

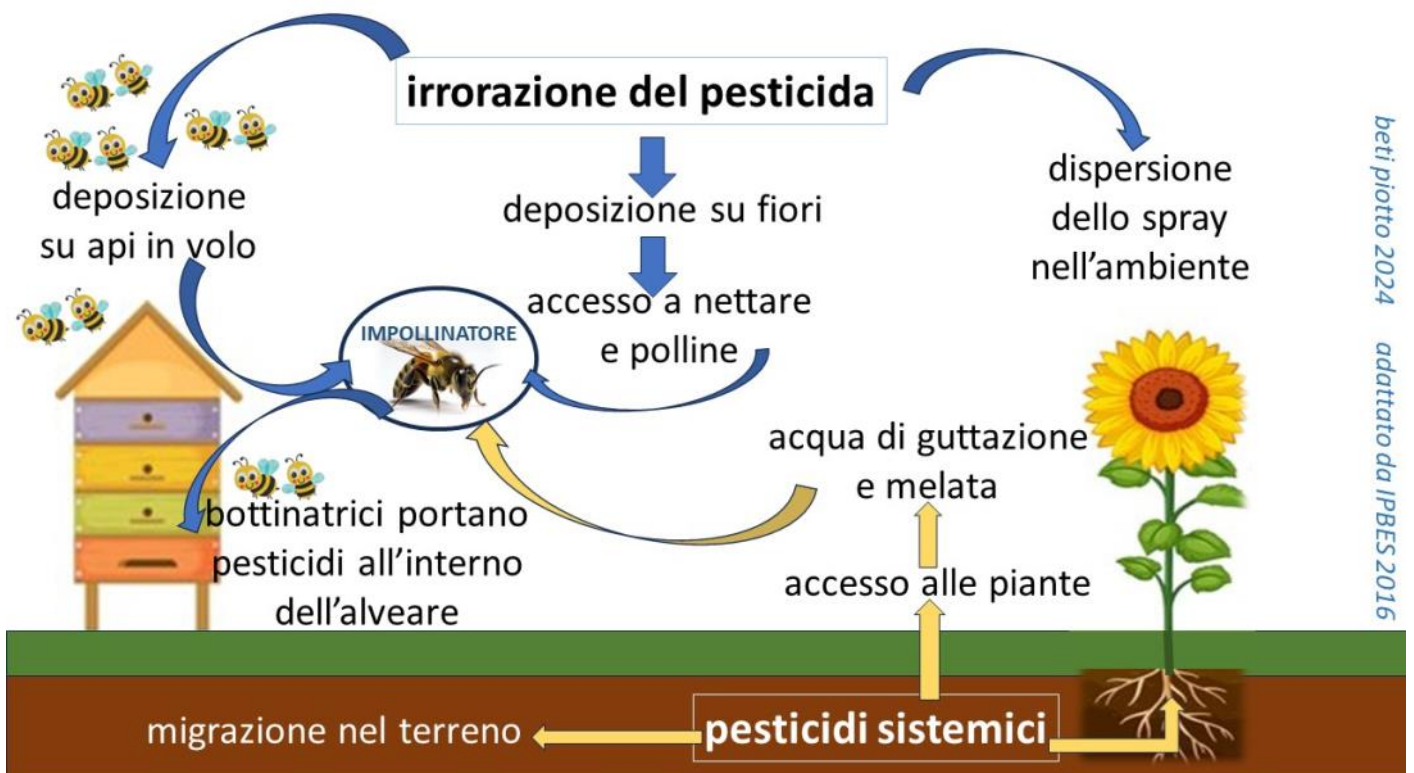
EFFETTI SUBLETALI DEI PESTICIDI MINACCIA GRAVE PER GLI IMPOLLINATORI

L'effetto dei pesticidi sugli insetti viene spesso discusso in termini di tossicità acuta, ma un aspetto importante e spesso trascurato è l'impatto delle dosi subletali sulla fisiologia e sul comportamento. I pesticidi possono influenzare vari parametri relativi al funzionamento degli insetti tra cui il sistema immunitario, lo sviluppo e la riproduzione. Numerose ricerche che dimostrano l'azione grave dei pesticidi sugli impollinatori vengono prese in esame nell'articolo

I comportamenti che possono essere condizionati negativamente includono la mobilità, l'alimentazione, la deposizione delle uova, la navigazione, la capacità di identificare i feromoni, la capacità di mantenere la temperatura ideale per la covata. Notevole è

l'effetto dei pesticidi, in varie dosi, sull'apprendimento e sulla memoria degli insetti. La specie considerata, l'età, il sesso, la casta, lo stato fisiologico, il tipo e la concentrazione dei principi attivi ed il tipo di esposizione sono fattori che determinano l'entità degli effetti (Bartling *et al.*, 2024) (figura 1).

L'Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services (IPBES 2016) ha identificato gli insetticidi come una delle ragioni del declino degli impollinatori (figura 2). La tossicità acuta e cronica degli insetticidi, misurata come il livello di esposizione al quale muore la metà⁽¹⁾ delle api



beti piotto 2024 adattato da IPBES 2016

Nella pagina accanto **Figura 1** Possibili percorsi dei pesticidi nei confronti di api e altri impollinatori (ill. B. Plotto, adattato da IPBES 2016)

mellifere (*Apis mellifera*) testate, ovvero la DL₅₀ (dose letale 50), è stata studiata (EFSA 2013) come parte della valutazione del rischio degli insetticidi nell'Unione Europea. Successivamente la Commissione europea ha chiesto all'*European Food Safety Authority* (EFSA) di rivedere le procedure relative alla valutazione del rischio per le api mellifere, i bombi e le api solitarie. EFSA (2023) ha prodotto un corposo documento guida che descrive come eseguire la valutazione del rischio derivante dai pesticidi per gli apoidei, in conformità con il Regolamento (UE) 1107/2009. Si tratta di una revisione del documento orientativo esistente dell'EFSA, pubblicato nel 2013.

Il documento delinea un approccio a più livelli per la stima dell'esposizione in diversi scenari e livelli. Comprende la caratterizzazione dei pericoli e fornisce una metodologia di valutazione del rischio che copre l'esposizione alimentare e da contatto. Il documento fornisce inoltre raccomandazioni per studi di livello superiore, rischi derivanti da metaboliti e prodotti fitosanitari come miscele.

Tuttavia, gli effetti di livelli di esposizione subletali sulle api mellifere e altri impollinatori sono stati studiati sostanzialmente molto meno anche se destano serie preoccupazioni dati i risultati di alcune ricerche condotte.

C'è, quindi, urgenza di disporre di metodi standardizzati per studiare gli effetti subletali dell'esposizione degli impollinatori ai pesticidi.

Gli effetti subletali dei pesticidi possono condizionare negativamente il successo delle colonie di apoidei

Studi recenti hanno valutato gli effetti dell'esposizione di bombi della specie *Bombus terrestris* al diserbante glifosato. I bombi sono eccellenti impollinatori di molte colture grazie a caratteristiche peculiari come la capacità di sviluppare endotermia facoltativa e cioè di elevare la temperatura del torace quando è per loro necessario. La produzione di calore corporeo è fisiologicamente importante perché consente di bottinare anche in condizioni meteorologiche avverse. Tale termogenesi consuma sicuramente molta energia ma è determinante anche per l'incubazione della covata. Le colonie di bombi mantengono la loro covata a temperature comprese tra 30°C e 35°C e ciò permette un veloce sviluppo larvale e la crescita spedita delle colonie. Il mantenimento della temperatura dell'alveare è il fattore più importante sia per lo sviluppo della covata sia per la sopravvivenza della colonia.

Lo studio condotto da Weidenmüller *et al.* (2022) conclude che il glifosato condiziona questi insetti non solo indirettamente, in quanto diserbante riduce la disponibilità di fiori, ma anche direttamente perché altera negativamente la procedura di comportamento collettivo della colonia rappresentata dalla capacità della famiglia di mantenere la temperatura idonea per la covata.

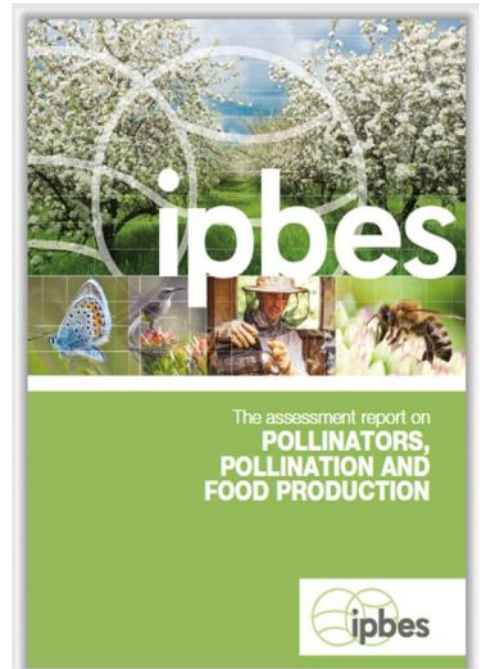


Figura 2 Report IPBES (2016) che identifica gli insetticidi come una delle ragioni del declino degli impollinatori

Da ciò si evidenzia che, oltre agli eventuali effetti letali o subletali, negli insetti sociali è necessario capire l'entità dell'influenza dei pesticidi sui comportamenti collettivi perché questi sono determinanti per il futuro della colonia.

Quando un insetticida condiziona le capacità cognitive di *Bombus terrestris*

Thiacloprid è il principio attivo di un insetticida appartenente alla famiglia dei neonicotinoidi. Il suo meccanismo d'azione, analogo a quello degli altri neonicotinoidi, comporta la distruzione del sistema nervoso dell'insetto. Pesticidi contenenti il principio attivo

thiacloprid sono utilizzati per il controllo degli insetti nocivi alle colture ma possono essere letali per le api se esposte ad alte concentrazioni. Come accennato, la conoscenza del DL₅₀ (dose letale 50) di molte sostanze ha portato l'Unione Europea allo sviluppo di linee guida per l'uso dei pesticidi. Tuttavia, per numerosi pesticidi mancano ricerche sui loro effetti subletali sulle api.

Kaila *et al.* (2023) hanno studiato l'impatto delle concentrazioni di thiacloprid utilizzate nell'agricoltura finlandese sulle capacità cognitive dei bombi (**figura 3**). La ricerca voleva capire se l'esposizione orale ai livelli di thiacloprid presenti nel polline e nel nettare possono condizionare l'apprendimento e la memoria a lungo termine dei bombi. Utilizzando prestazioni di apprendimento e compiti di memoria di *Bombus terrestris*, sono stati testati in laboratorio gli effetti di due livelli di esposizione all'insetticida a base di thiacloprid.

Le prestazioni di apprendimento e la memoria sono state valutate attraverso un test a base di dieci colori in cui ogni bombo doveva imparare a riconoscere i cinque colori che fornivano ricompensa (acqua zuccherata).

Nello studio è stato utilizzato un insetticida commerciale contenente thiacloprid 480 g/l. Le api sono state esposte a due livelli del prodotto:

- controllo - solo soluzione di saccarosio al 40%
- trattamento 1 - soluzione di saccarosio al 40% con 0,10 µg di thiacloprid
- trattamento 2 - soluzione di saccarosio al 40% con 0,17 µg di thiacloprid



Figura 3 Ricerche recenti evidenziano l'effetto negativo di alcuni pesticidi su *Bombus terrestris*, in particolare sulle capacità cognitive e di endotermia (foto Gailhampshire da Cradley, Malvern UK)

I risultati rivelarono che il livello più basso di esposizione al pesticida a base di thiacloprid aveva compromesso le prestazioni di apprendimento dei bombi ma non la memoria a lungo termine rispetto ai controlli (non trattati). Il livello di esposizione più elevato aveva causato sintomi acuti gravi. I residui di insetticidi nel polline e nel nettare nei paesaggi agricoli possono, quindi, avere effetti letali e subletali sui bombi con gravi conseguenze per il successo delle colonie e per la loro capacità di fornire servizi di impollinazione.

C'è, quindi, bisogno di maggiori conoscenze sull'azione dei residui di pesticidi presenti nell'ambiente frequentati dagli impollinatori e sull'influenza che esercitano.

Tornare a casa

In uno studio condotto in Portogallo (Capela *et al.*, 2022) sono stati eseguiti test di capacità di orientamento per tornare all'alveare (*homing*) in cui api mellifere sono state alimentate con tre dosi subletali di acetamiprid (insetticida

nicotinoide) e sulfoxaflor (insetticida sistemico che agisce come neurotossina). Dopo l'esposizione, ogni ape è stata dotata di un chip RFID (acronimo inglese di *Radio Frequency Identification*) e rilasciata a 1 km di distanza dalla colonia per valutarne la capacità di *homing*.

Non sono stati rilevati effetti significativi nelle api nutrite con 3200, 4800 e 6100 ppb (*parts per billion*) di acetamiprid. Il sulfoxaflor è stato somministrato in tre dosi subletali 720, 1200 e 2600 ppb. L'ultima dose (2600 ppb) ha provocato un forte disturbo alla capacità di *homing*: solo il 28% delle api è riuscito a ritornare alla colonia. Sebbene entrambi i pesticidi agiscano sui recettori nicotinici dell'acetilcolina, la maggiore tossicità del sulfoxaflor potrebbe essere correlata ai meccanismi di disintossicazione delle api, che sono più efficaci nei confronti di alcuni neonicotinoidi come acetamiprid rispetto alle solfossimine come sulfoxaflor.

Questo studio indica la capacità di *homing* delle api (e altri insetti) co-



Figura 4 Larva di dorifora della patata (*Leptinotarsa decemlineata*)
(Foto Tavo Romann in Wikimedia Commons)

me utile parametro per la valutazione di rischio dei pesticidi.

Mancanza di conoscenze sulla tossicità letale, subletale e combinata dei pesticidi sulle api

Tosi et al. (2022) hanno eseguito una revisione sistematica della letteratura e una meta-analisi sulla tossicità letale, subletale e combinata dei pesticidi sulle api. I dati raccolti sono riportati rispettivamente nei dataset *Lethal*, *Sublethal* e *Combined Toxicity* che si possono consultare on line (v. citazione bibliografica e testo dell'articolo originale). Sono state identificate le sostanze e le modalità di azione che destano maggiore preoccupazione in termini di effetti subletali (clorotalonil, pimetozina, glifosato, neonicotinoidi) e combinati (combinazioni tau-fluvalinato; inibitori dell'acetilcolinesterasi e neo-

nicotinoidi). Sebbene alcuni pesticidi (clorotalonil, pimetozina, neonicotinoidi) siano stati soggetti a restrizioni normative in alcuni paesi, la maggior parte è ancora ampiamente utilizzata in tutto il mondo (ad esempio, il glifosato).

La revisione della letteratura eseguita da Tosi et al. (2022) mostra una grande e preoccupante mancanza di informazioni sulla tossicità subletale e combinata dei pesticidi nei confronti delle api. Tale vuoto significa che il rischio subletale e combinato della maggior parte dei pesticidi non può essere valutato con precisione. Basti sapere che non esistono dati validi sulla tossicità subletale del 71% dei pesticidi in commercio. Anche la comprensione degli impatti degli effetti combinati è scarsamente conosciuta: la stragrande maggioranza degli effetti delle

combinazioni che possono verificarsi sul campo non sono note.

I nuovi pesticidi di precisione

Oltre gli insetti che danneggiano i raccolti, la maggior parte degli insetticidi attualmente sul mercato hanno il potenziale di uccidere un'ampia gamma di organismi non-bersaglio. Negli Stati Uniti e nel Giappone si stanno ora sviluppando insetticidi a base di RNA⁽²⁾ che potrebbero teoricamente offrire un'arma più sicura e precisa contro i parassiti delle colture. Questo genere di pesticidi si basano sull'interferenza dell'RNA (RNAi⁽³⁾) e controllano quei parassiti che utilizzano i meccanismi dell'RNAi come base della loro azione.

Questi prodotti sono generalmente considerati rispettosi dell'ambiente e rappresentano un'alternativa promettente ai pesticidi chimi-

ci convenzionali (Stokstad, 2024). La sostanza "attiva" nei pesticidi a base di RNAi è il RNA a doppio filamento (dsRNA), progettato per corrispondere alla sequenza nucleotidica di un gene essenziale che rappresenta il bersaglio dell'organismo nocivo in questione. Quando il pesticida viene assorbito dal parassita, entra in azione il RNAi e inibisce alcuni processi biochimici e/o biologici vitali. Si prevede che questi prodotti verranno applicati anche per il controllo delle malattie virali nell'acquacoltura, in particolare nell'allevamento di gamberetti. Una questione critica nell'applicazione pratica degli agenti RNAi è che la produzione del dsRNA deve raggiun-

gere un costo basso per entrare competitivamente in commercio. Hashiro e Yasueda (2022) hanno descritto metodi recenti per la produzione microbica di dsRNA utilizzando microrganismi come *Escherichia coli*, *Pseudomonas syringae*, *Corynebacterium glutamicum* e *Chlamydomonas reinhardtii*.

Basato sul meccanismo dell'interferenza dell'RNA (RNAi), un insetticida "di precisione" sviluppato negli Stati Uniti prende di mira un gene vitale della temuta dorifora della patata (*Leptinotarsa decemlineata*, **figura 4**, nella pagina precedente). Il bersaglio genetico è unico per il parassita e i suoi parenti stretti, il che dovrebbe evitare dan-

ni ad altre specie compresi gli impollinatori.

GreenLight Biosciences è una ditta statunitense che ha studiato una soluzione basata sulla metodologia RNA per proteggere le api dalla varroa ed ha chiesto l'approvazione normativa per il pesticida. Ottenuta l'approvazione, si prevede il lancio del prodotto anti-varroa nel 2024.

Nel frattempo, ricercatori di varie università stanno esplorando il RNA come strumento per combattere altre specie di insetti dannosi alle colture. Tuttavia, la ricerca ha evidenziato, almeno in laboratorio, che alcuni parassiti possono sviluppare modi per eludere il dsRNA.

Bibliografia

- Bartling M-T., Brandt A., Hollert H., Vilcinskas A., 2024. Current Insights into Sublethal Effects of Pesticides on Insects. *International Journal of Molecular Sciences* 25(11):6007 <https://doi.org/10.3390/ijms25116007>
- Capela N., Sarmiento A., Simões S., Azevedo-Pereira H., Sousa J., 2022. Sub-lethal doses of sulfoxaflor impair honey bee homing ability. *Science of The Total Environment* 837 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155710> <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0048969722028066>
- European Food Safety Authority (EFSA), 2013. Guidance on the risk assessment of plant protection products on bee (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA J.* 2013;11(7):3296. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2013.3295>
- European Food Safety Authority (EFSA), 2023. Revised guidance on the risk assessment of plant protection products on bees (*Apis mellifera*, *Bombus* spp. and solitary bees). *EFSA Journal* 21.5 (2023): e07989 <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.2903/j.efsa.2023.7989>
- Hashiro S., Yasueda H., 2022. RNA Interference-Based Pesticides and Antiviral Agents: Microbial Overproduction Systems for Double-Stranded RNA for Applications in Agriculture and Aquaculture. *Appl. Sci.* 2022, 12, 2954. <https://doi.org/10.3390/app12062954>
- IPBES, 2016. The assessment report of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services on pollinators, pollination and food production. S.G. Potts, V. L. Imperatriz-Fonseca, and H. T. Ngo (eds). Secretariat of the Intergovernmental Science-Policy Platform on Biodiversity and Ecosystem Services, Bonn, Germany. 552 pages. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3402856>.
- Kaila L., Antinoja A., Toivonen M. et al., 2023. Oral exposure to thiacloprid-based pesticide (Calypso SC480) causes physical poisoning symptoms and impairs the cognitive abilities of bumble bees. *BMC Ecol Evo* 23, 9. <https://doi.org/10.1186/s12862-023-02111-3>
- Khajuria C., Ivashuta S., Wiggins E., Fligel L., Moar W., Pleau M., et al., 2018. Development and characterization of the first dsRNA-resistant insect population from western corn rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *PLoS ONE* 13(5): e0197059. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197059>
- Stokstad E., 2024. The perfect pesticide? *Science*. 2024 Jun 28;384(6703):1398-1401. doi: 10.1126/science.adr2991. Epub 2024 Jun 27. PMID: 38935704
- Tosi S., Sfeir C., Carneseccchi E., vanEngelsdorp D., Chauzat MP., 2022. Lethal, sublethal, and combined effects of pesticides on bees: A meta-analysis and new risk assessment tools, *Science of The Total Environment*, Volume 844, 2022, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156857>.
- Weidenmüller A., Meltzer A., Neupert S., Schwarz A., Kleineidam C., 2022. Glyphosate impairs collective thermoregulation in bumblebees. *Science*. Vol 376, Issue 6597, pp.1122-1126 <https://www.science.org/doi/10.1126/science.abf7482>

I soci di Apiterapia Italia hanno sconti particolari sull'abbonamento alla rivista APINSIEME



Invia una email a
segreteria@apiterapiaitalia.com
info@apinsieme.it

APITERAPIA

Nel 2018, Khajuria *et al.* hanno pubblicato uno studio che dimostrava che la diabrotica del mais (*Diabrotica virgifera virgifera*) si è adattata a impedire l'assorbimento del dsRNA dal suo intestino. In tal modo, questa specie è diventata effettivamente resistente all'approccio basato sul dsRNA.

La strada appare promettente ma gli imprevisti biologici sono in agguato.

● Aristide Colonna (1)
Betì Piotto (2)

(1)Presidente
Associazione Italiana Apiterapia
(2) Agronoma, membro
Associazione Italiana Apiterapia e
dell'Accademia Italiana di Scienze Forestali

Visita il sito dell'associazione
www.apiterapiaitalia.com



Note

- (1) In tossicologia si impiega il termine DL_{50} (dose letale 50) e si riferisce alla quantità di una sostanza in grado di uccidere, in una unica somministrazione, il 50% di una popolazione campione di animali da esperimento
- (2) L'acido ribonucleico (RNA) è un acido nucleico implicato in vari ruoli biologici, quali la codifica, la regolazione e l'espressione dei geni, in particolare ha influenza sulla sintesi proteica.
- (3) La RNA interference (RNAi) è un meccanismo mediante il quale alcuni frammenti di RNA sono in grado di interferire (e spegnere) l'espressione genica.

ENOLAPI

CANDIPOLLINE® GOLD

**NUOVO ALIMENTO
PROTEICO PER API
CON POLLINE STERILIZZATO
AI RAGGI GAMMA**

ENOLAPI Srl
Via Torricelli 69/A - Verona - Italy
Tel. +39 045 955021
www.enolapi.it

pubblicità