

Valutazione dell'effetto sinergico di più fattori sulla salute delle api

Responsabile della scheda:

Emanuele Carpana

Partecipanti: CRA-API:

Piotr Medrzycki
Laura Bortolotti
Gherardo Bogo
Simone Tosi

Univ. Bologna:

Claudio Porrini

Univ. Padova:

Fabio Sgolastra
Vincenzo Girolami



CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA



Spopolamenti degli alveari - una molteplicità di fattori

Fattori riguardanti l'ape

Parassiti, predatori, patogeni

Diversità genetica

Età e caratteristiche della regina

Dimensione della colonia e tipo dell'arnia



Ambiente

Fitofarmaci

Qualità e quantità di pascoli

Disponibilità di acqua pulita

Inquinamento

Radiazioni elettromagnetiche

Clima



Pratiche apistiche

Trattamento delle malattie

Nutrizione artificiale

Posizionamento dell'apiario e nomadismo

Invernamento

Utilizzo della colonia (produzione di miele, polline)



Alcuni schemi di spopolamenti

Effetti letali

Forte avvelenamento

Malattie

(peste americana, varroa,...)

Morte delle operaie o della covata

Indebolimento della colonia

**Perdita
della famiglia**



Effetti subletali



p.a. in tracce
nel polline o nel nettare

Dispersione del p.a. durante la semina di semi concianti

Trattamenti spray

Intossicazione sub-letale da neonicotinoidi

Disorientamento delle bottinatrici

Declino dei comportamenti sociali

Indebolimento della famiglia

Covata trascurata

Perdita della famiglia

Effetti sinergici

la disponibilità e la qualità del pascolo

le condizioni climatiche

lo stato sanitario dell'alveare

la contaminazione ambientale

...

Possono attenuare o aggravare gli effetti di singoli fattori
i quali da soli non produrrebbero danni importanti
(es. avvelenamenti subletali)

Effetti sinergici

Fattore 1

Fattore 2

Morte dell'ape anche se le dosi sono sub-letali

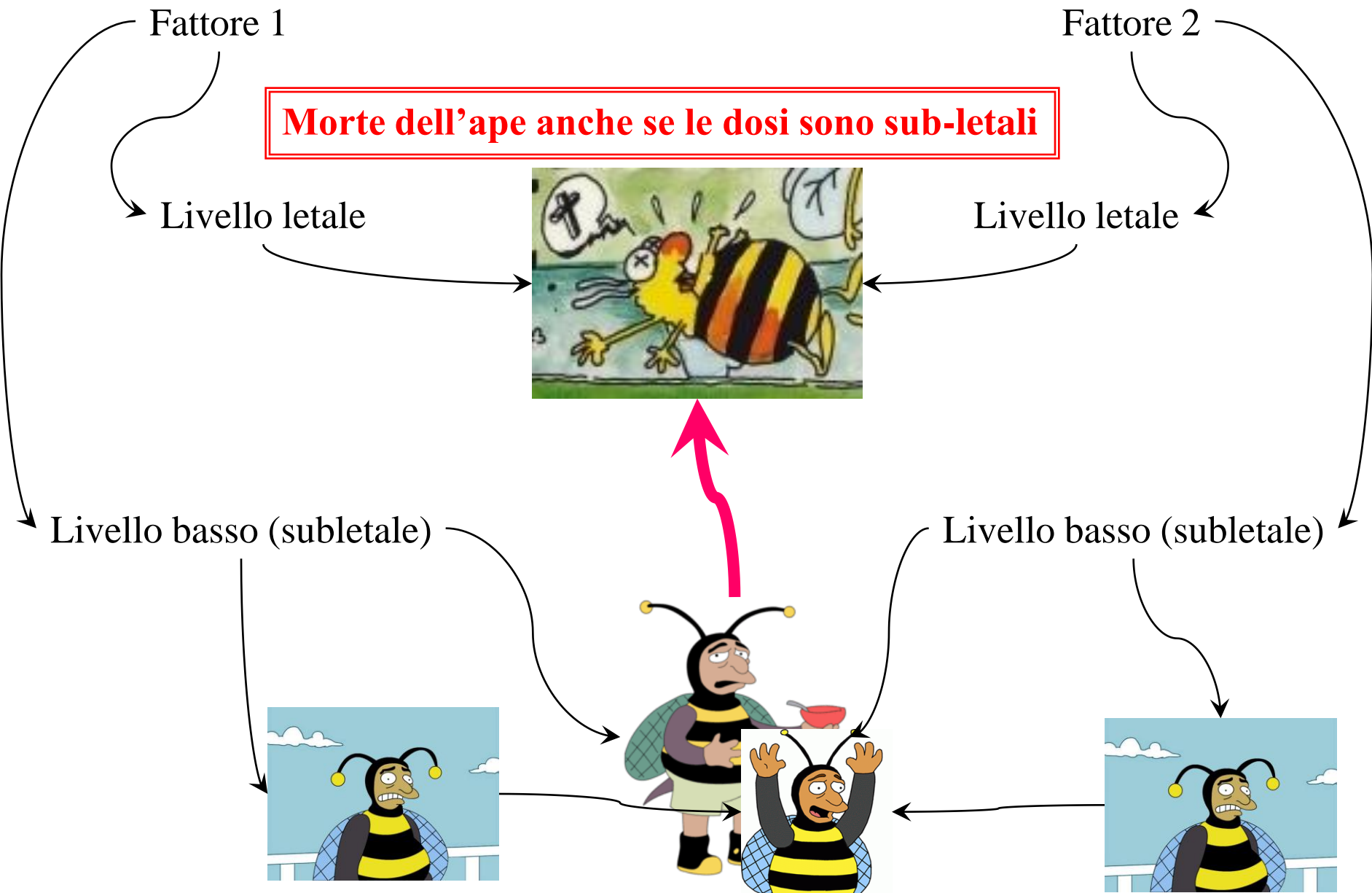
Livello letale

Livello letale



Livello basso (subletale)

Livello basso (subletale)



Linee di ricerca

- a) Effetti di agrofarmaci sulle api adulte e sulle larve sviluppate in laboratorio a diverse condizioni termiche
 - b) Effetti tossici di agrofarmaci sulle api adulte di età diverse esposte a differenti condizioni termiche
 - c) Effetti di agrofarmaci sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari
 - d) Effetti di agrofarmaci sullo sviluppo della colonia di api in relazione alle sue condizioni di forza e al suo stato sanitario
 - e) Interazione tra effetto tossicologico di agrofarmaci e infezioni della covata
 - f) Studio in campo delle interazioni ambientali attraverso una squadra di rilevamento
- Elaborazione di mappe di rischio per la presenza di fitofagi ipogei del mais
 - Valutazione della contaminazione dovuta alle guttazioni

a) Agrofarmaci e temperatura di sviluppo della covata

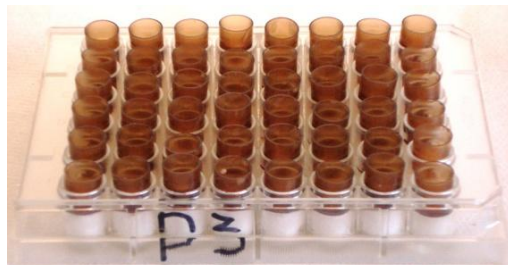


CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA



Tossicità sulle larve allevate *in vitro* (I)

- Larve allevate *in vitro* – protocollo di Aupinel *et al.*
- Condizioni termiche ottimali (35 C)



- Risultati:

- 1) DL50 (48h) Fipronil = **38,9** ng/larva [DL50 (24h) = 4 ng / ape adulta]
- 2) DL50 (48h) Clothianidin >> **3000** ng/larva [DL50 (24h) = 4 ng / ape adulta]
(mortalità corretta a 3000 ng/larva (48h) = 11,4 %)
- 3) *DL50 (48H) Imidacloprid ≈ 3468 ng/larva [risultato di prova preliminare]*
- 4) *DL50 (48H) Thiamethoxam ≈ 2218 ng/larva [risultato di prova preliminare]*

- **Conclusioni: neonicotinoidi sono poco tossici per le larve**

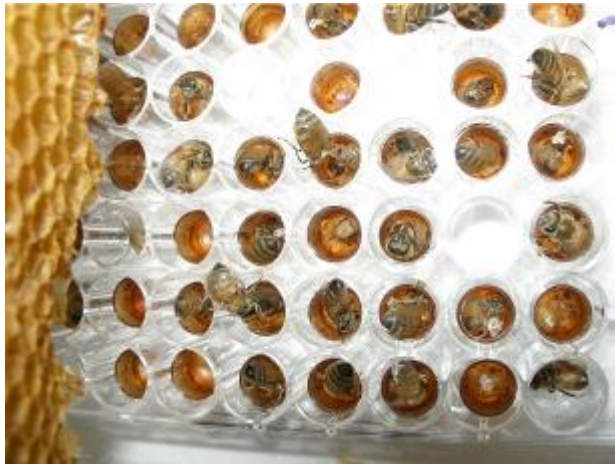
Tossicità sulle larve allevate *in vitro* (II)

- Larve allevate *in vitro* – protocollo di Aupinel *et al.*
 - Condizioni termiche ottimali (35 C) e subottimali (33 C)
 - Intossicazione con Dimetoato – valutazione di DL50
-
- **Risultati: A temperature più basse, la risposta all'intossicazione è più attenuata**

Temperatura della covata	N° larve al D4	LD50 Dimetoato (µg/larva)	
		48h	72h
ottimale (35°C)	259	0,67	0,43
subottimale (33°C)	249	18,64	2,00

Effetti della temperatura di covata (prova a1)

- Larve allevate *in vitro* – protocollo di Aupinel *et al.*
- Condizioni termiche ottimali (35 C) e subottimali (33 C)
- Valutazione dello sviluppo
- Sfarfallamento delle api adulte e test di tossicità acuta su adulti

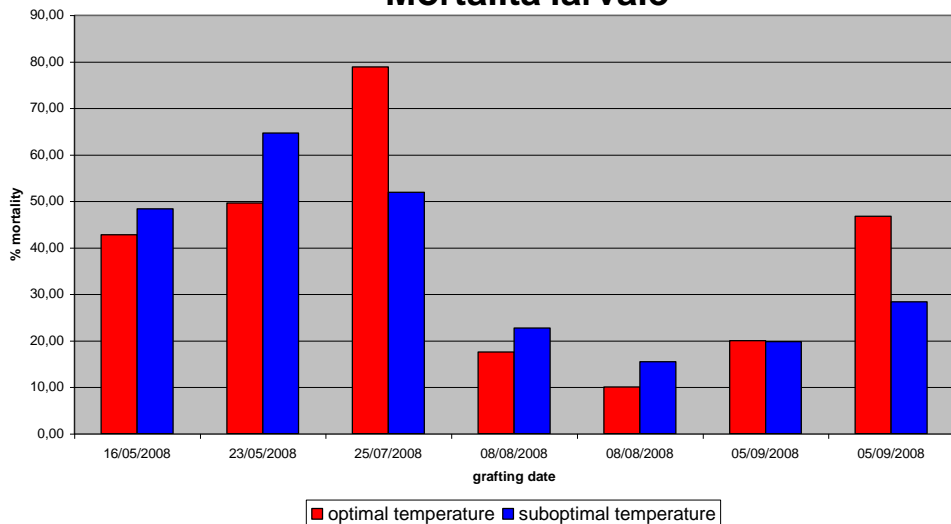


Effetti della temperatura di covata (prova a1)

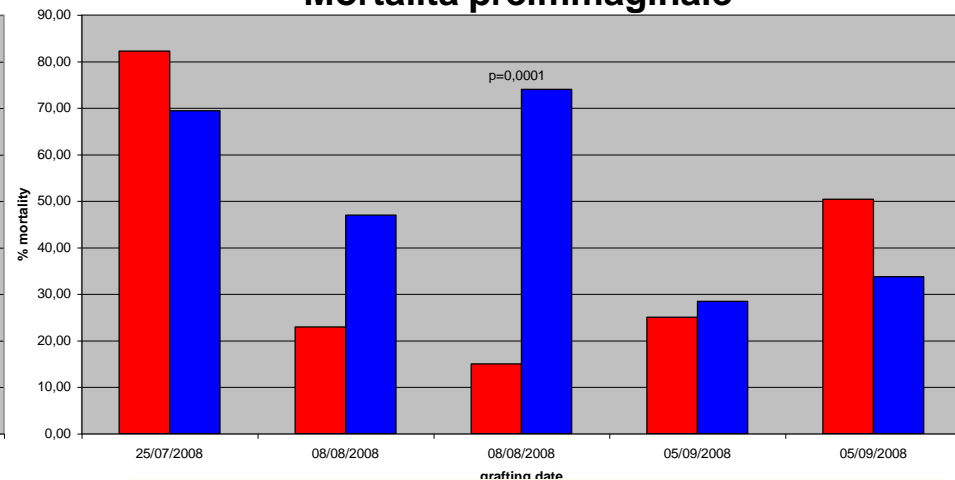
- Risultati:

- **Mortalità preimmaginale e tasso di sfarfallamento non alterati**

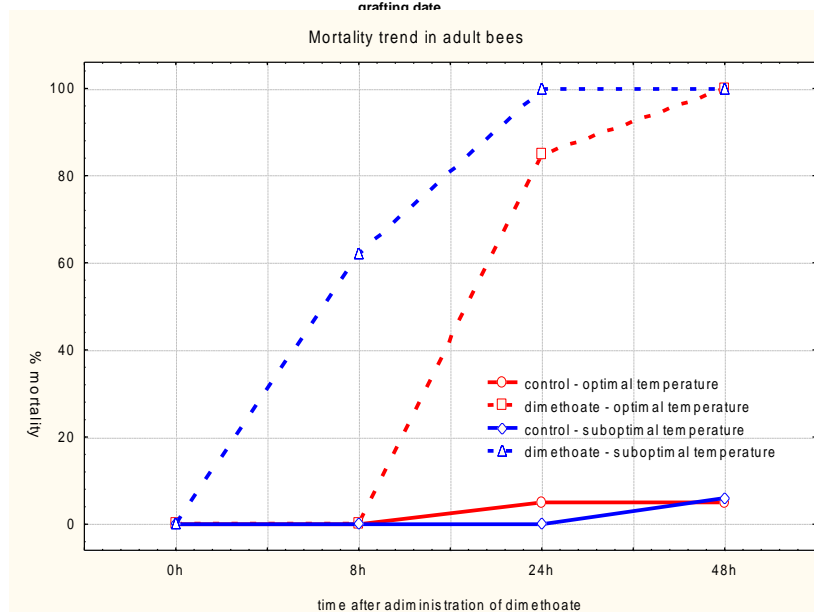
Mortalità larvale



Mortalità preimmaginale

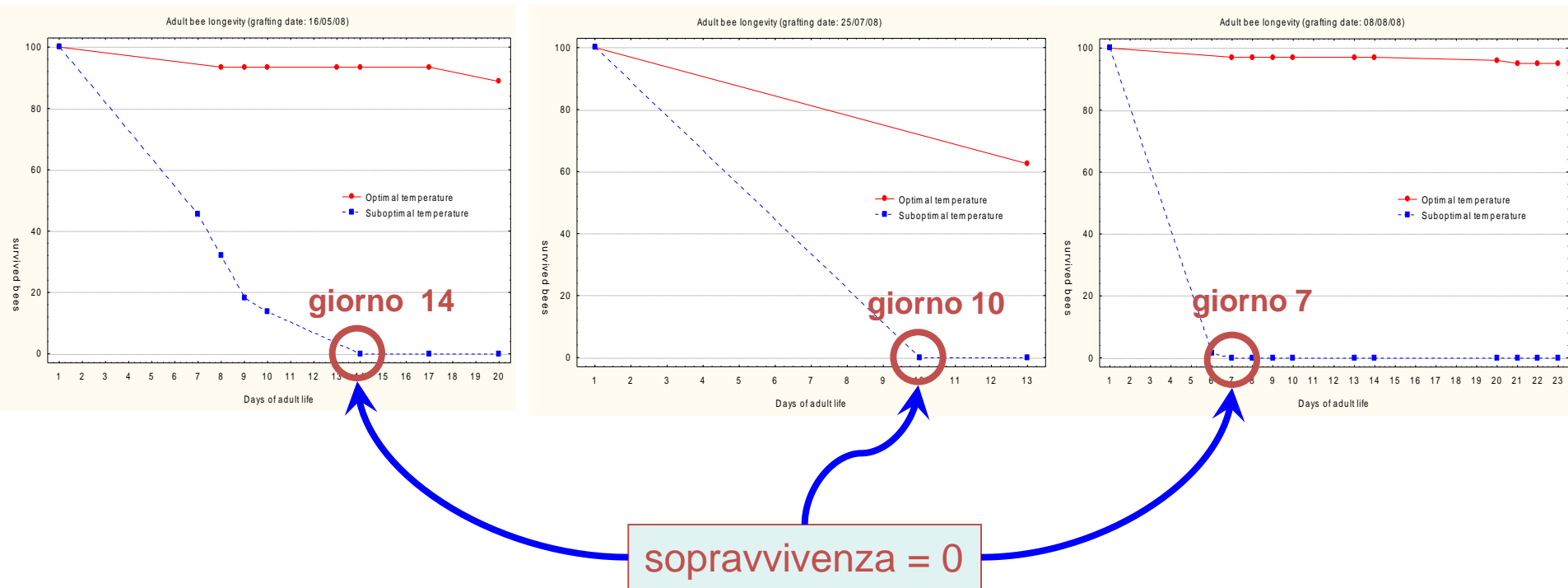


- **Dopo la somministrazione di DL50 di Dimetoato, mortalità accelerata nelle api allevate a temp. subottimale**



Longevità delle api allevate a 2 temperature (prova a2)

- Larve allevate *in vitro* – protocollo di Aupinel *et al.*
- Condizioni termiche ottimali (35 C) e subottimali (33 C)
- Sfarfallamento delle api adulte
- Controlli di mortalità giornalieri fino alla morte di tutte le api



- **Risultato: Api nate da covata allevata a temperature subottimali hanno la longevità notevolmente ridotta**

Effetti sulla morfologia delle api allevate a 2 temperature

Al 7° giorno di vita, le api vive e morte sono state analizzate



Effetti sulla morfologia delle api allevate a 2 temperature

temperatura di covata	api morte entro il 7° giorno		api vive al 7° giorno		
	ottimale	subottimale	ottimale	subottimale	
dimensione campione	22	69	18	37	
% api	no malformazioni	54,5%	49,3%	44,4%	59,5%
	ligula corta	0,0%	0,0%	38,9%	27,0%
	ligula atrofica	40,9%	11,6%	16,7%	13,5%
	ali malformi	0,0%	26,1%	0,0%	0,0%
	ali & ligula	0,0%	11,6%	0,0%	0,0%
	ali & ligula & zampe	4,5%	1,4%	0,0%	0,0%
	totale malformazioni	45,5%	50,7%	55,6%	40,5%

b) Agrofarmaci, temperatura ambiente ed età delle api



CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA



Tossicità sulle api adulte di età diverse a diverse condizioni termiche (prova preliminare)

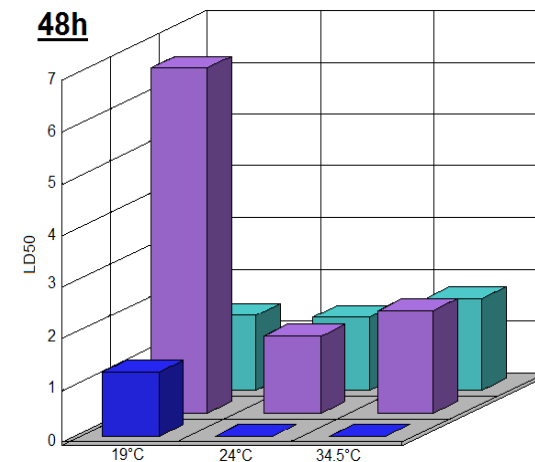
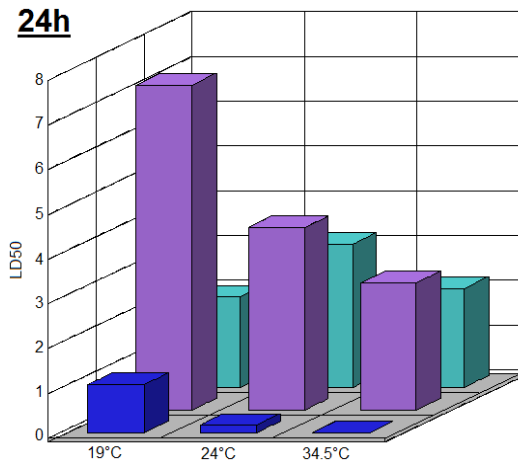
- Api di tre diverse età provenienti da un alveare: neosfarfallate – di casa – bottinatrici
- Tre diverse temperature di test: 19 C – 24 C – 34,5 C
- Test di tossicità con Clothianidin e Fipronil (valutazione DL50; dosi saggiate: 0, 1, 2, 4, 8, 16 ng/ape)
- 20 api per dose testata (totale 2160 api sottoposte al test)



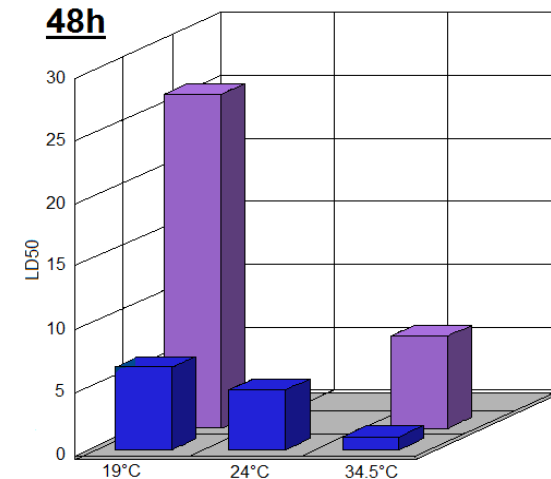
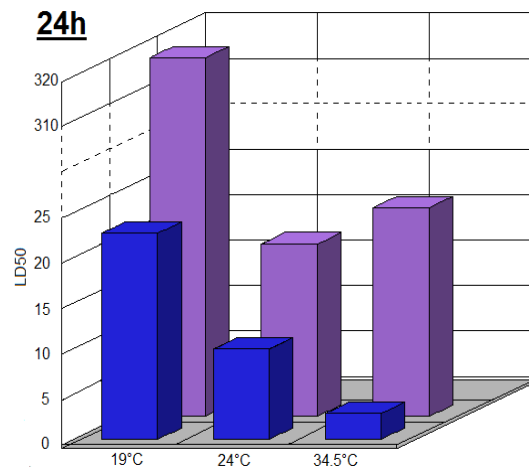
Tossicità sulle api adulte di età diverse a diverse condizioni termiche (prova preliminare)

■ bottinatrici ■ api di casa ■ api neosfarfallate

Clothianidin



Fipronil



Tossicità sulle api adulte di età diverse a diverse condizioni termiche (prova preliminare)

- La **suscettibilità** delle bottinatrici all'intossicazione (con Clothianidin e Fipronil) sembra **aumentare notevolmente a temperature alte**
 - Sarebbe opportuno saggiare i pesticidi in condizioni di temperature più alte
 - Ma – attenzione alla cristallizzazione dello sciroppo testato!
- La suscettibilità è più alta nelle bottinatrici rispetto alle api di casa e neosfarfallate

c) Agrofarmaci e qualità di alimentazione



CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA



Tossicità sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari (prova preliminare)

- Api neosfarfallate
- 8 giorni di alimentazione *ad libitum* a base di polline e miele



- Test di tossicità con Clothianidin (valutazione DL50)



- Risultati:

Alimentazione pollinica	DL50 (24h) [ng/ape]
<i>Prunus</i> (valore medio)	0,732
<i>Phacelia</i> (valore alto)	1,600
mix di pollini	1,071

Tossicità sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari (prova definitiva)

- Api neosfarfallate
- 14 giorni di alimentazione *ad libitum* a base di polline e miele

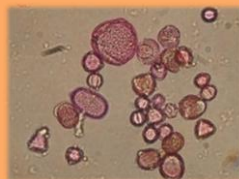
MIX

- Alto valore proteico
- Aminoacidi: 178 $\mu\text{mol/g}$
- Alta diversità di pollini (17 tipi)
- Pollini principali:

Amorpha (54%)

Phacelia (25%)

Cruciferae (11%)



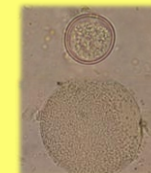
MAIS

- Basso valore proteico
- Aminoacidi: 133 $\mu\text{mol/g}$
- Bassa diversità di pollini (8 tipi)
- Pollini principali:

Zea mays (51%)

Plantago (24%)

Oleaceae (14%)



- Valutazione del consumo di diete
- Test di tossicità con Clothianidin e Fipronil (valutazione DL50)



Tossicità sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari (prova definitiva)

LD50 (24h) Clothianidin

	Esp.1 (luglio)	Esp.2 (agosto)
Mais	2.07	< 0.55
Mix	(2.71)	< 0.50

Mortalità con
0.55 ng/ape = 67.3%



LD50 (24h) Fipronil

	Esp.1 (luglio)	Esp.2 (agosto)
Mais	3.98	4.29
Mix	7.10	12.25

Mortalità con
0.50 ng/ape = 61.5%

Effetto di anestesia con CO₂
e affamamento
(esp. 2 – agosto)

	% mortalità (N)
Mais	16.7 (210)
Mix	0.5 (205)
<i>p</i> (χ^2)	< 0.01

Consumi
(per ape giorno)

		acqua (μ l)	miele (μ l)	polline (mg)
Esp. 1 (luglio)	Mais	8.9	7.6	2.5
	Mix	8.4	7.5	2.6
Esp. 2 (agosto)	Mais	12.2	13.0	1.5
	Mix	10.0	13.7	0.9

Tossicità sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari (prova definitiva)



Alto valore proteico, alta diversità



Resistenza all'intossicazione da pesticidi



**Resistenza al protocollo sperimentale
(anestesia con CO₂ e 2h affamamento)**



Consumo giornaliero di polline



Sperimentazioni da condurre nel 2010

- effetti di fitofarmaci somministrati a dosi subletali alle api allevate in vitro a due regimi termici:
effetti sull'orientamento (prova a3) e sull'apprendimento (prova a4)
- effetti dei fitofarmaci sulle api in relazione allo stato sanitario della colonia (prova d)
- effetti sinergici di fitofarmaci e patogeni (prova e)



CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA



Divulgazione dei risultati

1. P.Medrzycki, F.Sgolastra, L.Bortolotti, G.Bogo, S.Tosi, E.Padovani, C.Porrini, A.G.Sabatini (2010) **Influence of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to poisoning by pesticides.** *Journal of Apicultural Research* 49(1): 52-59.
2. Presentazione al 41 Congresso APIMONDIA, 15-20 Settembre 2009, Montpellier, Francia:
“Can the brood rearing temperature affect adult bee fitness? A hypothesis explaining the time interval between bee loss and its primary causal factor”
3. Presentazioni al 5th COLOSS Conference “Prevention of honeybee COlony LOSSes”, 14-15 Settembre 2009, Montpellier, Francia:
 - a) **Role of suboptimal brood rearing temperature in colony losses (pres. orale)**
 - b) **Role of temperature related to bee age in the response to pesticides (poster)**
 - c) **Role of food quality in bee response to pesticides (pres. orale)**



CRA-API
UNITÀ DI RICERCA
DI APICOLTURA E BACHICOLTURA

