



Effetti dell'imidacloprid nei confronti di *Bombus terrestris* (L.) Prove di laboratorio

Laura Bortolotti* - Claudio Porrini** - Giovanni Sbrenna*

RIASSUNTO

L'imidacloprid è un insetticida sistemico che agisce in particolare contro insetti ad apparato boccale pungente-succhiatore. Considerata la riconosciuta utilità di *Bombus terrestris* come impollinatore di colture in serra, oltre alla sua importanza come pronubo naturale, con il presente lavoro vogliamo da un lato verificare la tossicità dell'imidacloprid su questo insetto, dall'altro contribuire a perfezionare il protocollo sperimentale, messo a punto a livello europeo, per i test di laboratorio su *B. terrestris*.

Dai risultati dei test topico ed orale emerge una elevata tossicità del prodotto commerciale a base di imidacloprid su *B. terrestris* in laboratorio (DL₅₀ a 24 ore: topica 3,101 µg/bombo, orale 0,387 µg/bombo; DL₅₀ a 48 ore: topica 0,077 µg/bombo, orale 0,076 µg/bombo; DL₅₀ a 72 ore: topica 0,028 µg/bombo, orale 0,035 µg/bombo). Dal confronto tra i risultati di DL₅₀ ottenuti per due prodotti di riferimento con quelli riportati in letteratura, risulta che il test da noi utilizzato è valido e riproducibile.

PAROLE CHIAVE:

Imidacloprid, *Bombus terrestris*, prove di laboratorio, tossicità, pronubi.

SUMMARY

Effect of imidacloprid on *Bombus terrestris* (L.). Laboratory test.

Imidacloprid, is a systemic insecticide that acts mainly against sucking insects. The importance of bumblebees as natural pollinators and their increasing commercial relevance in greenhouse pollination is known. With the present work we intend to investigate the toxicity of imidacloprid on *Bombus terrestris* and contribute to develop the European guideline on the testing procedure for bumblebees.

The results of topical and oral test with imidacloprid indicate a high toxicity on bumblebees in the laboratory (24 hours LD₅₀: contact 3,101 µg/bumblebee, oral 0,387 µg/bumblebee; 48 hours LD₅₀: contact 0,077 µg/bumblebee, oral 0,076 µg/bumblebee; 72 hours LD₅₀: contact 0,028 µg/bumblebee, oral 0,035 µg/bumblebee). By comparing the LD₅₀ of two reference compounds with that found by other authors, we con-

clude that the test used is valid and reproducible.

KEY WORDS:

Imidacloprid, *Bombus terrestris*, laboratory test, toxicity, pollinators.

Introduzione

A partire dalla nicotina, le cui proprietà insetticide erano già note tre secoli fa, e dalle relative molecole nicotinoidi, negli ultimi vent'anni è stata sviluppata una nuova classe di composti, denominati "neonicotinoidi". Si tratta di principi attivi neurotossici che agiscono sul sistema nervoso centrale degli insetti e, precisamente, sul sito neuronale nicotinico dell'acetilcolina.

La molecola modello dei neonicotinoidi è l'imidacloprid, appartenente al gruppo chimico dei Cloronicotinili. Essa ha un meccanismo d'azione di tipo acetilcolino-mimetico, cioè si lega in modo permanente ai recettori proteici della membrana delle cellule nervose, provocando uno stato permanente di eccitazione che porta alla morte dell'insetto. La molecola è stata sintetizzata nel 1986 dalla affiliata Bayer giapponese, Nihon Bayer Agrochem K.K., ed è attualmente commercializzata dalla Bayer (Angelini e Lazzarini, 1997; Yamamoto, 1998).

Come insetticida l'imidacloprid ha un ampio spettro d'azione e pertanto trova impiego in numerose colture agrarie. Vista l'elevata sistemicità, agisce in modo particolare su fitofagi ad apparato boccale pungente-succhiatore, quali afidi, aleurodidi, cica-

line e tripidi. È attivo per ingestione e presenta una lunga persistenza, che in prove di campo è risultata di 75-80 giorni dal trattamento (Barbieri e Cavallini, 1997). Viene impiegato sia in orticoltura che in frutticoltura e su piante floreali ed ornamentali; inoltre lo stesso principio attivo viene utilizzato per la concia del seme in molte colture erbacee.

I dati sugli effetti dell'imidacloprid nei confronti degli impollinatori sono contrastanti (Colombo e Buonocore, 1997; Vacante, 1997; Nucifora e Vasquez, 1999). Da dati di laboratorio, imidacloprid e i suoi metaboliti risultano altamente tossici verso *Apis mellifera* L. per ingestione (Stark *et al.*, 1995; Suchail *et al.*, 2000) ma, data l'azione poco persistente in trattamenti fogliari, un'applicazione in campo del principio attivo è considerata poco rischiosa se avviene alla sera tardi o di notte (Mayer *et al.*, 1994; Mayer e Lunden, 1994; Mayer e Lunden, 1997).

Negli scorsi anni il prodotto è stato messo sotto accusa in Francia, dalle Associazioni di Apicoltori, per aver provocato danni alle api quando usato per trattare semente di girasole. Di recente, in Friuli e in Veneto, diversi apicoltori hanno osservato una lenta, ma costante nel tempo, moria delle api che può spopolare in maniera preoccupante gli alveari. Essi ne attribuiscono la causa alla pratica di conciare la semente di mais con un prodotto commerciale a base di imidacloprid.

Considerata la gravità per le api e i rischi cui sono esposti anche gli altri

* Dipartimento di Biologia, sez. Biologia Evolutiva - Università di Ferrara(**)

** Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali - Università di Bologna

impollinatori, si rende necessario mettere a punto un protocollo sperimentale, sia di laboratorio che di campo, in grado di valutare correttamente gli effetti dell'imidacloprid (dato il suo largo impiego e la sua elevata persistenza) verso i principali impollinatori, api e bombi.

Con il presente lavoro compiamo un primo passo in questa direzione, valutando la tossicità topica ed orale dell'imidacloprid nei confronti di *Bombus terrestris* (L.) in laboratorio.

Materiali e metodi

Somministrazione topica ed orale di imidacloprid

Le operaie di *B. terrestris* (Fig. 1) provenivano da colonie commerciali normalmente utilizzate per l'impollinazione in serra (Fig. 2). La stesura del protocollo sperimentale è stata elaborata tenendo conto delle indicazioni contenute in una *guideline* sulla tossicità dei pesticidi sui bombi, stabilita da un gruppo di lavoro formatosi in Olanda nel 1996 (Van der Steen *et al.*, 1996).

Considerata la grande variabilità di dimensioni ed età tra le operaie di ogni colonia, nelle prove sono stati utilizzati individui di dimensione media e sono stati scartati gli individui neosfarfallati.

La somministrazione è stata eseguita per via topica e per via orale. Con il primo tipo di applicazione il prodotto veniva depositato, in ragio-



Fig. 2 - Arnia commerciale di *Bombus terrestris* (L.) utilizzata per l'impollinazione in serra (Foto F. Santi).

ne di 1 µl/bombo, tramite siringa Hamilton, sulla parte ventrale dell'addome. Oltre che diluito in acetone, come suggerito nella *guideline*, il prodotto è stato somministrato anche sciolto in acqua, per mimare le modalità usuali di trattamento delle colture e quindi il modo più probabile con cui il bombo viene a contatto con l'insetticida. Gli individui testimone sono stati trattati topicamente con 1 µl di acetone o acqua.

Nella somministrazione orale il

prodotto, disciolto in una di soluzione zuccherina al 50%, veniva offerto singolarmente ad ogni operaia come goccia di alimento (10 µl), con le modalità illustrate in Fig. 3. Solo gli individui che avevano consumato tutti i 10 µl di soluzione sono stati utilizzati per la prova. Gli individui testimone hanno ricevuto 10 µl di sola soluzione zuccherina.

È stato utilizzato un prodotto commerciale, contenente il 17,8% del principio attivo imidacloprid. La dose di riferimento utilizzata come dose "campo" era di 0,05% (50 ml/hl) del prodotto commerciale, cioè quella consigliata dalla casa produttrice per i trattamenti su afidi. Come calcolato dai valori riportati sull'etichetta, la densità del prodotto commerciale risulta pari a 1,12 g/ml; poiché nel test topico ogni bombo riceveva 1 µl di soluzione, la dose campo corrispondeva a 0,56 µg/bombo di prodotto commerciale. Per il test orale, dove ogni bombo riceveva 10 µl di soluzione, è stata usata una dose campo 10 volte più diluita, in modo che la quantità di prodotto ingerito per bombo fosse sempre di 0,56 µg.



Fig. 3 - Metodo utilizzato per alimentare singolarmente le operaie di *Bombus terrestris* (L.) nel test di somministrazione orale; sono visibili le ligule degli insetti che lambiscono la soluzione zuccherina (Foto M. G. Milani).

Fig. 1 - Operaia di *Bombus terrestris* (L.) su fiore di cardo (Foto F. Santi).





Sono state saggiate diluizioni della dose campo (C) o quantità multiple della stessa: 1/6C, 1/20C, 1/200C, 6C e 60C nella somministrazione topica con il prodotto disciolto in acetone; 6C, 60C e 300C nella somministrazione topica con il prodotto disciolto in acqua; 1/20C, 1/200C e 6C nella somministrazione orale.

Dopo il trattamento le operaie sono state mantenute al buio, in cella climatizzata alla temperatura di 24°C ($\pm 1^\circ\text{C}$), all'interno di contenitori cilindrici e alimentate con soluzione zuccherina. La registrazione della mortalità è avvenuta ogni 24 ore per la durata di 10 giorni. Per ogni dose di prodotto sono state effettuate un minimo di due repliche, ciascuna costituita da 30 individui, come da indicazioni della *guideline*. Ogni test veniva considerato valido quando la mortalità del testimone non era superiore al 10%.

Determinazione della DL_{50} topica ed orale

La determinazione della DL_{50} topica ed orale è stata effettuata anch'essa seguendo le indicazioni della *guideline*. Sono state utilizzate cinque concentrazioni di prodotto diluito in acetone: 1/6C, 1/20C, 1/200C, 6C e 60C, corrispondenti rispettivamente a 0,093, 0,028, 0,0028, 3,36 e 33,6 $\mu\text{g}/\text{bombo}$. Per ogni saggio è stato effettuato un minimo di due repliche, ciascuna costituita da 30 individui. È stata determinata la DL_{50} dell'imidacloprid a 24, 48 e 72 ore dal trattamento. È stato inoltre effettuato un controllo negativo (testimone), come descritto precedentemente.

Per definire la validità del test sono stati utilizzati due principi attivi di riferimento di accertata tossicità (controlli positivi), somministrati con le stesse modalità illustrate per il test con imidacloprid. Come primo controllo positivo è stato scelto un prodotto commerciale contenente dimetoato al 40%, come suggerito nella *guideline*, somministrato in tre dosi: 10, 18, 25 $\mu\text{g}/\text{bombo}$ nel test topico; 2,5, 3,75 e 5 $\mu\text{g}/\text{bombo}$ in quello orale. Queste dosi sono state scelte in quanto corrispondenti rispettivamente alla DL_0 , DL_{50} , DL_{100} topica ed orale del principio attivo su *B. terre-*

stris. Come secondo controllo positivo è stato scelto un prodotto commerciale contenente deltametrina al 2,5%, somministrato in cinque concentrazioni: 60, 100, 140, 180, 220 $\mu\text{g}/\text{bombo}$ nel test topico; 40, 60, 80, 100, 120 $\mu\text{g}/\text{bombo}$ in quello orale. Queste dosi vanno circa dalla DL_0 alla DL_{100} topica ed orale del principio attivo su *B. terrestris*.

I test venivano considerati validi quando la mortalità nel testimone non superava il 10%. I valori di DL_{50} ottenuti per dimetoato e deltametrina sono stati confrontati con quelli ottenuti da altri autori.

Risultati

Somministrazione topica di imidacloprid

I risultati del test di somministrazione topica con il prodotto diluito in acetone sono mostrati in Fig. 4. Il testimone (T) ha una mortalità sotto il 10% fino al quinto giorno e da 13% a 15% dal settimo al decimo. Alla dose di campo (C) la mortalità è 34% il primo giorno, 63% il secondo, 77% il terzo e tra 85% e 90% fra il quinto e il decimo. La differenza con il testimone risulta altamente significativa ($p < 0,001$) a partire dal secondo giorno dopo il trattamento.

Sulla base dei risultati ottenuti alla dose di campo, sono state saggiate sia dosi multiple che diluizioni di

questa. Alla dose 1/6C la mortalità va da 40% a 60% tra il primo e il secondo e terzo giorno e tra 70% e 95% dal quinto e decimo giorno. La differenza con il testimone è altamente significativa ($p < 0,001$) a partire dal secondo giorno. Alla dose 1/20C la mortalità cresce da 30% a 40% nei primi cinque giorni e da 60% a 70% tra il settimo e il decimo. La differenza con il testimone è molto significativa ($p < 0,005$) dal secondo al quinto giorno e altamente significativa ($p < 0,001$) dal settimo al decimo. Alla dose 1/200C la mortalità è 7% nei primi due giorni, 10% il terzo, 25% il quinto e tra 50% e 70% fra il settimo e il decimo. La differenza con il testimone è significativa ($p < 0,05$) il settimo giorno e altamente significativa ($p < 0,001$) il decimo. Infine alle dosi 6C e 60C la mortalità cresce da 50% a 80% dal primo al secondo giorno ed è tra 90% e 100% dal terzo al decimo. La differenza con il testimone è altamente significativa ($p < 0,001$) dal secondo al decimo giorno per entrambe le dosi e significativa ($p > 0,05$) nel primo giorno alla dose 60C.

I risultati del test di somministrazione topica con il prodotto diluito in acqua sono mostrati in Fig. 5. La mortalità del testimone (T) è sotto 10% per i primi 7 giorni dopo il trattamento e sale a 13% solo nel decimo giorno. La mortalità alla dose di campo (C) è 7% il primo giorno, 16% il

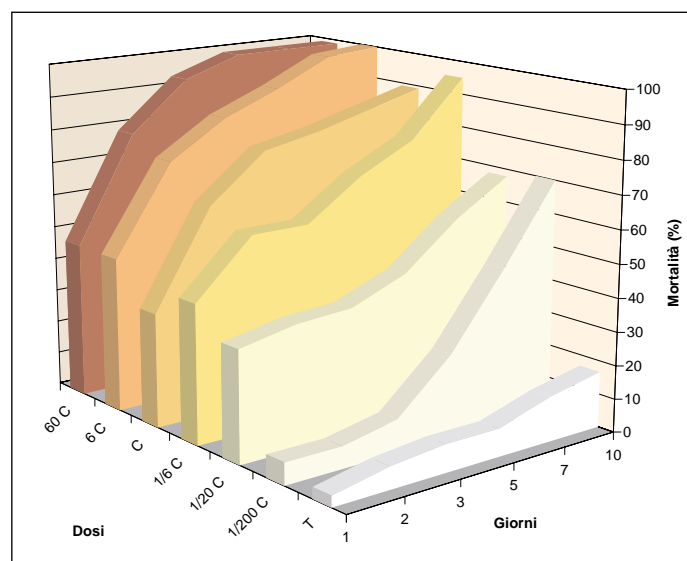


Fig. 4 - Mortalità di *Bombus terrestris* (L.) in seguito a somministrazione topica di imidacloprid diluito in acetone (T= testimone; C= dose di campo)

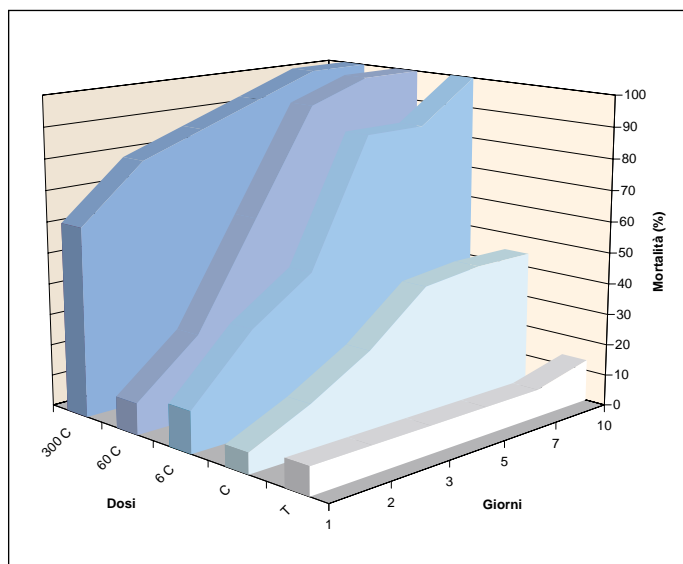


Fig. 5 - Mortalità di *Bombus terrestris* (L.) in seguito a somministrazione topica di imidacloprid diluito in acqua (T= testimone; C= dose di campo).

mortalità del testimone (T) è zero per tutti i giorni dopo il trattamento. Alla dose di campo (C) la mortalità è 27% il primo giorno, 80% il secondo, 93% il terzo e 100% dal quinto al decimo. La differenza con il testimone è molto significativa ($p < 0,005$) il secondo e il terzo giorno e altamente significativa ($p < 0,001$) dal quinto al decimo.

Alla dose 1/20C la mortalità cresce da 0% il primo giorno a 40% il secondo, 60% il terzo, 80% il quinto, 93% il settimo, fino a 100% il decimo giorno dal trattamento. La differenza con il testimone è significativa ($p < 0,05$) il secondo e terzo giorno, molto significativa ($p < 0,005$) dal quinto al settimo e altamente significativa ($p < 0,001$) il decimo giorno. Alla dose 1/200C la mortalità è 0% nei primi due giorni, 7% il terzo, 33% il quinto, 53% il settimo e 67% il decimo. La differenza con il testimone è significativa ($p < 0,05$) dal quinto al settimo giorno e molto significativa ($p < 0,005$) il decimo giorno. Infine alla dose 6C la mortalità è 100% già il primo giorno dopo il trattamento e la differenza con il testimone è altamente significativa ($p < 0,001$) dal primo al decimo giorno.

In seguito a somministrazione orale è stato osservato un effetto neurotossico che si può definire fulminante: l'ingestione della soluzione provoca comportamenti di volo anomali, seguiti da spasmi della muscolatura delle zampe. La morte avviene solitamente pochi minuti dopo l'ingestione.

Determinazione della DL₅₀ topica ed orale

Le DL₅₀ dell'imidacloprid nei primi tre giorni dopo il trattamento, calcolate in µg/bombo sia del prodotto commerciale, sia del principio attivo (p.a.) per bombo, sono mostrate nella Tabella 1.

La DL₅₀ topica del prodotto commerciale è di 3,101 µg/bombo dopo 24 ore, corrispondente a più di cinque volte la dose di campo, ma si riduce di circa 40 volte rispetto a questo valore dopo 48 ore e di più di 100 volte dopo 72 ore, valori questi ultimi

secondo e 27% il terzo, per assestarsi su 44% dal quinto al decimo giorno dopo il trattamento. Nessuno di questi valori risulta statisticamente diverso dai valori di mortalità del testimone ($p > 0,05$).

Sulla base di questi risultati sono state saggiate dosi multiple di quella di campo, per identificare le dosi che portassero a mortalità comprese tra 50% e 100%. Per le dosi 6C e 60C la mortalità passa da 10% del primo giorno a circa 30% nel secondo, tra 50% e 60% nel terzo e tra 90% e 100% dal quinto al decimo giorno. La differenza con il testimone per la dose 6C risulta significativa ($p < 0,05$) il quinto giorno e molto significativa

($p < 0,005$) il settimo e il decimo; per la dose 60C la differenza con il testimone è significativa ($p < 0,05$) il terzo giorno e molto significativa ($p < 0,005$) a partire dal quinto. Infine alla dose 300C la mortalità varia tra 60% e 80% nei primi tre giorni ed è quasi 100% dal quinto al decimo giorno. La differenza con il testimone risulta altamente significativa ($p < 0,001$) nei primi due giorni dopo il trattamento e molto significativa ($p < 0,005$) dal terzo al decimo.

Somministrazione orale di imidacloprid

I dati del test di somministrazione orale sono riassunti nella Fig. 6. La

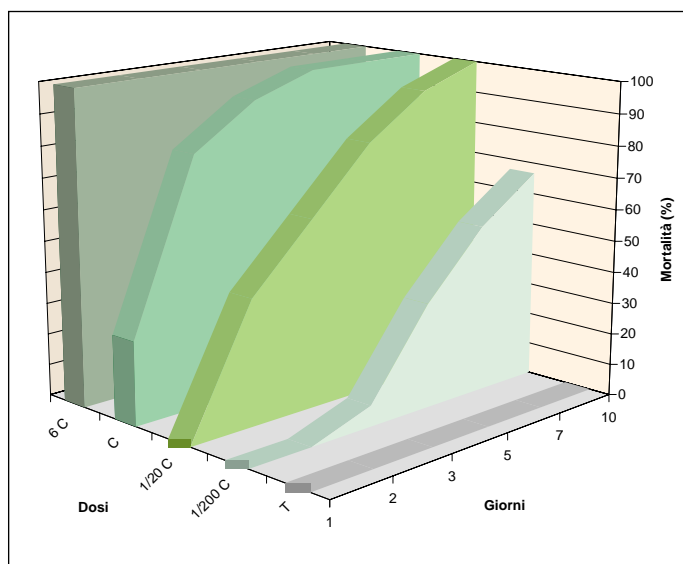


Fig. 6 - Mortalità di *Bombus terrestris* (L.) in seguito a somministrazione orale di imidacloprid in soluzione zuccherina (T= testimone; C= dose di campo).



Tab. 1 - DL₅₀ topica ed orale di imidacloprid a 24, 48 e 72 ore dal trattamento. I valori di DL₅₀ del principio attivo sono stati calcolati a partire da quelli del prodotto commerciale, tenendo conto della percentuale di p.a. presente.

DL ₅₀ (µg/bombo)	Topica			Orale		
	24	48	72	24	48	72
Ore dal trattamento	24	48	72	24	48	72
Prodotto commerciale (p.c.)	3,101	0,077	0,028	0,387	0,076	0,035
Principio attivo (p.a.)	0,554	0,014	0,005	0,069	0,014	0,006

mi pari a circa 1/7 e 1/20 della dose di campo.

La DL₅₀ orale del prodotto commerciale è invece di 0,387 µg/bombo dopo 24 ore, valore al di sotto della dose di campo consigliata, ed è circa 5 volte inferiore dopo 48 ore e 10 volte inferiore dopo 72 ore, valori corrispondenti a circa 1/7 e 1/16 della dose di campo.

Nella Tabella 2 sono mostrate le DL₅₀ dei due formulati di riferimento, dimetoato e deltametrina, espresse in µg p.a./bombo. I valori da noi ottenuti sono stati confrontati con quelli ottenuti da altri due autori, che hanno seguito la medesima *guideline* nella realizzazione del test. Le DL₅₀ a 24 ore, topica ed orale, del dimetoato risulta del tutto paragonabile a quella ottenuta da Philipsen (1998). La DL₅₀ orale a 24 ore della deltametrina è simile a quella osservata da Gretenkord (1997), mentre quella topica è circa tre volte quella ottenuta dallo stesso autore. Nel complesso i valori di DL₅₀ ottenuti sono concordi con quelli di questi autori e pertanto si può affermare che la procedura utilizzata è valida e riproducibile.

Discussione

Dalle prove effettuate in laboratorio emerge una elevata tossicità dell'imidacloprid nei confronti di *B. terrestris*. Nel trattamento topico, con il

prodotto disciolto in acetone, la mortalità risulta molto più alta, come era da aspettarsi dal momento che l'acetone facilita la penetrazione del prodotto sotto la cuticola dell'insetto. Alla dose di campo la mortalità è più di 30% già dopo 24 ore e sale quasi a 70% al terzo giorno. Occorre scendere ad una concentrazione di 1/200 quella di campo per ottenere una mortalità paragonabile, almeno nei primi 3 giorni dopo il trattamento, a quella del testimone. Nella somministrazione topica con il prodotto disciolto in acqua la mortalità alla dose di campo dopo 24 ore è già 10% degli individui trattati e sale quasi a 50% dopo 5 giorni dal trattamento. Con una dose 6 volte più alta di quella di campo la mortalità, che è vicina a 20% il primo giorno, sale a 50% il secondo e quasi a 90% il terzo.

È da sottolineare che nel test di somministrazione orale la mortalità alla dose di campo è estremamente elevata già a partire dal secondo giorno, quando muore quasi l'80% degli individui trattati. Il risultato più sorprendente è però quello che si osserva con una dose 6 volte quella di campo: già il primo giorno muore il 100% degli individui. La morte si verifica addirittura pochi minuti dopo che l'insetto ha ingerito la soluzione, con l'effetto fulminante di cui si è già parlato.

Dal confronto tra le DL₅₀ di dime-

toato e deltametrina con quella dell'imidacloprid, emerge che la tossicità di quest'ultimo è superiore a quella di entrambi i formulati usati come riferimento, i quali sono classificati come molto tossici nelle tabelle di selettività (Maccagnani, 2000).

Confrontando tra loro le DL₅₀ topica ed orale dell'imidacloprid, si deduce che la tossicità del prodotto è relativamente più "bassa", per via topica, nelle prime 24 ore dopo il trattamento, mentre aumenta notevolmente nel secondo e terzo giorno; al contrario la somministrazione orale provoca mortalità elevata già dopo le prime 24 ore, ma la tossicità per via orale aumenta in maniera meno drastica nei giorni successivi al trattamento. Pertanto a 48 e 72 ore la tossicità per i bombi è simile con i due tipi di trattamento. Il risultato non si discosta da quanto osservato su *A. mellifera* da Schmidt (1996), che riferisce di un'azione letale più lenta (nel tempo) per contatto e più rapida per ingestione.

Schmidt (1996) ha calcolato inoltre la DL₅₀ topica ed orale (a 48 ore) su *A. mellifera* sia del prodotto commerciale che del principio attivo imidacloprid. Per il prodotto commerciale essa è di 0,29 µg/ape nel test topico e di 0,103 µg/ape in quello orale; per il principio attivo essa invece è di 0,081 µg/ape nel test topico e di 0,0037 µg/ape in quello orale. Confrontando la DL₅₀ del prodotto commerciale ottenuta da Schmidt sull'ape con quelle ottenute nei nostri trattamenti sui bombi, risulta che *B. terrestris* è più sensibile al prodotto di *A. mellifera*, rispettivamente di quasi 4 volte per il trattamento topico e di 1,4 volte per quello orale. Confrontando invece le DL₅₀ del principio attivo imidacloprid ottenute da Schmidt su ape e le nostre su bombo, risulterebbe una tossicità del principio attivo maggiore per l'ape che per il bombo per via orale e il contrario per via topica. Tuttavia non sarebbe corretto fare una comparazione tra il nostro risultato e quello di Schmidt, poiché il nostro valore di DL₅₀ è stato calcolato a partire da quello ottenuto con il prodotto commerciale, mentre quello di Schmidt proviene da

Tab. 2 - DL₅₀ topica ed orale dei principi attivi di riferimento, confrontate a 24 ore con quelle riportate da altri autori.

DL ₅₀ (µg p.a./bombo)	Topica			Orale		
	24	48	72	24	48	72
Ore dal trattamento	24	48	72	24	48	72
Dimetoato	4,19 4,91 ¹	3,16	2,84	1,22 1,06 ¹	1,20	1,20
Deltametrina	11,52 3,55 ²	4,05	3,42	2,88 2,08 ²	2,14	2,08

(¹ Philipsen, 1998, ² Gretenkord, 1997).

prove effettuate con il principio attivo puro.

Per *A. mellifera* Suchail *et al.* (2000) riportano una DL_{50} orale dell'imidacloprid di 0,067 $\mu\text{g}/\text{ape}$ dopo 48 ore e di 0,05 $\mu\text{g}/\text{ape}$ dopo 72 ore; entrambi i valori sono sensibilmente più alti di quelli da noi osservati con il test orale per *B. terrestris* e di quello ottenuto da Schmidt a 48 ore su ape.

Questa elevata tossicità dell'imidacloprid nei confronti del bombo si aggiunge a quanto già osservato per altri impollinatori. Stark *et al.* (1995), rilevano un'alta tossicità diretta dell'imidacloprid (DL_{50} di 0,04 $\mu\text{g}/\text{insetto}$) nei confronti di *Megachile rotundata* (Fabricius) e *Nomia melanderi* Cockerell; Mayer *et al.* (1994) rilevano con prove in gabbia una preoccupante sensibilità di *M. rotundata* mentre in un lavoro successivo Mayer e Lunden (1997) indicano una maggior sensibilità di *N. melanderi* rispetto a *M. rotundata*.

I risultati ottenuti in tutti e tre i tipi di trattamento, e a tutte le dosi saggiate, evidenziano infine che la mortalità aumenta con il passare dei giorni e continua a crescere fino al decimo giorno di osservazione. Nel testimone non si ha invece un simile aumento di mortalità, a riprova del fatto che i decessi non sono dovuti alle modalità del protocollo sperimentale. Ciò fa pensare che il prodotto abbia una elevata persistenza. Questi dati si allineano perfettamente con quanto riportato da Nucifora e Vasquez (1999) che hanno osservato, in seguito al trattamento con prodotto commerciale a base di imidacloprid in serra su pomodoro, una riduzione progressiva dell'attività di impollinazione di *B. terrestris* dovuta alla mortalità delle bottinatrici. Gli autori infatti, dai risultati ottenuti sulla persistenza del prodotto, concludono che l'intervallo di sicurezza per l'introduzione dei bombi in serra deve essere almeno di tre settimane.

Anche osservazioni fatte da noi (Bortolotti e Sbrenna, dati non pubblicati), su colonie commerciali utilizzate in serra nella primavera 1997, indicano un effetto letale duraturo sui bombi da parte dell'imidacloprid.

Dopo un trattamento per via radicale con prodotto commerciale a base di imidacloprid alla dose di 50 ml/hl, sei colonie, prelevate al termine del periodo di impollinazione su fragola, presentavano una quasi totale assenza di individui vivi, sia adulti che larve, uno scarso sviluppo del nido e la regina morta. È da sottolineare che l'agricoltore, poiché il prodotto era stato distribuito per via radicale, non aveva ritenuto necessario allontanare le colonie durante il trattamento.

Questi dati tuttavia contrastano con quelli di Colombo e Buonocore (1997) che in prove di campo con imidacloprid, distribuito su terreno e foglia, non hanno evidenziato significative differenze nell'attività di bottinamento di *B. terrestris*. Anche Vacante (1997) in una prova analoga trova che un intervallo di sicurezza di 7 giorni, prima dell'introduzione di *B. terrestris* nella coltura trattata, sia sufficiente a evitare effetti negativi sull'attività di impollinazione.

A nostro avviso, sulla base di questi primi risultati di laboratorio, che sottolineano l'alta tossicità dei trattamenti con imidacloprid nei confronti di *B. terrestris*, ulteriori investigazioni, in particolare prove di campo, sono necessarie per accertare l'effettivo rischio nell'utilizzo di questo prodotto. Inoltre, l'elevata mortalità evidenziata nei trattamenti topici e l'effetto fulminante osservato in seguito alla sua ingestione ci portano a ribadire la necessità di intraprendere ulteriori indagini sugli effetti negativi che l'utilizzo di questo principio attivo in agricoltura può avere nei confronti degli impollinatori.

LAVORI CITATI

- Angelini R., Lazzarini L. (1997) - Confidor 200 SL: nuovo insetticida sistemico ad ampio spettro d'azione. Supplemento a L'Informatore Agrario, 53 (11), 30-33.
- Barbieri R., Cavallini G. (1997) - Imidacloprid nella difesa del melo da afidi. Supplemento a L'Informatore Agrario, 53 (11), 18.
- Colombo A., Buonocore E. (1997) - Effetto di trattamenti al terreno con imidacloprid sull'attività dei bombi. L'Informatore Agrario, 53 (38), 85-87.
- Gretenkord C. (1997) - Laborzucht der Dunklen Erdhummel *Bombus terrestris* L. (Hymenoptera: Apidae) und toxikologische

Untersuchungen unter Labor und Halbfreilandbedingungen. Shaker Verlag ISBN 3-8265-2267-2.

- Maccagnani B. (2000) - *Bombus terrestris*. In: Gli usiliari nell'agricoltura sostenibile (a cura di G. Nicoli e P. Radeghieri), ed. Calderini Edagricole, 343-359.
- Mayer D.F., Lunden J.D. (1994) - Effects of the adjuvant Sylgard 309 on the hazard of selected insecticides to honey bees. Bee-Science, 3, 135-138.
- Mayer D.F., Lunden J.D. (1997) - Effects of imidacloprid insecticide on three bee pollinators. Horticultural-Science, 29, 93-97.
- Mayer D.F., Patten K.D., Macfarlane R.P., Shanks C.H. (1994) - Differences between susceptibility of four pollinators species (Hymenoptera: Apoidea) to field weathered insecticide residues. Melanderia, 50, 24-27.
- Nucifora S., Vasquez G. (1999) - Influenza di imidacloprid sull'attività di *Bombus terrestris*. L'Informatore Agrario, 55 (39), 87-88.
- Philipsen B. (1998) - Invloed van grootte, gewicht en leeftijd van aardhommel werker (*Bombus terrestris* L.) op de gevoeligheid voor het bestrijdingsmiddel Dimethoat. Stageverslag Ambrosiushoeve.
- Schmidt H. W. (1996) - The reaction of bees under the influence of the insecticide Imidacloprid. Proceedings of the 6th International Symposium on Hazard of Pesticides to Bees. Braunschweig, Germany, 17-19 September 1996.
- Stark J.D., Jepson P.C., Mayer D.F. (1995) - Limitations to use of topical toxicity data for predictions of pesticide side effects in the field. Journal of economic Entomology, 88 (5), 1081-1088.
- Suchail S., Guez D., Belzunces L.P. (2000) - Acute and chronic toxicity of imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. Hazards of pesticides to bees, ICPBR 7th Bee Protection Symposium, Avignon, France, 7-9 September 1999. IOBC wprs Bulletin, 23 (3), 7.
- Vacante V. (1997) - Influenza di imidacloprid sull'impollinazione del pomodoro con *Bombus terrestris*. L'Informatore Agrario, 53 (43), 68-70.
- Van der Steen J. J. M., Gretenkord G., Schaefer H. (1996) - Method to determine the acute oral LD50 of pesticides for bumblebees (*Bombus terrestris* L.). Proceedings of the 6th International Symposium on Hazard of Pesticides to Bees. Braunschweig, Germany, 17-19 September 1996.
- Yamamoto I. (1998) - Nicotine: old and new topics. Reviews in Toxicology 2: 61-69.
- Ricerca effettuata nell'ambito del Progetto finalizzato AMA (Ape, Miele, Ambiente) finanziato dal Ministero delle Politiche Agricole e Forestali. Contributo n. 129(*)

Ringraziamenti

Gli autori ringraziano la Dott.ssa Elisabetta Grazioso e il Dott. Lorenzo Monaco per la preziosa collaborazione.