

Scheda APENET Monitoraggio e ricerca in apicoltura

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

Studio effettuato da CRA – Unità di Ricerca di Apicoltura e Bachicoltura

Competenze dell'Unità Operativa in relazione al progetto

L'Unità di Ricerca di Apicoltura e Bachicoltura (CRA-API) in collaborazione con il Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali – Area Entomologia dell'Università di Bologna, anni fa ha avviato un settore di ricerca relativo ai rapporti tra api e ambiente. Oltre a utilizzare le api come bioindicatori dell'inquinamento urbano, industriale, militare e altro, l'Unità in questione è costantemente impegnata nello studio dell'impatto sulle api dell'attività umana, con particolare riferimento all'agricoltura. Nello specifico, numerose convenzioni e progetti di ricerca riguardano lo studio degli effetti semplici e sinergici di pesticidi sulle api da miele. Vengono quindi studiati gli aspetti tossicologici a livello individuale e quelli subletali, che pur non provocando la morte dei singoli individui, ne alterano i parametri comportamentali, potendo causare dei danni a livello dell'intera famiglia, fino all'estinzione della stessa. Recentemente CRA-API ha partecipato, in collaborazione con l'Università di Bologna (DiSTA) e con l'IZS delle Venezie, a un progetto biennale atto a individuare i potenziali fattori di spopolamento degli alveari nelle zone agricole a diversa composizione culturale, in particolare in riferimento alle semine di mais conciato. Nell'ambito delle suddette ricerche, il CRA-API ha acquisito notevoli competenze relative alla conduzione dei test specifici in laboratorio, semicampo e campo, atti a individuare gli effetti letali e subletali sulle api di alcuni fattori stressanti, con particolare riferimento all'avvelenamento da agrofarmaci. Recentemente l'Unità in questione ha partecipato al perfezionamento di un metodo di allevamento in vitro delle larve di ape da miele che permette la somministrazione di questi fattori di stress alla covata e il successivo studio degli effetti sia sulla covata stessa che sulle api adulte sviluppatesi. Il metodo in questione, attualmente operativo in Italia solo presso il CRA-API, è fondamentale per studiare i danni derivanti agli stress subiti dalle larve (Aupinel *et al.*, 2007).

Collaborazioni esterne

Tutte le attività previste dalle linee di ricerca saranno svolte con la collaborazione esterna del DiSTA (Dipartimento di Scienze e Tecnologie Ambientali) – Università di Bologna. Il DiSTA oltre a fornire le competenze del suo personale in materia di studi ecotossicologici sulle api metterà a disposizione i suoi laboratori dell'Azienda Sperimentale di Cadriano (BO) per lo svolgimento delle varie prove. Tale collaborazione è a costo zero per il progetto.

Inoltre, per le ricerche di cui ai punti d) ed e), è necessario il ricorso a metodiche di analisi molecolare ad alta specificità e sensibilità; nello specifico si applicherà la tecnica PCR-RT per la rilevazione quantitativa e l'identificazione degli agenti batterici responsabili delle patologie della covata. Pertanto è prevista una collaborazione con l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia, sezione di Modena, per la quale sono previsti 10.000 euro all'anno.

Per le ricerche riguardanti il rilevamento dei dati sulla presenza degli insetti ipogei nelle aree maidicole e le prove sugli effetti della guttazione delle plantule di mais nei confronti delle api ci si avvarrà della collaborazione del Dipartimento di Agronomia Ambientale e produzioni vegetali-Entomologia dell'Università di Padova. Per questa attività verranno stanziati 50.000 euro all'anno.

Stato dell'arte

Le mortalità delle api e gli spopolamenti delle famiglie sono causati da una combinazione di fattori. Tra questi le patologie, le pratiche apistiche, i trattamenti fitosanitari, la drastica diminuzione dei luoghi di bottinamento, lo scarso valore nutrizionale del polline raccolto dalle api, la gestione del territorio e ancora i campi elettromagnetici e le coltivazioni OGM. Lo studio delle singole cause può essere compiuto in modo relativamente semplice, tuttavia spesso si nota come i vari risultati ottenuti siano contrastanti e non diano spiegazioni nette e chiarificanti. Questo perché gli effetti di ognuno dei precedenti fattori può essere attenuato o aggravato da altri fenomeni non facilmente controllabili, quali la disponibilità e la qualità del pascolo, la contaminazione ambientale e, soprattutto, le condizioni climatiche. Si ritiene infatti che non ci sia solo una causa all'origine delle morie di api ma che invece ci siano più aspetti direttamente coinvolti che, presi singolarmente ed a livelli bassi, non producono un effetto talmente dannoso come invece si ritiene

essi possano provocare se associati. Più enti nazionali ed internazionali hanno perciò deciso di intraprendere ricerche multifattoriali per studiare gli effetti sinergici di più fattori applicati contemporaneamente. Ognuno di questi comporta una condizione di stress per le api che in combinazione con l'utilizzo di agrofarmaci (anche a dosi sub-letali o prodotti ritenuti non pericolosi) può causare lo spopolamento degli alveari e/o comportamenti anomali. Questi ultimi, che colpiscono il singolo individuo, possono ripercuotersi sull'intera famiglia essendo l'ape un insetto altamente sociale. Ad esempio la temperatura a cui le api vengono allevate durante lo sviluppo larvale ha un impatto molto importante. Le api da miele mantengono la temperatura della loro covata all'interno del nido a un livello costante di $34,5 \pm 0,5$ °C. Studi precedenti hanno dimostrato che se la covata viene allevata a temperature al di fuori di questo intervallo, le api pur sviluppandosi normalmente mostrano una ridotta capacità di apprendimento e di memorizzazione (Tautz et al., 2003; Jones et al., 2005). Gli adulti sviluppati da pupe incubate in condizioni non ottimali di temperatura, tendono a disperdersi in campo e mostrano ridotte capacità di comunicazione (Jones et al., 2005). Inoltre recenti studi hanno dimostrato che api esposte durante lo sviluppo pre-immaginale alla temperatura anche di un grado inferiore a quella ottimale danno origine ad adulti caratterizzati da una longevità fortemente ridotta (Medrzycki et al. 2008) e suscettibilità all'avvelenamento da agrofarmaci più elevata. All'uscita dell'inverno l'equilibrio tra il numero di api adulte e la covata è molto delicato, si ipotizza pertanto che un abbassamento della temperatura dopo un precedente periodo più caldo e/o la moria di un certo numero di operaie possa comportare la perdita di questo equilibrio e le insufficienti api adulte all'interno dell'alveare possono non riuscire a mantenere la temperatura ottimale della covata. Le operaie originate da questa covata risulteranno più indebolite e potranno essere più suscettibili ai pesticidi e altri fattori di stress. Questo effetto può ripercuotersi inoltre sull'intero processo di sviluppo annuale della famiglia.

Anche lo stato nutrizionale dell'alveare ha un effetto sullo sviluppo della famiglia. Per allevare la covata le api hanno bisogno di polline adeguato dal punto di vista nutrizionale. Infatti nessun tipo pollinico da solo contiene tutti i nutrienti necessari alla covata e una buona miscela di pollini diversi consente di allevare api sane, forti e "grasse" (con molte riserve energetiche). Purtroppo non sempre le api si trovano in una situazione in cui possono accedere a pollini di diversa origine, anzi molto spesso gli apiari sono collocati in aree in cui si pratica la monocoltura. Anche l'utilizzo delle api per l'impollinazione può causare uno stress nutrizionale, infatti spesso gli alveari vengono collocati in frutteti con scarso apporto nutrizionale. Lo stress nutrizionale può essere causato anche da periodi climatici particolarmente avversi in cui la famiglia può avere un consumo eccessivo di scorte alimentari. Una famiglia in queste condizioni potrebbe essere molto più suscettibile all'avvelenamento da pesticidi, e le dosi risultanti innocue per una famiglia sana potrebbero in questo caso provocare seri danni.

Va sottolineato inoltre che le api vengono considerate, dalle linee guida internazionali (EPPO - European and Mediterranean Plant Protection Organization), gli insetti di riferimento per l'intero gruppo di impollinatori per quanto riguarda la valutazione dei rischi derivanti dall'uso di agrofarmaci. È pertanto evidente che i potenziali danni al patrimonio apistico derivanti dall'attività umana costituiscono non soltanto un problema all'economia del settore apicoltura ma devono essere intesi come indicazione di un potenziale pericolo a cui è sottoposto l'ambiente e in particolare gli insetti pronubi.

Oltre alla dispersione di polveri durante la semina di mais conciato, una ulteriore fonte di avvelenamento delle api può essere costituita dalle guttazioni che vengono prodotte dalle piante di mais in rapida crescita. Da prove preliminari risulta che nelle guttazioni di piantule di mais derivate da seme conciato si trovano elevate concentrazioni di neonicotinoidi; le api che venissero a contatto con tali soluzioni verrebbero uccise in pochi minuti, non potrebbero ritornare all'alveare e sfuggirebbero alla determinazione delle api morte raccolte davanti all'arnia. È pertanto opportuno quantificare esattamente la presenza di insetticidi nelle gocce presenti sulla vegetazione, non solo prodotte per guttazione dal mais, ma anche dalle graminacee spontanee sulle capezzagne alle quali si aggiunge, in condizioni meteorologiche favorevoli, la rugiada. Verrà pertanto verificata la effettiva assunzione da parte delle api delle gocce di guttazione e verranno inoltre messe in luce le principali variabili che condizionano l'assunzione di acqua da parte delle api bottinatrici, in particolare in corrispondenza delle semine del mais.

Obiettivi specifici

Con la ricerca in questione si vuole fare luce su alcuni aspetti relativi ai recenti gravi danni subiti dalle api. In particolare, si intendono studiare i possibili effetti negativi di agrofarmaci somministrati alle api sia durante lo stadio larvale che adulto in relazione ad altri fattori ambientali. La somministrazione avverrà a livelli subletali e si cercherà di individuare gli effetti che tali sostanze provocano alle api in sinergia con un secondo fattore di stress. In questo modo si vuole capire perché in alcune situazioni ambientali si riscontrano importanti danni in apicoltura attribuibili a un intervento agricolo, mentre in altre circostanze, simile intervento non dà origine ad alcun danno.

Nello specifico, saranno svolte prove sperimentali in laboratorio atte a studiare gli effetti letali e subletali degli agrofarmaci di recente interesse (neonicotinoidi, IGR, microincapsulati) sulle api adulte e sulle larve in relazione alla combinazione sinergica con diversi fattori: età dell'ape, temperatura di allevamento della covata, intossicazione

subletale delle larve, stato nutrizionale dell'adulto, temperatura di esposizione all'agrofarmaco, stato sanitario dell'alveare. Inoltre, al fine di ottenere informazione il più possibile omogenee dal territorio, relativamente al fenomeno dello spopolamento degli alveari e della mortalità delle api, per poi utilizzarle nell'interpretazione delle sperimentazioni di laboratorio (e viceversa), è prevista l'istituzione di una squadra di esperti che si rechi, nel più breve tempo possibile, sul luogo in cui è stata segnalata una grave moria di api per l'accertamento dello stato sanitario degli alveari colpiti, oltre che di quelli senza danno, e per il rilevamento dei dati ambientali.

L'elaborazione di mappe di rischio per la presenza di fitofagi ipogei del mais serviranno a capire la reale necessità del massiccio ricorso alla concia delle sementi di mais che si è praticato in questi anni.

Si intende poi verificare l'eventuale contaminazione delle gocce di guttazione e della rugiada presenti sulla vegetazione in dipendenza della tipologia di trattamento (concia o geodisinfestazione) e la loro eventuale tossicità nei confronti delle api. Verrà infine studiato il comportamento delle api sui seminativi, per verificare il loro effettivo interesse nei confronti dell'acqua libera e quindi se essa possa rappresentare una effettiva fonte di avvelenamento per le api.

Piano di attività

Per raggiungere gli obiettivi previsti sono state progettate alcune attività specifiche:

a) Studio degli effetti letali e subletali di agrofarmaci sulle api adulte e sulle larve sviluppate in laboratorio a diverse condizioni termiche. Si utilizzerà il metodo di allevamento in vitro della covata messo a punto da Aupinel *et al.* (2005) sottoponendo le larve a due regimi termici: ottimale e subottimale. Successivamente, gli adulti sviluppatasi verranno sottoposti ai test di tossicità acuta (prova a1), di longevità (prova a2), di orientamento con il metodo del labirinto in laboratorio (Zhang *et al.* 1996) (prova a3) e di apprendimento con il metodo del PER (Decurtye *et al.* 2004a, 2004b) (prova a4). Le api risultanti da tutte le prove verranno anche analizzate dal punto di vista morfologico allo scopo di verificare l'influenza delle condizioni di sviluppo sull'eventuale comparsa di malformazioni e sulle variazioni di alcuni parametri fisiologici. Queste attività saranno svolte presso il CRA-API in collaborazione con il DiSTA – Università di Bologna.

b) Studio degli effetti tossici di agrofarmaci sulle api adulte di età diverse esposte a differenti condizioni termiche. Verrà studiata la risposta, in termini di mortalità, delle api adulte di diversa età (neosfarfallate, di casa e bottinatrici) alla somministrazione di alcuni pesticidi, in relazione della temperatura di svolgimento del saggio. Queste attività saranno svolte presso il CRA-API in collaborazione con il DiSTA – Università di Bologna.

c) Studio degli effetti letali e subletali di agrofarmaci sulle api adulte sottoposte a diversi regimi alimentari. Le api verranno fatte sfarfallare in laboratorio, dove verranno subito sottoposte a diversi regimi alimentari (polline monoculturale con basso valore nutritivo e mix di pollini con alti valori nutritivi). Dopo un periodo di allevamento verrà valutata la loro risposta alla somministrazione di un agrofarmaco. Si intende valutare tale risposta sia in termini degli effetti letali che quelli subletali come descritto nel punto a). Queste attività saranno svolte presso il CRA-API in collaborazione con il DiSTA – Università di Bologna.

d) Studio degli effetti degli agrofarmaci sullo sviluppo della colonia di api in relazione al sue condizioni di forza e al suo stato sanitario. Si porrà particolare attenzione alle patologie infettive della covata che verranno valutate sia a livello clinico che subclinico. Le api provenienti dalle colonie sperimentali caratterizzate da diverso stato sanitario saranno sottoposte ai test degli effetti tossici di alcuni pesticidi. Queste attività saranno svolte presso il CRA-API in collaborazione con il DiSTA – Università di Bologna e con l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia, sezione di Modena.

e) Studio dell'interazione tra effetto tossicologico di agrofarmaci e infezioni della covata; rapidità e intensità di sviluppo dell'infezione in dipendenza dell'agrofarmaco; effetto dell'agrofarmaco in dipendenza del livello infettivo. Alle larve, allevate in laboratorio secondo il protocollo di Aupinel *et al.* (2005), verrà somministrato un agrofarmaco a livello subletale. Successivamente verrà valutata la risposta delle larve stesse all'inoculazione di patogeni della covata, in particolare i batteri agenti eziologici della peste americana e della peste europea. Questa risposta sarà valutata attraverso il rilevamento di mortalità preimmaginale e attraverso i metodi di biologia molecolare (PCR real time) con l'obiettivo di valutare i diversi livelli di evoluzione delle infezioni da sub-clinico a clinico. Parallelamente, applicando le medesime metodiche, verranno condotte prove per valutare l'effetto tossico dell'agrofarmaco (tempi e livelli di mortalità delle larve) somministrato a larve caratterizzate da diversi livelli di infezione. Queste attività saranno svolte presso il CRA-API in collaborazione con il DiSTA – Università di Bologna e con l'Istituto Zooprofilattico della Lombardia e dell'Emilia, sezione di Modena.

f) Studio in campo delle interazioni ambientali attraverso una squadra di rilevamento. A seguito di segnalazioni di gravi morie di api, una squadra di esperti si recherà sul luogo dell'apicidio per rilevare tutti i dati ambientali e relativi allo

stato sanitario degli alveari. In particolare, oltre ad effettuare foto e filmati degli apiari colpiti e dell'area di studio, dovranno essere eseguiti i seguenti controlli:

Controlli per ogni alveare: forza della famiglia [numero di api adulte, estensione della covata (opercolata e non, maschile e femminile), scorte (polline, miele opercolato e non), età della regina, presenza di fuchi, ecc.]; osservazioni sulla famiglia (mortalità, attività di volo, presenza di api con pallottole di polline, presenza di varroa, sintomi di peste americana ed europea, sintomi evidenti di altre patologie, comportamenti anomali, ecc.) e indicazione degli interventi sanitari adottati. Eventuali prelievi di polline e di api morte per l'analisi degli agrofarmaci, e il campionamento di api vive per le analisi di tipo patologico.

Rilievi ambientali: tipo di zona (pianura, collina, montagna); destinazione d'uso del territorio (agricoltura, bosco, industria, urbanizzazione); principali coltivazioni dell'area e dati meteorologici (temperature, precipitazioni, ecc.).

Si ritiene indispensabile, per costituire una casistica con dati omogenei, realizzare almeno una decina di rilievi per anno in zone dove sono occorsi degli apicidi o degli spopolamenti, e altrettanti in aree simili, dal punto di vista dell'uso del territorio, ma dove non siano stati registrati danni alle api.

Elaborazione di mappe di rischio per la presenza di fitofagi ipogei del mais.

I rilievi di campo, con specifiche trappole e altri eventuali metodi di campionamento integrativi per i fitofagi ipogei, nelle principali regioni maidicole e la successiva elaborazione dei dati (Burgio *et al.* 2005; Ramilli *et al.*, 2006), avranno una durata di almeno due anni. Ogni trappola verrà installata e controllata in funzione delle caratteristiche biologiche e della fenologia dell'insetto target. In particolare i campionamenti con le trappole a feromone potranno essere integrati con altre tecniche, come l'osservazione visiva o la raccolta mensile di larve, utili anche all'eventuale quantificazione del danno economico. Si prevede che la rete di campionamento, dimensionata rispetto a diversi fattori (estensione coltivazione mais, caratteristiche e conduzione agronomica, ecc.), comporterà un numero minimo di 30 punti per regione ed un massimo di 40. Le postazioni andranno controllate una o due volte al mese da aprile a settembre.

Valutazione della contaminazione dovuta alle guttazioni

Parcelle sperimentali di mais saranno seminate sia mediante seminatrici pneumatiche e impiegando seme conciato, sia mediante seminatrici tradizionali e utilizzando i più comuni geodisinfestanti. Le gocce d'acqua raccolte in campo saranno sottoposte ad analisi chimica per quantificare la presenza di insetticidi e inoltre offerte alle api bottinatrici in semplici test di laboratorio, per verificarne la tossicità. Saranno inoltre studiate le condizioni per cui le api bottinatrici tendono a suggerire le gocce d'acqua presenti sulla vegetazione, mediante l'introduzione di apiari sperimentali nelle parcelle sperimentali e la quantificazione delle visite delle api sui seminativi e in particolare il loro interesse verso l'acqua libera sulla vegetazione. Verranno infine analizzate le condizioni ambientali e meteorologiche che possono influenzare le visite delle api ai seminativi, tenendo conto anche degli anticipi delle semine verificatesi negli ultimi anni, con la conseguente assenza di fioriture in corrispondenza delle semine stesse.

Articolazione temporale delle attività

Primo anno:

- I trimestre: Acquisto materiale sperimentale, preparazione degli alveari sperimentali, Ricerca bibliografica
- II e III trimestre: Svolgimento delle prove: a1), a2), b), d), prove preliminari a4), acquisto e collaudo del materiale necessario per lo svolgimento della prova a3) (labirinto) e calibrazione dei parametri di utilizzo
- IV trimestre: elaborazione dei risultati e perfezionamento dei protocolli sperimentali in seguito ai risultati delle prove preliminari svolte
- Creazione della rete di campionamento degli insetti ipogei nelle aree maidicole, dimensionata, rispetto a diversi fattori, con un numero minimo di 80 punti per regione ed un massimo di 150, e prelievo dei campioni.
- Allestimento di campi sperimentali di mais sia conciato che non, raccolta e analisi delle guttazioni e valutazione della loro tossicità, osservazioni in campo sull'attività delle api sulla coltura in esame.

Secondo anno:

- I e II trimestre: Svolgimento delle prove: a4), prova preliminare a3), prova preliminare c), prova preliminare e)
- III trimestre: Svolgimento delle prove: a3), c), e)

- IV trimestre: elaborazione dei risultati di tutte le linee di ricerca, preparazione delle pubblicazioni e del resoconto finale

- durante tutto il periodo di svolgimento della ricerca: attività di cui al punto f)

- Campionamento degli insetti ipogei nei punti individuati nelle aree maidicole.

- Allestimento di campi sperimentali di mais (anche in base alle indicazioni ottenute dalle prove condotte nel 1° anno di attività), raccolta e analisi delle guttazioni e valutazione della loro tossicità, osservazioni in campo sull'attività delle api sulla coltura in esame.

Ostacoli prevedibili ed azioni correttive

Nel corso delle sperimentazioni si possono verificare delle perdite improvvise di alveari sperimentali dovute alla mortalità invernale o all'insorgenza di alcune patologie. Tali problemi sono rimediabili con l'acquisto di nuove famiglie ed eventualmente altre arnie. Inoltre si può verificare la mortalità delle regine. In questo caso si rimedia tramite l'acquisto di regine nuove.

Per la rete di campionamento degli insetti ipogei nelle aree maidicole non vi prevedono difficoltà insormontabili che potrebbero essere legate alla logistica dei campionamenti e alla disponibilità degli agricoltori.

Anche per quanto riguarda le sperimentazioni con il mais i rischi di risultati solo parziali o non "consistenti" possono derivare da andamenti climatici non favorevoli o da errori degli operatori e dei ricercatori. Per i lavori di analisi è prevista sempre un'attività di verifica per la validazione dei dati destinati alla diffusione. In caso di ostacoli imprevisti in sede di progettazione, rispetto ai parametri relativi alle attività indicate, ed il monitoraggio costante del progetto, permetterà di avviare in tempo reale agli scostamenti verosimilmente riscontrabili. Le azioni correttive consentiranno la rimodulazione delle attività di ricerca e la loro eventuale riorganizzazione e ristrutturazione nel rispetto del corretto rapporto tra azioni e risultati attesi.

Risultati attesi

Valutazione degli effetti letali e subletali degli agrofarmaci sulle api in sinergia con i diversi fattori ambientali presi in considerazione. Dai risultati ottenuti sarà possibile identificare i fattori ambientali che provocano uno stress alle api rendendole più suscettibili agli agrofarmaci e che quindi possono portare ai casi di elevata mortalità e di spopolamento di intere famiglie. Infatti, in base alle segnalazioni e alle operazioni di monitoraggio svolte finora si è osservato che non sempre quando le api entrano in contatto con gli agrofarmaci muoiono o si hanno casi di spopolamenti di alveari. A causa di questa incoerenza, è stato finora difficile definire univocamente le cause dei danni in apicoltura. La presente ricerca dovrebbe quindi fare luce sulle condizioni in cui l'esposizione delle api a bassissimi livelli di agrofarmaci, possa avere effetti devastanti e quando, per contrasto c'è da aspettarsi l'assenza di sintomatologia o la presenza di danni lievi.

Le mappe di rischio per la presenza di fitofagi ipogei (mais), serviranno ad utilizzare il seme conciato solo nei casi in cui vi siano fattori di rischio o dove si riscontrino elevate infestazioni.

Le ricerche sulle guttazioni serviranno a valutare se l'acqua prodotta dalle plantule del mais e la rugiada presente sul mais e sulla vegetazione spontanea circostante, in corrispondenza delle semine di mais conciato con neonicotinoidi, possano costituire una fonte di avvelenamento per le api bottinatrici. Si verificherà così l'ipotesi che tale contaminazione sia una delle cause delle morie di api verificatesi negli ultimi anni in vicinanza dei campi di mais conciato, anche mediante il confronto con mais trattato con i più comuni geodisinfestanti.

Ricadute e benefici

La comprensione delle interazioni tra i fattori ambientali e gli agrofarmaci sulle api ci consente di spiegare alcune delle cause che portano alle morie delle api e agli spopolamenti degli alveari. L'identificazione di questi fattori e l'individuazione della loro rilevanza è importante per poter agire su quelli gestibili, cercando di mitigarne gli effetti sulle api, e/o per limitare l'uso degli agrofarmaci in certe condizioni ambientali.

Bibliografia

Aupinel P., Fortini D., Dufour H., Tasei J. N., Michaud B., Odoux F., Pham-Delégue M.-H. (2005). Improvement of artificial feeding in a standard in vitro method for rearing Apis mellifera larvae. Bulletin of Insectology, 58(2): 107-111.

- Aupinel P., Medrzycki P., Fortini D., Michaud B, Tasei J.N., Odoux J.F., (2007). A new larval in vitro rearing method to test effects of pesticides on honey bee brood. *Redia*, XC: 91-94.
- Decourtye A., Armengaud C., Renou M., Devillers J., Cluzeau S., Gauthier M. Pham-Delègue M. H. (2004a). Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybees (*Apis mellifera* L.). *Pest. Biochem. Physiol.*, 78: 83-92.
- Decourtye A., Devillers J., Cluzeau S., Charreton M., Pham-Delègue M.-H. (2004b). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotox. Environ. Safety*, 57: 410-419.
- 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 Insectology* 59 (2): 99-103.
- Greatti M., Sabatini A. G., Barbattini R., Rossi S., Stravisi A., 2003. Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing. Preliminary results. *Bulletin of Insectology* 56 (1): 69-72.
- Jones J., Helliwell P., Beekman M., Maleska R. J., Oldroyd B. P. (2005). The effects of rearing temperature on development stability and learning and memory in the honey bee, *Apis mellifera*. *J. Comp. Physiol. A*, 191: 1121-1129.
- Medrzycki P., Sgolastra F., Bortolotti L., Tosi S., Bogo G., Padovani E., Porrini C., Sabatini A. G. (2008). Influence of the brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to intoxication by pesticide.
- Ramilli F., Burgio G., Fabbri R., Tosio B., Vignudelli M., Rossi Pisa P., 2006. Can geostatistics improve the understanding of spatio-temporal dynamics of soil arthropods within ecological infrastructures at farm-scale level? Proceedings of the 2nd WG Meeting “Landscape management for functional biodiversity”, Zurich-Reckenholz, Switzerland, 16-19 May 2006, IOBC wprs Bull., 29 (6): 105-108.
- Tautz J., Maier S., Groh C., Rossler W., Brockmann A. (2003). Behavioral performance in adult honey bees is influenced by the temperature experienced during their larval development. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 100:7343-7347.
- Zhang S. W., Bartsch K., Srinivasan M. V. (1996). Maze learning by honeybees. *Neurobiology of learning and memory* 66: 267-282.