

VALUTAZIONE DEI LIVELLI DI REPELLENZA E DELLA TOSSICITÀ DI INSETTICIDI NEONICOTINOIDI SU *APIS MELLIFERA LIGUSTICA*

M. FANTI, R. MAINES, G. ANGELI

Istituto Agrario San Michele all'Adige via E. Mach, 1, 38010 S. Michele all'Adige (TN)
marco.fanti@iasma.it

RIASSUNTO

Sono state eseguite indagini in tunnel allo scopo di valutare il livello di selettività e di repellenza degli insetticidi Neonicotinoidi Actara, Calypso, Epik e Confidor, nei confronti di *Apis mellifera* L.. Ciascun insetticida è stato studiato all'interno di tunnel di superficie 19,8 m², seminati con la crucifera *Phacelia tanacetifolia*, suddivisi in sei parcelle omogenee. All'interno di ciascun tunnel è stata sistemata una colonia di api. Lo studio prevedeva l'esecuzione di un unico trattamento insetticida, durante la fioritura di facelia e limitato a tre delle sei parcelle del tunnel, secondo un disegno a blocchi randomizzati. Sono stati considerati i parametri di repellenza sulle api bottinatrici, la mortalità e lo stato di salute generale della colonia. L'indagine ha evidenziato delle sostanziali differenze fra gli agrofarmaci studiati e fra questi Epik ha manifestato un buon grado di selettività, sia in rapporto alla tossicità che alla repellenza.

Parole chiave: insetticidi neonicotinoidi, *Apis mellifera*, repellenza, tossicità

SUMMARY

EVALUATION OF THE REPELLENCY AND ACUTE TOXICITY OF NEONICOTINOID INSECTICIDES ON *APIS MELLIFERA LIGUSTICA*.

Semifield trial has been carried out to evaluate the side effects of the Neonicotinoids insecticides Actara, Calypso, Epik and Confidor on *Apis mellifera* L.. Five tunnel, one included for the control, of 19.8 m² width were sown with a *Phacelia tanacetifolia* crop. Each tunnel was divided in six plots of 3.3 m² and one hive of about 7000±500 bees was positioned inside some days before the spray; the investigations have been conducted applying one spray per treatment during bloom on three of the six plots in a randomized design. The parameters assessed were the repellency of foraging honeybees, the mortality and health condition of broods. The investigation showed a relevant difference of the selectivity level of the Neonicotinoids and Epik resulted less toxic than the others.

Keywords: neonicotinoid insecticides, *Apis mellifera*, repellency, toxicity

INTRODUZIONE

Il rapporto che lega l'ape e l'agroecosistema frutteto da sempre costituisce motivo di preoccupazione poiché contrappone alle importanti azioni svolte dall'ape, nell'impollinazione e nel bottinaggio, l'esigenza di difesa fitoiatrica delle colture per la gestione di numerosi problemi fitosanitari.

Il meleto è senz'altro da considerare molto problematico in questo senso poiché viene sottoposto a numerosi trattamenti fitosanitari. Particolare attenzione deve essere posta nella gestione fitosanitaria in vicinanza della fioritura, sia pre che post-fiorale. Un fitofago importante del melo da gestire durante questo periodo è da considerare l'afide *Dysaphis plantaginea* Pass., il cui controllo si basa prevalentemente sulla esecuzione di trattamenti in vicinanza della fioritura. Nell'ambito degli insetticidi a base aficida i neonicotinoidi sono una classe relativamente recente ma estremamente efficace per il loro controllo (Tomizawa e Casida, 2003). Attualmente sul mercato sono da annoverare i pp.aa. imidacloprid, acetamiprid

e thiamethoxam, disponibili in varie formulazioni. Un ulteriore insetticida neonicotinoido è rappresentato da thiacloprid, che pur non essendo un aficida specifico risulta attualmente utilizzato in melicoltura verso *Cydia pomonella* (L.) già nel periodo primaverile. Gli insetticidi neonicotinoidi hanno in comune un meccanismo di penetrazione di tipo sistemico, agiscono a livello dei recettori nicotinici dell'acetilcolina.

Allo scopo di esaminare i livelli di repellenza e di mortalità di questo gruppo di insetticidi verso le colonie di *Apis mellifera ligustica*, sono state eseguite delle prove in campo, in tunnel (semicampo) e in laboratorio. Con il presente lavoro si intende presentare alcuni dei risultati ottenuti nelle prove di semicampo.

MATERIALI E METODI

Il livello di repellenza verso popolazioni di api bottinatrici è stato determinato in tunnel, in presenza di cotico fiorito e di colonie di api. Sono state considerate cinque tesi, quattro neonicotinoidi (Actara, Calypso, Epik, Confidor), ed un testimone trattato con acqua (tabella 1). Per ciascuna tesi è stato allestito un tunnel, di dimensione $6,6 \times 3 \times 2,2$ metri, coperto con rete antiafide. Il terreno dei tunnel è stato lavorato, seminato con la crucifera *Phacelia tanacetifolia* (var. Balo) e coltivato sino a ottenere piante fiorite, sulle quali è stato eseguito il trattamento. Alla fioritura della facelia la superficie di ciascun tunnel, corrispondente a $19,8 \text{ m}^2$ è stata suddivisa in sei parcelle di dimensioni $3,3 \text{ m}^2$. Tre parcelle sono state trattate con uno dei fitofarmaci allo studio mentre le restanti tre aree non sono state trattate, secondo uno schema sperimentale a blocchi randomizzati.

Cinque giorni prima del trattamento insetticida è stata collocata all'ingresso di ciascun tunnel una colonia di api, costituita da circa 7000 ± 500 esemplari (6 telaini); le api provenivano da alveari dell'apiario IASMA e tutte godevano di un buon stato sanitario. I trattamenti insetticidi sono stati eseguiti in data 20/07/20005; durante i trattamenti e nelle due ore successive alle bottinatrici non era stato consentito di uscire dall'arnia e di bottinare sui fiori.

Sia nei giorni antecedenti il trattamento (da T-3 gg) che in quelli successivi (sino a T+4 gg), sono stati eseguiti i rilievi sulla mortalità e sul comportamento delle bottinatrici; i principali parametri valutati sono stati: la mortalità delle api, l'attività alimentare delle bottinatrici sulle aree trattate e non trattate oltre a controlli di entrata e uscita in arnia, il livello di covata, il peso dell'arnia. La metodologia generale adottata fa riferimento alle linee guida EPPO/OEPP, 1992, "Guideline on test methods for evaluating the side-effects of Plant Protection Products on Honeybees".

Tabella 1 - Fitofarmaci impiegati, composizione e dosi saggate; gli insetticidi, diluiti in acqua, sono stati applicati sulla vegetazione fino al gocciolamento corrispondente ad un volume di miscela pari a $12 \pm 0,5 \text{ hl/ha}$

Tesi	p.a.	Composizione (% p.a.)	ml/hl
Testimone	acqua	-	-
Actara	thiamethoxam	25	30
Calypso	thiacloprid	40,4	25
Epik	acetamiprid	20	37,5
Confidor	imidacloprid	17,8	20

RISULTATI

Attività di mortalità e di repellenza dei fitofarmaci: la figura 1 e la tabella 2 riassumono l'attività di bottinaggio delle api nelle aree trattate (in seguito AT) e nelle aree non trattate (in seguito ANT) di ciascuna tesi, nei giorni precedenti e successivi il trattamento.

Si rileva che nella tesi Testimone la frequentazione di api, con relativa attività alimentare, fra aree trattate con acqua e non trattate risulti statisticamente non diversa nel corso dei rilievi, sia in pre-trattamento ($p=0,0688$) che in post-trattamento ($p=0,3683$). Come era da attendersi, l'assenza di mortalità e di repellenza legata al trattamento con acqua non ha condizionato la distribuzione della popolazione di api bottinatrici che risultava caratterizzata da un buon livello di omogeneità di distribuzione su tutta la superficie a facelia, sia prima che dopo il trattamento.

Anche nelle tesi trattate con neonicotinoide (tesi 2, 3, 4 e 5) si è registrato nel periodo antecedente gli interventi un buon livello di omogeneità sul bottinaggio fra AT e ANT, e i rispettivi valori risultavano statisticamente non diversi fra loro (tabella 2).

In seguito ai trattamenti si è evidenziato:

Per la tesi thiamethoxam (Actara), è stato riscontrato sia un calo generalizzato di attività di bottinaggio che un'azione di repellenza, quest'ultimo aspetto evidenziato dalla maggior presenza di api sulle aree non trattate ($p=0,0226$).

Per la tesi thiacloprid (Calypso), è stato rilevato un calo drastico delle api bottinatrici, seppure non nelle ore successive il trattamento, bensì a iniziare dal giorno successivo ($t+1$ gg). Il rilievo eseguito nelle 6 ore successive ha evidenziato una attività di bottinaggio ancora sostenuta, quasi in linea con quella registrata nei giorni precedenti l'intervento; l'omogeneità di bottinaggio fra aree AT e ANT al rilievo di $T+6$ ore, indica la mancanza di repellenza del prodotto ($p=0,9074$).

Per la tesi acetamiprid (Epik), si è riscontrata una decisa azione di repellenza sulle bottinatrici in tutti i rilievi successivi il trattamento, seppure il confronto fra AT e ANT non sia risultato significativamente diverso ($p=0,0568$); l'attività di bottinaggio ha registrato un minor calo rispetto a thiamethoxam e a thiacloprid (figura 1).

La tesi imidacloprid (Confidor) ha interferito drasticamente sulla attività di bottinaggio nelle ore immediatamente successive l'intervento ($T+6$ ore), mentre nei giorni successivi il bottinaggio è stato solo parzialmente recuperato; non si è registrata inoltre una chiara azione di repellenza dell'aficida ($p=0,7518$).

Tabella 2 - Attività di bottinaggio su aree trattate (AT) e non trattate (ANT) di ciascuna tesi

Tesi	Bottinaggio Pre-trattamento			Bottinaggio Post-trattamento		
	Bottinaggio ANT	Bottinaggio AT	p (T-test)	Bottinaggio ANT	Bottinaggio AT	p (T-test)
Testimone	19,00	23,76	0,0688	24,08	22,60	0,3683
Actara	16,60	19,69	0,1365	3,01	0,72	0,0226
Calypso	15,09	18,33	0,3936	2,97	2,57	0,9074
Epik	15,73	18,22	0,1407	8,57	5,40	0,0568
Confidor	16,11	21,22	0,0189	8,53	6,93	0,7518

Figura 1 - Attività di bottinaggio su fiori di facezia nella tesi Testimone; su aree trattate (acqua) e non trattate, nel corso di otto rilievi, tre precedenti il trattamento e cinque successivi

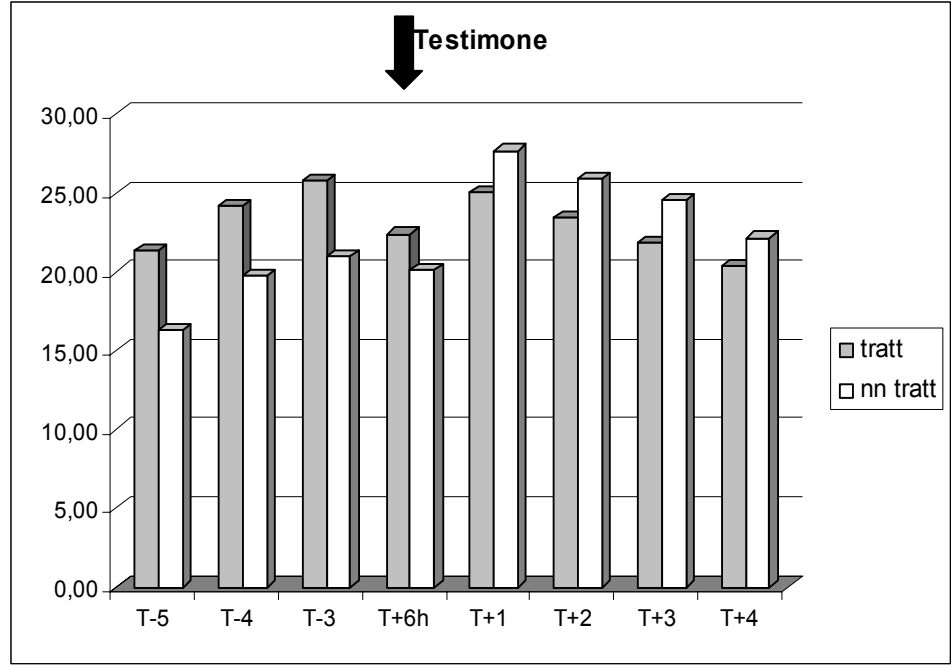


Figura 2 - Attività di bottinaggio su fiori di facezia nella tesi Actara; su aree trattate e non trattate, nel corso di otto rilievi, tre precedenti il trattamento e cinque successivi

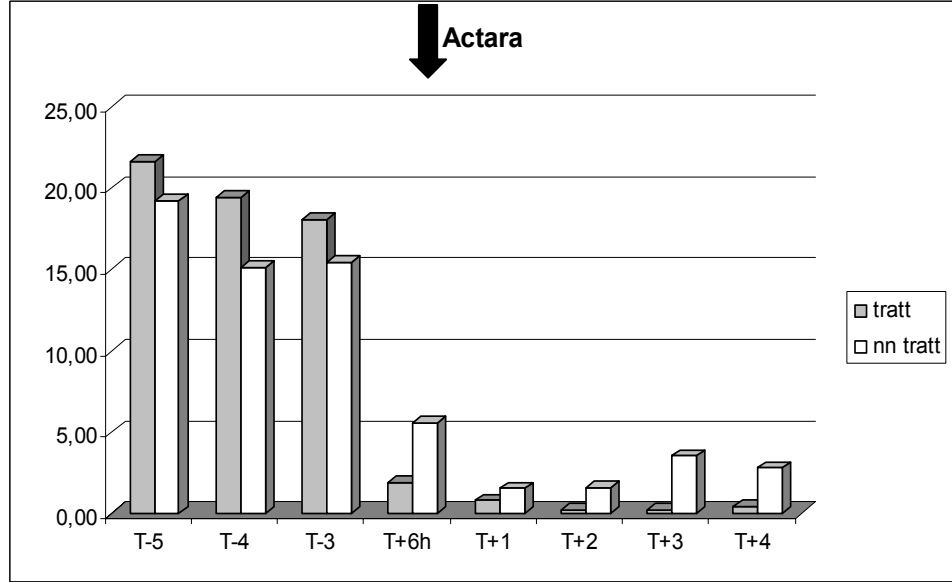


Figura 3 - Attività di bottinaggio su fiori di facezia nella tesi Calypso; su aree trattate e non trattate, nel corso di otto rilievi, tre precedenti il trattamento e cinque successivi

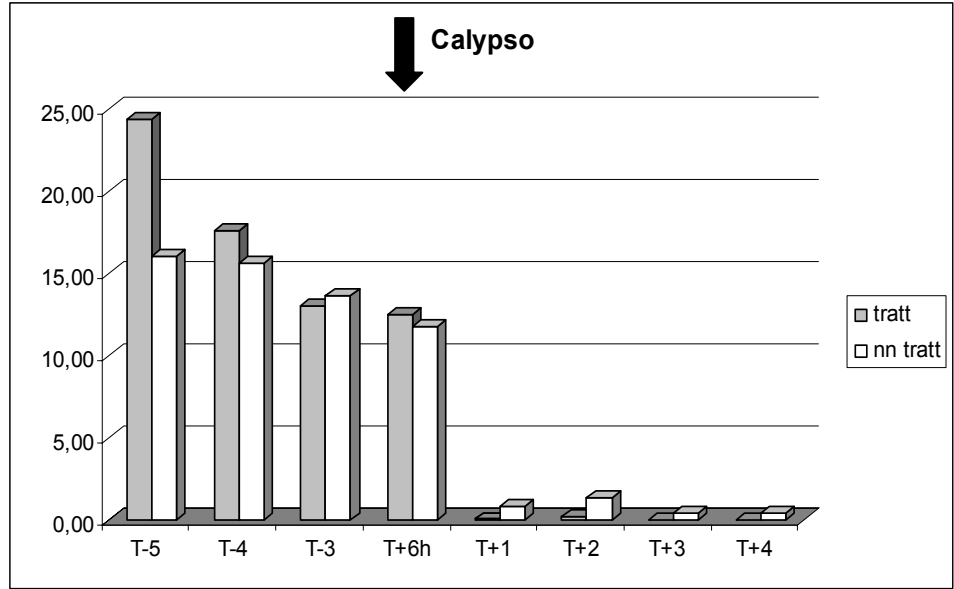


Figura 4 - Attività di bottinaggio su fiori di facezia nella tesi Epik; su aree trattate e non trattate, nel corso di otto rilievi, tre precedenti il trattamento e cinque successivi

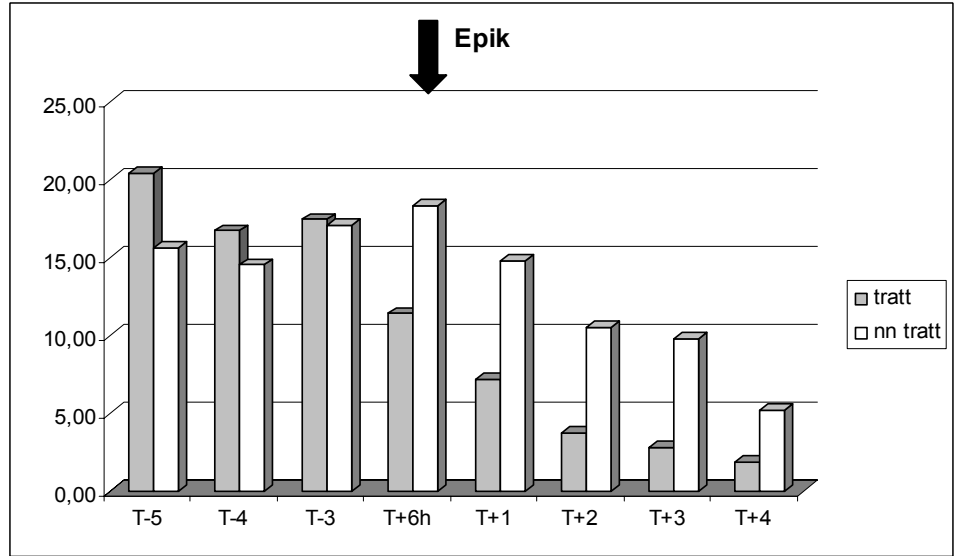
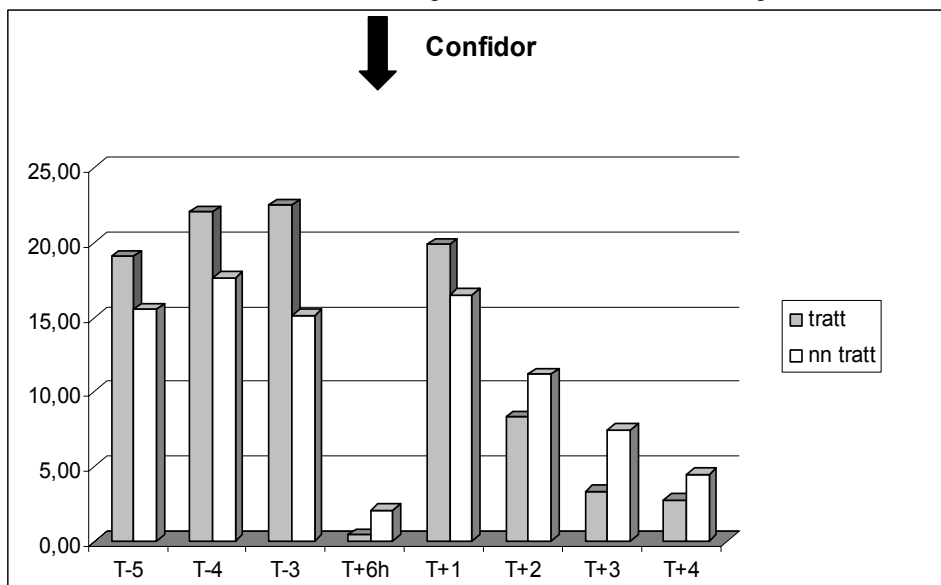


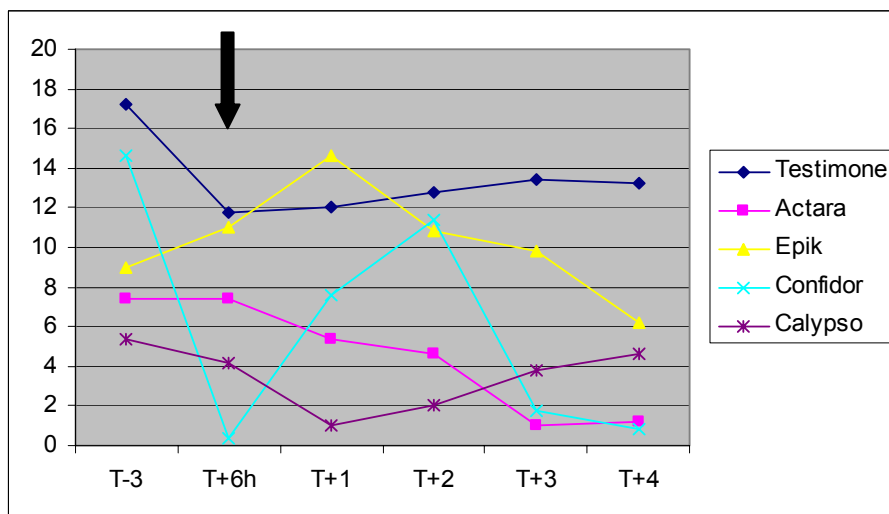
Figura 5 - Attività di bottinaggio su fiori di facezia nella tesi Confidor; su aree trattate e non trattate , nel corso di otto rilievi, tre precedenti il trattamento e cinque successivi



La freccia indica il momento di trattamento insetticida; aree trattate-istogrammi grigi; aree non trattate-istogrammi bianchi

Entrata in arnia delle bottinatrici: per la tesi imidacloprid si è rilevato nelle ore immediatamente successive il trattamento un blocco repentino delle entrate; nei due giorni seguenti (T+1 e T+2) l'attività in entrata si è ristabilita mentre è ridiscesa nei giorni seguenti (figura 2).

Figura 6 - Andamento sull'entrata in arnia di api bottinatrici nell'unità di tempo



La freccia indica il momento di trattamento insetticida

CONCLUSIONI

Le linee guida dell'OILB prevedono che lo studio di selettività dei fitofarmaci verso gli organismi utili venga gestito attraverso test di laboratorio, di semicampo e di campo. Il test di semicampo consente, almeno per alcune specie, di acquisire informazioni anche di tipo comportamentale, difficilmente ricavabili con test di laboratorio e di pieno campo. Fra le specie di interesse entomologico che beneficiano dei test di semicampo sono certamente da annoverare le api.

I risultati presentati in questo lavoro, costituiscono parte dei risultati di uno studio di selettività degli insetticidi neonicotinoidi nei riguardi di *A. mellifera* che ha riguardato anche il campo ed il laboratorio.

E' risultata evidente l'interferenza dei neonicotinoidi sull'attività di bottinaggio, ed in particolare thiamethoxam e thiacloprid hanno interferito in modo rapido.

Il generale ridotto livello di bottinaggio riscontrato in tutte le tesi insetticide dopo i trattamenti, va attribuito prevalentemente alla mortalità delle api bottinatrici in visita sui fiori (dati non pubblicati).

Relativamente a imidacloprid, l'assenza di attività bottinatrice nelle sei ore successive l'intervento, ricostituendosi almeno parzialmente nei giorni seguenti, è attribuibile prevalentemente alla perdita di orientamento delle api; in effetti durante questa fase gran parte delle bottinatrici uscite dall'arnia si collocavano in massa sulle pareti del tunnel e non erano in grado ne' di bottinare ne' di rientrare in arnia. L'incapacità delle api di rientrare in arnia nelle ore successive nel tunnel trattato con imidacloprid risulta confermata anche dalla specifica indagine sulle entrate (figura 3). La ripresa dell'attività di bottinaggio nel tunnel trattato con imidacloprid, avutasi nei giorni seguenti, va attribuita alle "nuove operaie" messe a disposizione dal sistema arnia. Viene in tal modo confermata l'ipotesi che l'azione di imidacloprid sulle api sia da attribuire più che alla tossicità acuta ad interferenze sulle capacità di orientamento. Tuttavia, il parziale recupero delle attività alimentari nei giorni seguenti il trattamento, evidenziato sia dall'attività bottinatrice sia dai livelli di entrata in arnia, sembrerebbe evidenziare che il fenomeno di disorientamento ha una durata limitata.

Il neonicotinoide acetamiprid si dimostra nel complesso la molecola che associa ad un buon grado di selettività una favorevole azione di repellenza. A conferma di ciò la colonia interessata al trattamento con questo aficida, dopo essere stata riportata in apiario ha dimostrato una capacità di recupero superiore alle altre colonie. Vengono in tal modo confermati i risultati di altre sperimentazioni di campo nelle quali si è osservato un limitato rischio di tossicità di questo agrofarmaco, anche se utilizzato in prefioritura (Angeli in prep.).

I risultati discussi in questo lavoro sono stati ottenuti utilizzando una tecnica di studio severa (ambiente confinato, cotico fiorito, arnie sistemate all'interno del tunnel, ecc.), e perciò implicano una interpretazione di tipo "worst case". Non possono dunque essere considerati sufficienti per un giudizio finale di selettività dei formulati, ma piuttosto un contributo per ottimizzarne l'uso in vicinanza delle fioriture.

LAVORI CITATI

- Angeli G., Gottardini E., Fanti M., Baldessari M., Forti D., 2003. Selettività di fitofarmaci nei confronti delle api. *L'Informatore Agrario*, 24, 79-81.
- Angeli G., Berti M., Gottardini E., Cristofolini F., Forti D., 2002. Effectiveness of the microencapsulated Fenitrocap/IPM-400 (fenitrothion) and Pyrinex (chlorpyrifos ethyl) on *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae), Bulletin OILB/SROP, 25 (11), 89-96.

- Forti D., Angeli G., Berti M., 2002. Microencapsulated pesticides on *Apis mellifera* L.: a synopsis of research carried out on apples. *AFPP - Sixth International Conference on Pests in Agriculture*, Tome I, 211-218.
- EPPO/OEPP, 1992. Guideline on test methods for evaluating the side-effects of Plant Protection Products on Honeybees. *EPPO Bulletin*, 22, 203-215.
- Fanti M., Angeli G., 2006. Valutazione dei livelli di repellenza di formulati microincapsulati su *Apis mellifera* Ligustica. *L'Informatore Agrario* (in press).
- Tomizawa M., Casida J.E., 2003. Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. *Ann. Rev. Entom.*, 48, 339-364.