

3/4

43

Estratto dagli *Atti della Società Italiana di Scienze Naturali*,
Vol. LXXXVII (1948)

G. P. MORETTI

ISTITUTO DI ZOOLOGIA E ANATOMIA COMPARATA
DELLA L. UNIVERSITÀ DI CAMERINO

INSETTICIDI CLORURATI E LORO TOSSICITA'
PER ALCUNI ARTROPODI E VERTEBRATI ACQUATICI



4132-6

MILANO

....

1948

G. P. Moretti

ISTITUTO DI ZOOLOGIA E ANATOMIA COMPARATA
DELLA L. UNIVERSITÀ DI CAMERINO

INSETTICIDI CLORURATI E LORO TOSSICITÀ
PER ALCUNI ARTROPODI E VERTEBRATI ACQUATICI

Premesse

Nelle ricerche sull'azione tossica di alcuni composti clorurati, entrati ormai nell'uso corrente quali insetticidi, abbiamo orientato le nostre indagini verso una sistematica analisi tossicometrica, volta a fornire più vaste e precise informazioni circa *l'entità e il modo di presentarsi di eventuali sintomi patognomici*, dalla loro comparsa fino al sopraggiungere della morte. Per poter seguire con precisione lo svolgersi del quadro tossicologico si è creduto opportuno per lo più di limitare il numero dei soggetti di esperimento per ogni prova a valori esigui, preferendo poi ripetere più volte le prove stesse fino ad averne un criterio informativo sufficientemente preciso. Abbiamo scelto un complesso di esponenti della vita acquatica che costituiscono un cenobio frequente a riscontrarsi anche in piccole raccolte d'acqua fatte ad arte e che sono in modo più o meno diretto vincolati l'uno all'altro da stretti rapporti ecologici e, per qualche termine, anche da un concatenamento alimentare che risulta per così dire consuetudinario. I risultati cui ci hanno condotto queste prove, pur essendo ancora incompleti e per ora puramente orientativi, sembrano lasciarci intravedere qualche informazione circa l'effetto cui possono condurre le distribuzioni di polveri a base di disinfestanti organici clorurati su piccole raccolte di acqua ferme popolate da comuni limnobionti, autoctoni o di immissione. Lo studio, di stretto carattere sperimentale, è stato condotto sulla pura scorta di prove di laboratorio, le uniche che potessero fornire criteri quantitativi validi agli effetti dell'interpretazione dei

risultati. Queste potranno essere poi applicate in pratica dove, peraltro, i fattori che entrano in gioco sono ovviamente ben più numerosi e complessi. È stata saggiata la resistenza ai tossici clorurati di sintesi sui seguenti organismi animali: *Lumbriculus variegatus* Gr., *Cypris* sp., *Cyclops* sp., *Daphnia pulex* De Geer., *Asellus aquaticus* L. *Chironomus* sp. (gruppo *thummi*), *Culex pipiens* L., *Carassius auratus* Val., *Gambusia holbrooki* Grd., *Molge cristata* Laur. (v. *Karelinii* Strauk.), *Rana esculenta* L. (v. *Lessonae* Cam.).

Per le ultime due specie sono state fatte solo prove isolate orientative, per le altre si è invece agito con dosi varianti e con intenti descrittivi circa la velocità e l'intensità con cui si instaura e si sviluppa il quadro dei sintomi neurotossici.

Notizie sulla composizione chimica, sulla stereostruttura dei loro isomeri, sulla natura neurotrofa della loro azione tossica, sulla liposolubilità e zimobiostasi possono leggersi in altri nostri lavori precedentemente dati alle stampe o in corso di pubblicazione (v. bibl.),

Qui ci limitiamo a segnalare che i composti impiegati per i vari esperimenti furono i seguenti: *esaclorocicloesano* ($C_6H_6Cl_6$, detto anche 666 o gammaesano o ECE), *diclorodifeniltricloroetano* ($C_{14}H_9Cl_5$ o DDT), *clorocanfene* ($C_{10}H_9Cl_3$ o 3956), *ottaclorometanotetraidroindano* ($C_{10}H_8Cl_8$ o 1068), tutti ottenuti per gentile omaggio di laboratori chimici nazionali e stranieri specializzati in questa preparazione.

In alcune prove abbiamo avuto l'attenta collaborazione dei Dottori Ivan Guerci e Stelio Pappadantonakis che qui vivamente ringraziamo.

A) Esperimenti su pesci.

1) Velocità dell'intossicazione per il ciprino dorato (*Carassius auratus* Val.).

TECNICA. - In cilindri di vetro di uguale capacità si versano c.³ 1000 di acqua e si pongono 2 pesci di media dimensione.

Si asperge quindi la superficie d'acqua di ciascun recipiente (c.³ 125) con quantità varianti tra mg. 700 e mg. 150 di talco al 3 % di principio attivo. Temperatura 27° (vedi Tabella I).

I^a Prova con mg. 700. 1° esaclorocicloesano; 2° diclorodifeniltricloroetano; 3° clorocanfene (1); 4° talco (controllo). Data: 11-VIII-1947.

RISULTATO. - In 1° dopo 45' violenti colpi di coda in ambedue gli esemplari. Dopo 50' un pesce (il più piccolo) nuota su un fianco; al 60' è completamente adagiato su un lato; dopo 1 h. circa sembra riprendersi; dopo circa 2 h. torna ad adagiarsi al fondo; dopo h. 4,45 muore; l'altro muore entro la 20^a h. (2). I pesci trattati con 2° non rivelano sintomi di sofferenza nell'intervallo di tempo considerato e dopo 48 h. sono ancora vivi.

In 3° alla 6^a h. un soggetto appare già morente e adagiato al fondo, esso muore dopo 9 h. L'altro sopravvive sofferente per 20 h. e poi muore. Nel controllo i 2 pesci restano assai vivaci per tutta la durata dell'esperimento.

II^a Prova con mg. 300. I medesimi preparati della precedente prova. Data: 13-VIII-1947.

RISULTATO. - Si prendono in considerazione solo gli effetti letali. Dopo 9 h. si rinviene un pesce (il più piccolo) morto nel cilindro trattato con 1° e due risultano uccisi nel cilindro 3°. Dopo 156 h. muore l'altro pesce del 1° che, essendo già sofferente, dopo 108 h., era stato trasferito in acqua corrente.

Nel 2° e nel controllo, sopravvivenza di ambedue i soggetti.

III^a Prova con mg. 150. Gli stessi preparati della precedente prova; in più un preparato di talco con il 3 % di solfo-cianato di potassio, e una soluzione titolata in acqua del medesimo sale. Data: 18-VIII-1947.

(1) La tossicità del canfene clorurato sui vertebrati inferiori acquatici, che non ci risultava ancora segnalata, viene accertata spennellando con soluzione acetonica satura porzioni del corpo di 6 rane e di 6 tritoni. La mucosità secreta allontana rapidamente la verniciatura e le rane muoiono dopo 24-36 h., i tritoni al 3^o-4^o giorno; con il solo acetone e resina inerte nessun decesso. Anche l'alimentazione del Carassio con cladoceri, chidoridi o copepodi uccisi dal canfene clorurato distribuito in polvere galleggiante su vasche di allevamento alla dose di 300 mg. di talco al 3 % di principio attivo su 300 c.c. di acqua risulta di una certa tossicità pel pesce dopo 57 giorni di tale regime dietetico.

(2) Un ECE povero in isomero gamma e preparato 12 mesi prima riesce invece innocuo a questa dose.

RISULTATO. - Nel cilindro 1° dopo 15' ambedue gli individui aprono e chiudono la bocca con ritmo accelerato (indice patognomico precoce). Dopo 45' violenti colpi di coda tradiscono chiaramente l'intossicazione. Dopo 4 h. appaiono lenti nei movimenti. Nelle ore che seguono nell'intervallo di tempo che va da 1 h., 15' a 5 h. sembra aversi una ripresa di agilità, ma poi muoiono tra la 20^a e la 28^a h. ambedue.

Nel 2° nessuna sofferenza rilevabile in questo lasso di tempo.

Nel 3° dopo 1 h. gli stessi sintomi rilevati per 1° dopo 45' in ambedue i pesci. Dopo 1 h. e 30' un individuo nuota un po' inclinato trattenendosi alla superficie; dopo 2 h. anche il secondo nuota adagiato sul fianco, ma rimanendo di preferenza sul fondo. Dopo 6 h. e 45' un individuo è morente, l'altro (più piccolo) appare meno gravemente intossicato e si trattiene in superficie. Dopo 7 h. un pesce è morto, dopo 20 h. è morto anche il secondo.

Con *solfocianato di potassio* al 3% in talco sparso in ragione di 75 mg. di polvere su un litro di acqua, nessun sintomo rilevabile di intossicazione, e nessun decesso per tutto il tempo della prova.

Di una soluzione di 100 mg. di KCNS in 333 c.³ di acqua vengono posti c.³ 0,75 in un litro di acqua di fonte, contenenti quattro ciprini dorati (18-VIII-1947).

Si ha la morte di 1 individuo su 4 trattati dopo 80 h.

Con *talco* sopravvivenza di ambedue gli individui.

Riassumiamo in una tabella comparativa tecnica, risultati e data della quarta prova:

Quattro cilindri di vetro contenenti ciascuno c.³ 700 di acqua (a 9°) e 2 ciprini dorati lunghi cm. 12 vengono impolverati (sullo specchio di c.² 125) con mg. 70 di talco al 5 % di clorurato: 1° esaclorocicloesano; 2° diclorodifeniltricloroetano; 3° clorocanfene; 4° octaclorometanotetraidrodano; 5° talco acetone (controllo).

IV^a Prova.
T MONICA.

Data	Ore	1° C ₆ H ₆ Cl ₆	2° C ₁₄ H ₉ Cl ₅	3° C ₁₀ H ₁₀ Cl ₈	4° C ₁₀ H ₆ Cl ₁₈	5° controllo
10-XII-47	17	Inizio esperimento	Inizio esperimento	Inizio esperimento	Inizio esperimento	—
10-XII-47	20	Un poco agitati	Normalità	Un poco agitati	Un poco agitati	normalità
11-XII-47	9	Idem c. s.	Idem c. s.	Nuotano incl. su un lato: violenti colpi di coda	Molto agitati; energici colpi di coda	»
11-XII-47	12	Più agitati, guizzi improvvisi	Idem c. s.	Idem c. s. con nuoto più lento	Inclin. su un lato lieve; abboccano in superficie	»
11-XII-47	15	Uno inclinato lievem. su un lato, l'altro agitato	Idem c. s.	Idem c. s.	Idem c. s.	»
12-XII-47	10	Guizzi violenti per urto del tavolo di supporto	Lievemente agitati	Sitratton. alla superficie; nuoto sempre più lento	Idem c. s.	»
12-XII-47	16,30	Idem c. s.	Lievemente agitati, guizzano all'urto	Un individuo morto; l'altro, morente, muove solo le pinne pettorali	Idem c. s.; agitati	»
13-XII-47	9	Idem c. s.	Lievemente agitati	Decesso dell'altro individuo	Idem c. s.; più lenti	»
13-XII-47	19,45	Idem c. s., sempre agitati	Lievemente agitati		Sempre inclinati tentano di guizzare fuori dall'acqua, agitatissimi	»
17-XII-47	16	Meno agitati	Agitati; uno è lievem. inclinato su un lato		Ritornano quasi allo stato di normalità, trattengono però in superficie	»
18-XII-47	10	Meno agitati, guizzano all'urto; uno è visibilmente sofferente	Un individuo muore, l'altro è agitato		Un individuo torna ad inclinarsi su un lato, l'altro è agitato	»
19-XII-47	10	Decesso di un individuo; l'altro è agitato. Posto in acqua pura si rimette solo parzialmente	Il superstite si trattiene in superficie; posto in acqua pura si normalizza		Idem c. s. Posti in acqua pura non si rimettono	»

La stessa prova ripetuta con 10 mg. di talco al 5 % di clorurato dà sopravvivenza di tutti i ciprini e benessere normale anche dopo 17 dì per tutti i clorurati.

2) Velocità di intossicazione per la gambusia (*Gambusia holbrooki* Grd.) (1).

I^a Prova.

TECNICA. - In cristallizzatori contenenti litri 2 di acqua ciascuno con una superficie di c. 500 vengono poste 3 gambusie (per ogni recipiente) di dimensioni differenti e un pezzo di ceratofillo. Si impolvera quindi lo specchio d'acqua con dg. 2 di talco al 5 % di clorurato. Si confrontano i seguenti preparati: 1 esaclorocicloesano; 2 diclorodifeniltricloroetano; 3 clorocanfene; 4 talco-acetone (controllo). Temperatura c. 21°. Data: 24-IX-1947.

RISULTATO. - Per 11 h., 30' nel N. 1 si notano veloci guizzi delle gambusie per minimo urto del recipiente. Nulla nel N. 2. Nel N. 3 un individuo boccheggia in superficie e compie movimenti natatori lenti; un altro si adagia al fondo su un lato, vi rimane con gli opercoli divaricati per breve tempo, e poi torna a nuotare per riprendere però la posizione adagiata; il terzo pesce non mostra sofferenza. Nel N. 4 stato normale. Dopo 12 h., 30' tutti i soggetti del N. 3 si trovano boccheggianti in superficie. Dopo 15 h. nel N. 3 due esemplari più grossi stanno al fondo su un fianco, ogni tanto riprendono fiaccamente a nuotare e giungono in superficie dove boccheggiano; cessando di nuotare calano al fondo dove si adagiano su un fianco. Il terzo esemplare, pur mostrandosi sofferente, non si appoggia inclinato sul fondo. Nulla di mutato negli altri cristallizzatori. Dopo 18 h. muore un soggetto nel N. 3; per il resto quadro invariato. Alla 21^a h. muore un altro individuo nel N. 3, il superstite ripete il quadro tossicologico osservato negli altri due deceduti. Nel N. 1 un individuo muove con elevata frequenza le pinne pettorali. Nulla di variato negli altri recipienti. Alla 27^a h. muore nel N. 3 l'ultima gambusia. Alla 37^a h. i soggetti del N. 1 che avevano mostrato grande agitazione sotto urto per tutto questo tempo principiano

(1) PIEDROLA ha osservato che alcuni pesci larvifagi sono sensibili all'azione dell'esaclorocicloesano. Spargendo sulla superficie dell'acqua il preparato al 15 % di questo clorurato in polvere di Liegi ha notato « prima il loro allontanamento dalla superficie, poi l'apparire di movimenti insoliti, sempre più frequenti ed intensi e, infine, la morte entro 8-10 giorni ».

a nuotare a capo in giù e guizzano con reazione parossistica al minimo urto delle pareti del recipiente. Alla 38^a h. nel N. 1 un pesce è adagiato su un lato, gli altri 2 nuotano inclinati. Nulla di anormale nel N. 2 e nel controllo. Alla 42^a h. nel N. 1 un individuo nuota di nuovo a testa in giù, continuamente ribaltandosi, ventre in aria; gli altri 2 si adagiano su un fianco. Alla 50^a h. nulla di variato, normalità in N. 2 e nel controllo. Alla 58^a h. i tre pesci del N. 1 sono in superficie inerti, adagiati su un fianco ma a lieve tocco delle pareti del recipiente rispondono con guizzi violenti. Alla 65^a h. sono rovesciati a ventre all'aria in superficie, inerti, ma sempre guizzanti al minimo urto. Dopo 10 giorni sono sempre a ventre all'aria, su un fianco, apparentemente morti, ma pronti a scattare appena si muove l'acqua. Trasferiti in acqua pura e fresca (14°), dopo 2 ore escono dallo stato di paralisi avanzata in cui si trovavano e riprendono a nuotare vivacemente in posizione normale. Dopo 13 giorni, peraltro, tornano ad adagiarsi al fondo, manifestando di nuovo reazione parossistica per lieve urto del recipiente. I sintomi di paralisi tornano ad aggravarsi. Dopo 23 giorni dall'inizio dell'esperimento i pesci muoiono. Nel frattempo è comparso lieve torpore nelle gambusie trattate con diclorodifeniltricloroetano. Nulla di anormale invece nel controllo.

II^a Prova.

TECNICA. - Come per la precedente prova con dg. 1 di clorocanfene. Controllo con talco e acetone. N. 3 gambusie. Si vuole esaminare la dose minima alla quale il clorurato è ancora tossico. Data: 26-IX-1947.

RISULTATO. - Attorno alla 15^a h. 2 pesci cominciano a nuotare con lentezza e a calare al fondo con la cessazione dei movimenti natatori. Il terzo è ancora normale. Alla 16^a h. 1 soggetto nuota su un fianco e si adagia sul fondo, gli altri 2 compiono movimenti rallentati. Alla 24^a h. 2 pesci morti al fondo, il terzo inerte in superficie, riprende il nuoto sotto stimolo. Alla 26^a h. morte del terzo soggetto. Nulla di anormale nel controllo.

III^a Prova.

TECNICA. - C. s. con mg. 20 di clorocanfene (N. 1) e mg. 20 di esaclorocicloesano (N. 2). Data: 30-IX-1947.

RISULTATO. - Sintomi di sofferenza in 1 individuo dopo 7 h. Alla 12^a h. muore un soggetto, gli altri 2 sono lenti nel nuoto.

Alla 16^a h. si lasciano toccare trattenendosi in superficie. Alla 18^a h. muoiono tutti al fondo. Per 6 giorni non si assiste a sintomi di intossicazione nelle gambusie del N. 2. Benessere nel controllo. La prova ripetuta dà per il clorocanfene la morte totale dei pesci entro 30 h. dall'inizio dell'esperimento.

IV^a Prova.

TECNICA. - Come sopra mg. 10 di clorocanfene. Data. 8-X-1947.

RISULTATO. - Dopo 24 h. morte di tutti i soggetti.

V^a Prova.

TECNICA. - C. s.; mg. 1 di clorocanfene. Data: 24-X-1947.

RISULTATO. - Dopo 24 h. i soggetti sono ancora vivi e vivaci. Dopo 76 h. quasi improvvisamente, dopo una breve nuotata su un fianco, si adagiano sul fondo e muoiono. Si ripete la prova con 14 gambusie, sia nel cristallizzatore impolverato con clorocanfene; sia nel cristallizzatore del controllo. Data: 28-X-1947.

Si osserva alla 56^a h. stato di benessere normale; alla 68^a h. il decesso quasi improvviso di 8 pesci; alla 74^a h. grave sofferenza nei superstiti che si lasciano afferrare con le dita. Alla 100^a h. decesso di altri 2 soggetti, mentre i superstiti sembrano avere una leggera ripresa. Dopo 6 giorni ne muoiono altri 2 e dopo 8 gli ultimi 2 (¹).

VI^a Prova.

TECNICA. - C. s.; 8 gambusie; mg. 0,5 di clorocanfene. Data: 3-XI-1947.

RISULTATO. - Dopo 66 h. 6 morti e 2 morenti; dopo 90 h. morte di questi ultimi.

VII^a Prova.

TECNICA. - C. s.; 6 gambusie; octaclorometanotetraidroindano dg. 2. Data: 12-XI-1947.

RISULTATO. - Dopo 10 h. i soggetti appaiono torpidi nel nuoto, dopo 19 h. nuotano al fondo su un fianco; dopo 24 h. 2 morti; dopo 26 h. decesso degli altri 3 (²).

(¹) Una piccola *Limnaea truncatula* è invece sopravvissuta.

(²) Quattro piccole *Limnaea truncatula* sono decedute pure entro 26 h.

VIII^a Prova.

TECNICA. - C. s.; 6 gambusie; octaclorometanotetraidroindano mg. 1. Data: 15-XI-1947.

RISULTATO. - Dopo 24 h. soggetti torpidi. Alla 65^a h. 3 individui nuotano adagiati sul fianco al fondo. Alla 72^a h. 3 morti. Alla 77^a h. un morto. Gli altri sopravvivono.

IX^a Prova.

TECNICA. - C. s.; 3 gambusie. Si confrontano: 1° il diclorodifeniltricloroetano (dg. 2); 2° l'octaclorometanotetraidroindano (mg. 1 e mg. 0,5). Data: 20-XI-1947. T. 10°.

RISULTATO. - Dopo 6 di nel 1° i pesci sono torpidi; dopo 7 di decesso di 1 pesce nel 2° (1 mg.). Dopo 9 di aumentato torpore nel 1°, dove dopo 14 di vi muoiono 2 soggetti. Dopo 22 giorni muore il 3° pesce. Nel 2° il torpore si fa meno profondo, dopo 30 giorni ripresa e sopravvivenza dei superstiti.

B) Esperimenti su crostacei acquatici e su anellidi.

Numerose prove sono state eseguite su questi organismi. Ne indichiamo solo alcune eseguite con dosaggi e concentrazioni differenti.

1) Azione tossica su Malacostraci-Isopodi (*Asellus aquaticus* L.)I^a Prova.

TECNICA. - In salierine del diametro massimo di 4 cm. e della profondità massima di 1 cm. si pongono 50 mg. di clorurato puro sciolto in acetone, in modo che, evaporato il solvente si abbia un velo omogeneo incrostante le pareti. Si pongono quindi 3 aselli per ogni salierina. Si confrontano i seguenti composti: 1° clorocanfene; 2° esaclorocicloesano; 3° diclorodifeniltricloroetano; 4° acetone (controllo). Data: 5-VIII-1947.

RISULTATO. - Dopo 5' in 2° sono rovesciati 2 individui, in 1° e in 3° irrequietezza; dopo 8' in 1° tre supini; dopo 104' atassia in 1° e in 3°; dopo 53' supini tutti, anche in 3°; dopo 16 h. morte generale in tutti i recipienti; vivi nel 4°.

II^a Prova.

TECNICA. - In bacinelle circolari contenenti cm.³ 300 di acqua con una superficie di cm.² 95 si pongono N. 20 aselli (3 ♀ ♀ ovigere, 15 ♂ ♂ 2 individui immaturi). Si impolvera quindi la superficie d'acqua di ogni bacinella con 300 mg. di polvere di talco all'1,43 % di clorurato. Si confronta l'azione dei tre seguenti composti; 1° canfeneclorurato; 2° esaclorocicloesano (1°); 3° diclorodifeniltricloroetano; 4° controllo (talco-acetone). Data: 28-30-VII-1947.

RISULTATO. - Dopo 60' nella bacinella N. 2 si osservano 7 individui capovolti sul fondo. Dopo 105' nel recipiente N. 1 si hanno 18 individui capovolti; nel N. 2 tutti gli aselli sono supini e sofferenti, e nel N. 3 5 individui capovolti. Dopo 3 h. e 30' nella bacinella N. 1 tutti gli aselli sono morenti e muovono solo il 1° paio di zampe branchiali; nella bacinella N. 2 tutti gli individui sono morti; nella bacinella N. 3 13 aselli capovolti agitano gli arti, gli altri 7 sono atassici ed agitatissimi. Nel controllo benessere in tutti i soggetti.

III^a Prova.

TECNICA. - Dosi e numero dei crostacei come nella prova precedente. Data: 30-VII-1947.

Si indaga lo svolgersi dei sintomi che compongono il quadro tossicologico dall'atassia al decesso.

RISULTATO. - (Vedi tabella N. 2).

Clorocanfene: dopo 15' 2 aselli capovolti; dopo 45' 15 individui capovolti; dopo 75' tutti gli aselli supini.

Esaclorocicloesano: dopo 6' capovolgimento di tutti gli individui.

Diclorodifeniltricloroetano: dopo 75' il primo ribaltamento; dopo 100' 10 aselli appaiono paralizzati alle ultime appendici addominali per cui deambulano con l'addome sollevato; dopo 120' 3 aselli supini; dopo 150' tutti gli individui sono paralizzati alle appendici posteriori dell'addome e 7 sono capovolti; dopo 180' 8 aselli ribaltati; dopo 7 h. si hanno ancora 4 individui che riescono a riprendere la posizione normale dopo essersi ribaltati.

Nel controllo, dopo 12 h., gli aselli sono ancora tutti vivi.

(1) Di preparazione del precedente anno.

IV^a Prova.

TECNICA. - Come per la prima prova, ma con 30 individui per recipiente. Data: 31-VII-1947.

RISULTATO. - (Vedi tabella N. 2).

Clorocanfene: dopo 12' ribaltamento di 3 individui. Gli altri tendono le appendici addominali posteriori, il che porta al sollevamento dell'addome rispetto al piano orizzontale del corpo con conseguente ribaltamento dell'animale.

Il crostaceo muove rapidamente le coppie di arti toracici, mentre non riesce a ritmare tale movimento con le appendici addominali posteriori già paralizzate; il contatto col fondo è quindi difettoso, e le appendici posteriori stese provocano capotamento dell'animale.

Dopo 16' si hanno 6 individui capovolti, gli altri atassici ad eccezione di 2. Dopo 25' 18 aselli ribaltati; dopo 30', 22; dopo 45', 25 e dopo 55' tutti ribaltati. Dopo 80' i movimenti degli arti si fanno fiacchi e dopo 24 h. morte di tutti gli individui.

Esaclorocicloesano: dopo 5' sollevamento dell'addome in 20 individui; dopo 6' 2 *Asellus* capovolti, dopo 7' 15 rovesciati. Dopo 10' 1 solo soggetto deambula, ma con colpi aritmici degli arti che lo portano a frequenti rovesciamenti. Al 20' tutti gli *Asellus* sono supini e con corpo inarcato ventralmente. Dopo 24 h. morte di tutti i soggetti.

Diclorodifeniltricloroetano: dopo 12' il primo individuo si rovescia; dopo 30' tutti con atassia e sollevamento dell'addome, ma solo 4 capovolti; dopo 45' 10 aselli sono supini; dopo 1 h. 27 individui ribaltati con corpo ventralmente inarcato; dopo 135' rovesciamento di tutti gli esemplari; dopo 24 h. 27 individui morti, 4 in agonia reagiscono debolmente.

Nel controllo 2 aselli muoiono dopo 420'.

2) Azione tossica su Isopodi Branchiopodi-Cladoceri (*Chetopodi-Oligocheti*).

Semplifichiamo l'esposizione di numerose prove eseguite su questi animali « tests » scegliendo le più significative e raccogliendole in schemi comparativi qualitativi. I vari risultati figurano poi raccolti in una tabella generale compilata con criteri quantitativi (vedi tabella N. 3). Sono stati impiegati per le prove le seguenti specie: *Asellus aquaticus* L., *Daphnia* e *Lumbriculus variegatus* Gr. e ciuffi di alghe verdi zygnelemi.

Esaclorocicloesano al 5% in talco: mg. 2. Acqua } c.³ 200
Superficie c.² 28,26 Temp. 16°

Data	Ore	<i>A. aquaticus</i> N. 5	<i>D. pulex</i> N. 2	<i>L. variegatus</i> N. 5
11-XII-47	18,52	Inizio della prova	Inizio della prova	Inizio della prova
11-XII-47	19,16	Agitati, deambolano con appendici posteriori sollevati dal fondo		
11-XII-47	20,14	Supini agitano gli arti	Accentuata la caduta al termine della falcata	Avvolti insieme a gomito
11-XII-47	21,15	Ora quasi inerti, ora con improv. agit. degli arti	Nuotano sollevandosi per breve tratto dal fondo	Stesi e disgiunti
12-XII-47	9,30	3 inerti, 2 muovono lentamente gli arti	Idem c. s.	Idem c. s. Muovono, ondeggiano lent. il corpo
12-XII-47	13,30	I 2 con arti ancora mobili agitano fiaccamente le zampe branchiali	Idem c. s. ricadono dopo il salto	Movimenti ondulati più lenti
12-XII-47	16,30	2 deced., 3 con lievi palpiti delle zampe branch.	Idem c. s.	Idem c. s.
13-XII-47	10,45	Idem c. s.	Una è morta, l'altra saltella a stento al fondo	Arrotolati su sè stessi si contorceno
13-XII-47	19,45	Tutti morti	Muore anche l'altra	Distesi si agitano fiaccamente
14-XII-47	9			Idem c. s.
14-XII-47	12,30			2 morti, 3 quasi inerti
14-XII-47	15,45			1 altro morto
14-XII-47	16,30			1 altro morto; l'ultimo è lentiss. nei movimenti

Diclorodifeniltricloroetano al 5% in talco: mg. 2. Acqua } c.³ 3.200
superficie c.² 28,26

Data	Ore	<i>A. aquaticus</i> N. 5	<i>D. pulex</i> N. 2	<i>L. variegatus</i> N. 5
11-XII-47	18,52	Inizio della prova	Inizio della prova	Inizio della prova
11-XII-47	19,16	Nessun ril. degno di nota	Nessun ril. degno di nota	Nessun ril. degno di nota
11-XII-47	20,14	Idem c. s.	Idem c. s.	Idem c. s.
11-XII-47	21,15	Idem c. s.	Idem c. s.	Stesi, non molto mobili
12-XII-47	9,30	4 individui supini agitano velocemente gli arti	Nuotano presso la superficie	Stesi e poco mobili
12-XII-47	13,10	I 4 soggetti capovolti agitano più lentamente gli arti, il 5° deambola con l'addome sollevato	Nuotano fiaccamente, cessato lo scatto delle antenne ricadono per lungo tratto verso il fondo	Stesi e con movimenti serpentiformi assai lenti
12-XII-47	16,30	Idem c. s. il 5° individuo è atassico	Idem c. s.	Idem c. s.
13-XII-47	10,45	3 soggetti deceduti, 2 supini con lenti movimenti delle zampe	A stento si sollevano dal fondo con brevi balzi	Movimenti ulteriormente fiacchi
13-XII-47	19,45	I 2 ancor vivi muovono solo le zampe branchiali	Idem c. s.	Idem c. s.
14-XII-47	9			2 individui morti, gli altri morenti
14-XII-47	12,30			Morte degli altri 3 indiv.

Octaclorometanotetraidroidano al 5 % in talco. Acqua } c.³ 200
 superficie c.² 28,26

Data	Ore	<i>A. aquaticus</i> N. 5	<i>D. pulex</i> N. 2	<i>L. variegatus</i> N. 5
11-XII-47	18,50	Inizio della prova	Inizio della prova	Inizio della prova
11-XII-47	19,16	Nulla di not. da segnal.	Nulla di not. da segnal.	Nulla di not. da segnal.
11-XII-47	20,15	Idem c. s.	Idem c. s.	Idem c. s.
11-XII-47	21,15	Idem c. s.	Idem c. s.	Idem c. s.
12-XII-47	9,30	Atassia rilevabile in tutti gli individui	Il nuoto è marcatamente saltellante	Avvolti insieme a gomitolato
12-XII-47	13,10	Supini agiti viv. le zampe	Idem c. s.	Idem c. s.
12-XII-47	16,30	Mov. più lenti degli arti	Nuotano presso il fondo	Idem c. s.
13-XII-47	10,45	2 individui morti, i 3 supini muovono lentamente le zampe branchiali	Idem c. s.	Arrotolati insieme e debolmente ondeggianti
13-XII-47	19,45	Morte di altri 2 ind., il sopravviss. fa palpitare solo le zampe branchiali	Nuotano fiaccamente al fondo	Rare e deboli contorsioni
14-XII-47	9	Idem c. s.	Quasi immobili al fondo	Quasi inerti
14-XII-47	12,30	Idem c. s.	Una dafnia adulta morta l'altra incapace di nuotare	1 indiv. deced., gli altri reagiscono debol., è lento. si muovono anche spont.
14-XII-47	15,45	Decesso dell'ultimo asello	Muore anche la seconda dafnia	Decesso di 1 altro indiv., gli altri possegg. ancora deboli movim. spontanei
14-XII-47	9	Decesso di tutti gli individui	Una dafnia morta, l'altra nuota ancora debolmente al fondo	Avvinghiati a gomitolato compiono fiacche contorsioni.
14-XII-47	12,30		Muore anche l'altro ind.	Idem c. s.
14-XII-47	15,45			1 indiv. morto, gli altri disgiuntisi stanno stesi al fondo e reag. con viol. contors. appena toccati
14-XII-47	16,30			1 altro indiv. morto, gli altri con reaz. più fiacca

Clorocanfene al 5 % in talco: mg. 2. Acqua } c.³ 200
 superficie c.² 28,26

Data	Ore	<i>A. aquaticus</i> N. 5	<i>D. pulex</i> (1)	<i>L. variegatus</i> N. 5
11-XII-47	18,52	Inizio della prova		Inizio della prova
11-XII-47	19,16	Nessun ril. degno di nota		Nessun ril. degno di nota
11-XII-47	20,14	Lievemente atassici		Idem c. s.
11-XII-47	21,15	1 individuo capovolto gli altri più atassici		Idem c. s.
12-XII-47	9,30	2 deceduti, gli altri supini agitano le zampe		Stesi e con movim. lenti
12-XII-47	13,30	Idem c. s.		Idem c. s.
12-XII-47	16,30	Decesso di un 3° indiv.		Quasi inerti
13-XII-47	10,30	Morte di tutti gli indiv.		Idem c. s.
13-XII-47	19,45			Sono inerti, ma stimolati, inarcano l'estremità cefalica e caudale

(1) In questa prova non si è potuto sperimentare sulla dafnia per mancanza di individui, in altre prove qui non citate perché eseguite in giorni differenti, si è osservato che le dafnie sono sensibili all'azione del clorocanfene circa quanto a quella del esaclorocicloesano, talvolta anche di più. La morte segue molto dappresso la comparsa dei primi sintomi dell'intossicazione.

3) Azione tossica su entomostraci ostracodi (*Cypris* sp.) e copepodì (*Cyclops* sp.)

Poche prove sono state ancora condotte su questi crostacei; mentre proseguono alcuni esperimenti, trascogliamo qualche risultato che può dare un primo orientamento tossicometrico.

I^a Prova.

TECNICA. - In provette contenenti 22 c.³ di acqua si pongono 42 *Cypris* e 20 *Cyclops* (15 ♂♂ e 5 ♀♀ ovigere).

Si impolvera quindi la superficie con mg. 5 di talco all'1% di clorurato. Si sperimentano: 1° clorocanfene; 2° esaclorocicloesano; 3° diclorodifeniltricloroetano; 4° talco-acetone (controllo).
Data: 3-VIII-1947.

RISULTATO. - Dopo 15' tutti gli individui sono vivaci. Dopo 45' i *Cyclops* percorrono verticalmente tutta la colonna liquida in tutte le provette, i *Cypris* trattati con 2° roteano invece al fondo distaccandosene di poco, mentre quelli del 1° si spostano ampiamente e similmente quelli del 3°. Dopo 37 h. in 1° ed in 2° gli ostracodi si mantengono presso il fondo compiendo brevi nuotate e in 3° si sollevano solo di pochi millimetri dal fondo. Dopo 39 h. in 1° tutti i *Cyclops* sono morenti, dei *Cypris* 7 sono morti e 35 sono ancora vivi, ma sono incapaci di nuotare ed agitano solo a deboli tratti l'arto natatorio. Tutti sono adagiati su di un lato, ed alcuni reagiscono solo allo stimolo puntorio. Sono deceduti gli individui più piccoli che presentano le valve sia strettamente accollate, sia divaricate.

Dopo 39 h. in 2° i *Cyclops* sono gravemente paralizzati. È deceduto un solo *Cypris*; quelli paralizzati risultano ancora capaci di qualche nuotata concentrica, presso il fondo dove però ricadono tosto adagiandosi su un fianco.

Dopo 39 h. in 3°, i *Cyclops* sono gravemente compromessi. Sono deceduti 7 *Cypris*, 5 dei superstiti sono dotati di notevole mobilità nel nuoto; gli altri stanno adagiati sul fondo appoggiati su una valva, reagendo fiaccamente agli stimoli puntori.

Dopo 48 h. in 1° quadro generale rispondente ad alta tossicità; in 2° tossicità meno spiccata; in 3° quadro più simile al 2° che al 1° clorurato.

Nel controllo muoiono un *Cyclops* dopo 37 h. e 2 *Cypris*. dopo 36 h..

C) Esperimenti su insetti.

1) Velocità di intossicazione per le larve di Ditteri-chironomidi (*Chironomus* sp.) (1).I^a Prova.

TECNICA. - In bacinelle cilindriche contenenti c.³ 300 di acqua con uno specchio di 95 c.³ si introducono 15 larve di *Chironomus* (10 rosse e 5 verdicce per ogni bacinella). Si impolvera quindi la superficie con mg. 300 di talco all'1,43% di clorurato. Si confrontano i seguenti composti: 1° clorocanfene; 2° esaclorocicloesano; 3° diclorodifeniltricloroetano; 4° talco-acetone. Data: 28-VII-1947.

RISULTATO. - La lettura del quadro tossicologico nelle larve di questo insetto è ardua; mancando zampe libere articolate, la comparsa dei primi sintomi di atassia locomotoria non è facilmente discernibile ed è più che altro di soggettiva interpretazione. Dopo 3 h. nella bacinella N. 1 tutti i *Chironomus* giacciono stesi al fondo, compiendo rade e violente contratture; nella bacinella N. 2 le larve trascorrono al fondo lungo tempo del tutto inerti, ed a grandi intervalli compiono solo fiacche contratture; nella bacinella N. 3 larve mobili, irrequiete e spesso rinculanti con movimenti disordinati. Nel controllo larve vivaci.

II^a Prova.

TECNICA. - Come sopra. N. 10 larve di *Chironomus* per ciascuno clorurato, eccezione fatta per l'esaclorocicloesano in cui vengono posti 12 individui.

RISULTATO. - (vedi tabella N. 2 p. 30).

Dopo 7' in 2° i chironomi sono in fase di deambulazione difettosa, dopo 10' questi stessi compiono lente ondulazioni. Dopo 20' si notano sofferenze e contorsioni nei chironomi trattati con 1°; dopo 30' irregolarità deambulatoria nelle larve trattate con 3°. Dopo 24 h. tutte le larve sono morte nel recipiente N. 1, morte di sette individui su 12 nel recipiente N. 2, 5 sono agonizzanti e debolmente reattive; nel recipiente N. 3 nessuna

(1) Trattasi di larve limicole e limnofile mature, alcune dotate della caratteristica colorazione rossa, altre invece verdicce.

larva è ancora morta, ma tutte sono incurvate e tremolanti debolmente reattive.

2) Velocità di intossicazione per le larve e per le ninfe di zanzara (*Culex pipiens* L.)

I^a Prova.

TECNICA. - Si preparano 4 vasi cilindrici di vetro contenenti ciascuno c.³ 1000 di acqua e 30 larve di zanzara di uguale età. Sullo specchio d'acqua di c.² 125, in ciascun vaso si distribuiscono omogeneamente mediante staccio di seta da buratto mg. 200 di preparato in esame contenente il 3% di clorurato ⁽¹⁾. Si confronta l'azione dei seguenti composti: 1° esaclorocicloesano; 2° diclorodifeniltricloroetano; 3° clorocanfene; 4° talco e acetone (controllo). Data: 28-VIII-1947. (V. tabella N. 4)

RISULTATO. - Dopo due h.. Nel 1° 8 larve sono morte, le altre giacciono al fondo assai sofferenti; e incapaci di sollevarsi da esso, neppure sotto stimolo di contatto a cui reagiscono con movimenti estremamente lenti.

Nel 2° tutte le larve giacciono al fondo molto sofferenti; stimolate con l'ago reagiscono fiaccamente alcune sollevandosi di pochi millimetri dal fondo, altre non staccandosene affatto.

Nel 3° 9 larve si trattengono ancora in superficie a respirare, le altre sono cadute al fondo, ma reagiscono con qualche vivacità agli stimoli puntori, rivelando minore inerzia che nei preparati N. 2 e N. 1. Dopo 24 h. tanto nel 1° che nel 2° e nel 3° tutte le larve sono morte. In 4° (controllo) sopravvivenza totale.

II^a Prova.

Identica tecnica, con estensione dello studio dell'effetto tossico alle ninfe e infittendo le osservazioni nel tempo. Si impiegano 30 larve e 10 ninfe e si confronta altresì l'azione dei clorurati con quella del solfocianato di potassio (solubile in acqua) che

⁽¹⁾ Adsorbito da talco con il metodo della soluzione acetonica.

Evaporato il solvente si macina in mortaio la massa crostosa formata e la si passa tre volte in un setaccio da buratto per renderla soffice, impalpabile, leggera e omogenea. L'aspersione dello specchio d'acqua viene fatta ancora a mezzo di staccio di seta da buratto in modo che tutta la superficie risulti omogeneamente impolverata.

viene pure adoperato adsorbito da talco al 3% (N. 4). Data: 22-VIII-1947. (V. tabella N. 5).

RESULTATO. - Dopo 30' nel 1° ($C_6H_6Cl_6$) 24 larve giacciono al fondo dove compiono lentamente movimenti sconnessi di contrazione dell'addome. Nel 2° ($C_{14}H_9Cl_5$) si osservano i primi sintomi di intossicazione con tendenza delle larve a trattenermi al fondo lungamente. Nel 3° ($C_{10}H_{10}Cl_8$) 10 larve vanno regolarmente in superficie a respirare, le altre abbandonano con minor frequenza il fondo. Dopo 2 h. nel 1° i sintomi della paralisi si fanno molto più manifesti, le 6 larve superstiti sono cadute pure esse al fondo. 2 ninfe appaiono paralizziate e stanno sul fondo.

Nel 2° 25 larve giacciono al fondo molto sofferenti, fiacche anche nel reagire agli stimoli di contatto le altre. Le ninfe non manifestano segni di intossicazione.

Nel 3° 20 larve restano sul fondo con sintomi di paralisi. Nessun manifesto segno patognomiconico nelle ninfe. Nel 4° 10 larve giacciono al fondo e compiono movimenti serpentiformi spontanei lenti. Dopo 20 h. si osservano altre 5 larve paralizziate in 2, e 4 nel 3°. Nel 4° tutte le larve sono morenti.

Dopo 24 h., nel 1° si ha la morte di tutte le larve e di 4 ninfe, tutti gli insetti perfetti che sfarfallano muoiono sulla superficie d'acqua impolverata (72^a h. circa).

Nel 2° tutte le larve sono morte, tutte le ninfe sono sopravvissute. Le imagini sfarfallate muoiono però tutte in superficie. (78^a h. circa).

Nel 3° morte di tutte le larve. Tutte le ninfe sono sopravvissute, ma tutti gli insetti perfetti sfarfallati muoiono in superficie (72^a h.).

Nel 4° tutte le larve sono morte, tutte le ninfe sono vive, e gli insetti che sfarfallano entro le 72 h. sono tutti vivi.

Nel 5° (controllo) per tutta la durata dell'esperimento nessuna sofferenza, nè per le larve, nè per le ninfe, le quali danno insetti perfetti vivi entro le 72 h.

III^a Prova.

TECNICA. - Si ricerca ora l'entità dell'effetto tossico con polveri di talco al 5%, anziché al 3% di clorurato.

Si ricorre ad un numero più elevato di soggetti e precisamente a 100 larve e a 30 ninfe. Dosaggio: cg. 20 di polvere su c.³ 125 di superficie e c.³ 1000 di acqua in recipienti così nu-

merati: 1° esaclorocicloesano; 2° diclorodifeniltricloroetano; 3° clorocanfene; 4° talco-acetone (controllo (1)). Data: 18-IX-1947. (Vedi tabella N. 6).

RISULTATO. - Dopo 20' nel 1° tutte le larve nuotano agitate nello spessore d'acqua, senza trattenersi in superficie.

Nel 2° qualche larva nuota nello spessore d'acqua. Nessun sintomo registrabile nel 3° e nel 4°. Dopo 30'. Nel 1° tutte le 100 larve sono al fondo dove compiono movimenti serpentiformi spastici, esse sono incapaci di sollevarsi dal fondo. Nel 2° tutte le larve nuotano agitate nello spessore d'acqua senza raggiungere la superficie. Nessuna sta al fondo paralizzata, 3 zanzare sono sfarfallate, 2 di queste appaiono paralizzate sul tappeto galleggiante di polvere. Nulla da rilevare nei recipienti 3° e 4°. Dopo 1 h.. Nel 1° le 100 larve che giacciono al fondo compiono movimenti più lenti, nessuna zanzara è sfarfallata. Nel 2° 70 larve si trattengono al fondo, da cui si sollevano di poco con fiacche flessioni dell'addome. Nel 3° nulla a carico delle larve, 4 zanzare sfarfallate di cui 3 incapaci di volare. Nel 4° nulla da rilevare per le larve e le ninfe, 4 zanzare sono sfarfallate.

Dopo 2 h. Nel 1° tutte le larve sono ormai incapaci di movimenti spontanei. 3 zanzare sfarfallate di cui 2 inerti ed una incapace di volare. Nel 2° 100 larve sono al fondo, dotate di lievi movimenti spontanei, consistenti in ondulazioni addominali (2). Nel 3° 75 larve si trattengono sul fondo dove compiono violenti scatti ondulatori dell'addome che le fanno sollevare di pochi millimetri. Nulla per il controllo ad eccezione di 4 zanzare sfarfallate.

Dopo 4 h. Nel 1°, sotto stimolo puntorio, 6 larve compiono contrazioni appena percepibili. Tutte le altre sono morte. 7 ninfe sono cadute al fondo dove compiono fiacche contrazioni, 8 restano

(1) In questa e nelle altre prove non viene ricercata la dose minima letale per gli stadi acquatici della zanzara, ma lo sviluppo dell'intossicazione. Thomas, citato da Slade (cfr. Bibl.) indica che una polvere al 10% di esaclorocicloesano tecnico disinfesta dalle larve di *Aedes aegypti* la superficie di un ettaro se usata in ragione di kg. 5/6.

(2) Si osserva in questa prova in cui sono state introdotte anche larve in giovane età che queste mostrano una notevole resistenza all'azione dei tre composti clorurati sperimentati. Esse rivelano più tardi delle larve mature i sintomi di paralisi, sono le ultime a cadere al fondo, le ultime a perdere totalmente ogni movimento.

assai sofferenti in superficie, tutte le altre alle percussioni delle pareti del recipiente reagiscono con brevi calate di pochi millimetri nello spessore dell'acqua, senza poter raggiungere il fondo. Nel 2°, sotto stimolo, si provocano deboli reazioni ondulatorie in 35 larve, le altre sono morte; 3 ninfe sono al fondo sofferenti, tutte le altre sono normalmente reattive a perturbamento per urto del mezzo liquido; 5 zanzare sono sfarfallate e sono paralizzate. Nel 3° si osserva che tutte le larve sono al fondo, 50 di esse mostrano delle contrazioni di reazione, le altre morte. Nel controllo 3 larve e 2 ninfe morte, altre 5 zanzare sono sfarfallate.

Dopo 12 h. Nel 1° nessuna larva dà più segno di vita, neppure se stimolata con ago; 90 ninfe restano in superficie, debolmente reattive alla percussione del recipiente; 7 sono decedute; nessun adulto è sfarfallato. Nel 2° tutte le larve sono morte; 4 ninfe sono pure morte, le rimanenti stanno in superficie, ma all'urto delle pareti del recipiente, raggiungono prontamente il fondo nuotando; nessun adulto è sfarfallato. Nel 3° si osserva debole reazione agli stimoli in 10 larve al fondo, tutte le altre sono morte; delle ninfe 2 sono morte al fondo, tutte le altre non tradiscono alcuna sofferenza; 12 zanzare sono sfarfallate. Nel controllo 13 adulti sono sfarfallati.

Dopo 24 h. Nel 1° giacciono al fondo 27 ninfe. Nel 2° si osservano 4 ninfe paralizzate in superficie, incapaci di raggiungere il fondo, tutte le altre si mostrano leggermente sofferenti; sono sfarfallate 2 zanzare che giacciono morte sulla polvere galleggiante. Nel 3° nessun'altra ninfa è morta, tutte le superstiti sono pronte a reagire agli stimoli di urto.

Dopo 48 h. nel 2° sono morte 10 ninfe, e 6 sono morenti in superficie; nel 3° sono decedute 6 ninfe e 2 agonizzano in superficie, 4 non si mostrano sofferenti. Nel controllo le ninfe sopravvissute non appaiono sofferenti.

IV^a Prova.

Si ripete la prova il 23/9 con un numero imprecisato (circa un centinaio) di ninfe, confrontando l'azione del diclorodifeniltricloroetano con quella del clorocanfene e disponendo il consueto controllo. I risultati che si sono ottenuti possono essere così schematizzati:

Diclorodifeniltricloroetano. Dopo 24 h. le ninfe si mostrano un po' meno reattive agli stimoli. Dopo 48 h. alcune sono para-

lizzate, la maggioranza non giunge al fondo sotto urto del recipiente. Dopo 72 h. il 90% delle ninfe è deceduto, le rimanenti sono ancora capaci di movimenti. Dopo 100 h. sopravvive una sola ninfa debolmente reattiva, 3 immagini sfarfallate e morte in superficie.

Clorocanfene. Dopo 24 h. nessun sintomo di intossicazione nelle ninfe. Dopo 48 h. quadro immutato, salvo il decesso di una piccola aliquota di individui. Dopo 72 h. si registra torpore intenso in tutta la popolazione ninfale. Dopo 100 h. sopravvivono 6 ninfe ancora vivacemente reattive; 20 adulti sfracallati, di cui 10 morti in superficie.

Controllo. Sopravvivenza generale delle ninfe fino alla 100^a ora. 50 adulti sfracallati di cui 2 morti in superficie.

V^a Prova.

La precedente prova viene ripetuta su un numero più elevato di larve e ninfe, infatti si sperimenta su 500 larve e 100 ninfe per ogni recipiente. Gli effetti vengono qui indicati in percentuali, approssimative non essendo stato possibile valutarli in unità a causa del numero elevato di esemplari in osservazione.

Tecnica della distribuzione e capacità dei recipienti come nelle precedenti prove. Data: 21-IX-1947.

RISULTATO. - Dopo 10' nel N. 1 il 25% delle larve nuota tra superficie e fondo con agitazione. Nel N. 2 il 5% delle larve si comporta in uguale modo. Nel N. 3 nessun sintomo rilevabile di sofferenza. Dopo 30' nel 1° il 75% delle larve trovasi al fondo con evidenti sintomi di paralisi in quanto incapaci di raggiungere la superficie. Nel 2° il 20% nuota nello spessore di acqua senza raggiungere la superficie. Nel 3° il 2% nuota nello spessore d'acqua e non tocca la superficie.

Dopo 1 h. Nel 1° tutte le larve giacciono al fondo, il 30% privo di movimenti spontanei, il 70% con piccole contratture. Nel 2° il 75% delle larve si trova al fondo con paralisi in atto, sebbene capaci ancora di movimenti serpentiformi energici. Nel 3° il 10% delle larve nuota tra superficie e fondo, il 2% è incapace di abbandonare il fondo. Dopo 2 h. nel 1° il 100% delle larve è morente al fondo, solo il 10% compie spontanee contrazioni deboli. Il 3% delle ninfe morenti. Nel 2° il 100% delle larve al fondo: il 30% privo di movimenti spontanei, il 70% con fiacche contrazioni fugaci.

Nel 3° il 70% delle larve al fondo capace di fiacchi ma

frequenti movimenti serpentiformi. Il 30% frequenta la superficie, ma appare sofferente.

Dopo 4 h. nel 1° nessun movimento spontaneo, il 30% non reagisce più agli stimoli. Nel 2° il 70% delle larve reagisce debolmente agli stimoli, il 30% non reagisce più; nulla a carico delle ninfe; sfarfallano 3 adulti che restano tosto paralizzati sulla superficie impolverata. Nel 3° il 90% delle larve giace al fondo, dove compie lentissimi movimenti spontanei. Il 10% è inerte agli stimoli; sfarfalla un adulto che riesce ad abbandonare la superficie a volo.

Dopo 12 h. nel 1° il 100% delle larve morto; il 50% delle ninfe rivela sintomi di intossicazione, (percuotendo il recipiente non si osserva infatti per questa quota la caratteristica calata al fondo). Sfarfallano 3 adulti che muoiono paralizzati sullo specchio di acqua.

Nel 2° il 100% delle larve morte; 3 altre immagini muoiono paralizzate. Nel 3° risulta ucciso il 95% delle larve; sfarfallano 10 adulti, 6 dei quali muoiono dopo aver abbandonata la superficie a volo.

Dopo 24 h. nel 1° l'80% delle ninfe è deceduto, il 20% è gravemente paralizzato; nessun'altra immagine sfarfallata.

Nel 2° il 98% delle ninfe sopravvive e scende prontamente al fondo per urto del recipiente.

Nel 3° il 100% delle larve è morto; nullo a danno delle ninfe; 3 zanzare sfarfallate muoiono in superficie.

Dopo 40 h. nel 1° sono ancora in vita 2 ninfe le quali sono capaci solo di debole reazione. Nel 2° sono morte 7 ninfe e 4 sono paralizzate.

Nel 3° ninfe paralizzate.

Nel controllo sopravvivenza generale delle larve e delle ninfe (solo 10 larve e 1 ninfa sono morte) per tutta la durata dell'esperimento. Sono sfarfallati 49 adulti tutti vivi (1).

(1) I recipienti adoperati per questa prova, lavati poi in acqua corrente con abbondante sapone sodico e asciugati, risultano ancora letali per le larve di zanzara che vengono introdotte con acqua nuova, secondo i seguenti valori cronometrici:

Esaclorocicloesano: su 100 larve 95 muoiono entro 3 h.; su 30 ninfe nessun decesso entro questo periodo.

Diclorodifeniltricloroetano: su 100 larve 30 muoiono entro 3 h.; tutte le altre paralizzate; su 30 ninfe nessun decesso entro questo periodo.

Clorocanfene: su 100 larve 4 muoiono entro 3 h.; 96 paralizzate; su 30 ninfe nessun decesso entro questo periodo.

3) Azione tossica sulle uova di zanzara (*Culex pipiens* L.)

TECNICA. - In capsule Petri del diametro di cm. 12 contenenti c.³ 100 di acqua vengono poste N. 2 masserelle di uova, e quindi si impolvera la superficie d'acqua con dg. 5 di talco al 5 % di clorurato. Si ha cura di fare cadere la polvere abbandonatamente sulle barchette galleggianti di uova. Si confronta l'azione dell'esaclorocicloesano (1) del diclorodifeniltricloroetano (2) e del clorocanfene (3); serve per controllo talco-acetone (4). Data: 20-IX-1947.

RISULTATO. - Dopo 3 h. sono schiuse in una cinquantina di larvule; 2 terzi di queste giacciono al fondo, 1 terzo ondeggia morente sotto il tappeto galleggiante di polvere. In 2° sono schiuse una 70^a di larvule, 1 terzo giace al fondo, le rimanenti si trattengono sotto il velo pulverulento galleggiante nuotando con vigore. In 3° della 70^a di larvule schiuse, 10 sono al fondo, le altre si comportano come quelle del 2°; in 4° una 80^a di larvule schiuse, tutte vivaci. Dopo 24 h. si notano: in 1° 105 larvule tutte morte al fondo; in 2° 173 larvule tutte morte al fondo; in 3° 160 larvule morte al fondo; in 4° 180 larvule vivaci e natanti in superficie.

4) Velocità di azione sulle zanzare adulte (*Culex pipiens* L.)

A) Per nebulizzazione.

TECNICA. - Si pongono 3 cilindri di vetro pieni di acqua pululante di ninfe sotto 3 gabbiette di garza di cm. 30 × 30 × 30. Dopo 2 giorni, quando ciascuna gabbia ospita circa 200 zanzare sfarfallate dai predetti recipienti, si tolgono questi ultimi e si nebulizzano in ciascuna gabbia dall'esterno, a distanza di 90 cm., cm.³ 0.5 di una soluzione al 6 % di principio attivo clorurato in petrolio raffinato. Si esperimentano i seguenti preparati: 1° diclorodifeniltricloroetano; 2° clorocanfene; 3° petrolio. Data: 23-VIII-1947. (V. tabella N. 7).

RISULTATO. - Tutte le zanzare vengono abbattute quasi istantaneamente sia in 1° che in 2° che in 3°.

Dopo 30' in 1° tutti gli individui sono morti; in 2° 161 individui sono morti, 30 muovono fiaccamente le zampe e le antenne, e l'apparato boccale; in 3° 60 individui sono morti e gli altri agitano le zampe, le antenne e l'apparato boccale.

Dopo 1 h. in 2° 7 individui mostrano ancora reazioni appena rilevabili; in 3° 97 zanzare sono morte, le altre 133 agitano lie-

vemente le zampe. Dopo 2 h. morte totale in 2°; morte di 179 zanzare in 3°.

B) *Per contatto.*

TECNICA. - In scatole di vetro cilindriche del diametro di 45 mm. e alte 30 mm., con coperchio piano ad incavo smerigliato, che avevano contenuto fino a 48 ore prima una soluzione acetonica al 5 % di clorurato adsorbita da talco, si introducono a più riprese 100 femmine adulte, appena sfarfallate dagli allevamenti in ogni scatola. Si segue la velocità della comparsa dei sintomi di intossicazione per i seguenti composti: 1° esaclorocicloesano; 2° diclorodifeniltricloroetano; 3° clorocanfene; 4° talco-acetone (controllo). Data: 19-22-IX-1947.

RISULTATO. - Per semplificare, i risultati vengono riassunti direttamente nella seguente tabella comparativa:

Esaclo- rocicloesano	Diclorodifenil- tricloroetano	Clorocanfene	Controllo
Dopo 2' le zanzare volano agitate			
Dopo 5' 25 si rovesciano, volano e tornano a ribaltarsi	Dopo 5' volano agitate		
Dopo 7' 75 altre si rovesciano	Dopo 7' 40 si rovesciano	Dopo 7' volano agitate	
Dopo 15' muoiono solo lievemente le zampe a scatti	Dopo 15' 60 si rovesc., le prime flettono a scatti le zampe e frullano le ali	Dopo 20' 50 si rovesciano Dopo 30' ancora 50 si rovesciano	
Dopo 1 h. e 30' sono incapaci di movimenti spontanei	Dopo 1 h. e 30' flettono a scatti le zampe	Dopo 1 h. e 30' flettono continuamente le zampe	
Dopo 3 h. 20 muoiono con le zampe flesse			
Dopo 6 h. 80 muoiono c. s.	Dopo 6 h. 80 muoiono con le zampe flesse	Dopo 6 h. 10 muoiono con le zampe flesse	
	Dopo 7 h. 20 muoiono con le zampe flesse	Dopo 7 h. 90 muoiono con le zampe flesse	Dopo 7 h. 2 muoiono rovesciate

Riassunto e conclusioni.

Non è dalle singole prove che si può desumere una conclusione sulla effettiva tossicità dei clorurati presi in esame, stante il numero per lo più esiguo dei soggetti trattati volta per volta per l'indagine dei sintomi tossicologici, ma è del complesso degli esperimenti che si possono dedurre i seguenti elementi informativi.

I composti clorurati in esperimento, usati alla concentrazione del 5% in talco in ragione di mg. 10 di talco trattato per c.³ 700 di acqua, avente una superficie di c.² 125, non esplicano alcuna azione tossica letale, per il *ciprino dorato* anche se si fa durare il soggiorno dei pesci nell'ambiente trattato per almeno 17 giorni.

Dosi di 70 mg. di talco al 5% di clorocanfene, risultano invece letali per il *carassio dorato* entro 3 giorni. A questa dose l'esaclorocicloesano (con il 12-14% di gamma stereoisomero) e l'octaclorometanotetraidroidano non inducono la morte che dopo nove giorni mentre i primi sintomi patognomonicamente di intossicazione compaiono già dopo tre ore. Il diclorodifeniltricloroetano suscita a tale dose i primi lievi sintomi di avvelenamento solo dopo circa 40 h.; a dosi più elevate, anche se a minor concentrazione, (da 160 a 700 mg; di talco al 3% di clorurato) l'esaclorocicloesano induce fatti di intossicazione al 45' e provoca la morte dopo circa 5 ore, mentre il clorocanfene intossica il pesce dopo un'ora, e lo mena a morte dopo 7 ore.

Il diclorodifeniltricloroetano a queste dosi non sembra scatenare un quadro tossicologico evidente, almeno per 150 ore.

Nel complesso il clorocanfene risulta essere il più tossico dei clorurati da noi sperimentati sul *ciprino dorato*, seguito dall'esaclorocicloesano (1), e dell'octaclorotetraidroidano; il diclorodifeniltricloroetano appare il meno tossico o comunque il più lento ad agire. Rilievo di notevole importanza pratica.

I risultati raggiunti con le prove sulla *gambusia* sono di difficile interpretazione per la loro relativa incostanza dovuta, da

(1) THOMAS (1945) trova che « sui pesci rossi la saturazione in isomeri α e β non dà luogo ad alcuna osservazione, mentre l'isomero δ li ha leggermente disturbati. Nel corso degli stessi esperimenti l'isomero γ si è rilevato tossico alla dose di 1 mg. per litro ».

una parte alle differenti dimensioni dei soggetti trattati, alle variazioni di temperatura, e alla differente quantità di cibo ingerito, dall'altra alla insolubilità in acqua del talco adsorbente i clorurati che in tale modo non agivano sempre in modo uniforme sui soggetti stessi.

D'altra parte, poichè in pratica si ricorre appunto alla distribuzione di polveri galleggianti imbibite di clorurato, a questa tecnica ci si doveva attenere per avere qualche elemento orientativo. Emerge, peraltro, in modo molto palese che il clorocanfene risulta essere di gran lunga il clorurato più tossico per la gambusia: distribuendo infatti su 2 litri di acqua (con una superficie di 500 c.²) mg 0,5 di talco al 5% di principio attivo, si ha entro 4 giorni la morte dei pesci. A questa dose l'octaclorometanotetraidrodindano, l'esaclorocicloesano e il diclorodifeniltricloroetano non si rivelano tossici anche con un soggiorno dei pesci prolungato per 22 giorni in ambiente trattato. L'octaclorometanotetraidrodindano provoca mortalità in gambusia alla dose di mg. 1 al 5% di principio attivo; i superstiti però (10° di temperatura) sopravvivono per almeno 22 giorni dopo aver palesato un torpore iniziale sintomo di intossicazione che viene superato.

L'esaclorocicloesano è tossico per la gambusia a dosi discretamente piccole; peraltro, distribuendo una polvere inerte che lo contiene al 5% in ragione di cg. 20 per 2 litri di acqua, non si osserva un quadro di intossicazione almeno nei primi 6 giorni (1).

Distribuendo dg. 2 di polvere al 5% in 2 litri di acqua tutti i composti sperimentati risultano letali per la gambusia, con eccezione per il diclorodifeniltricloroetano, che a questa dose non uccide sempre regolarmente il pesce, come risulta dalla prima e dalla nona prova. A questa dose il clorocanfene uccide le gambusie entro 27 h., l'esaclorocicloesano, il diclorodifeniltricloroetano, e l'octaclorotetraidrodindano solo entro 22 giorni.

È interessante rilevare che mentre i sintomi di intossicazione provocati da clorocanfene si manifestano assai precocemente ed evolvono con rapidità fino all'esito letale, l'andamento della curva tossicometrica da esaclorocicloesano è assai prolungata poichè il quadro sintomatologico che esso scatena è tardo ad apparire e si

(1) Teniamo a precisare che i risultati esposti nel presente lavoro si riferiscono esclusivamente ai composti tecnici fornitici; essi sono quindi validi solamente per i preparati clorurati avuti in esame.

sviluppa poi con estrema lentezza, mostrandosi passibile di remissioni temporanee per cambiamento di ambiente. Caratteristica poi è la reazione parossistica con guizzi violenti per lieve percussione delle pareti del recipiente e del substrato di appoggio.

Le indagini tossicometriche su clorurati nei confronti di crostacei acquatici consentono di trarre le seguenti osservazioni orientative:

Per ciò che si riferisce alla velocità della comparsa dei primi sintomi patognomonici di intossicazione, in *Asellus aquaticus* L., *Daphnia* sp., *Cyclops* sp. e *Cypris* sp. l'esaclorocicloesano è di norma il primo ad agire, seguito per lo più (*Asellus*, *Cypris* e *Cyclops*) dapprima dal clorocanfene, e poi dal diclorodifeniltricloroetano e infine dall'octaclorometanotetraidrocindano.

Talvolta, per ciò che riguarda invece il decesso, questo si registra prevalentemente con anticipo in clorocanfene (*Cypris* e *Asellus*) poi in esaclorocicloesano, e poi in diclorodifeniltricloroetano, e infine in octaclorometanotetraidrocindano. Emerge altresì che *Cypris*, *Cyclops* e *Daphnia* rivelano grande resistenza all'azione dei clorurati. Consimile quadro tossicologico si osserva nei confronti dei vermi rossi della specie *Lumbriculus variegatus* Gr. contro i quali il clorocanfene agisce, per quello che risulta da queste prove, con lieve anticipo sull'esaclorocicloesano e sul diclorodifeniltricloroetano per effetto letale.

Più lento risulta essere sempre l'octaclorometanotetraidrocindano.

Dai primi esperimenti comparativi sulle larve di *Chironomus* sp. risulta che l'esaclorocicloesano rivela rapidamente la propria azione tossica; si deve però rilevare l'elevata tossicità del clorocanfene che in qualche caso risulta superiore a quella dell'esaclorocicloesano. Il diclorodifeniltricloroetano si mostra meno veloce dei due composti sopracitati per tossicità verso questo insetto.

Fra i composti clorurati posti a confronto l'esaclorocicloesano è il più veloce ad agire, soprattutto per ciò che riguarda la precocità della comparsa dei sintomi di intossicazione anche contro le larve di *Culex pipiens* L. (1).

(1) Grande importanza rivela il fattore galleggibilità in prove del genere; se infatti la polvere cui è stato fatto adsorbire il clorurato (bentonite, fosforite, argilla, ecc.), cade al fondo o floccula nell'acqua restando in sospensione, l'intossicazione e la morte sopraggiungono as-

Seguono il diclorodifeniltricloroetano e il clorocanfene, dei quali però il primo gode di velocità di azione maggiore. Alla 24^a h., peraltro la mortalità delle larve è totale anche per il secondo; nè l'uno nè l'altro rivelano azione tossica così rapida contro le ninfe quanto quella che si osserva per l'esaclorocicloesano.

Circa l'azione dei clorurati in esperimento contro le ninfe, devesi concludere che essi esplicano azione ninficida se usati con dosaggi elevati e in ambienti molto limitati e senza ricambio dell'acqua. In queste condizioni l'esaclorocicloesano si rivela nettamente come il più veloce e il più attivo, seguito con qualche distanza dal diclorodifeniltricloroetano e infine dal clorocanfene.

Risulta inoltre da queste prove che quando gli insetti perfetti sfarfallano dalle ninfe sulla superficie d'acqua ancora omogeneamente impolverata con i clorurati muoiono in elevata percentuale. Questo avviene anche per il clorocanfene.

Il solfocianato di potassio agisce sciogliendosi nella massa liquida; la diluizione gli fa perdere in tal modo l'azione tossica contro le zanzare, che sfarfallano sulla superficie con esso impolverata.

La prova unica sulle uova di zanzare porterebbe alla constatazione che i clorurati di cui sopra non esplicano azione ovidica degna di rilievo, per lo meno in germi prossimi a schiusura, neppure se distribuiti in misura straordinariamente elevata sulle masse galleggianti. Essi menano però a sicura morte tutte le larvule che ne schiudono; l'esaclorocicloesano con velocità maggiore del diclorodifeniltricloroetano e del clorocanfene.

sai più veloci e massive anche con gli altri clorurati sperimentati. È da rilevare che le prove da noi eseguite con l'esaclorocicloesano adsorbito al 5% in polvere non galleggiante (bentonite) dimostrano che il preparato distribuito su una superficie di cm.² 125 alla dose di etg. 20 in recipienti della capacità di cm.³ 500 conduce a morte il 100% delle ninfe entro 24 h. Al contrario, l'impiego di esaclorocicloesano di preparazione non molto recente (10/12 mesi addietro) porta a risultati non dissimili da quelli che si ottengono con il diclorodifeniltricloroetano, ugualmente stagionato. Infine ci è risultato che polveri dotate di alta galleggibilità (tale da consentire l'immediato ritorno in superficie delle particelle anche dopo lungo scuotimento dell'acqua, ma con titolo elevato in esaclorocicloesano (10% di 666 con 14% di stereoisomero γ) menano a morte il 100% delle larve di zanzara entro h. 1,15 e il 100% delle ninfe entro 8 h. se asperse in ragione di gr. 1,00 per cm.² 400 di superficie in recipiente contenente litri 3 di acqua.

Per quanto si riferisce all'azione sulle zanzare adulte con spruzzi di petrolio contenenti disciolto al 6% il principio attivo, confronto fra diclorodifeniltricloroetano e clorocanfene mostra essere il secondo un po' più lento del primo ad agire, ma capace di portare ugualmente a morte il 100% degli insetti entro 2 h..

Anche il contatto di zanzare adulte con superfici trattate con soluzione acetonica di clorurato adsorbito al 5% da talco, rivela la scalarità di azione che erasi potuta stabilire nelle prove per spruzzo. Più veloce risulta, ancorchè di lieve misura, l'esaclorocicloesano, intermedio il diclorodifeniltricloroetano, più lento il clorocanfene, tutti i tre clorurati sono letali per l'insetto per semplice contatto.

Concludendo dunque, la sperimentazione tossicometrica descrittiva di un gruppo di insetticidi clorurati su alcuni esponenti limnofili consente di stabilire una certa scalarità di azione da parte dei composti carbodeidroalogenati sui singoli termini delle biocenosi stesse. Nella necessità di ricorrere a disinfestanti da applicarsi in raccolte d'acqua molto limitate per volume e con debole o mancante ricambio d'acqua (risaie, vasche, piccoli bacini popolati da pesciame, ecc.) sarebbe utile tener conto, oltre che dei dosaggi, anche della tossicità relativa dei preparati che possono in certa guisa incidere in varia misura sui rapporti biologici dei limnobionti.

*Presentato e approvato alla seduta del
29 novembre 1947 — della Società
Italiana di Scienze Naturali. Milano*

TABELLA N. 1

Data	Sostanza	Concentrazione sostanza	Quantità preparato mg.	Volume acqua c. ³	Superficie acqua c. ²	Numero pesci <i>Carassius auratus</i>	Sintomi di intossicazione dopo			Morti dopo ore				Totale morti	
							15'	45'	1 h.	4,45	7	9	20		156
11-VIII-1947	C ₆ H ₆ Cl ₆ 1	3 %	700	1000	125	2	2	1			1			2	
»	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ 2	»	»	»	»	2								2	
»	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₈ 3	»	»	»	»	2			1					2	
»	Talco 4	»	»	»	»	2								2	
13-VIII-1947	C ₆ H ₆ Cl ₆ 1	»	300	»	»	2						1		2	
»	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ 2	»	»	»	»	2								2	
»	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₈ 3	»	»	»	»	2						2		2	
»	Talco 4	»	»	»	»	2								2	
18-VIII-1947	C ₆ H ₆ Cl ₆ 1	»	150	»	»	2	(2)	2					2	2	
»	C ₁₄ H ₉ Cl ₅ 2	»	»	»	»	2								2	
»	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₈ 3	»	»	»	»	2			2			1		2	
»	KONS	»	75	»	»	4								1 (1)	
»	KONS	in H ₂ O	750	»	»	4								1 (1)	
»	Talco	»	»	»	»	2								1 (1)	

(1) Morto all'80a ora.

TABELLA N. 2

Data	Sostanza	Concentrazione	Quantità preparato mg.	Volume acqua c. ³	Superficie acqua in c. ²	N. <i>Asellus</i>	N. <i>Daphnia</i>	N. <i>Lumbriculus</i>	N. <i>Chironomus</i>	N. <i>A. aquaticus</i>	Numero progressivo degli <i>A. aquaticus</i> in posizione supina dopo minuti										Morti dopo ore 24		
											6	7	12	15	20	30	45	75	120	180		420	Morti dopo ore 24
											Morti dopo ore 24												
30-VII-1947	$C_6H_6Cl_6$	1,43% talco	300	300	95	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20	31	
31-VII-1947	$C_6H_6Cl_6$	1,43%	"	"	"	31	2	15	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	
31-VII-1947	$C_6H_6Cl_6$	1,43%	"	"	12	20	2	15	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	31	
30-VII-1947	$C_{14}H_9Cl_5$	1,43%	"	"	"	20																27	
31-VII-1947	$C_{14}H_9Cl_5$	1,43%	"	"	"	31																27	
31-VII-1947	$C_{14}H_9Cl_5$	1,43%	"	"	"	10																27	
30-VIII-1947	$C_{10}H_{10}Cl_8$	1,43%	"	"	"	20																35	
31-VII-1947	$C_{10}H_{10}Cl_8$	1,43%	"	"	"	35																35	
31-VII-1947	$C_{10}H_{10}Cl_8$	1,43%	"	"	"	10																35	
30-VII-1947	talco acetone		"	"	"	10																4	

TABELLA N. 3

Data	Sostanza	Concentrazione	Quant. preparato mg.	Volume acqua in c. ³	Superficie acqua in c. ²	N. <i>Asellus</i>	N. <i>Daphnia</i>	N. <i>Lumbriculus</i>	<i>Asellus</i> con atassio locom. dopo ore (a. progressivo)					<i>Asellus</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Lumbriculus</i>	<i>Asellus</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Lumbriculus</i>	<i>Asellus</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Lumbriculus</i>	<i>Asellus</i>	<i>Daphnia</i>	<i>Lumbriculus</i>	Graduatoria dopo ore 45
									1	2	3	15	Morti dopo ore 45													
									Morti dopo ore 52	Morti dopo ore 68	Morti dopo ore 75															
11-XII-47	$C_6H_6Cl_6$	5% in talco	2	200	28,26	5	2	2	5	3	1	5	2	2	4	2	3	2	4	4	2	2	4	2	4	2°
11-XII-47	$C_{14}H_9Cl_5$	5%	"	"	"	5	2	2	5	2	1	5	2	2	4	2	3	2	4	4	2	2	4	2	3°	
11-XII-47	$C_{10}H_{10}Cl_8$	5%	"	"	"	5	3	5	5	5	2	5	2	2	4	2	5	2	4	4	2	2	4	2	1°	
11-XII-47	$C_{10}H_{10}Cl_8$	5%	"	"	"	5	2	5	5	5	2	5	2	2	4	2	5	2	4	4	2	2	4	2	4°	
11-XII-47	Talco	5%	"	"	"	5	2	5	5	5	2	5	2	2	4	2	5	2	4	4	2	2	4	2	4°	

Data	Sostanza	Concentrazione sostanza	Quantità preparato (mg.)	Volume acqua c. ³	Superficie acqua c. ³	N. larve zanzara	N. ninfe zanzara	Larve paralizzate dopo ore					Larve morte dopo ore		Ninfe paralizzate dopo ore		Ninfe morte dopo ore			Adulti sfarfallati (40 ore)
								0,30	1	2	4	4	12	4	12	4	12	24	48	
18-IX-1947	C ₆ H ₆ Cl ₆	5 %	200	1000	125	100	30	100												3
18-IX-1947	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	5 %	"	"	"	100	30	70	100											14
19-IX-1947	C ₁₀ H ₁₀ Cl ₈	5 %	"	"	"	100	30		75	100										16
18-IX-1947	Talcoacetone	"	"	"	"	100	30													23

(3)

TABELLA N. 7

Data	Sostanza	Concentrazione	Quantità del preparato (c. ³)	Distanza della gabbia dallo sprizzatore (cm.)	N. zanzare adulte	Zanzare morte dopo ore			Totale morti
						0,15	1	2	
23-IX-1947	$C_{14}H_9Cl_5$	6 ‰	0,5	90	200	200			200
23-IX-1947	$C_{10}H_{10}Cl_8$	»	»	»	200	161	193	200	200
23-IX-1947	Petrolio	»	»	»	200	60	97	179	179

CENNO BIBLIOGRAFICO

- BISHOPP F. C. — *New Insecticides*. Agr. Chem 1 (6) pp. 19-22, 39 40 (1946).
- BLISS C. J. — *The calculation of the dosagemortality curve*. Ann. App. Biol. 22, p. 134-167 (1935).
- BRU M. — *Nouveaux emplois insecticides de l'hexachlorocyclohexane*. C. R. Acad. Agr. France. N. 18, p. 771-72 (1946).
- DEONIER CHRISTIAN C., JONES HOWARD A., INCHO HARRY H. — *Organic compounds effective against larvae of Anopheles quadrimaculatus laboratory tests*. Journ. Econ. Ent. 39, p. 459-462 (1946).
- DONALD E. FREAR — *Chemistry of insecticides and fungicides*. Chapman. Hall, 300 pp., London (1943).
- ELLIS M. M., WESTFALL B., ELLIS M. D. — *Toxicity of the Dieldrin (DDT) to Goldfish and Frogs*. Science, vol. 100, N. 2604, 24 nov., p. 477 (1944).
- GUILHON J. — *Recherches sur les propriétés insecticides et sur la toxicité de l'hexachlorocyclohexane*. C. R. Ac. Agr. N. 18, p. 158-164 (1946).
- *Propriétés insecticides des isomères de l'hexachlorocyclohexane*. Op. cit., N. 18, p. 754-760 (1946).
- KEARNS C. W., INGLE L. and METCALF — *A new chlorinated hydrocarbon insecticide*. Journ. Econ. Ent. 38, p. 661-668 (1946).
- KLING A. — *Insecticides modernes - Genèse de la découverte du DDT - Etudes le concernant*. Chimie et Industrie, V. 67, N. 1, p. 22-30 (1947).
- LAUER P., MARTIN N. et MULLER P. — *Sur les constitutions et l'action toxique des produits insecticides naturels et synthétiques nouveaux*. Helv. Chim. Acta 27, p. 392-928 (1944).
- LETARD H., DE SACY C. S. — *Etude toxicologique du benzène hexachloré*. C. R. Soc. Biol. 139, p. 353 (1945).
- MORETTI G. P. — *Esperimenti di lotta contro l'idrocampa delle risaie (DDT ed altri composti)*. Boll. Zool. Agr. Bachic. Università Milano, Vol. XIII, F. III, pp. 36 (1945).
- *Azione tossica di alcuni composti clorurati contro l'idrocampa delle risaie*. « Riscicoltura », Vercelli (febr. 1948) (in corso di pubbl.).
- PARKER L., BEACHER J. — *Toxaphene a chlorinated Hydrocarbon with insecticidal properties*. Univers. Delaware Agr. Exp. Station Bull. 264, 26 pp. (febr. 1947).

- RAUCOURT M., VIEL G. — *Propriétés insecticides de l'héxachlorocyclohexane*. C. R. Acad. Agr. France, t. 31, p. 558-59 (1945).
- RAUCOURT M., BEGUÉ H. — *Essais de laboratoire sur l'héxachlorocyclohexane et ses dérivés*. Ann. Epphyt. (1946).
- RAUCOURT M., BOUCHET R. L. — *Un nouvel insecticide de synthèse: l'héxachlorocyclohexane*. Chimie et Industrie. Vol. 56, N. 6, p. 449-455 (1946).
- SERRA A. — *Azione del DDT sulle larve degli Anofelini*. Riv. Malariologia, Vol. XXVI, N. 1, p. 31-33 (1947).
- SHAW H. — *The new insecticides DDT and benzen héxachloride and their significance in agriculture*. J. R. Agr. Soc. 106, p. 204-220 (1945).
- SLADE R. — *The gamma isomer of benzen héxachloride*. Chem. Trade J. 116, p. 279-281 (1945).
- STEARNS L. A., PARKER W., LE ROY and LYNCH E. E. — *Results with 3956 (a chlorinated-bicyclic terpene) as a mosquito larvicide*. Proc. Ann. Meeting N. J. Mosq. Exterm. Assoc. 33 (1946).
- STEARNS L. A. — *Progress report on a new insecticide*. Soap and Sanitary Chemicals 23 (1) pp. 117, 119, 141 (1947).
- TREVAN J. W. — *An apparatus for the measurement of small quantities of fluids*. Lancet. (London) 202, p. 786 (1922).
- VAYSSIEU P. — *Conférence internationale pour la protection des denrées*. C. R. Ac. Agr. Fr. 28, XII (1945).
- VIEL G. — *Etudes de laboratoire sur l'efficacité des substances chimiques envers les hannetons et leurs larves*. C. R. Acad. Agr. France t. 32, N. 18, p. 804-807 (1946).
- WATERS H. A. — *Methods and equipment for laboratory studies of insecticides*. Journ. Econ. Entom., 30, p. 179-203 (1937).
- WILLAUME C. F. — *Les propriétés insecticides de l'héxachlorure de benzène*. Centre de perfect. technique (conf. 1946).