

TRASLOCAZIONE DI NEONICOTINOIDI DA SEME CONCIATO ALLE GOCCE DI GUTTAZIONE SU MAIS E POSSIBILI IMPLICAZIONI SUL NON RITORNO DELLE API ALL'ALVEARE

M. MARZARO¹, V. GIROLAMI¹, L. MAZZON¹, N. MORI¹, A. TAPPARO², C. GIORIO²

¹Dip. di Agronomia Ambientale - Università di Padova - Agripolis, 35020, Legnaro (PD)

²Dip. di Scienze Chimiche - Università di Padova - Via Marzolo 1, 35131, Padova

matteo.marzaro@unipd.it

RIASSUNTO

Negli ultimi anni si sta verificando una consistente moria di api (*Apis mellifera* L.), con conseguente spopolamento di interi apiari. Questa situazione sta provocando notevoli danni, in particolare agli apicoltori, ma anche all'intero settore agricolo, che difficilmente riuscirebbe a sostituire la fondamentale funzione di impollinazione di questi insetti. In questo lavoro viene considerata una nuova potenziale via di intossicazione per le api derivata dall'impiego di seme di mais conciato con neonicotinoidi (imidacloprid, thiamethoxam e clothianidin). Questi insetticidi sistemici, essendo assorbiti dalla plantula in crescita, si diffondono nei tessuti vegetali, avvelenando, pertanto, l'intera pianta. Nelle prime settimane di vita le plantule di mais rilasciano l'eccesso di acqua assorbita dalle radici attraverso l'emissione di goccioline dal margine fogliare (guttazioni). È stato rilevato, che nel mais le gocce di guttazione provenienti da plantule germinate da semi concitati, contengono concentrazioni di principio attivo con punte di 100 mg/L per thiamethoxam e clothianidin e 200 mg/L per imidacloprid. Tali concentrazioni sono paragonabili a quelle utilizzate per le applicazioni spray. La possibile raccolta da parte degli insetti pronubi delle gocce di guttazione potrebbe rappresentare una via di intossicazione. Nelle api, a cui è stata somministrata acqua di guttazione proveniente da mais conciato, è sopraggiunta la morte in pochi minuti.

Parole chiave: neonicotinoidi, *Apis mellifera*, guttazioni, concia del seme

SUMMARY

NEONICOTINOID INSECTICIDE TRANSLOCATION FROM COATED SEEDS TO SEEDLING GUTTATION DROPS

The death of honey bees, *Apis mellifera* L., and the consequent colony collapse disorder causes major losses in agriculture and plant pollination worldwide. The phenomenon showed increasing rates in the past years, although its causes are still awaiting a clear answer. Although neonicotinoid systemic insecticides used for seed coating of agricultural crops were suspected as possible reason, studies so far have not shown the existence of unquestionable sources capable of delivering directly intoxicating doses in the fields. Guttation is a natural plant phenomenon causing the excretion of xylem fluid at leaf margins. Here, we show that leaf guttation drops of all the corn plants germinated from neonicotinoid-coated seeds contained amounts of insecticide constantly higher than 10 mg/L, with maxima up to 100 mg/L for thiamethoxam and clothianidin, and up to 200 mg/L for imidacloprid. The concentration of neonicotinoids in guttation drops can be near those of active ingredients commonly applied in field sprays for pest control, or even higher. When bees consume guttation drops, collected from plants grown from neonicotinoid-coated seeds, they encounter death within few minutes.

Keywords: neonicotinoids, honeybees, guttation, seed coating

INTRODUZIONE

I fitofagi presenti nel terreno al momento della semina tendono a concentrarsi nei dintorni dell'apparato radicale delle giovani piantine dei seminativi, causando ingenti danni. Nella lotta contro questi insetti, tradizionalmente si sono impiegati insetticidi sparsi sul terreno o interrati al momento della semina che agiscono principalmente per contatto. In tempi più recenti si è diffuso il trattamento delle sementi (concia) mediante neonicotinoidi contro una vasta gamma di specie di parassiti, in particolare elateridi (*Agriotes sp.*) e recentemente diabrotica (*Diabrotica virgifera*) (Altman 2003). Una delle principali ragioni del successo dei neonicotinoidi è la capacità del principio attivo di essere traslocato in tutte le parti della pianta anche in accrescimento. L'azione dell'insetticida si esplica in modo prolungato contro vari parassiti compresi insetti succhiatori quali cicaline e afidi (Magalhaes *et al.*, 2009) possibili vettori di virosi (Maienfisch *et al.*, 2001). Va sottolineato inoltre che la localizzazione dell'insetticida sul seme costituisce un evidente vantaggio ecologico rispetto ai classici prodotti geodisinfestanti il cui impiego richiede elevati dosaggi ettaro. Le perdite per mancata impollinazione hanno raggiunto proporzioni mondiali e sono in rapido aumento. Il Dipartimento dell'Agricoltura degli Stati Uniti ha riferito che durante l'inverno 2008, negli Stati Uniti, il 36%, pari a 2,4 milioni di alveari, sono andati perduti. I dati europei sono in linea con la stessa tendenza e consentono di affermare che le perdite di api osservate negli ultimi due anni hanno mostrato un incremento drammatico senza precedenti per quanto riguarda l'apicoltura (EFSA, 2008). Il fenomeno, rappresentato dal mancato ritorno all'alveare delle api bottinatrici è descritto come Colony Collapse Disorder (CCD). La produzione agricola mondiale dipende per gran parte dall'impollinazione delle api; la riproduzione sessuale delle piante, in generale, è legata agli insetti, così questa estesa moria costituisce una grave emergenza sia da punto di vista economico che ecologico. È in corso da oltre un decennio un dibattito sulle possibili cause dell'aumento della mortalità delle api. Gli agenti biologici quali gli acari parassiti, sono stati da subito i principali indiziati per i grossi problemi causati agli apicoltori. Notevole importanza si è attribuita anche ai virus, nonostante allo stato attuale delle conoscenze, non siano ancora emerse chiare prove circa la loro reale implicazione nel CCD. In questi ultimi anni l'attenzione si è focalizzata anche sui pesticidi in modo particolare sui neonicotinoidi (imidacloprid, clothianidin, thiamethoxam) soprattutto a causa della loro larga diffusione a livello globale. In Italia si è notata la coincidenza tra la semina del mais e la moria delle api, ed è stata quindi formulata l'ipotesi che frammenti solidi di confettatura dei semi, emessi dalle seminatrici pneumatiche, potessero ricadere sulla vegetazione circostante i seminativi e contaminare le fioriture spontanee presenti (Greatti *et al.*, 2006). Tuttavia la responsabilità diretta di queste molecole non è stata ancora testata, poiché i quantitativi di principio attivo rilevato nel polline e nel nettare delle piante, sono stati inferiori a 10 ng/g (10 ppb), mentre servono dosi più elevate, maggiori di 40 µg/L (40 ppb) per indurre un comportamento anomalo delle api e dosi superiori ai 0,5 mg/L (0,5 ppm) per notare le prime alterazioni gravi dell'orientamento. Inoltre sono necessarie concentrazioni superiori a 3 mg/L (3 ppm) per causare il mancato ritorno del 100% delle api (Yang *et al.*, 2008). Si è quindi ipotizzata la presenza di una fonte diversa e finora trascurata di "dosi letali" che potesse intossicare i pronubi direttamente negli appezzamenti. In particolare si è presa in considerazione l'idea che le concentrazioni di sostanze nocive, come i neonicotinoidi impiegati nella concia del seme, potessero accumularsi nelle gocce di guttazione caratteristiche delle giovani piante di mais. Guttazione, (dal latino 'Gutta') è un fenomeno fisiologico di fuoriuscita di gocce d'acqua dalle foglie delle piante, che si osserva soprattutto di notte fino alle prime ore del mattino e che viene spesso confuso con la rugiada. L'acqua passa attraverso aperture dette idatodi, localizzate lungo i margini del lembo fogliare. La

guttazione si verifica quando la traspirazione fogliare è scarsa o nulla, ma le radici continuano ad assorbire sali minerali, i quali, a loro volta, per osmosi richiamano acqua. Questa situazione provoca una differenza di pressione tra l'apparato radicale assorbente e la superficie fogliare traspirante, perché la pianta continua ad assorbire acqua, ma non è in grado di perderla altrettanto velocemente con la traspirazione in assenza di fotosintesi. La funzione della guttazione è quella di regolare il turgore fogliare delle piante. È noto che le api manifestano in primavera una intensa attività di reperimento dell'acqua per i vari fabbisogni della colonia (Visscher *et al.*, 1996) inoltre è stata segnalata l'attività di raccolta anche su gocce di guttazione (Shawki *et al.*, 2005). Mentre le api responsabili della fornitura di acqua ai fini del raffreddamento dell'alveare sono una minoranza della colonia, l'assunzione per le esigenze individuali è richiesta da ogni insetto. L'ipotesi che i neonicotinoidi potessero essere assunti dall'ape dall'acqua di guttazione e che potessero compromettere il ritorno all'alveare degli insetti stessi, ha trovato un primo ostacolo nella mancanza di un test collaudato atto a mettere in luce mortalità che si verificano nell'ordine di minuti, dopo l'assunzione di gocce di acqua avvelenate.

MATERIALI E METODI

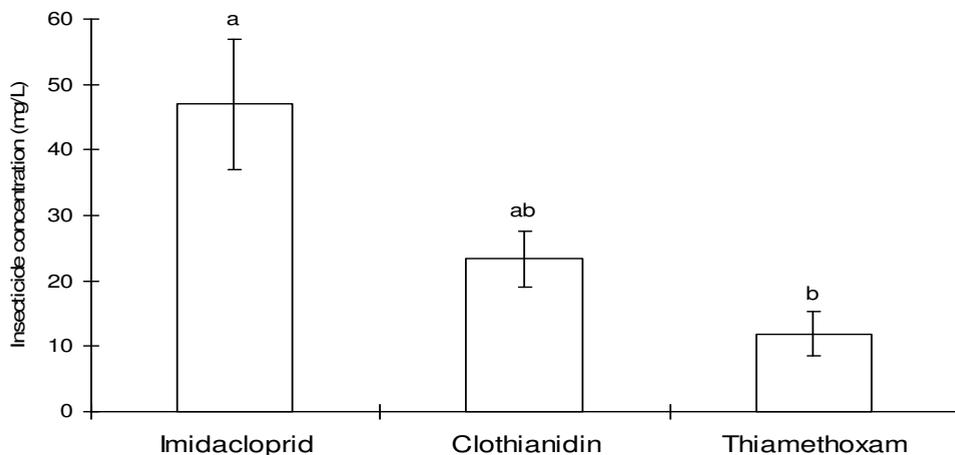
Tutte le sperimentazioni sono state condotte nei laboratori del Dipartimento di Agronomia Ambientale dell'Università di Padova utilizzando insetti provenienti da colonie situate presso l'azienda della Facoltà di Agraria (Legnaro, PD). Per ottenere le gocce di guttazione dalle piante di mais sono stati utilizzati semi commerciali concitati con i seguenti neonicotinoidi: imidacloprid (Gaucho 350 FS, Bayer Cropscience; 0,5 mg/semi), clothianidin (Poncho, Bayer Cropscience 1,25 mg/ seme), thiamethoxam (Cruiser 350 FS, Syngenta; 1 mg/semi). Nella concia inoltre era presente il fungicida Celest XL (Syngenta) a base di Fludioxonil 2,4% e Metalaxyl-M 0,93%. Le prove sono state svolte, utilizzando piante nate da semine in serra durante i mesi invernali ed in pieno campo durante i mesi primaverili. In serra la semina è stata effettuata in vasi di plastica (diametro 15 cm). Ogni vaso conteneva circa 5 semi. Per ogni tipo di insetticida sono stati seminati sei vasi per un totale di circa 30 semi/insetticida. Il controllo era costituito da un uguale numero di piantine ottenute da seme non conciato. I vasi sono stati collocati su un piano rialzato a temperatura dell'aria media di circa 25 °C e umidità relativa variabile dal 60 al 90%. Per le prove in campo, verso metà aprile, sono stati seminati sia i semi concitati con i tre insetticidi sia quelli non trattati per i test di confronto. La densità di semina è stata effettuata con distanze di 75 cm tra le file e 20 cm sulla fila. Le gocce di guttazione, sia in serra che in campo, sono state raccolte, utilizzando micro pipette Pasteur, per tutta la durata del fenomeno che dalla germinazione si è protratto per circa 15-25 giorni. La raccolta in campo era effettuata al mattino tra le ore 8.00 e le 9.00, mentre quella in serra in tre turni: alle 8.00 alle 10.00 e alle 12.00, poiché il fenomeno di guttazione è pressoché continuo. Le gocce raccolte sono state tenute distinte per ogni tipo di insetticida, conservate in provette di vetro oscurato fino al raggiungimento di un volume di 5 ml di soluzione e quindi stoccate in frigo a +2 °C sino al momento delle analisi chimiche che erano condotte di regola entro 2-3 giorni. Per le guttazioni raccolte da piantine ottenute da concia a base di imidacloprid, metà della quantità era riservata alle analisi chimiche, mentre l'altra metà era utilizzata per saggiare la tossicità sulle api. Al fine di determinare le concentrazioni di principio attivo nelle gocce di guttazione si è ricorso preliminarmente alla costruzione di curve di tossicità attraverso l'impiego di soluzioni di acqua e principio attivo puro (per analisi) per ciascun dei tre insetticidi studiati. Per l'analisi chimica delle guttazioni è stata impiegata una metodologia basata su tecniche di cromatografia liquida, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

utilizzando metanolo VWR e aceto-nitrile di elevato grado di purezza. Per la produzione di acqua pura è stata utilizzata l'attrezzatura Milli-Q (Millipore, Billerica, MA). Le analisi con HPLC sono state eseguite con il sistema a cromatografia 680 (Dionex Corporation, Sunnyvale, CA) dotato di rilevatore DAD (Diode Array Detector), impostato per registrare lo spettro delle sostanze eluite fra i 200 e i 300 nm, valori corrispondenti alla finestra utile per riconoscere i principi attivi in questione. Le analisi sono state condotte presso i laboratori del Dip. di Scienze Chimiche dell'Università di Padova. Le prove di tossicità dell'acqua di guttazione sulle api è stata condotta in laboratorio alla temperatura di 20-22 °C. Prima dei test le api erano mantenute per almeno 2 h senza acqua e cibo. Le api erano poi introdotte singolarmente in gabbiette di tulle e dopo 15 minuti di adattamento erano offerti 30 microlitri di acqua di guttazione attraverso un capillare di vetro. Tale quantitativo poteva essere dato puro o con l'aggiunta di 15% di miele al fine di invogliare l'ape ad assumere la soluzione. Al fine della validità del test erano considerate soltanto quelle api che avevano assunto un minimo di 5 µl entro 5 minuti. Dopo l'assunzione veniva rilevato il tempo di comparsa dei due sintomi di intossicazione considerati: inarcamento dell'addome e successivamente perdita dell'abilità al volo dovuto a paralisi dei muscoli del torace. Inoltre al fine di ottenere delle curve di tossicità, che esprimessero l'andamento delle relazioni tra concentrazione della soluzione e comparsa dei due sintomi considerati, sono state offerte alle api soluzioni in acqua, di insetticida puro (con 15% di miele), in concentrazioni crescenti e sono stati rilevati i tempi di comparsa dei sintomi nei modi sopra descritti.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Contenuto di neonicotinoidi nell'acqua di guttazione. Dalle analisi è emerso che in tutti i campioni di guttazione prelevati dalle piante originate da semi concitati è stata rinvenuta la presenza di principio attivo. In particolare per le guttazioni raccolte da piante allevate in serra si sono rilevate concentrazioni medie di $47 \pm 9,96$ mg/L per imidacloprid, $23,3 \pm 4,2$ mg/L per clothianidin e $11,9 \pm 3,32$ mg/L per thiamethoxam (figura 1). Inoltre, da ulteriori successive analisi condotte sulle gocce di guttazioni, prodotte da piantine in vaso allevate singolarmente e ottenute da seme conciato con una maggiore quantità di imidacloprid (1,25 mg/semi), si sono rilevate concentrazioni medie di $83,8 \pm 13,77$ mg/L con punte di oltre 115 mg/L. Per tutti e tre i neonicotinoidi nelle guttazioni sono state trovate punte di concentrazioni superiori ai 100 mg/L prossime o superiori a quelle ottenute dalla diluizione, secondo le indicazioni di etichetta, dei tradizionali formulati impiegati per irrorazione per il controllo dei fitomizi. Il volume medio d'acqua di guttazione prodotto dalle piantine in serra (1-2 ml/giorno/tesi) era di regola maggiore di quello prodotto dalle piantine in pieno campo (0,5-1,5 ml/giorno). È interessante sottolineare che la quantità di neonicotinoidi nell'acqua di guttazione è risultata nel complesso estremamente variabile, probabilmente a causa dell'evaporazione della goccia con conseguente aumento della concentrazione. Si è osservato inoltre che, nelle piante di mais, la produzione di guttazioni è continua ed abbondante nel corso delle prime tre settimane di crescita. Anche se le gocce di guttazione tendono ad evaporare durante le ore più calde della giornata, in momenti particolarmente favorevoli, possono fluire verso il basso e accumularsi nel "calice" fogliare, persistendo a lungo e rimanendo quindi disponibili per le api per gran parte della giornata.

Figura 1. Concentrazione media di neonicotinoidi rinvenuta nelle gocce di guttazione prodotte da piante germinate da semi concitati rispettivamente con imidacloprid, clothianidin e thiamethoxam. Le barre verticali indicano \pm ES; lettere diverse indicano differenze significative ($P < 0,01$; Tukey-Kramer Test)

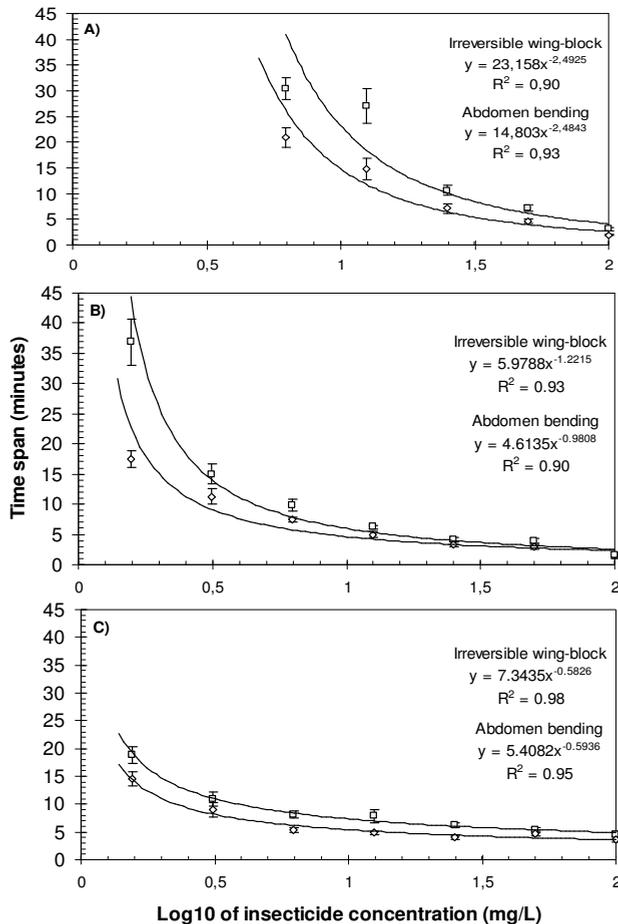


Tossicità per le api delle gocce di guttazione. Dopo alcuni minuti dall'assunzione dell'acqua di guttazione, si è osservata una generica eccitazione dell'ape. Il primo sintomo oggettivo di intossicazione è stato comunque l'inarcamento dell'addome. Successivamente l'ape manifesta paralisi delle ali e movimenti scoordinati. Questo ultimo sintomo è risultato per tutti i neonicotinoidi considerati e per tutte le dosi considerate irreversibile e oggettivamente valutabile. Non è stata considerata la morte dell'insetto, concepita come totale immobilità, in quanto il tempo intercorrente tra la paralisi delle ali e la possibile residua capacità di muovere un arto è risultato estremamente variabile come già rilevato anche da Suchail *et al.* (2000). Le guttazioni raccolte in campo, ottenute da piante i cui semi erano concitati con i 3 neonicotinoidi considerati e offerte alle api senza aggiunta di miele, hanno causato la paralisi delle ali in un intervallo di tempo compreso tra i 2 ed i 9 minuti dal momento dell'assunzione. Le guttazioni raccolte da piantine, nate da seme trattato con thiamethoxam, sono risultate significativamente più tossiche rispetto a quelle raccolte da imidacloprid (Anova: $F=3,71$; $df=2, 33$; $P = 0,035$). Le guttazioni da seme conciato con soli fungicidi e da seme non conciato non hanno manifestato tossicità.

L'offerta alle singole api delle gocce di guttazione, prelevate da piantine nate da seme conciato con imidacloprid ha evidenziato, una stretta relazione tra concentrazione in principio attivo (risultata dalle analisi) e tossicità. In ogni caso, indipendentemente dalla concentrazione della guttazione offerta, la totalità delle api ($n=63$) che hanno assunto guttazioni da seme conciato, ha subito paralisi del ali in modo irreversibile nel volgere di pochi minuti. Sia per le gocce offerte pure, sia per quelle con l'aggiunta di un 15% di miele, il sintomo di blocco delle ali è comparso in un range temporale di 2-4 minuti per le guttazioni con concentrazioni di poco superiori ai 100 mg/L e in un range di 6-15 minuti per le guttazioni con concentrazioni prossime ai 50 mg/L. Il ricorso all'aggiunta di miele si è reso necessario in quei casi in cui l'ape non assumeva prontamente l'acqua o la soluzione insetticida offerta. Questa quantità di miele si è dimostrata la quantità minima affinché l'insetto possa assumere la soluzione in un tempo per lo più inferiore ai 5 minuti e quindi compatibile con l'efficienza del test. In tutti i

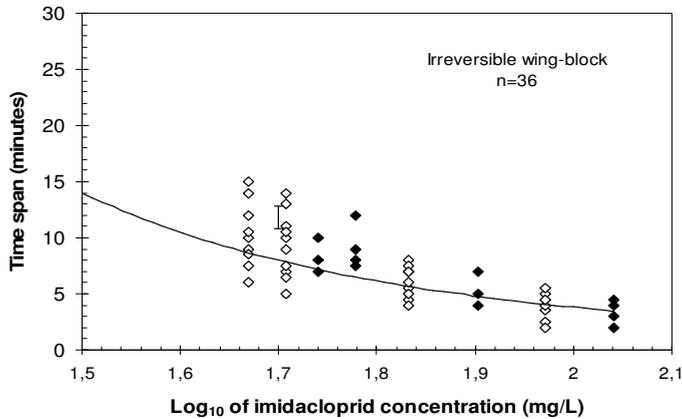
test condotti non è emersa una proporzionalità diretta, nell'ambito di ciascuna dose, tra volume effettivamente assunto dalla singola ape e tempo di comparsa dei sintomi. Il fenomeno è probabilmente legato alle diverse risposte individuali e ai frequenti fenomeni di rigurgito che possono falsare la relazione tra quantità ingerita e risposta dell'insetto. Prove preliminari, condotte offrendo alle api acqua di guttazione prelevata da piantine nate da seme conciato con clothianidin e thiamethoxam, hanno evidenziato che la comparsa del sintomo blocco delle ali avviene con tempi ancora più brevi, a parità di concentrazione, rispetto a quanto registrato per imidacloprid. Il risultato, in accordo con quanto riportato in precedenza, attribuirebbe al clothianidin e al thiamethoxam una maggiore tossicità soprattutto alla luce della loro presenza in concentrazioni inferiori nelle gocce di guttazione rispetto a quanto rilevato per imidacloprid (figura 1).

Figura 2. Effetto di dosi crescenti di imidacloprid (A), clothianidin (B) e thiamethoxam (C) (puri per analisi). Tale tossicità è stata calibrata con il tempo di apparizione dei due sintomi di avvelenamento (simbolo quadrato: "inarcamento dell'addome", simbolo "rombo": "blocco ali") dopo che gli insetti avevano assunto acqua contenente neonicotinoidi in concentrazioni crescenti. Ogni punto rappresenta la media di 12 replicazioni; barre verticali indicano \pm ES (Girolami *et al.*, 2009)



Valutazione dell'effetto dose-risposta. Per valutare la dose di effetto degli insetticidi sulle api, si è proceduto alla somministrazione di soluzioni contenenti i principi attivi a diverse concentrazioni. Il test adottato è risultato soddisfacente e di semplice ed immediata realizzazione anche per valutare la tossicità di soluzioni a concentrazione nota. Il test ha consentito inoltre di verificare se l'ape viene ad assumere effettivamente la soluzione offerta ed in caso positivo anche il volume assunto. Le api hanno manifestato una diversa risposta di fronte ai tre neonicotinoidi considerati (figura 2). Per clothianidin e thiamethoxam, alla concentrazioni minime di 1,5 mg/L ($\log_{10}=0,18$), i sintomi considerati (inarcamento dell'addome e blocco delle ali) sono apparsi prima dell'ora. Per imidacloprid gli stessi sintomi sono apparsi solo a concentrazioni superiori o uguali a 6,25 mg/L ($\log_{10}=0,8$) dimostrando quindi nel test adottato una minore tossicità nei confronti degli insetti testati (figura 2). Alle concentrazioni minime letali si è osservato un intervallo di tempo tra la comparsa dei due sintomi, che è andato da un minimo di 4 minuti per thiamethoxam ad un massimo di 20 minuti per clothianidin (figura 3). All'aumentare della concentrazione l'intervallo di tempo intercorrente tra la comparsa dell'inarcamento dell'addome e la successiva paralisi delle ali si riduce progressivamente sino quasi a scomparire alle concentrazioni di 100 mg/L ($\log_{10}=2$) in tutti i neonicotinoidi osservati (figura 3). Alle dosi inferiori a quelle minime riportate entrambe i sintomi non sono comparsi o sono comparsi in modo reversibile ed in un tempo superiore all'ora. Questi individui di regola se alimentati sono sopravvissuti per almeno 24 ore. Si noti che trattandosi di una unica assunzione di soluzione avvelenata il test risulta indicativamente meno severo di quelli adottati per valutare la DL_{50} basati su disponibilità per tempi lunghi di soluzioni avvelenate. È interessante notare che secondo Yang *et al.* (2008) la soluzione zuccherina con imidacloprid, che non consente alle api di tornare a foraggiare, ha una concentrazione ≥ 3 mg/L (3 ppm). Tale concentrazione non si discosta molto dalla concentrazione di imidacloprid (6 mg/L) alla quale abbiamo rilevato la paralisi delle ali sulla totalità degli insetti testati in un tempo inferiore all'ora. Gli effetti di soluzioni di insetticidi puri e delle gocce di guttazione risultano in buon accordo. Infatti, i tempi di manifestazione della paralisi delle ali si sono distribuiti con buona corrispondenza lungo la retta di regressione in precedenza ottenuta offrendo alle api soluzioni di imidacloprid puro a concentrazioni note (figura 3). Dai risultati ottenuti non è emersa una azione di repellenza dei neonicotinoidi (utilizzando soluzioni acquose di principi puri per analisi aggiunti o meno al miele) nei confronti delle api. Il volume medio delle soluzioni offerte, assunto da ciascuna ape, non sembra variare in modo significativo in funzione della concentrazione di principio attivo. La presenza di guttazioni su mais è rilevabile con facilità all'incirca per le prime tre settimane di vita delle plantule. In Italia Settentrionale normalmente questo periodo coincide con tutto il mese di aprile fino a circa la metà di maggio. Le api spesso usano come fonti per il rifornimento idrico le pozzanghere a terra; quando queste non sono disponibili, le guttazioni dei vegetali possono rappresentare un'alternativa. È da sottolineare inoltre che negli ultimi 10 anni vi è stata una massiccia introduzione di nuovi ibridi di mais resistenti al freddo, che consentono di anticipare la semina verso la metà di marzo e quindi, molto precocemente rispetto all'inizio delle fioriture. La probabilità che le api vadano a bere le gocce di guttazione presenti nel mais o in altri seminativi non è stata ancora quantificata, per cui non è per il momento possibile esprimere un giudizio sulla effettiva implicazione, della traslocazione dei neonicotinoidi dal seme alle guttazioni, con il Colony Collapse Disorder. In ogni caso, la disponibilità di gocce di guttazioni protratta per più settimane su oltre un milione di ettari nel solo Nord Italia, con concentrazioni di neonicotinoidi come quelle riportate non è ecologicamente accettabile. Parte dei dati riportati in questo lavoro sono stati oggetto di una pubblicazione (Girolami *et al.*, 2009).

Figura 3. Intervallo di tempo tra l'assunzione di gocce di guttazione, ottenute dalle plantule di mais nate da semi concitati con imidacloprid e la paralisi irreversibile delle ali di singole api. Il grafico riporta la curva dell'effetto di dosi crescenti di imidacloprid. Rombi bianchi: guttazione con aggiunta del 15% di miele. Rombi neri: guttazione senza aggiunta di miele. (Girolami *et al.*, 2009)



Ringraziamenti

Si ringraziano Mattia Giovannini, Simone Pastorello, Andrea Calgaro, Linda Vivian, Andrea Targa, Edoardo Petrucco Toffolo ed il sig. Tarcisio Zanella per il prezioso contributo fornito.

LAVORI CITATI

- EFSA, 2008. Bee mortality and bee surveillance in Europe. *The Efsa Journal*, 154, 1-28.
- Girolami V., Mazzon L., Squartini A., Mori N., Marzaro M., Di Bernardo A., Greatti M., Giorio C., Tapparo A., 2009. Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *J. Econ. Entomol.*, 102 (5), 1808-1815.
- Greatti M., Barbattini R., Stravisi A., Sabatini A.G., Rossi S., 2006. Presence of the a.i. imidacloprid on vegetation near corn fields sown with Gaucho® dressed seeds. *Bulletin of Insectol.*, 59, 99-103.
- Magalhaes, L.C., Hunt T.E., Siegfried D.B., 2009. Efficacy of neonicotinoid seed treatments to reduce soybean aphid populations under field and controlled conditions in Nebraska. *J. Econ. Entomol.*, 102, 187-195.
- Maienfisch P., Angst M., Brandl F., Fischer W., Hofer D., Kayser H., Kobel W., Rindlisbacher A., Senn R., Steinemann A., Widmer H., 2001. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Manag. Sci.*, 57, 906-913.
- Shawki M.A-A., Titera D., Kazda J., Kohoutkova J., Taborsky V., 2005. Toxicity to honeybees of water guttation and dew collected from winter rape treated with Nurelle D® registered. *Plant. Protect. Sci.*, 42, 9-14.
- Suchail S., Guez D., Belzunces L.P., 2000. Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies. *Environ. Toxicol. Chem.*, 19, 1901-1905.
- Visscher P.K., Crailsheim K., Sherman G., 1996. How do honey bees (*Apis mellifera*) fuel their water foraging flights? *J. Insect Physiol.*, 42, 1089-1094.
- Yang E.C., Chuang Y.C., Chen Y.L., Chang L.H., 2008. Abnormal foraging behavior induced by sublethal dosage of Imidacloprid in the honey bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 101, 1743-1748.