 % alla dose di 1,3 µg/l a 24 h. La DL_{50} calcolata alle 12 h è risultata 0,4 µg/l. *D. laptopus* esposto per 12 h a 6 g/l ha fatto registrare mortalità dell'85%; infine per i Ciclopoidi si è ottenuta una DL_{50} a 5 h di 13,6 µg/l. In prove

parallele condotte sugli stessi organismi in uno stagno si è avuta mortalità elevata a carico di *D. pulex*, *Simocephalus* sp., e *D. leptopus* dopo 24 h. Nessun Cladocero veniva rinvenuto 14 gg dopo il trattamento. Al contrario si è registrato incremento nelle popolazioni di Ciclopoidi nonchè per *Keratella cochlearis* (Rotiferi). Forme giovanili di *D. pulex* sono riapparse nel bacino a 21 gg dal secondo trattamento e a 35 gg dal primo. La produzione di uova è risultata bloccata fino a metà luglio, la densità di *D. pulex* si è mantenuta molto inferiore a quella degli anni precedenti e rispetto a bacini di controllo per tutta la stagione. La sensibilità riscontrata in natura è risultata comparabile ai dati ottenuti in laboratorio, ma in genere più alta. Gli Autori sottolineano inoltre l'opportunità di fare studi a lungo termine perchè l'effetto sulle capacità riproduttive può manifestarsi con momentanei recuperi di popolazione e successivi crolli.

Due studi sono stati condotti in New Jersey sulla tossicità di temephos e malathion nei confronti di *Uca* sp., un Decapode scavatore assai importante per l'equilibrio delle biocenosi degli ambienti salmastri solitamente trattati per la lotta contro le zanzare. Entrambi i prodotti hanno causato una forte mortalità del granchio a dosi elevate e temephos si è dimostrato il più tossico dei due (Rio, 1970; Ward e Howes, 1974).

In bacini di decantazione di acque inquinate trattati con dosi di 0,056-0,22 kg/ha di temephos per il controllo di Chironomidi si è avuta alta mortalità del Cladocero *Moina rectirostris* che è risultato più sensibile delle specie bersaglio (Mulla e Khasawinah, 1969). Trattando con la dose di 5,6 kg/ha focolai di *Aedes* si è registrato decremento del 40% a 48 h dal trattamento nelle popolazioni dei Cladoceri *Simocephalus* e *Ceriodaphnia* che tornavano a densità normali dopo 7 gg dal trattamento. Decremento di solo il 10% si registrava invece per i Copepodi (*Cyclops*, *Ectocyclops*, *Eucyclops*) e per gli Ostracodi con recupero totale dopo 3 gg (Liem e La Salle, 1976).

In un altro studio condotto in ambienti salmastri del New Jersey trattati per 10 volte ad intervalli bisettimanali con 0,12 kg/ha di temephos non sono stati evidenziati effetti sugli Isopodi, Anfipodi e altri organismi presenti (Forgash, 1976).

In California sono stati confrontati 3 p.a. comunemente usati nella lotta larvicida: temephos, chlorpyrifos, diflubenzuron. Tutti gli insetticidi hanno ridotto le popolazioni di *Daphnia pulex* e *D. galeata* che comunque hanno recuperato in 1-3 settimane. Un altro Cladocero *Bosmina longirostris* è risultato suscettibile ai due organofosforici, ma tollerante a

diflubenzuron. Tra i Copepodi, *Cyclops* sp. è risultato sensibile solo a temephos mentre *Diaptomus* sp. è stato depresso da diflubenzuron, recuperando in 2 settimane. L'Ostracode *Cyprinotus*, tollerante a temephos, è risultato molto suscettibile a chlorpyrifos con mortalità di 60-90% e recupero della popolazione in 1-4 settimane. L'Anfipode *Hyaella azteca* ha dimostrato di essere tollerante a temephos, ma sensibile a diflubenzuron e chlorpyrifos (Ali e Mulla, 1978).

In Cecoslovacchia, nell'ambito di prove di lotta contro *Ae. cantans*, sono state tenute sotto osservazione diverse specie: il Fillopoide *Chirocephalus grubii* ha mostrato mortalità del 100% alla dose di 0,005 mg/l; *Cyclops* sp. ha fortemente risentito della dose di 0,02 mg/l; *Daphnia* sp. ha subito mortalità del 100% alla dose di 0,1 mg/l (Rettich, 1979).

Trattando una pozza naturale alla dose di 0,01 mg/l si è avuta mortalità nei Cladoceri vicina al 100% senza recupero di popolazione fino a 40 gg. Al contrario i Ciclopoidi non subivano modifiche sostanziali dopo il trattamento, ma risultavano assenti in seguito per un periodo fino a 20 gg suggerendo ancora l'ipotesi di effetti dilazionati (Hughes et al., 1980).

In risaie della Malesia, utilizzando dosi di 60-200 gr/ha, si sono registrati effetti molto tossici sulle popolazioni di Cladoceri (*Diaphanosoma* e *Moinodaphnia*) che, comunque, recuperavano i livelli iniziali dopo 7-15 gg; inoltre la sensibilità di *Tropodiptomus* è risultata simile a quella delle larve di zanzara (Yap et al., 1982).

In uno studio, condotto per valutare l'azione residua di temephos, tre bacini artificiali con comunità biocenotiche molto simili sono stati trattati alla dose di 0,03 mg/l. Temephos persiste molto poco nell'ambiente trattato e più a lungo con basse temperature; le popolazioni di Copepodi e Cladoceri sono le più lente a ricolonizzare l'habitat e a raggiungere le densità pre-trattamento (Fortin et al., 1987).

In un vasto studio di campo condotto nel Minnesota è stata valutata l'azione di temephos e chlorpyrifos sui Crostacei in ambiente di nidificazione di uccelli acquatici. Confrontando semplicemente la presenza o assenza di Crostacei in 48 aree trattate e 48 non trattate si sono registrati effetti tossici assai lievi per temephos e molto più marcati per chlorpyrifos (Frank e Sjorgren, 1976).

Nell'ambito del OCF (Programma di controllo dell'oncocercosi) sono state compiute osservazioni sul fiume Oti in Ghana. Il fiume era trattato settimanalmente con l'aereo in modo che le concentrazioni attese fossero di 0,01-0,05 mg/l per 10 min. I trattamenti causavano drift catastrofici di Cladoceri,

Copepodi e Chaoboridi nella prima ora, ma nell'arco delle 24 h non si verificava riduzione della popolazione in quanto, durante il giorno, quando venivano effettuati i trattamenti, la maggior parte degli individui si trova sul fondo e risente meno dell'azione dell'insetticida (Samman e Pugh-Thomas, 1979).

Per verificare l'impatto dei trattamenti antisimulidici sulle biocenosi del fiume Bandama in Costa d'Avorio, Bertrand (1976) ha raccolto diversi organismi tra cui Decapodi. Alle dosi normalmente utilizzate (0,1-0,5 mg/l) non ha registrato tossicità a loro carico.

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

In prove di laboratorio che simulavano condizioni di campo, Miura et al. (1980) hanno testato 3 generi di Cladoceri (*Ceriodaphnia*, *Simocephalus*, *Moina*), 1 genere di Ostracodi (*Cyprois*) e 1 specie di Copepodi (*Cyclops vernalis*) alla dose di 5400 spore/ml (comunemente usata per la lotta alle zanzare) senza osservare effetti tossici.

Trattando bacini sperimentali infestati da Chironomidi con dosi di 0,25-2,5 mg/l non si sono registrati effetti tossici sui Crostacei presenti (*Cyclops*, *Daphnia* e Ostracodi) nè sui Rotiferi (Ali, 1981).

In un lavoro di confronto dell'efficacia di 5 formulati, utilizzando dosi di 0,56-2,24 kg/ha, non si è evidenziato alcun effetto a carico degli Ostracodi (Mulla et al., 1982).

In saggi condotti in laboratorio sull'Anfipode di acque salate *Elasmopus bampo* si è rilevato l'elevato margine di sicurezza di *B.th.i.* essendo la DL_{50} (96 h) di 12,8 mg/l, molto superiore alle dosi comunemente usate (0,04-0,37 mg/l) (Reish et al., 1985).

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEI MOLLUSCHI

Temephos

Saggi biologici sono stati condotti su diversi Molluschi marini per verificarne la sensibilità (Maggi, 1973):

	DL_{50} (mg/l)	
	48 h	96 h
<i>Mytilus edulis</i> (lamellibranchi)	29	8,6
<i>Cardium edule</i> "	>30	30
<i>Gibbula umbilicalis</i> (gasteropodi)	>30	18
<i>Purpura lapillus</i> "	>30	22,5
<i>Littorina littorea</i> "	17	13
<i>Patella vulgata</i> "	>30	29

Inoltre la dose di 4 mg/l sembra non influenzare il metabolismo di *Crassostrea angulata*. Gasteropodi del genere *Pila* e *Cleopatra* raccolti nel fiume Bandama in Costa d'Avorio sono stati sottoposti a prove di laboratorio. Nessuna mortalità si è avuta nel genere *Pila* con dosi di 2-200 mg/l. Anche *Cleopatra* sp. è risultata molto tollerante, tanto che la stima della DL_{50} a 24 h sarebbe di circa 60.000 mg/l. Tuttavia la locomozione di *Cleopatra* sp. si è ridotta già alla concentrazione di 5 mg/l (Bertrand, 1976).

Per la lotta contro *Culicoides melleus* sono stati trattati piccoli stagni sabbiosi dove era presente il gasteropode *Nassarius obsoletus*. La dose utilizzata di 0,48 kg/ha non ha compromesso *Nassarius* che però mostrava reazioni più lente rispetto alla norma (Wall e Marganian, 1971). In ambienti salmastri trattati con 0,12 kg/ha di temephos un altro gasteropode, *Melampus bidentatus*, non ha mostrato effetti negativi di alcun genere (Forgash, 1976).

Trattamenti con formulati granulari sembrano favorire l'accumulo rispetto a trattamenti a base di emulsioni e il p.a. è rintracciabile anche a 5 settimane di distanza in *M. bidentatus*. Il residuo più alto trovato in *M. bidentatus* raccolto in aree trattate con emulsione è stato 0,059 ppm dopo 4 trattamenti, quello più alto rinvenuto nelle aree trattate con granulare è stato 0,75 ppm dopo 9 interventi (Fitzpatrick e Sutherland, 1976).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

Sempre da Krieg e Langenbruch (in Burges, 1981) ricaviamo dati completamente rassicuranti circa l'azione tossica di *B.th.i.* nei riguardi dei Molluschi, non essendo stato osservato alcun effetto sulle specie sotto riportate.

Specie testata	Az. tossica in laboratorio	Autore (*)
gasteropodi		
<i>Aplexa hypnorum</i>	no	Morawczik e Schnetter
<i>Bithynia tentaculata</i>	no	Morawczik e Schnetter
<i>Galba palustris</i>	no	Morawczik e Schnetter
<i>Limnea stagnalis</i>	no	Morawczik e Schnetter
<i>Physa</i> sp.	no	Weiser e Vankova, 1978
<i>Planorbis planorbis</i>	no	Morawczik e Schnetter
<i>Radix</i> sp.	no	Morawczik e Schnetter
<i>Viviparus contectus</i>	no	Morawczik e Schnetter
lamellibranchi		
<i>Ostrea edulis</i>	no	Sinègre et al., 1979

(*) Ove non è riportato l'anno si deve intendere come osservazioni non pubblicate.

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DI PESCI E ANFIBI

Temephos

Nel 1966 Mulla riporta che temephos, alla dose di 0,45 kg/ha, non è tossico per *Rana catesbeiana* (Anuri). Nel 1970 Muller utilizzando la dose di 0,6 mg/l per la lotta contro *Cyclops* in Nigeria (vettore di dracunculiasi) non osserva azione tossica su *Xenopus muelleri* (Anuri). Le uova di altre due specie di Anfibi, *Rana chensinensis* (Anuri) e *Hynobius retardatus* (Caudati), non hanno risentito di dosi pari a 1 mg/l mentre la DL_{50} è stata fissata in 4,18 e 3,97 mg/l rispettivamente (Hattori, 1974). Nessuna mortalità è stata osservata da Bertrand (1976) saggiando dosi da 1 a 10 mg/l su due specie tipiche del fiume Bandama: *Phrynobatrachus acraensis* e *P. calcaratus*.

Per quanto riguarda i Pesci molte sono le ricerche condotte. Von Windguth e Petterson (1966) non hanno riscontrato tossicità ai dosaggi normalmente impiegati nella lotta contro i Chironomidi; le DL_{50} a 24 h per *Micropterus salmoides* (Centrarchidi), *Lepomis macrochirus* (Centrarchidi), *Gambusia affinis* (Ciprinodontidi) e *Lebistes reticulatus* (Ciprinodontidi) sono risultate superiori a 200 mg/l.

Mulla et al. (1967) hanno valutato l'azione di temephos sulla carpa riscontrando mortalità totale con 5 mg/l a 3 h dalla somministrazione. Rongsriyam et al. (1968) hanno studiato gli effetti di temephos su *Poecilia reticulata*, un importante predatore di larve di zanzara. Sebbene non si sia evidenziata alcuna mortalità alla dose di 200 mg/l dopo 24 h, è stato possibile osservare riduzione dell'attività trofica del 50% alla dose di 2,5 mg/l. Considerando una DL_{50} per *Culex pipiens* di 0,53 g/l è stato calcolato un coefficiente di selettività di 4717 per cui temephos è risultato il miglior larvicida in corpi idrici contenenti pesci.

Dosi sub-letali di 0,25-1,5 mg/l sono state testate sulla stessa specie; non si è avuto calo nella produzione di uova, ma la consistenza della prole è diminuita fino a due mesi dopo l'esposizione (Yasuno et al., 1980). Darwazeh e Mulla (1974) non hanno osservato alcuna mortalità su *Gambusia affinis* trattata con la dose di 5 mg/l.

Saccà e Mastrilli (1972) forniscono una DL_{50} di 25 mg/l e un coefficiente di selettività nei confronti di *Cx. pipiens* di 35.714.285, di gran lunga il più alto dei 18 insetticidi testati. Scirocchi e d'Erme (1980) hanno saggiato temephos su 6 pesci d'acqua dolce utilizzando la dose che corrisponde alla DL_{100} in campo per *Cx. pipiens*. L'insetticida è risultato innocuo per tutte

le specie. Il luccio (*Esox lucius*) e il barbo (*Barbus plebejus*) sono risultati i più suscettibili con DL_{50} a 24 h di 0,39 e 2 mg/l. *G. affinis* con $DL_{50} = 7$ mg/l è stata la specie più resistente.

Salis et al. (1990) confrontando temephos con altri fosfororganici di largo impiego (fenthion, fenitrothion, chlorpyrifos-methyl, phentoato) hanno ottenuto una DL_{50} su *G. affinis* di 25 mg/l che lo conferma il migliore del gruppo testato.

Sembra che temephos tenda a concentrarsi nei pesci. Miles et al. (1976), esponendo *Lepomis macrochirus* a concentrazioni di 0,0216 e 0,00216 mg/l per 16 h, ha osservato un fattore di accumulo di 125 e 144 rispettivamente. Metthiesen e Johnson (1978) e Ade-ney e Matthiesen (1979) hanno studiato le ripercussioni di temephos su *Sarotherodon mossambicus* (Ciclidi), un pesce tropicale. Con esposizioni a concentrazioni di 0,001-0,1 mg/l si è registrato un accumulo proporzionale alla dose. Il tasso di crescita, il glucosio nel plasma e l'attività colinesterasica rimanevano praticamente costanti.

Una delle ragioni addotte come probabile spiegazione della mancanza di effetti tossici a concentrazioni alle quali gli altri organofosforici risultano tossici è che l'inibizione della acetilcolinesterasi è causata solo da metaboliti specifici e non dalle molecole dell'insetticida o dal suo metabolita solfossido, le uniche due molecole rintracciabili. Si ritiene anche che il calo delle popolazioni ittiche in fiumi trattati per la lotta contro l'oncocercosi sia da imputare alla diminuzione delle popolazioni di insetti acquatici e non all'effetto tossico diretto (Bertrand, 1976). Chlorpyrifos-methyl, chlorphoxim e pirimiphos-methyl inibiscono più di temephos l'attività acetilcolinesterasica del cervello in *Tilapia guineensis* (Pelissier et al., 1983).

In India è stato sviluppato un piano di lotta contro *Cx. tritaeniorhynchus* basato sull'uso combinato di temephos e *G. affinis*. I pesci erano immessi nell'habitat alla densità di 10/mq e temephos impiegato alla dose di 5 kg/ha di formulato granulare; il controllo in questo modo era del 100% e non si aveva alcuna mortalità del pesce (Mathur et al., 1981).

Temephos utilizzato in allevamenti di anguilla alla dose di 0,02-0,05 mg/l per il controllo di Chironomidi non ha avuto ripercussioni sul tasso di crescita del pesce; si aveva riduzione dell'attività colinesterasica solo in presenza di 10 mg/l (Ohkura e Tabaru, 1975). Un caso particolare è quello segnalato da Fortin et al. (1986) che, esponendo *Salvelinus fontinalis* (Salmonidi) a dosi elevate di TEKNAR (4500-6000 mg/l per 45 min), hanno registrato elevata mortalità (20-86,4% rispettivamente). La tossicità, in questo

caso, dipendeva dalla presenza di xylene, un coformulante presente in concentrazione del 2% nel formulato testato.

In Burkina Faso è stato studiato l'impatto di 6 anni di applicazioni aeree di temephos (0,05 mg/l per 10 min) su quattro specie eduli di due fiumi: il Volta Rosso e il Volta Bianco. Non si sono riscontrati decrementi significativi nell'attività colinesterasica, forse anche per il fatto che i pesci tendono a spostarsi dal luogo del trattamento muovendosi contro corrente (Antwi, 1987).

Ugualmente nessuna ripercussione nel lungo periodo viene segnalata dopo 10 anni di monitoraggio nella popolazione ittica dei fiumi inseriti nel Programma di Controllo dell'Oncocercosi in Africa Occidentale. Il numero di catture totali e le specie catturate non hanno mostrato variazioni apprezzabili nel lungo periodo anche quando, per l'emergere della resistenza, temephos è stato sostituito con altri insetticidi come *B.th.i.*, chlorphoxim, permetrina (Leveque et al., 1988).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

Anche nei confronti di Anfibi e Pesci *B.th.i.* ha finora dimostrato assoluta selettività. Un fenomeno non ben spiegato è stato osservato in Cecoslovacchia da Paulov (1985) che ha utilizzato dosi elevate sui diversi stadi di sviluppo di *Rana temporaria* (Anuri) senza che emergessero fenomeni di tossicità, ma osservando alla dose di 10 mg/l incremento di peso negli animali trattati e metamorfosi più rapida.

Sinègre et al. (1979a e b), sottoponendo *G. affinis* alla dose di 8 mg/l per 15 gg, non hanno rilevato alcun effetto tossico. Lebrun e Vlayen (1981), utilizzando *Tilapia nilotica* in laboratorio con dosi elevate, non hanno osservato tossicità alcuna. In India, in laboratorio, sono stati saggiati diversi ceppi di *B.th.i.* e *B. sphaericus* su diversi organismi non bersaglio tra i quali *Tilapia mossambica* e *Lebistes reticulatus* senza che si evidenziasse alcun effetto tossico (Narsaiah e Jamil, 1986).

In Iran in laboratorio e in California in campo, 40 specie di animali acquatici tra i quali diverse specie di pesci sono state sottoposte a dosi 50 volte superiori alle DL_{50} per *Cx. pipiens* senza che emergesse alcun effetto tossico acuto (Garcia et al., 1980). Nella lotta contro i Simulidi in un fiume del Maine si utilizzano dosi di 10 mg/l per 5 min ottenendo mortalità comprese tra 85 e 100%. La dieta del pesce presente non sembra variare in seguito ai trattamenti rimanendo assai scarsa in Simulidi; non è stato osservato nessun decremento di popolazione ittica (Gibbs et al., 1986).

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEGLI UCCELLI

Temephos

Somministrando a galline dosi giornaliere di 15,3 mg/kg, compare indebolimento delle zampe dopo 30 gg mentre dimezzando la dose non si è verificato alcun sintomo fino al 108° giorno (Gaines et al., 1967). Tucker e Haegele (1971) hanno studiato la tossicità acuta su 6 specie di uccelli. Le femmine di *Phasianus colchicus* (Fasianidi) sono risultate le più sensibili con $DL_{50} = 31,5$ mg/kg, seguite dalle femmine del Passeride *Passer domesticus* ($DL_{50} = 35,4$ mg/kg), dagli adulti del Columbide *Columba livia* ($DL_{50} = 50,1$ mg/kg), dai maschi dell'Anatide *Anas platyrhynchos* ($DL_{50} = 79,4$ mg/kg), dal Columbide *Coturnix coturnix japonica* ($DL_{50} = 84,1$ mg/kg) e dal Fasianide *Alectoris graeca* ($DL_{50} = 270$ mg/kg).

Hill ha osservato maggiore tolleranza in uccelli di grandi dimensioni rispetto a uccelli piccoli: *Cyanocitta cristata* (Corvidi) soccombe a dosi di 30 mg/kg, *Passer domesticus* è molto sensibile ($DL_{50} = 47$ mg/kg), *Richmondia cardinalis* (Fringillidi) ha $DL_{50} = 76$ mg/kg e *Colinus virginianus* (Fasianidi) $DL_{50} = 1910$ mg/kg.

Uno studio approfondito è stato condotto su *Anas platyrhynchos* con somministrazioni di 0,1-10 mg/kg di temephos a partire da prima dell'ovideposizione fino a 21 gg di vita. Tra i parametri controllati solo l'intervallo di deposizione è risultato più lungo per gli animali trattati con 10 mg/kg mentre nessuna differenza si è evidenziata riguardo la fertilità, la schiusura delle uova, il comportamento di nidificazione e cova. C'è stata però minor sopravvivenza nei due gruppi trattati anche se l'attività acetilcolinesterasica non risultava inibita nei giovani. I parametri biochimici non erano affetti e non si ritrovavano residui nelle uova o nei tessuti esaminati (Franson et al., 1983).

Un altro studio è stato condotto per verificare l'effetto di temephos sulla resistenza al freddo di *Anas platyrhynchos*, essendo noto che gli organofosforici possono avere questo tipo di ripercussione. Nelle diete sono stati aggiunti 0-0,1-1-10 e 100 mg/kg di p.a. Solamente il gruppo trattato con la dose più alta ha mostrato chiari sintomi di tossicità: elevata mortalità alla bassa temperatura testata, inibizione dell'attività colinesterasica, maggiori livelli di corticosterone nel plasma (Fleming et al., 1985).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

Pulcini di pollo sono stati nutriti per 63 gg con

mangime contenente 4800 spore/kg senza mostrare alcun sintomo.

TOSSICITA' NEI CONFRONTI DEI MAMMIFERI (COMPRESO L'UOMO)

Temephos

Le reazioni degli animali di laboratorio trattati con temephos sono simili a quelle provocate dagli altri composti organofosforici. In dosi elevate si verifica inibizione dell'attività colinesterasica. La DL_{50} via orale per il ratto maschio è risultata 8.600 mg/kg, mentre per la femmina 13.000 mg/kg. Inoculazioni per via dermale di 4.000 mg/kg non hanno causato sintomi in ratti femmina, ma la stessa dose ha portato a morte 2 maschi su 10 (Gaines, 1969).

Topi, conigli e cavie hanno tollerato dosi giornaliere per via orale di 10 mg/kg senza mostrare effetti, i cani hanno ben tollerato dosi di 3-4 mg/kg, le più alte testate. Topi e conigli non hanno subito modifiche nel livello di colinesterasi dopo somministrazioni prolungate di 1 mg/kg/giorno. Dosi di 100 mg/kg/giorno per 5 gg hanno provocato necrosi nel fegato di coniglio e insorgenze patologiche blande si sono riscontrate con dosi di 10 mg/kg/giorno per 30 gg. Nessun danno invece si è avuto alle dosi di 1 e 0,1 mg/kg/giorno per 35 gg.

Ratti alimentati con una dieta contenente dosi sufficienti ad alterare la normale attività colinesterasica si sono riprodotti in maniera normale senza ripercussione sulla prole o difetti genetici (Gaines et al., 1967). Sempre su ratto l'eliminazione di temephos è mono-esponenziale con tempo di dimezzamento di 7 h per dosi acute e 24 h per dosi subcroniche. Con esposizioni subcroniche l'inibizione acetilcolinesterasica era del 100% per 48 h, conformemente agli altri p.a. che vengono trasformati in metaboliti biologicamente attivi (Ferguson et al., 1985).

Temephos è stato studiato anche per la lotta contro gli ectoparassiti degli animali allevati. La DL_{50} ottenuta con applicazioni cutanee su coniglio era 408 mg/kg. Gli animali trattati esternamente sono idonei alla macellazione dopo 21 gg ma le vacche da latte non possono essere soggette a trattamento per il persistere di residui nel latte (Biryukova e Repin, 1984).

Un esperimento è stato compiuto su volontari: le dosi di 265 mg/uomo/giorno per 5 gg o 64 mg/uomo/giorno per 4 settimane non hanno causato effetti clinici né blocco dell'attività colinesterasica nel plasma (Laws et al., 1967).

Bacillus thuringiensis var. israelensis

Considerando il fatto che il batterio è considerato praticamente innocuo per i mammiferi, i test sono stati generalmente condotti con dosi eccezionalmente elevate. Non è mai stata osservata moltiplicazione all'interno di mammiferi (de Barjac et al., 1980). E' del 1981 il memorandum WHO in cui si ritengono sufficientemente studiati e sicuri *B.th.i.* e *B. sphaericus* per consentirne l'impiego su larga scala.

In Illinois sono state testate 6 formulazioni nei confronti di topi, ratti, conigli. Le somministrazioni sono state eseguite per via subcutanea, intracerebrale, intraperitoneale, orale e per aerosol. Per via orale o aerosol nessun caso di morte è stato registrato e *B.th.i.* scompare dal cervello e dai polmoni in 27 e 3 gg rispettivamente. Nel topo *B.th.i.* persiste nella milza per 7 settimane. L'inoculo intraperitoneale nel topo ha provocato casi di morte con un formulato ma nessun caso con un altro formulato. Formulazioni in polvere hanno causato irritazioni oculari più leggere, rispetto alle emulsioni, nell'occhio di coniglio. Lo studio conclude che *B.th.i.* può essere usato in ambienti ove può venire in contatto con l'uomo (Siegel, 1987).

I cristalli di *B.th.i.*, solubilizzati per via alcalina in modo da liberare la δ -endotossina, determinano gli stessi effetti citopatologici che incontriamo negli organismi bersaglio su animali di laboratorio in vivo e in vitro. Causano emolisi negli eritrociti di ratto, topo, pecora, cavallo e uomo. Somministrazioni intravenose nel topo alla dose di 15-30 mg/kg provocano rapide paralisi e morte in 12 h. La tossina non è invece tossica quando somministrata per via orale (Thomas e Ellar, 1983).

CITOTOSSICITA',
EMBRIOTOSSICITA', TERATOGENICITA'

Temephos

Sharma e Obersteiner (1981) hanno studiato gli effetti citotossici su cellule nervose di uccello in vitro. Ad alte concentrazioni si sono registrate degenerazioni del pigmento e totale blocco della crescita. Inoltre temephos, iniettato nel sacco vitellino alla dose di 1 mg/uovo al IV° giorno di incubazione, non interferisce nel livello di NAD e non causa deformazioni evidenti (Proctor et al., 1976).

Applicato esternamente al guscio delle uova di *Anas platyrhynchos* per la valutazione dell'attività embriotossica e teratogenetica, è risultato più tossico in veicolo di olio alifatico che acquoso in relazione alla miglior penetrazione conferita dal primo. In emulsio-

ne acquosa la dose in grado di ridurre la crescita dell'embrione è risultata simile alla DL_{50} cioè 70,59 mg/kg (Hoffman e Albers, 1984). Infine non ha mostrato effetti teratogeni su coniglio dopo ripetute somministrazioni orali e dermali a livelli che producevano effetti tossici acuti (Angerhofer e Weeks, 1984).

Bacillus thuringiensis var. israelensis

La messa in luce dell'attività tossica della β -esotossina nei confronti dei mammiferi ha determinato la messa fuori commercio dei ceppi in grado di produrla anche in piccola quantità.

Per quanto riguarda la δ -endotossina sono stati dimostrati gli effetti citotossici dei polipeptidi di 24 e 25 KDa, una volta estratti dai cristalli parasporali di *B.th.i.* e purificati. Entrambi hanno determinato lisi di eritrociti umani; il polipeptide di 24 KDa è risultato più tossico di quello di 25 KDa (Gill et al., 1987). In un altro lavoro (Thomas e Ellar, 1983), la δ -endotossina solubilizzata è risultata emolitica per eritrociti di uomo, cavallo, pecora, topo, ratto e coniglio. Al contrario, quella prodotta da *B.th.kurstaki* non provocava alcun effetto paragonabile. Utilizzando invece i cristalli tal quale non si avevano effetti patologici nel topo in seguito a somministrazione intravenosa e per os.

CASI DI RESISTENZA

Temephos

I casi di resistenza riscontrati in popolazioni di zanzare sottoposte a periodici trattamenti insetticidi sono numerosi e in continuo rapido aumento.

Nel 1974 in Giappone sono stati verificati i livelli di suscettibilità a diversi p.a. di una popolazione di *Cx. pipiens pallens* mediante la metodologia standard proposta dal WHO. Il fattore di resistenza a temephos è risultato il più alto tra i fosfororganici (416,7) seguito, in ordine decrescente, da fenthion (85,7), fenitrothion (83,3), diazinone (42,2), malathion (33,2), dichlorvos (24,7) (Yasutomi, 1974).

Georghiou et al. (1975) nel sud della California hanno evidenziato su *Cx. pipiens quinquefasciatus* multiresistenza a 6 dei 9 organofosforici testati con la metodica WHO: temephos è ancora in testa alla graduatoria con 116,7, seguito da chlorpyrifos con 52,2, fenthion con 48,9, methyl-parathion con 24, malathion con 16,4 e parathion con 12,9.

Altre due specie nocive avevano sviluppato multiresistenza simile (*Ae. nigromaculis* e *Cx. tarsalis*) in relazione non solo all'impiego dei pesticidi per il controllo delle zanzare, ma anche all'utilizzo in cam-

po agricolo. La resistenza nelle larve di *Cx. pipiens quinquefasciatus* viene quasi completamente colmata con l'impiego di un prodotto ad azione sinergica, il DEF, ma non con il piperonyl butossido.

In Francia sono stati testati 31 insetticidi su larve di *Cx. pipiens* resistenti a chlorpyrifos. Si è constatata resistenza incrociata solo nei riguardi di organofosforici, specialmente parathion, pirimiphos-methyl, diazinone e temephos. E' stato osservato, tra l'altro, che i pesticidi impiegati in campo agricolo inducono resistenza anche nelle zanzare (Sinègre et al., 1976).

Quattro ceppi di *Cx. pipiens* di varia provenienza sono stati saggiati in Inghilterra per la resistenza nei confronti di diversi insetticidi. Il ceppo proveniente dalla Tanzania è risultato il più resistente, con coefficienti di 37 per temephos, 579 per malathion, 3032 per propoxur, 100 per permetrina (Tang e Wood, 1986). Anche *Simulium damnosum* ha sviluppato resistenza nei confronti di temephos, largamente impiegato dal 1975 al 1980 in Africa Occidentale, che ha dovuto essere sostituito con altri prodotti (Kurtak et al., 1987; Leveque et al., 1988).

Bacillus thuringiensis var. *israelensis*

Al momento non si conoscono casi di resistenza di zanzare a *B.th.i.* anche se diverse verifiche di possibili resistenze incrociate sono state condotte. Due ceppi di *An. albimanus* e cinque di *Cx. p. quinquefasciatus* resistenti e organofosforici, carbammati, DDT e piretroidi sono stati testati senza osservare tolleranza alcuna (Sun et al., 1980).

Dopo 14 generazioni sottoposte a pressione selettiva corrispondente alla DL_{50} si è registrato un incremento molto lieve (coefficiente di circa 2) di resistenza solo su uno dei due ceppi di *Ae. aegypti* impiegati (Goldman et al., 1986).

CONCLUSIONI

Ci sembra di poter affermare che il notevole interesse per lo studio del comportamento dei due prodotti in questione sia la dimostrazione migliore della loro validità. Temephos va per molti versi, ed in senso positivo, considerato un p.a. che si stacca decisamente dagli altri organofosforici disponibili in commercio per la lotta alle zanzare.

Particolarmente significative sono la bassissima tossicità acuta sui mammiferi e il basso livello di attività sul metabolismo cellulare. Il livello di selettività nei confronti degli organismi non-bersaglio è decisamente buono, anche se l'impatto nel lungo periodo è assai difficile da diagnosticare o stimare. Gli effetti su alcuni taxa di microcrostacei assai diffu-

si nelle biocenosi di acqua dolce possono ripercuotersi negli anni successivi considerando le modalità riproduttive. Essendo i Crostacei fondamentali anelli di stabilità delle biocenosi stesse, il rischio di danneggiare ambienti naturali, che spesso albergano focolai temporanei di zanzare, diventa elevato. Sensibilità marcate, seppure con ampia variabilità anche tra specie molto vicine, si sono pure rilevate in taxa di insetti di ampia diffusione come Chaoboridi, Chironomidi, Baëtidi, Plecotteri e Tricotteri.

Aspetto che potrebbe apparire secondario, ma di cui è difficile quantificare l'effetto nella pratica, è la modificazione del comportamento di organismi che in questo modo potrebbero venirsi a trovare in condizioni diverse dalle abituali, accusando declini di popolazione apparentemente non imputabili all'insetticida.

I Molluschi non mostrano elevata sensibilità a temephos così come gli Anfibi e i Pesci. Nei confronti di quest'ultimi temephos ha il miglior coefficiente di selettività rispetto agli altri insetticidi più usati. Esplica infine bassa tossicità anche nei confronti degli Uccelli.

Per quanto riguarda *B.th.i.*, possiamo solo rimarcare il notevole vantaggio che questo preparato consente per quanto riguarda la sicurezza d'impiego in ogni tipo di ambiente. Tra gli insetti non-bersaglio troviamo alcune specie sensibili nelle famiglie Chironomidi, Dixidi e Chaoboridi, comunque di solito a dosi più elevate di quelle usate per la lotta alle zanzare. Nessun effetto tossico è segnalato a carico di Crostacei, Molluschi, Anfibi, Pesci e Mammiferi.

La resistenza, infine, ci sembra un fattore di crescente importanza nelle scelte gestionali relative alla lotta alle zanzare. Un certo grado di resistenza a temephos è senz'altro presente nelle aree in cui viene impiegato da qualche anno, ma la sua sostituzione con *B.th.i.* può non essere sempre possibile per motivi tecnico-economici.

E' anche da attendere, nei tempi lunghi, la comparsa di resistenza nei confronti di *B.th.i.* per cui vanno studiati e programmati per tempo agenti di controllo biologico di rincalzo.

BIBLIOGRAFIA

1966

BLINN R.C., PASARELA N.R. - 1966. Colorimetric determination of Abate residues from several environmental conditions. *J. AGRIC. FOOD CHEM.* 14: 152-156.

BOWMAN J.S., ORKLOSKI E.J. - 1966. Abate R insecticide residues in streams and ponds treated for control of mosquito larvae. *MOSQ. NEWS* 26: 87-91.

MULLA M.S. - 1966. Toxicity of new organic insecticides to mosquito fish and some other aquatic organisms. *MOSQ. NEWS* 26: 87-91.

VON WINDEGUTH D.L., PATTERSON R.S. - 1966. The effects of two organic phosphate insecticides on segments of the aquatic biota. *MOSQ. NEWS* 26: 337-380.

1967

GAINES T.B., KIMBROUGH R., LAWS E.R. - 1967. Toxicology of Abate in laboratory animals. *ARCH. ENVIRON. HLTH* 14: 283-288.

LAWS E.R., MORALES F.R., HAYES W.J., JOSEPH C.R. - 1967. Toxicology of Abate in volunteers. *ARCH. ENVIRON. HLTH* 14: 289-291.

MOORE J.B., BREELAND S.G. - 1967. Field evaluation of two mosquito larvicides, Abate and Dursban, against *Anopheles quadrimaculatus*. *MOSQ. NEWS* 29: 36-42.

MULLA M.S., AMANT S.S., ANDERSON L.D. - 1967. Evaluation of organic pesticides for possible use as fish toxicants. *PROGR. FISH. CULT.* 29: 36-42.

STEELMAN C.D., COLMER A.R., CABES L., BARR H.T., TOWER B.A. - 1967. Relative toxicity of selected insecticides to bacterial populations in waste disposal lagoons. *J. ECON. ENTOMOL.* 60: 467-468.

1968

BLINN R.C. - 1968. Abate insecticide. The fate of T 0,0,0,0-tetra methyl 0-0-thiodi-p-phenylene phosphorothioate on bean leaves. *J. AGRIC. FOOD CHEM.* 16: 441-445.

BOWMAN M.C., FORD H.R., LOFGREN C.S., WEIDHAAS D.E. - 1968. Residues of Abate: analysis in mosquito larvae and larvicide suspensions by flame photometric gas chromatography. *J. ECON. ENTOMOL.* 61: 1586-1589.

FALES J.H., SPANGLER P.J., BODENSTEIN O.F., MILLS G.D., DURBIN C.G. - 1968. Laboratory and field evaluations of Abate against a backswimmer, *Notonecta undulata* Say (Hemiptera: Notonectidae). *MOSQ. NEWS* 28: 77-81.

RONGSRIYAM Y., PROWNEBON S., HIRAKOSO S. - 1968. Effects of insecticides on the feeding activity of the guppy, a mosquito-eating fish, in Thailand. *BULL. WHO* 39: 977-980.

RUBER E., BASKAR J. - 1968. Sensitivities of selected microcrustacea to eight mosquito toxicants. *PROC. ANN. MEET. N.J. MOSQ. EXTERM. ASSOC.* 55: 99-103.

1969

GAINES T.B. - 1969. Acute toxicity of pesticides. *TOXICOL. APPL. PHARM.* 14: 515-534.

MULLA M.S., KHASAWINAH A.M. - 1969. Laboratory and field evaluation of larvicides against chironomid midges. *J. ECON. ENTOMOL.* 62: 37-41.

PORTER C.H., GOJMERAC W.L. - 1969. Field observations with Abate and Bromophos: their effect on mosquito and aquatic arthropods in a Wisconsin park. *MOSQUITO NEWS* 29: 617-620.

1970

MULLER R. - 1970. Laboratory experiments on the control of cyclops transmitting guinea worm. *BULL. WLD. HLTH ORG.* 42: 563-567.

RIO D.F. - 1970. A laboratory study on the effects of Abate and malathion on the fiddler crab. *PROC. ANN. MEET. N.J. MOSQ. EXT. ASS.* 57: 99-102.

1971

DERBY S.B., RUBER E. - 1971. Primary production: depression of oxygen evolution in algal cultures by organophosphorus insecticides. *BULL. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 5: 553-558.

HILL E.F. 1971. Toxicity of selected mosquito larvicides to some common avian species. *J. WILD. MANAG.* 35: 757-762.

MESTRES R., CHEVALLIER C. - 1971. Pénétration des insecticides dans les sols submergés. Deuxième partie: Etude au laboratoire de la pénétration de l'Abate. *TRAV. SOC. PHARM. MONTPELLIER* 31: 125-132.

MESTRES R., CHEVALLIER C., RIOUX J.A., COUSSERANS J., SINEGRE G. - 1971. Pénétration de deux insecticides dans les sols halomorphes temporairement submergés. *TRAV. SOC. PHARM. MONTPELLIER* 31: 159-166.

TUCKER R.K., HAEGELE M.A. - 1971. Comparative acute oral toxicity of pesticides to six species of birds. *TOX. APPL. PHARM.* 20: 57-65.

WALL W.J., MARGANIAN V.M. 1971. Control of *Culicoides melleus* (Coq.) (Diptera: Ceratopogonidae) with granular organophosphorus and the direct effect on other fauna. *MOSQ. NEWS* 31: 209-214.

1972

JOHANSEN C.A. - 1972. Toxicity of field-weathered insecticides residue to four kinds of bees. *ENVIRON. ENTOMOL.* 1: 393-394.

SACCA' G., MASTRILLI M.L. - 1972. Tossicometria di alcuni esteri fosforici in *Gambusia affinis holbrooki* (Gir) e in *Culex pipiens* L. *PARASSITOLOGIA* 14: 365-371.

1973

MAGGI P. - 1973. Toxicité relative de deux insecticides organophosphorés, l'Abate et le fénitrothion. *REV. TRAV. INST. PECHES MARIT.* 37: 137-144.

1974

COONEY J., PICKARD E. - 1974. Field tests with Abate and Dursban insecticides for the control of floodwater mosquitoes in the Tennessee Valley region. *MOSQ. NEWS* 34: 12-22.

DARWAZEH H.A., MULLA M.S. - 1974. Toxicity of herbicides and mosquito larvicides to the mosquito fish *Gambusia affinis*. *MOSQ. NEWS* 34: 214-218.

HATTORI K. 1974. Toxicity of difenphos in amphibians. *HOKK. EIS. KENK. HO* 24: 152-153.

WARD D.V., HOWES B.L. - 1974. The effects of Abate, an organophosphorus insecticide, on marsh fiddler crab populations. *BULL. ENVIRON. CONT. TOXIC.* 12: 694-697.

YASUTOMI K. - 1974. Insecticide resistance in *Culex pipiens pallens* larvae of Amagasaki City. *BOTYU-KAGAKU* 39: 59-61.

1975

BUSH D.A. - 1975. The failure of temephos and chlorpyrifos to affect the short-term productivity of *Spartina alterniflora* and *S. patens* in a New Jersey salt marsh. *PROCEED. N.J. MOSQ. ASSOC.* 62: 50-55.

BUTCHER J., BOYER M., FOWLE C.D. - 1975. Impact of Dursban and Abate on microbial numbers and some chemical properties of standing ponds. *WATER POLL. RES. J. CAN.* 10: 33-41.

DIDIA V., LA SALLE R., LIEM K. - 1975. The effects of Abate 2G(R) mosquito larvicide on selected non-target organisms

collected from forested temporary pools. *MOSQ. NEWS* 35: 227-228.

GEORGHIU G.P., ARIARATNAM V., PASTERNAK M.E., LIN C.S. - 1975. Organophosphorus multiresistance in *Culex pipiens quinquefasciatus* in California. *J. ECON. ENTOMOL.* 68: 461-467.

OHKURA T., TABARU Y. - 1975. Studies on chemical control of the larvae of chironomid midge in the eel culture ponds. *SVIS. ZOSHO.* 23: 1-7.

TEVAN L., LANG F. - 1975. Effect of Abate, a mosquito larval insecticide on the ecosystem of water. *EGESZSEGTUDOMANY* 19: 358-363.

TOMLIN A.D. - 1975. Toxicity of soil applications of insecticides to three species of springtails (Collembola) under laboratory conditions. *CAN. ENTOMOL.* 107: 769-774.

1976

BERTRAND J.Y. - 1976. Action de l'Abate, larvicide anti-Simuliés, sur quelques éléments de la faune non cible du Bandama (Lamto, Côte d'Ivoire). *BULL. ECOL.* 7: 445-460.

CAMPBELL B.C., DENNO R.F. - 1976. The effect of temephos and chlorpyrifos on the aquatic insect community in a New Jersey salt marsh. *ENVIRON. ENTOMOL.* 5: 477-483.

CAREY W.E., LADEVAIA R., VAN DER BURGT L., HELRICH K. - 1976. Abate R residues in salt marsh substrates. *PROCEED. N.J. MOSQ. EXTERN. ASSOC.* 63: 186-193.

FITZPATRICK G., SUTHERLAND D.J. - 1976. Uptake of mosquito larvicide temephos by the salt marsh snail, New Jersey 1973-74. *PEST. MONIT. J.* 10: 4-6.

FORGASH A.J. - 1976. A summary of studies of the impact of temephos and chlorpyrifos on the salt marsh environment. *PROC. ANN. MEET. N.J. MOSQ. EXTERN. ASS.* 63: 94-98.

LIEM K.K., LA SALLE R.N. - 1976. Effects of Abate 2G(R) and Abate 4E(R) mosquito larvicides on selected non-target organisms coexisting with mosquito larvae in woodland depressions. *MOSQ. NEWS* 36: 202-203.

MILES J.W., DALE W.E., CHUECHILL F.C. - 1976. Storage and analysis of samples of water, fish and mud from environments contaminated with Abate. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 5: 29-41.

PROCTOR N.H., MOSCIONI A.D., CASIDA J.E. - 1976. Chicken embryo NAD levels lowered by teratogenic organophosphorus and methyl carbamate insecticides. *BIOCH. PHARM.* 25: 757-762.

RUBER E., KOCOR R. - 1976. The measurement of upstream migration in a laboratory stream as an index of potential side-effects of temephos and chlorpyrifos of *Gammarus fasciatus* (Amphipoda, Crustacea). *MOSQ. NEWS* 36: 424-429.

SINEGRE G., GAVEN B., JULLIEN J.L. - 1976. Activité comparée de 31 insecticides sur des larves de *Culex pipiens* (L.) sensibles et résistant au chlorpyrifos dans le Midi de la France. *DOC. E.I.D.L.M.* N. 32 (12 pp.).

1977

BIRMINGHAM B.C., COLMAN B. - 1977. The effect of two organophosphate insecticides on the growth of freshwater algae. *CAN. J. BOT.* 55: 1453-1456.

DAORAI A., MENZER R.E. - 1977. Behaviour of Abate in micro-organisms isolated from polluted water. *ARCH. ENVIRON. CONTAMINATION* 5: 229-240.

DEJOUX C., ELOVARD J.M. - 1977. Action de l'Abate sur les invertébrés aquatiques. Cinétiques de décrochement à court et moyen term. *O.R.S.T.O.M. Ser. HYDROBIOLOGIE* 3: 217-

230.

1978

ALI A., MULLA M.S. - 1978. Effects of chironomid larvicides and diflubenzuron on non-target invertebrates in residential recreational lakes. *ENVIRON. ENTOMOL.* 7: 21-27.

FRANK A.M., SJOGREN R.D. - 1978. Effect of temephos and chlorpyrifos on Crustacea. *MOSQ. NEWS* 38: 138-139.

MATTHIESSEN P., JOHNSON J.S. 1978. Accumulation of the organophosphate blackfly larvicide Abate (temephos) in *Sarotherodon mossambicus*, with reference to the larvicidal control of *Simulium damnosum*. *J. FISH. BIOL.* 13: 575-586.

MUIRHEAD-THOMSON R.C. - 1978. Relative susceptibility of stream macroinvertebrates to temephos and chlorpyrifos, determined in laboratory continuous-flow systems. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 7: 139-147.

SAMMAN J., PUGH THOMAS M. - 1978. Changes in zooplankton populations in the White Volta with particular reference to the effect of Abate. *INTERN. J. ENVIRON. STUD.* 12: 207-214.

WURTSBAUGH W.A., APPERSON C.S. - 1978. Effects of mosquito control insecticides on nitrogen fixation and growth of blue-green algae in natural plankton associations. *BULL. ENVIRONM. TOXICOL.* 19: 641-647.

YASUNO M., HATAKEYAMA N., HASEGAWA J. - 1978. Toxicity of temephos to *Anisogammarus* sp. under different temperature and exposure period. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 29: 365-366.

1979

ADENEY R.J., MATTHIESSEN P. - 1979. Sublethal effects of the organophosphate blackfly larvicide, Abate (temephos) on *Sarotherodon mossambicus*. *J. FISH BIOL.* 15: 545-553.

DEJOUX C. - 1979. Recherches préliminaires concernant l'action de *Bacillus thuringiensis israelensis* de Barjac sur la faune d'invertébrés d'un cours d'eau tropical. *WHO/UBC/* 79-721.

MUIRHEAD-THOMSON R.C. - 1979. Experimental studies on macroinvertebrates predator-prey impact of pesticides. The reaction of *Rhyacophila* and *Hydropsyche* (Tricoptera) larvae to *Simulium* larvicides. *CAN. J. ZOOL.* 57: 2264-2270.

RETTICH F. - 1979. Laboratory and field investigations in Czechoslovakia with fenitrothion, pirimiphos-methyl, temephos and other organophosphorus larvicides applied as sprays for control of *Culex pipiens molestus* Forskal and *Aedes cantans* Meigen. *MOSQ. NEWS* 39: 320-328.

SAMMAN J., PUGH-THOMAS M. - 1979. Observations on the effect of the aerial spraying Abate, used in the control of *Simulium* larvae, on the drift rates of the Microcrustacea and Chaoboridae in the river Oti, Ghana. *INT. J. ENVIRON. ST.* 14: 43-48.

SATO H., YASUNO M. - 1979. Test of chironomidae larvae susceptibility to various insecticides. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 30: 361-366.

SINEGRE G., GAVEN B., JULLIEN J.L. - 1979a. Evaluation de l'activité larvicide de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* sur les Culicidés. Performances comparées des formulations commerciales. Impact du produit sur la faune non-cible. Mimeographed document. *EID.* N. 40, Montpellier, France, 23 p.

SINEGRE G., GAVEN B., JULLIEN J.L. - 1979b. Sécurité d'emploi du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* pour la faune non-cible des gîtes à moustiques du littoral Méditerranéen français. World Health Organization 6 pp. *WHO/UBC/* 79-742.

1980

- BARJAC H. DE, LARGET I., BENICHO L., COSMAO V., VIVIANI G., RIPOUTEAU H., PAPION S. - 1980. Innocuity test on mammals (mice, rats, guinea-pigs, and rabbits) with serotype H-14 of *Bacillus thuringiensis*. Geneva, Switzerland: WHO/UBC/80.761.
- COLBO M.H., UNDEEN A.H. - 1980. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on non-target insects in stream trial for control of Simuliidae. *MOSQ. NEWS* 40: 368-371.
- FROST S. - 1980. Preliminary observations on the effects of particulate Abate insecticide used for blackfly (Diptera: Simuliidae) control in New poundland rivers. *J. ENVIRON. BIOL.* 1: 25-34.
- GARCIA R., ROCHERS B. DES, TOZER W. - 1987. Studies on the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against organisms found in association with mosquito larvae. *PROC. ANN. CONF. CALIF. MOSQ. VECT. CONT. ASS.*, 33-36.
- HUGES D.N., BOYER M.G., PAPST M.H., FOWLE C.D. - 1980. Persistence of three organophosphorus insecticides in artificial ponds and some biological implications. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 9: 267-279.
- JONES R.D., HOOD M.A. - 1980. The effects of organophosphorus pesticides on estuarine ammonium oxidizers. *CAN. J. MICROBIOL.* 26: 1296-1299.
- KRIEGA A., HASSAN S., PINSORF W. - 1980. Comparison of the effect on the variety *israelensis* with other varieties of *Bacillus thuringiensis* on non-target organisms of the order Hymenoptera: *Trichogramma cacoeciae* and *Apis mellifera*. *AN. SCHA-DL. PFLANZEN. UMW.* 53: 81-83.
- MIURA T., TAKAHASHI R.M., MULLIGAN F.S. - 1980. Effects of the bacterial mosquito larvicide, *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 on selected aquatic organisms. *MOSQ. NEWS* 40: 619-922.
- MULLIGAN III F.S., SCHAEFER C.H., WILDER W.H. - 1980. Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus* and *B. thuringiensis* H-14 against mosquitoes under laboratory and field conditions. *J. ECON. ENTOMOL.* 73: 684-688.
- SCIROCCHI A., D'ERME A. - 1980. Tossicità di sette insetticidi su alcune specie di pesci di acqua dolce. *RIV. PARASSIT.* 41: 113-121.
- SINEGRE G., GAVEN B., JULLIEN J.L. - 1980. Sécurité d'emploi du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* pour la faune non-cible du gites à moustiques du littoral méditerranéen français. *PARASSITOLOGIA* 22: 205-211.
- SUN C.N., GEORGHIOU G.P., WEISS K. - 1980. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to mosquito larvae variously resistant to conventional insecticides. *MOSQ. NEWS* 40: 614-618.
- YASUNO M., HATAKEYAMA S., MIYASHIZO M. - 1980. Effects on reproduction in the guppy (*Poecilia reticulata*) under exposure to temephos and fenitrothion. *BULL. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 25: 29-33.

1981

- ALI A. - 1981. *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* (ABG-6108) against Chironomids and some non target aquatic invertebrates. *J. INVERT. PATH.* 38: 264-272.
- ALI A., BAGGS R.D., STEWART J.P. - 1981. Susceptibility of some Florida Chironomids and Mosquitoes to various formulations of *Bacillus thuringiensis israelensis*. *J. ECON. ENTOMOL.* 74: 672-677.
- AMIARD-TRIQUET C., LASSUS P., AMIARD I.C., DEVINEAU J., DENUIT C. - 1981. Influence des procédures expérimenta-

les sur la détermination de la toxicité aigue de quelques polluants à l'égard de divers organismes marins et euryhalins. *INSERM.* 106: 485-496.

- BURGESS H.D. - 1981. Microbial control of pest and plant diseases 1970-1980. *ACADEMIC PRESS* - LONDON.
- GARCIA R., DES ROCHERS B., TOZER W. - 1981. Studies on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquito larvae and other organisms. *PROCEED. CALIF. MOSQ. VECT. CONT. ASS.* 49:25-29.
- LARGET I., BARJAC H. DE. - 1981. Spécificité et principe actif de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *BULL. SOC. PATHOL. EXOT.* 74: 216-227.
- LEBRUN P., VLAYEN P. - 1981. Etude de la bioactivité comparée et des effets secondaires de *Bacillus thuringiensis* H-14. *ZEIT. ANG. ENTOMOL.* 91: 15-25.
- LOW-GOH N., EDWARDS P., FROST S., PUGH THOMAS M. - 1981. The effect of Abate on the growth of *Vibrio natriegens* e *Chlorella vulgaris*. *INT. J. ENVIRON. STUDIES* 17: 135-139.
- MATHUR K.K., RAHMAN S.J., WATTAL B.L. - 1981. Integration of larvivorous fish and temephos for the control of *Culex tritaeniorhynchus* breeding. *J. COM. DIS.* 13: 58-63.
- MOHSEN Z.H., MULLA M.S. - 1981. Toxicity of blackfly larvicidal formulations to some aquatic insects in the laboratory. *BULL. ENVIRON. CONT. TOXIC.* 26: 696-703.
- MOLLOY D., JAMNBACK H. - 1981. Field evaluation of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* as a blackfly biocontrol agent and its effect on non-target stream insects. *J. ECON. ENTOMOL.* 74: 314-318.
- PURCELL B.H. - 1981. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on *Aedes taeniorhynchus* and some non target organisms in the salt marsh. *MOSQ. NEWS* 41: 476-484.
- SEBASTIEN R.J., BRUST R.A. - 1981. An evaluation of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for larval mosquito control in sod-lined simulated pools. *MOSQ. NEWS* 41: 508-511.
- SHARMA R.P., OBESTEINER E.J. - 1981. Cytotoxic responses of selected insecticides in chick ganglia cultures. *CAN. J. COMP. MED.* 45: 60-69.
- SINEGRE G., GAVEN B., VIGO G. - 1981. Contribution à la normalisation des épreuves de laboratoire concernant des formulations expérimentales et commerciales du sérotype H-14 de *Bacillus thuringiensis*. II - Influence de la température, du chlore résiduel, du pH et du la profondeur de l'eau sur l'activité biologique d'une poudre primaire. *CAH. ORSTOM. SER. ENT. MED. PARASITOL.* 19: 149-155.
- SINEGRE G. - 1981. Residual activity and stability of some experimental and commercial formulation of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14. *TDR/BCV/IC, 81, 1/WP, 11.*
- W.H.O. - 1981. Mammalian safety of microbial agents for vector control: a WHO Memorandum. *BULL. W.H.O.* 59: 857-863.
- YASUNO M., SHIOYAMA F., HASEGAWA J. - 1981. Field experiment on susceptibility of macrobenthos in streams to temephos. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 32: 229-234.

1982

- DEJOUX C. - 1982. Recherche sur le devenir des invertébrés dérivant dans un cours d'eau tropical à la suite de traitements antisimuliens au témephos. *REV. FRANC. SCI. EAU* 1: 267-283.
- ELOVARD J.M., JESTIN J.M. - 1982. Impact of temephos (Abate) on the non-target invertebrate fauna. A. Utilization of correspondence analysis for studying surveillance data collect in the onchocerciasis control programme. *REV. HYDRO-*

- BIOL. TROP. 15: 23-31.
- ESSEN F.W. VAN, HEMBRE S.C. - 1982. Simulated field studies with four formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against mosquitoes: residual activity and effect of soil constituent. *MOSQ. NEWS* 42: 66-72.
- FROST S., SINNAH L.B. - 1982. Effect of particulate Abate insecticide on invertebrate stream drift communities in Newfoundland. *J. ENVIRON. STUD.* 19: 231-243.
- GRANT M.A., PAYNE W.J. - 1982. Effects of pesticides on denitrifying activity in salt marsh sediments. *J. ENVIRON. QUAL.* 11: 369-372.
- HASEGAWA J., YASUNO M., SAITO K., NAKAMURA Y., HATAKEYAMA S., SATO H. - 1982. Impact of temephos and fenitrothion on aquatic invertebrates in a stream of Mount Tsukuba. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 33: 363-368.
- MULLA M.S., FEDERICI B.A., DARWAZEH H.A. - 1982. Larvicidal efficacy of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against stagnant-water mosquitoes and its effects on non-target organisms. *ENVIRON. ENTOMOL.* 11: 788-795.
- RAMOSKA W.A., WATTSS., RODRIGUEZ R.E. - 1982. Influence of suspended particulates on the activity of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 against mosquito larvae. *J. ECON. ENTOMOL.* 75: 1-4.
- YASUNO M., OHKITA J., HATAKEYAMA S. - 1982. Effect of temephos on macrobenthos in a stream on Mount Tsukuba. *JAP. J. ECOL.* 32: 29-38.
- YAP H.H., LAV B.L., LEONG Y.P. - 1982. Laboratory and field tests of temephos (Abate) on mosquito arvae and non-target organisms in rice field in Malaysia. *SOUTH. ASIAN J. TROP. MED. PUB. HLTH* 13: 646-653.
- 1983
- BACK C., LEBLANC A., AUBIN A. - 1983. Effets sur la derive des insectes aquatiques d'un traitement au temephos contre les larves de moustiques dans le Quebec subarctique. *CAN. ENT.* 115: 703-712.
- DEJOUX C. - 1983. Utilisation du téméphos en campagne de lutte contre *Simulium damnosum* en Afrique de l'Ovest. Impact des premiers cycles de traitement sur le milieu aquatique. *REV. HYDROBIOL. TROP.* 16: 165-179.
- FRANSON J.C., SPANN J.W., HEINZ G.H., BUNCK C., LAMONT T. - 1983. Effects of dietary Abate(R) reproductive success, duckling survival, behaviour and clinical pathology in game-farm mallards. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 12: 529-534.
- JOHANSEN C.A., MAYER D.F., EVES D.F., EVES J.D., KIOUS C.W. - 1983. Pesticides and bees. *ENVIRON. ENTOMOL.* 12: 1513-1518.
- MARGALIT J., ZOMER E., EREL Z., BARAK Z. - 1983. Development and application of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Serotype H-14 as an effective biological control agent against mosquitoes in Israel. *BIOTECHNOLOGY* 1: 74-76.
- PELLISSIER C., TACK, GRAS G. - 1983. Action du Téméphos sur l'activité acétylcholinestérasique du cerveau de *Tilapia guineensis* 3^e partie: action comparée du temephos et de trois insecticides de remplacement. *TOXICOL. EUROP. RESEARCH* 5: 63-69.
- PISTRANG L.A., BURGER J.F. - 1983. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on a genetically-defined population of black flies (Diptera: Simuliidae) and associated insects in a montane New Hampshire stream. *CAN. ENTOMOL.* 115: 975-981.
- RUBER E., LA FRANCE K. - 1983. Effects of temephos on the respiratory rate of the salt marsh amphipod *Gammarus mucronatus*. *BULL. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 31: 148-151.
- THOMAS W.E., ELLAR D.J. - 1983. *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* crystal δ -endotoxin: effects on insect and mammalian cells in vitro and in vivo. *J. CELL. SC.* 60: 181-197.
- UMINO T., SUZUKI T., OCHOA A.J.O. - 1983. Insecticide studies in vector control of Guatemala onchocerciasis 1. short carry of temephos in minute streamlets. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 34: 213-219.
- ZGOMBA M., PETRIC D., SRDIC Z. - 1983. Effects of some larvicides used in mosquito control on Collembola. *MITT. DTSCH. GES. ALLG. ANGEW. ENT.* 4: 91-95.
- 1984
- ANGERHOFER R.A., WEEKS M.H. - 1984. Toxicological assessment of Abate (0, 0, 0', 0'-tetramethyl-0-0'-thiodi-p-phenylene phosphoro-thioate) administered orally and dermally to mated and non-mated female rabbits. *GOV. REP. ANN. INO.* 84: 79.
- BIRYUKOVA N.P., REPIN V.M. - 1984. Isecticidal and toxic properties of Difos (Temephos) *VETER. MOSCOW* 11: 63-65.
- CHEN S.F., LU J.F., XIAO Y.C., LIU S.P. - 1984. Studies on the stability of the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to mosquito larvae and factors influencing it. *MICROBIOLOGY* 11: 6-8.
- HOFFMAN D.S., ALBERS P.H. - 1984. Evaluation of potential embryotoxicity and teratogenicity of 42 herbicides, insecticides and petroleum contaminants to mallard eggs. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 13: 15-27.
- MARGALIT J., BOBROGLO H. - 1984. The effect of organic materials and solids in water on the persistence of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* Serotype H-14. *Z. ANG. ENT.* 97: 516-520.
- PISTRANG L.A., BURGER J.F. - 1984. Effect of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on a genetically-defined population of black flies (Diptera: Simuliidae) and associated insects in a montane New Hampshire stream. *CAN. ENTOMOL.* 116: 975-981.
- UMINO T., SUZUKI T. - 1984. Insecticide studies in vector control of Guatemalan onchocerciasis (3) laboratory tests on adsorption of larvicides to soil. *JAP. J. SANIT. ZOOL.* 35: 1-6.
- 1985
- BACK C., BOISVERT J., LACOURSIERE J.O., CHARPENTIER G. - 1985. High-dosage treatment of a Quebec stream with *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis*: efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae) and impact on non-target insects. *CAN. ENTOMOL.* 117: 1523-1534.
- FERGUSON P.W., MEDON P.J., NASRI E. - 1985. Temephos (Abate R) metabolism and toxicity in rats. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 14: 143-147.
- FLEMING W.J., HEINZ G.H., FRANSON J.C., RATTNER B.A. - 1985. Toxicity of Abate R 4E (temephos) in mallard ducklings and the influence of cold. *ENVIRON. TOXIC. CHEM.* 4: 193-199.
- LACEY L.A., SMITTLE B.J. - 1985. The effects of gamma radiation on spore viability and mosquito larvicidal activity of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *BULL. SOC. VECT. ECOL.* 10: 98-101.
- LORESE M., MOORE J.C., MOODY P., CLARK J., FORESTER J., KNIGHT J. - 1985. Temephos residues in stagnant ponds

- after mosquito larvicide application by helicopter. *BULL. ENVIRONM. CONTAM. TOXICOL.* 35: 308-313.
- MOHSEN Z.H., OUDA N.A., AL-FAISAL A.H., MEHDI N.S. - 1985. Toxicity of mosquito larvicides to backswimmer *Anisop sardea* H.S. (Hemiptera: Notonectidae) and dragonfly *Crocothemis erythraea* Brullé (Odonata: Libellulidae). *J. BIOL. SCI. RES.* 16: 273-282.
- PAULOV S. - 1985. Interactions of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* with developmental stages of amphibians (*Rana Temporaria* L.) *BIOL. CZECH. B.* 40: 133-138.
- REISH D.J., LE MAJ J.A., ASATOS L. - 1985. The effect of *B. th. i.* (H. 14) and methoprene on two species of marine invertebrates from southern California estuaries. *BULL. SOC. VECT. ECOL.* 10: 20-22.
- YASUNO M., SUGAYA Y., IWAKUMA T. - 1985. Effects of insecticides on the benthic community in a model stream. *ENVIRON. POLLUT. (SER. A)* 38: 31-43.
- 1986
- FORTIN C., LAPOINTE D., CHARPENTIER G. - 1986. Susceptibility of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) fry to a liquid formulation of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* (TEKNAR) used for blackfly control. *CAN. J. FISH. AQUAT. SCI.* 43: 1667-1670.
- GIBBS K.E., BRAUTIGAM F.C., STUBBS C.S., ZIBILSKIE L.M. - 1986. Experimental applications of *B. th. i.* for larval black fly control: persistence and downstream carry, efficacy, impact on non-target invertebrates and fish feeding. *TEC. BULL. MAINE. AG. EXP. STAT. N.* 123 (25 pp.).
- GOLDMAN I.F., ARNOLD J., CARLTON B.C. - 1986. Selection for resistance to *Bacillus thuringiensis* subspecies *israelensis* in field and laboratory populations of the mosquito *Aedes aegypti*. *J. INVERTEBR. PATHOL.* 47: 317-324.
- NARSAIAH J., JAMIL K. - 1986. Preliminary studies on biological control of mosquito larvae using *Bacillus thuringiensis* and *B. sphaericus*. *ENTOMON.* 11: 187-192.
- TANG Z.H., WOOD R.J. - 1986. Comparative study of resistance to organophosphate and carbamate insecticides in four strains of the *Culex pipiens* L. complex (Diptera : Culicidae). *BULL. ENT. RES.* 76: 505-511.
- 1987
- ALI C., MULLA M.S. - 1987. Effect of two microbial insecticides on aquatic predators of mosquitoes. *J. APPL. ENTOMOL.* 103: 113-118.
- ANTWI L.A.K. - 1987. Fish head acetylcholinesterase activity after aerial application of temephos in two rivers in Burkina Faso, West Africa. *BULL. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 38: 461-466.
- FORTIN C., MAIRE A., LECLAIR R. - 1987. The residual effect of temephos (Abate 4-E) on non-target communities. *J. AM. MOSQ. CONT. ASS.* 3: 282-288.
- GILL S.S., SINGH G.J.P., HORNUNG J.M. - 1987. Cell membrane interaction of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* cytolytic toxins. *INFECT. IMMUN.* 55: 1300-1308.
- HIMENO M. - 1987. Mechanism of action of delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis*. *J. TOXICOL.-TOXIN REVIEWS* 6: 45-71.
- KURTAK D., MEYER R., OCRAN M., OUEDRAOGO M., RE-NAUD P., SAWADOGO R.O., TELE B. - 1987. Management of insecticide resistance in control of the *Simulium damnosum* complex by the Onchocerciasis Control Programme, West Africa: potential use of negative correlation between organophosphate resistance and pyrethroid susceptibility. *MED. VET. ENTOMOL.* 1: 137-146.
- LI R.S., JARRET P., BURGESS H.D. - 1987. Importance of spores, crystals, and δ -endotoxins in the pathogenicity of different varieties of *Bacillus thuringiensis* in *Galleria mellonella* and *Pieris brassicae*. *J. INVERTEBR. PATHOL.* 50: 277-284.
- MATHAVAN S., JAYAKUMAR E. - 1987. Long-term effects of pesticides (fenthion and temephos) on growth and fecundity of an aquatic bug *Laccotrephes griseus* (Guerin). *INDIAN J. EXP. BIOL.* 25: 48-51.
- SIEGEL J.P., SHADDUK J.A., SZABO J. - 1987. Safety of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* for mammals. *J. ECON. ENTOMOL.* 80: 717-723.
- SOKOLOVA E.I., KULIEVA N.M., CHEKALINA L.I., SHATALOVA L.A. - 1987. Larvicidal activity of the preparation *Bacillus thuringiensis* H-14 strain BTS-393 after prolonged storage. *MED. PARAZITOLOG. PARAZITARN. BOL.* 1: 17-19.
- 1988
- GHARIB A.H., HILSENHOFF W.L. - 1988. Efficacy of two formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (H-14) against *Aedes vexans* and safety to non-target macroinvertebrates. *J. AM. MOSQ. CONTROL. ASSOC.* 4: 252-255.
- HELGEN J.C., LARSON N.J., ANDERSON R.L. - 1988. Responses of zooplankton and *Chaoborus* to temephos in a natural pond and in the laboratory. *ARCH. ENVIRON. CONTAM. TOXICOL.* 17: 459-471.
- LEVEQUE C., FAIRHURST C.P., ABBAN K., CAUGY D., CURTIS M.S., TRAORE K. - 1988. Onchocerciasis control programme in West Africa: ten years monitoring of fish populations. *CHEMOSPHERE* 17: 421-440.
- MOREAU C.M. - 1988. Data sheet on the impact of pesticides on non-target organisms. N: 1 Temephos WHO/UBC/ 88. 955.
- 1990
- BARJAC H. DE, FRACHON E. - 1990. Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. *ENTOMOPHAGA* 35: 233-240.
- ERIDANIA Z.N. - 1990. Analisi acque impianto di depurazione e lagunaggio aerato stabilimento di S. Pietro in Casale. Genova 24/10/90 (2 pp + all.).
- SALIS A., ADDIS A., FRIGAU G. - 1990. Studio su alcuni insetticidi antilarvali per l'ambiente del Canale di Terramaini. *ACQUA ARIA* (3): 241-247.
- SINEGRE G., BABINOT M., VIGO G., TOURENQ J.N. - 1990. Sensibilité de trois espèces de *Chironomus* (Diptera) à huit insecticides utilisés en démoustication. *ANNLS LIMNOL.* 26: 65-71.
- 1991
- DELECLUSE A., PONCET S., MULLER-COHN J., KLIER A., RAPOPORT G. - 1991. Toxin genes from *Bacillus thuringiensis israelensis*: expression and mosquitocidal activity of their products. *FIRST INTERNATIONAL CONFERENCE ON BACILLUS THURINGIENSIS*, July 28th-31st 1991, St. Catherine's College, OXFORD.