


Metodi di biomonitoraggio e tossicologia di prodotti impiegati in apicoltura ed agricoltura

Biomonitoraggio

E' una valutazione ambientale complessiva, condotta mediante un insieme di metodiche scientifiche, che utilizzano specie animali o vegetali (bioindicatori) per misurare l'impatto degli agenti inquinanti sull'ambiente stesso. Tali metodiche forniscono una valutazione globale degli effetti dannosi esercitati sugli organismi viventi e permettono di considerare gli effetti di sinergia che possono instaurarsi nel caso della presenza contemporanea di più sostanze o effetti a lungo termine di esposizione anche a basse concentrazioni.

- Quali sostanze sono assorbite e a che concentrazioni?
- Sostanze tossiche conosciute  comprendere le fasce di popolazione più a rischio
- Stabilire dei range di riferimento utili per studi scientifici
- Valutare la possibilità reale di ridurre l'esposizione della popolazione alle sostanze tossiche
- Valutare le fasce di popolazione più a rischio
- Seguire l'andamento delle concentrazioni delle sostanze nel tempo

Perché sviluppare programmi di biomonitoraggio?

Environmental monitoring media:

Manmade sources:

dust
sediment
personal care

Natural sources:

water
air
food
soil

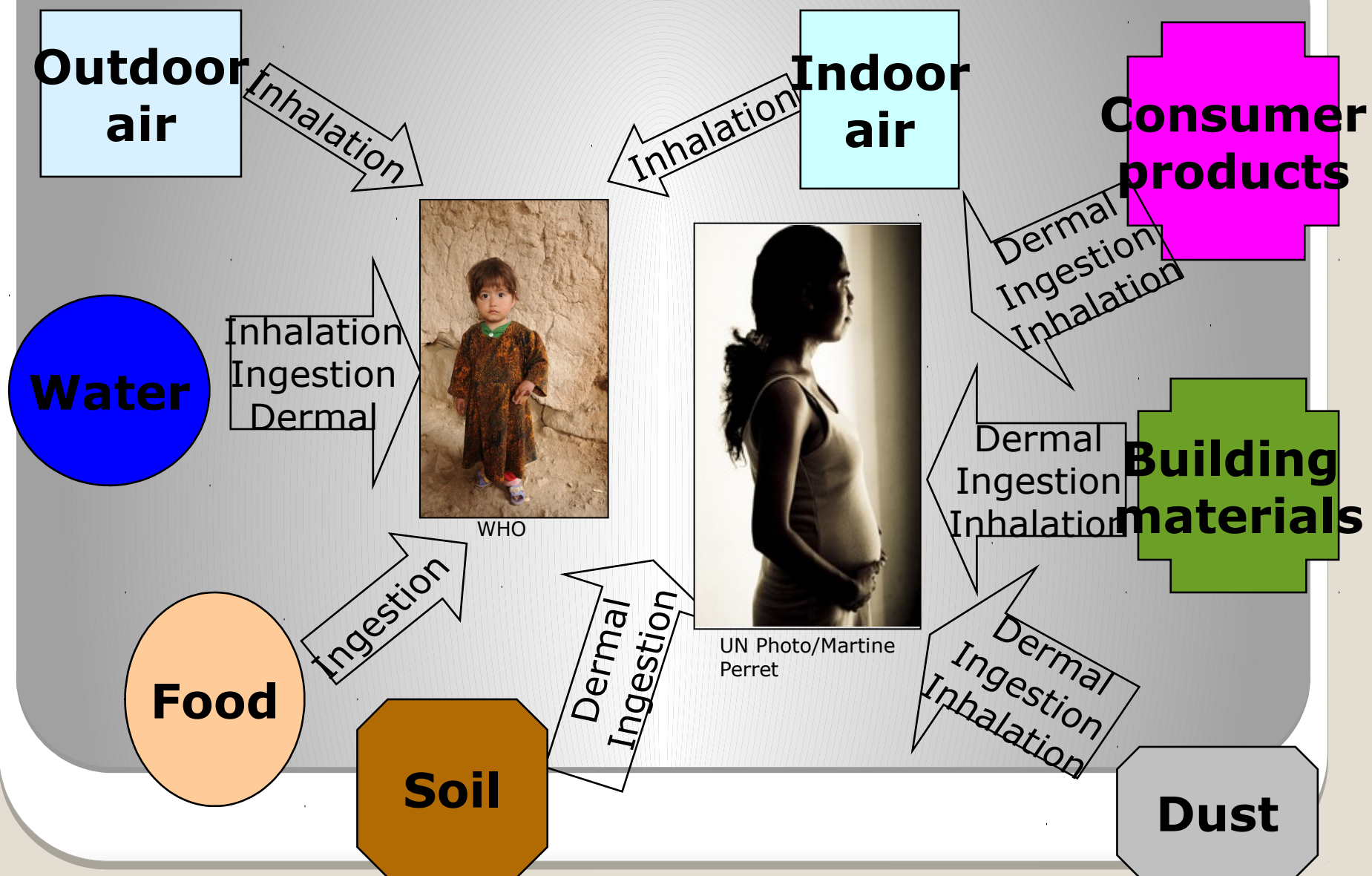


exposure

Internal dose
absorption

**Valutazione di sostanze specifiche nei tessuti
in modo da comprendere le quantità assorbite
e presenti nel corpo umano**

Monitoraggio ambientale





Divieto di utilizzo
di Pb nelle
benzine



Riduzione
esposizione
popolazione

Divieto di fumo
nei locali pubblici

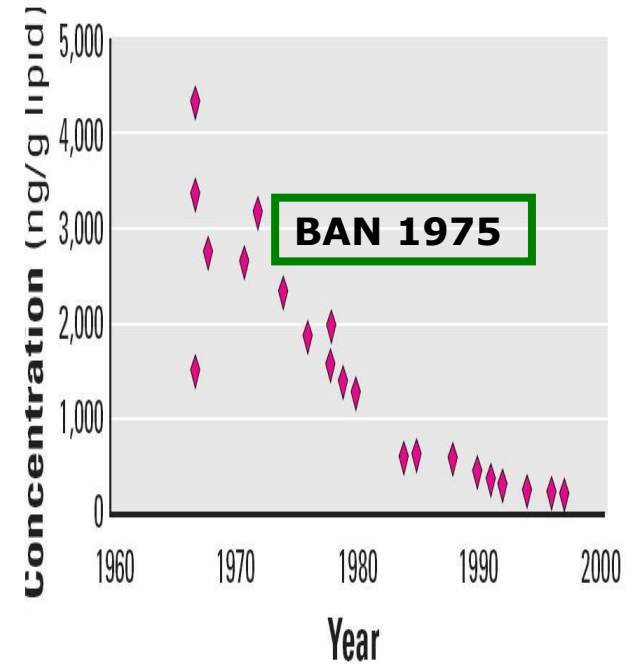


Esposizione
cotinina ridotta
del 70%

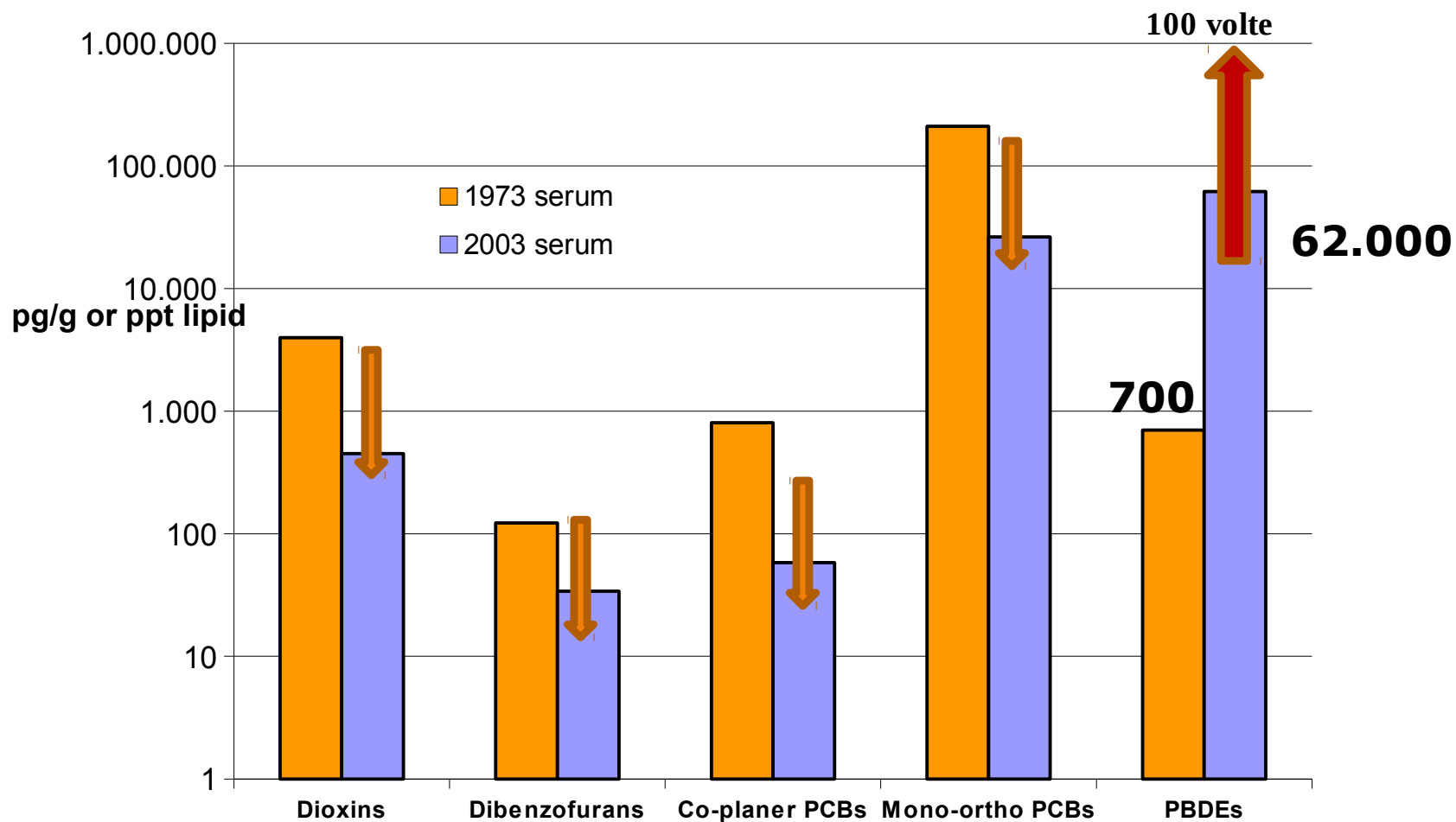
DDT nel latte
materno (Svezia)



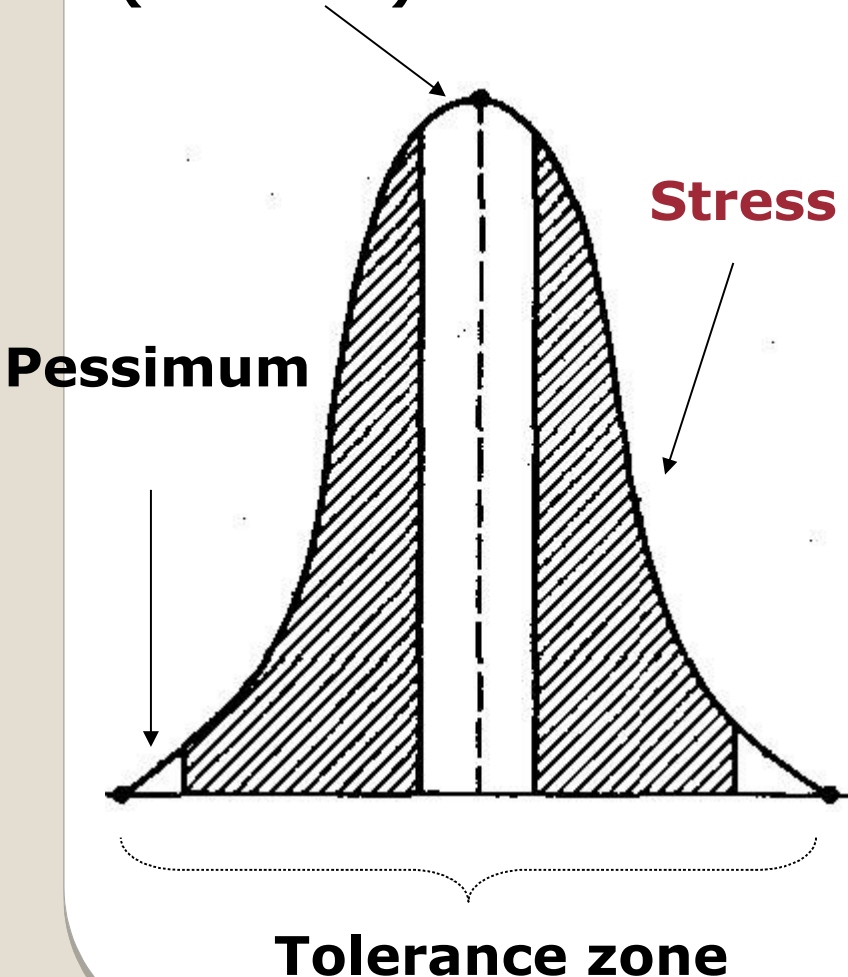
Riduzione
esposizione
umana



Cosa è cambiato negli anni?



**Optimum zone
(Comfort)**



Le sostanze tossiche alterano lo stato di salute degli organismi provocando una sindrome da stress, cioè un'alterazione misurabile dello stato fisiologico che rende gli organismi più vulnerabili ad ulteriori variazioni ambientali

Indicatori biologici sono organismi che reagiscono in maniera osservabile, macroscopicamente o microscopicamente, alle modificazioni della nicchia ecologica, mostrando

- **Danni visibili**
- **Accumulo inquinanti in tessuti od organi**
- **Effetti sui processi metabolici**

Cause biotiche

infezioni
parassiti
competizione

Cause abiotiche

temperatura
alta
bassa (freddo, gelo)

acqua
poca
troppa

radiazione
IR
visibile
UV
ionizzanti

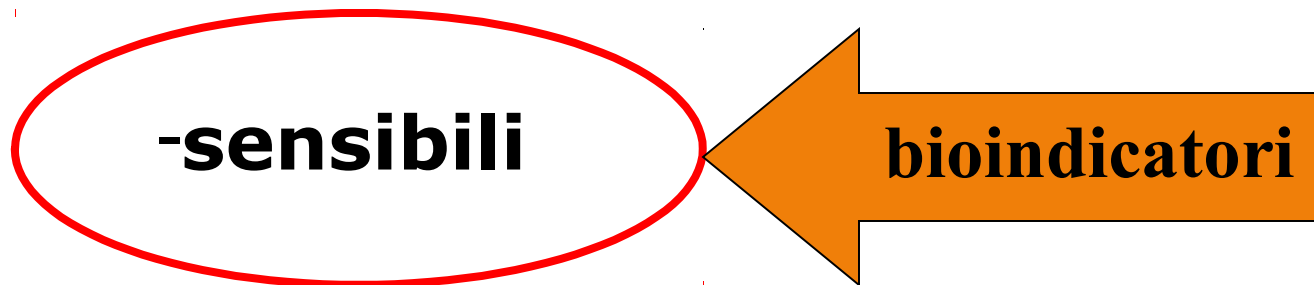
sostanze chimiche
molecole inquinanti
sali
gas tossici
fitofarmaci
erbicidi

agenti fisici
pressione atmosferica e vento
rumore
magnetismo e flusso elettrico
sottrazione di spazio e distruzione di ambienti

Tabella 1 - Principali cause di stress degli organismi viventi.

Classificazione degli organismi in funzione della reazione allo stress

- insensibili



Classificazione degli organismi in funzione della reazione allo stress

- specifici**
- nonspecifici**

BIOMONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DELL'ARIA



O₃ injury to rice, Pakistan
(courtesy of A. Wahid)

■ Piante
■ Muschi
■ Licheni

BIOMONITORAGGIO DELLA QUALITÀ DELL'ACQUA



Anellidi, crostacei, insetti

**Fresh water shrimp
Live only in fresh
water**



Monitoraggio dell'inquinamento agricolo ed urbano con le api



Un po' di storia.....

- 1935 Istituto di Apicoltura di Libcice (Praga): vengono documentati gli effetti negativi legati alla presenza di inquinanti provenienti da zone industriali della Cecoslovacchia.
- Qualche anno dopo, lo stesso scienziato, evidenziò un aumento dello Sr90 nelle api e nei loro prodotti, imputabile, probabilmente, ad esperimenti nucleari fatti in quel periodo
- 1970 Università del Montana: alti livelli di F nelle api dopo l'attivazione di una centrale a carbone.
- 1983 Fornaciari&Cavalchi: valutazione inquinamento da Pb e F tramite l'analisi di api vive e morte, propoli, miele e polline.

Un po' di storia.....

- 1983-1986 Istituto di Entomologia dell'Università di Bologna: rilevamento di pesticidi.
- Dal 1991 in Emilia: campagna di monitoraggio per i pesticidi, i radionuclidi ed i metalli pesanti con l'impiego dell'ape.
- Oggi in Europa: controlli negli aeroporti, nelle municipalità etc. Gli alveari ormai vengono utilizzati come delle vere centraline di rilevamento dell'inquinamento sia agricolo che urbano
- Bees counter con applicazioni scientifiche e di monitoraggio



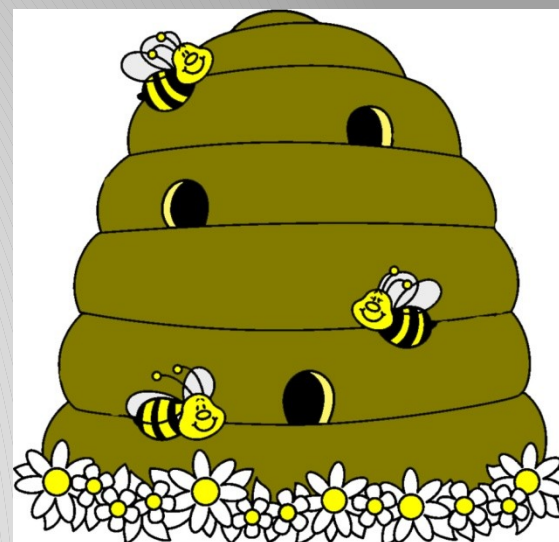
Specie indicatrice:

la sua presenza o assenza in un ambiente può essere associata in modo specifico a un determinato tipo di inquinamento dell'ambiente stesso



Indicatori veri:

manifestano modificazioni morfologiche e/o strutturali in seguito alla presenza di un determinato inquinante (danno proporzionale alla dose di inquinante incontrata)



Accumulatori/collettori:

organismi accumulatori di particolari inquinanti

Vantaggi del biomonitoraggio con le api

- **AFFIDABILITA'**: una colonia di api effettua quotidianamente 10 milioni di micro-prelievi
- **GLOBALITA'**: le api con la loro attività bottinatrice entrano in contatto con vegetali, aria e acqua intorno all'arnia.
- **SENSIBILITA'**: segnalano la presenza di sostanze dannose anche a basse dosi
- **ADATTABILITA'**: le postazioni di monitoraggio possono essere installate in qualsiasi luogo
- **RAPIDITA'**: risposte veloci alla presenza di sostanze pericolose nell'ambiente



Svantaggi del biomonitoraggio con le api

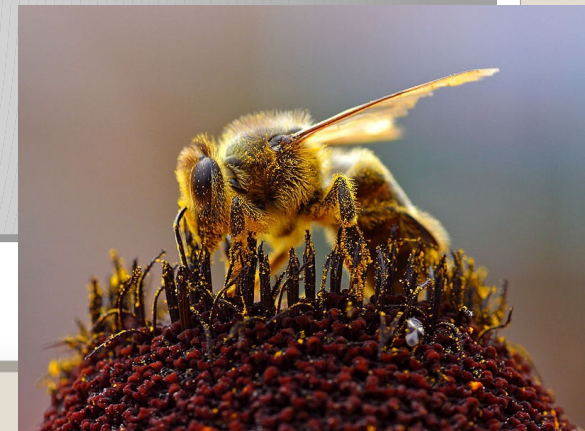
- **INSETTO OPPORTUNISTA:** se le fonti nettariifere sono vicine nn si sposta e cmq è di difficile controllo la scelta della fonte di cibo.
- **TEMPERATURA:** le api lavorano solo a temperature di circa 10°C.
- **AFFIDABILITA':** le bottinatrici sono suscettibili di non ritorno all'alveare per mortalità naturale o deriva;
- **PROBLEMI DI CAMPO:** difficoltà obiettiva di censire in tempo reale l'intera famiglia e i vari componenti per stadio e età;
- **SENSIBILITA':** eccessiva sensibilità verso fitofarmaci con alto potere abbattente



Quali api campionare?

- Una colonia di api è costituita, per un quarto della sua popolazione, da operaie "anziane", che svolgono attività bottinatrice: **questa è la categoria di api utilizzate nel monitoraggio ambientale.**

■ Durante la loro attività le bottinatrici vengono a contatto con molte sostanze **che trasportano** all'interno dell'alveare; le particelle sospese nell'atmosfera possono essere intercettate dall'insetto oppure trattenute dalla pelosità presente sul loro corpo; alcuni inquinanti possono trasferirsi all'ape per contatto con foglie o steli d'erba.



Quanto sono sensibili le api?

- **Indicatori diretti:** elevata sensibilità agli insetticidi, rispondendo a questi trattamenti fitosanitari con un'intensa ed estesa mortalità.



- **Indicatori indiretti:** con principi attivi non particolarmente pericolosi l'ape risulta un indicatore non sensibile

ma esposto, e fornisce informazioni al collettore di residui.

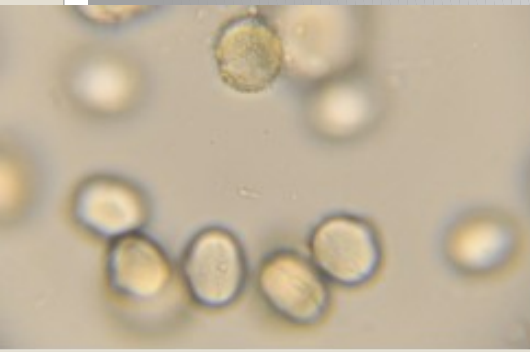
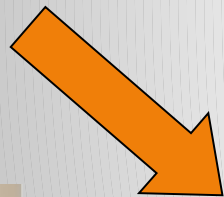


- Attualmente la validità dell'ape come indicatore biologico è stata dimostrata per inquinamenti da:
 - antiparassitari (inquinamento agricolo);
 - metalli pesanti (inquinamento urbano);
 - radionuclidi (inquinamento radioattivo)



Tecniche di biomonitoraggio:

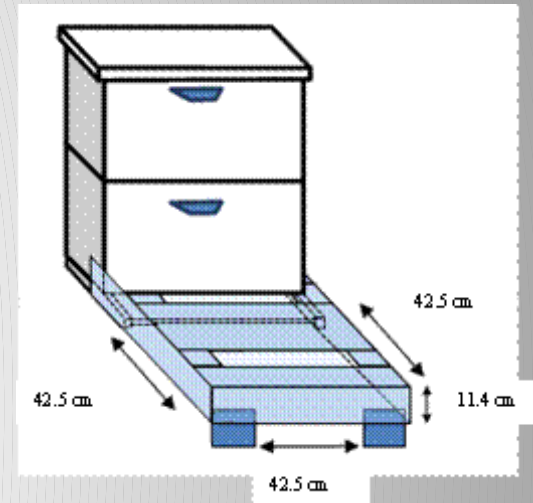
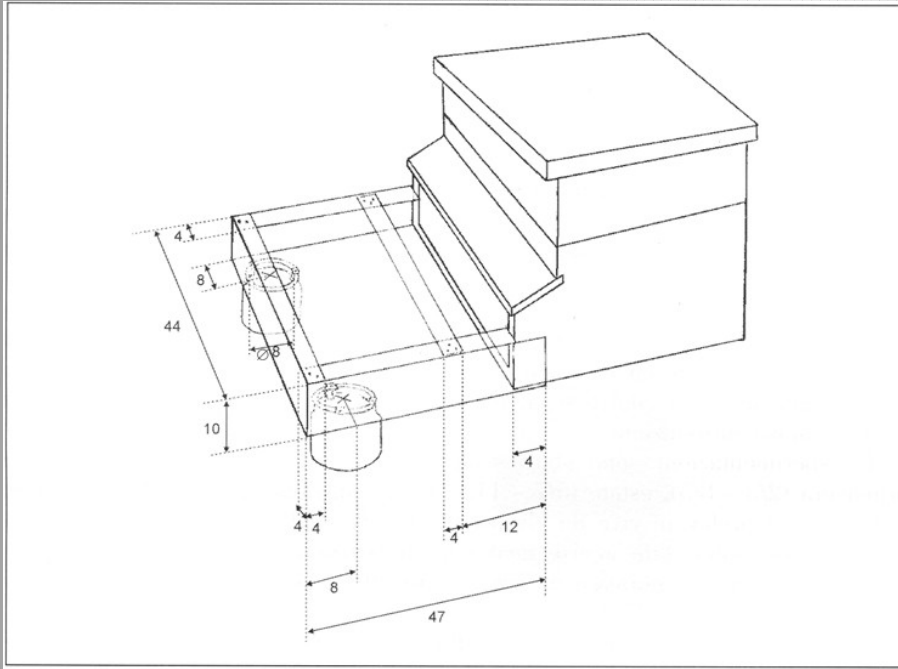
- Monitoraggio agrofarmaci:
- Api morte
- Conta a cadenza settimanale
- Monitoraggio inquinanti ambientali (IPA-metalli pesanti-PCBs)
- Api vive
- Raccolta mensile



Analisi chimiche
Analisi palinologiche

Tipi di trappole

- **Gabbia di Gary**

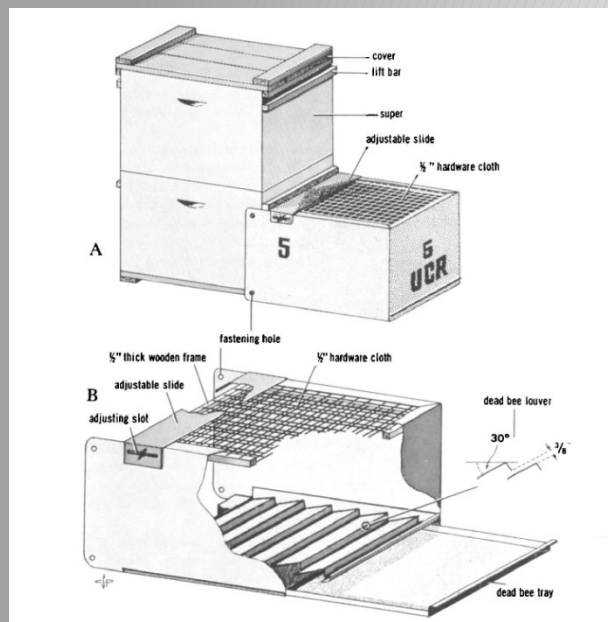


Pro: raccolta efficiente di api morte(84.6%) (Gary, 1960).

Contro: aumento della mortalità xchè trattiene api vive e modifica del comportameto delle api spazzine (Illies *et al.*, 2002).

Tipi di trappole

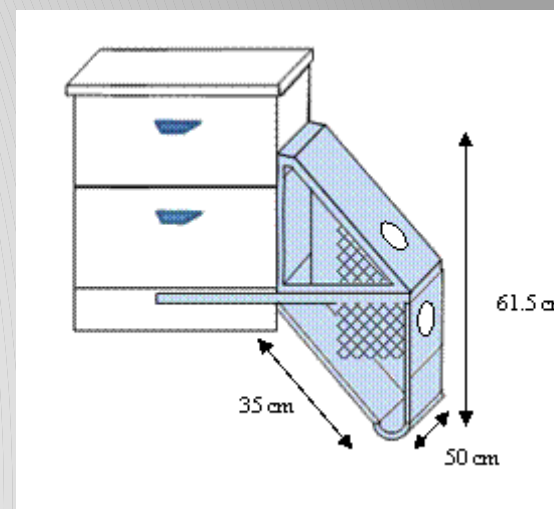
- **Todd trap**



Pro: raccolta efficiente (90-95%) (Atkins *et al.*, 1970; Herbert *et al.*, 1983).

Contro: più difficoltosa nella pulizia e rimozione dei detriti.

- **Munster trap**



Pro: entrata nn interferisce con comportamento delle api. Raccolta intorno al 76.4%(Illies *et al.*, 2002). Prevenzione dai predatori.

Contro: tasso di raccolta nn particolarmente alto.

Tipi di trappole

■ Trappola barriera

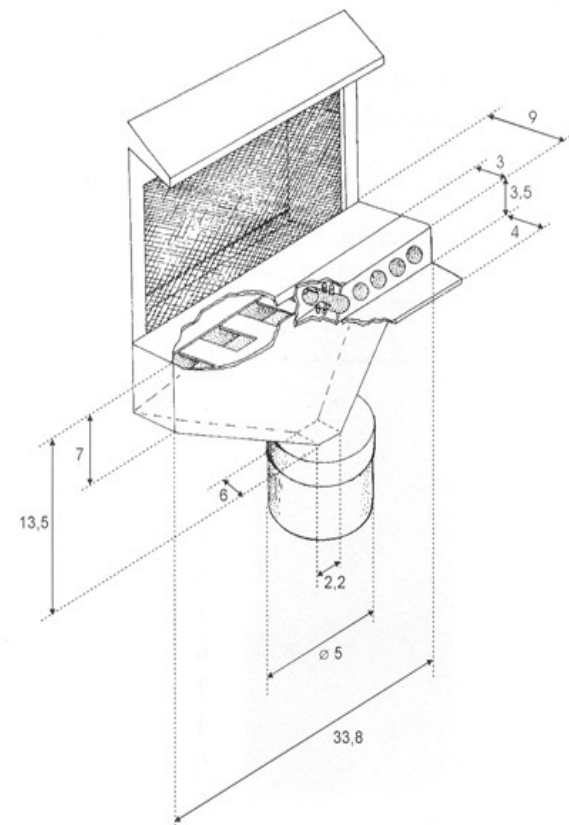
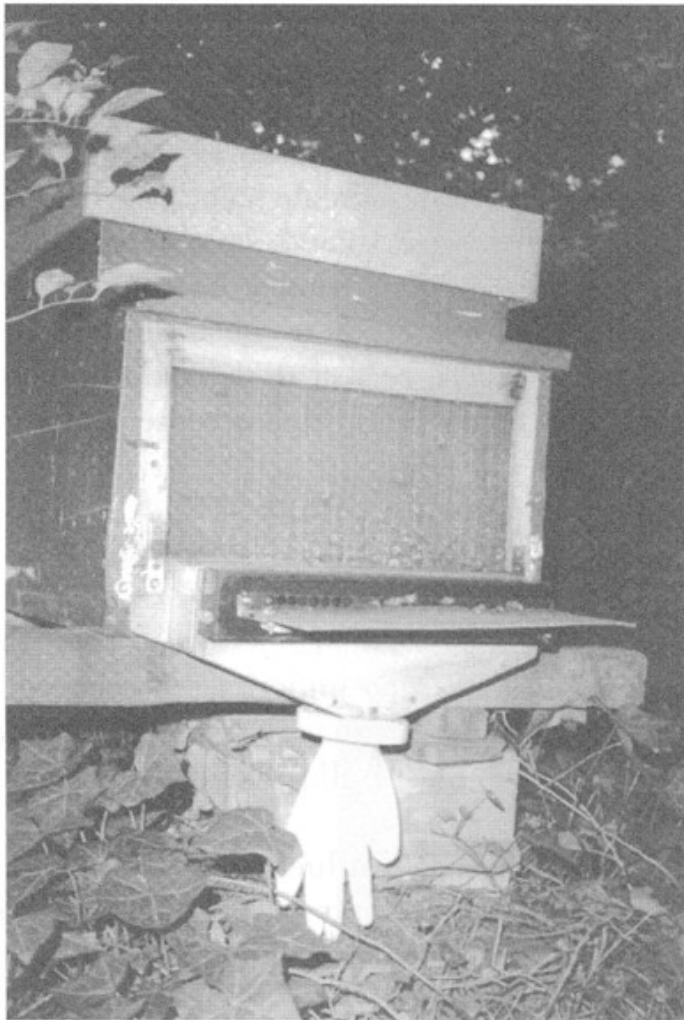
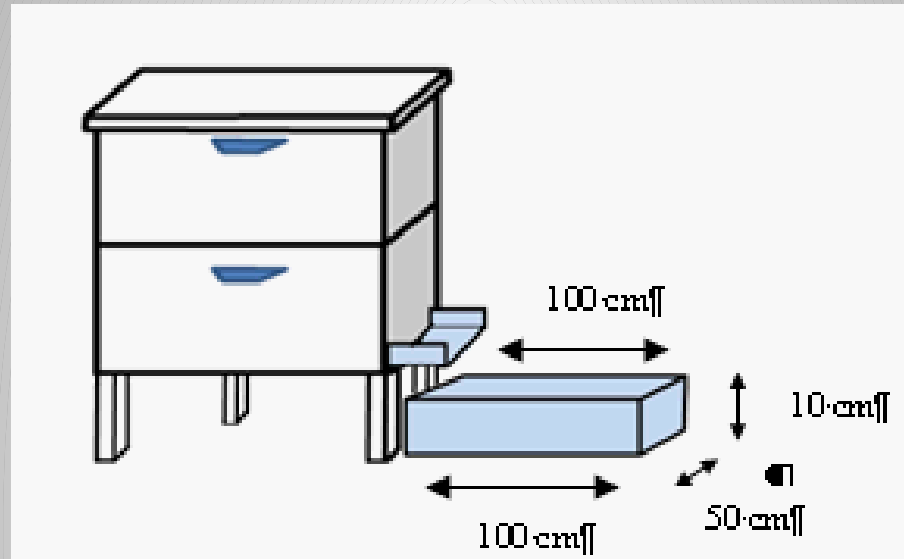


Fig. VI. - Trappola a barriera con raccoglitore in lattice (guanto).

Tipi di trappole

■ Gabbia underbasket



Pro: Facile da pulire e da posizionare . Raccolta variabile da 71-96% e alcuna interferenza con l'attività di volo e quella delle api spazzine (Accorti *et al.*, 1991).

Contro: le api sono esposte alle intemperie e ai predatori .

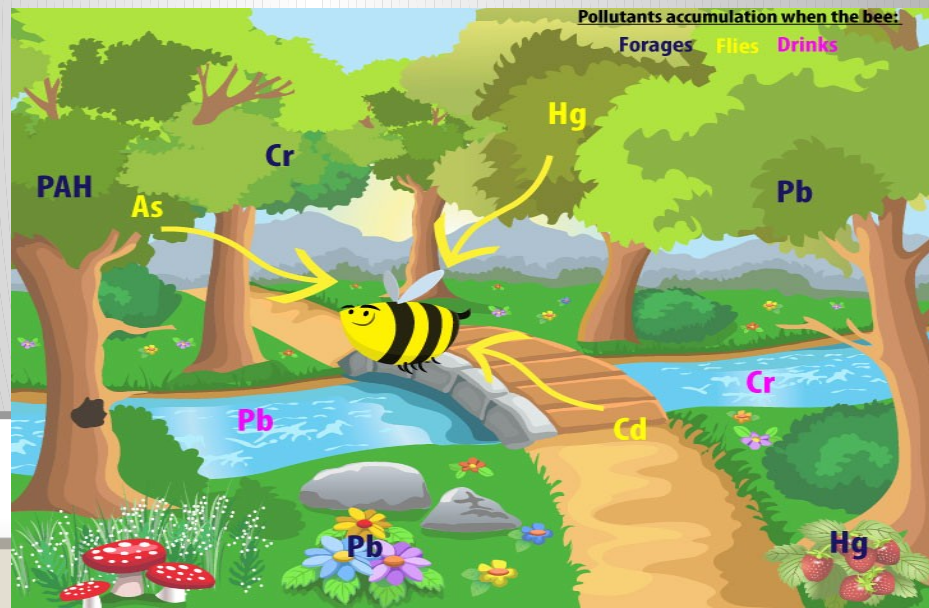
Tipi di trappole

- Gabbia underbasket



REQUISITI ESSENZIALI X GABBIE

- Raccogliere api morte e trattenerle nel tempo
- Essere resistenti alle intemperie
- Non interferire con le attività delle api
- Di facile applicazione e pulizia
- Basso costo



Come effettuare i prelievi?



- **Fitofarmaci**
- **Conteggi settimanali**
- **Minimo 3 arnie**





Quale è il principale inconveniente dell'uso delle gabbie?



Tecnologie innovativa

apialerte

Surveillance environnementale



INRA

La Rochelle

UNIVERSITÉ

apilab

Qualité environnementale

Bi

Informatique
Image
Interaction

Univ. La Rochelle

EVALUER

Etudes
Scientifiques

apialerte
Surveillance environnementale

L'abeille, bio-intégrateur environnemental

Les informations obtenues par des capteurs électroniques sur les ruches permettent d'évaluer l'impact de l'environnement sur l'état sanitaire de la colonie.



EVALUER



**3 ruches équipées de multiples capteurs
(mortalité, comportement, données météo)**

1 ordinateur embarqué

Envois des données via GSM, WIFI, Ethernet, satellite

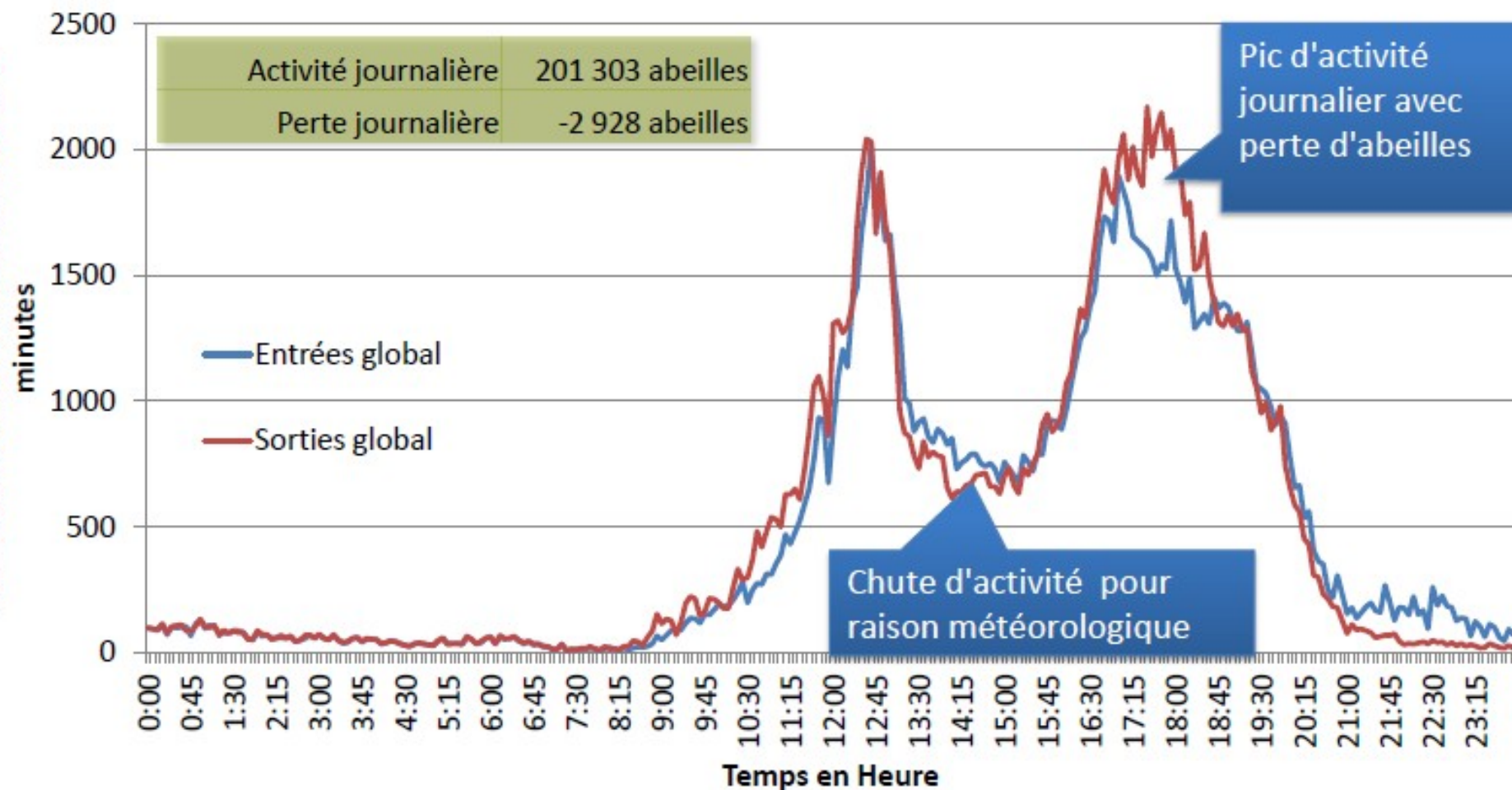


EVALUER

Etudes
Scientifiques

apialerte
Surveillance environnementale

Nombre d'abeilles entrées ou sorties en 5



PRESERVE

Plateforme sentinelle d'évaluation de la dégradation
de l'environnement

Laboratoire
Informatique,
Image et
Interaction



SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE APIALERTE

La qualité de l'environnement par les abeilles



PRESERVE

Plateforme sentinelle d'évaluation de la dégradation de l'environnement

Laboratoire
Informatique,
Image et
Interaction



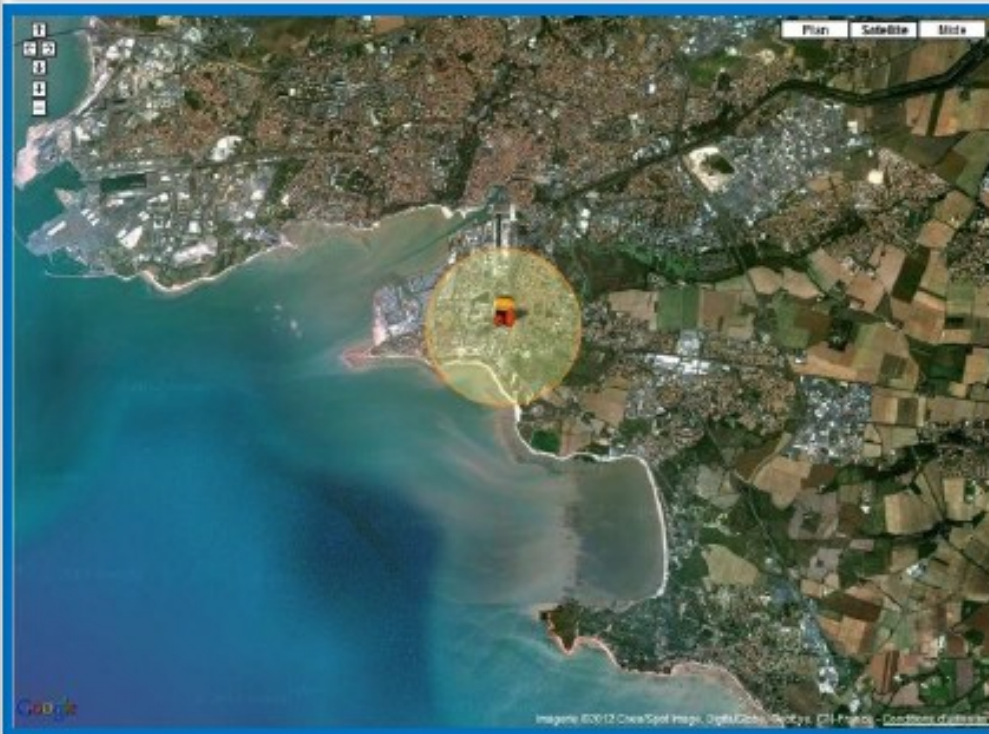
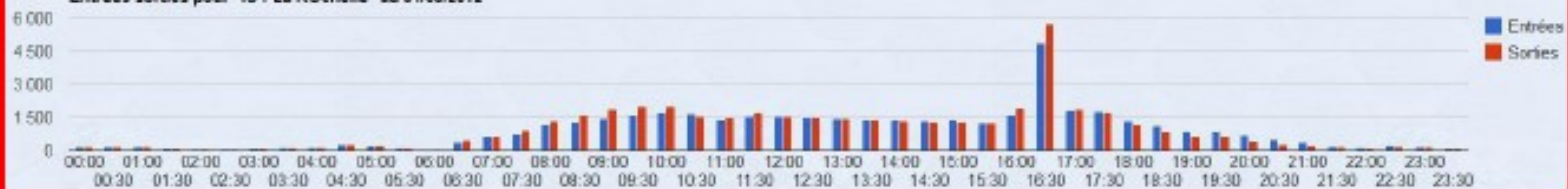
Paramétrages

01/06/2012

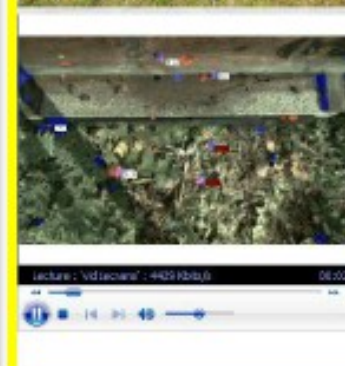
Objets de la couche ruche

Traize
CDA
IUT La Rochelle

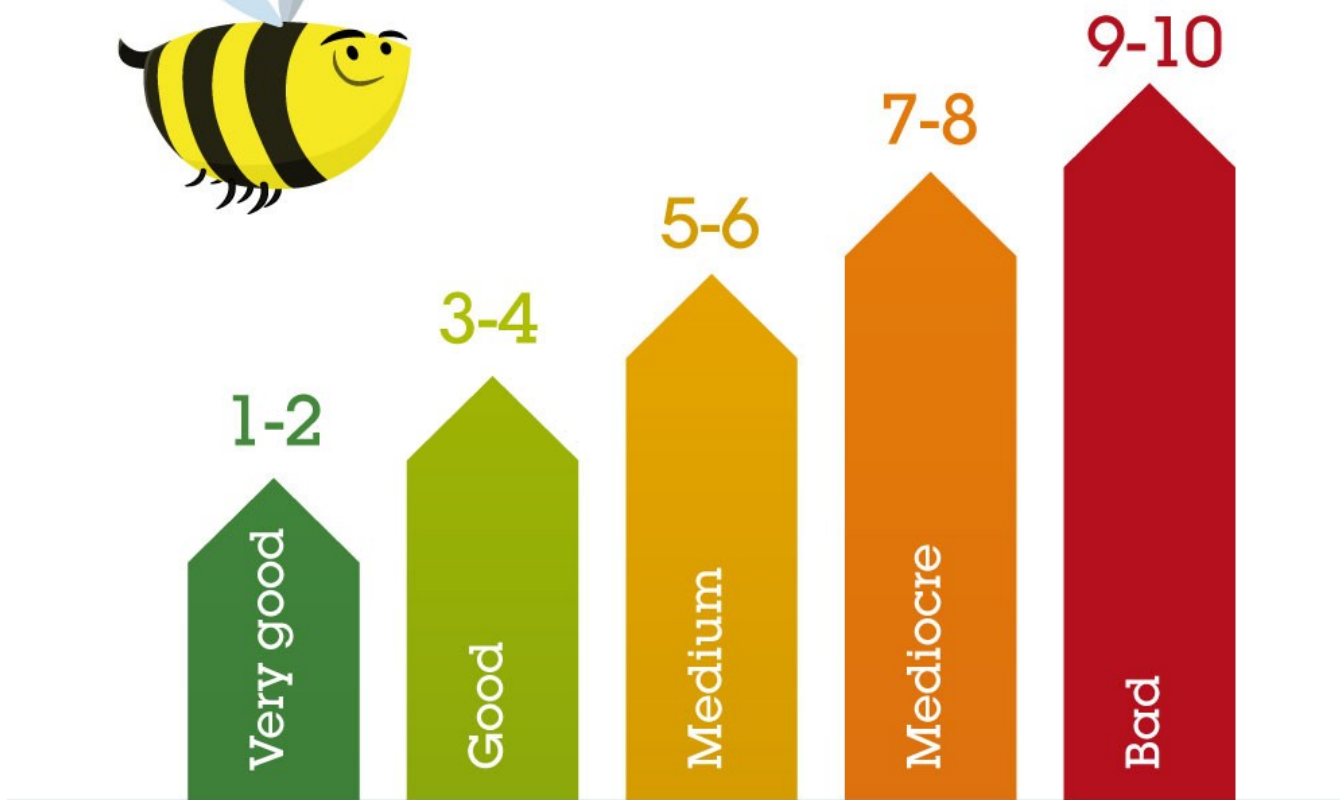
Entrées sorties pour "IUT La Rochelle" au 01/06/2012



3



Metalli pesanti ed IPA



Your quality index

Chemicals



PESTICIDI



Sostanze intese a prevenire, indebolire o distruggere insetti, animali o vegetali indesiderabili o nocivi.





COMPRENDONO:

Insetticidi, rodenticidi, molluschicidi, erbicidi (defolianti, disseccanti), fungicidi, acaricidi, regolatori di crescita , larvicidi, repellenti,...

“L'utilizzo di una molecola di sintesi chimica, che non è il risultato dell'evoluzione biologica e quindi come tale del tutto compatibile con gli equilibri biosferici, andrebbe seriamente verificato dal punto di vista della tossicità”.

Normativa in Italia dal 1995

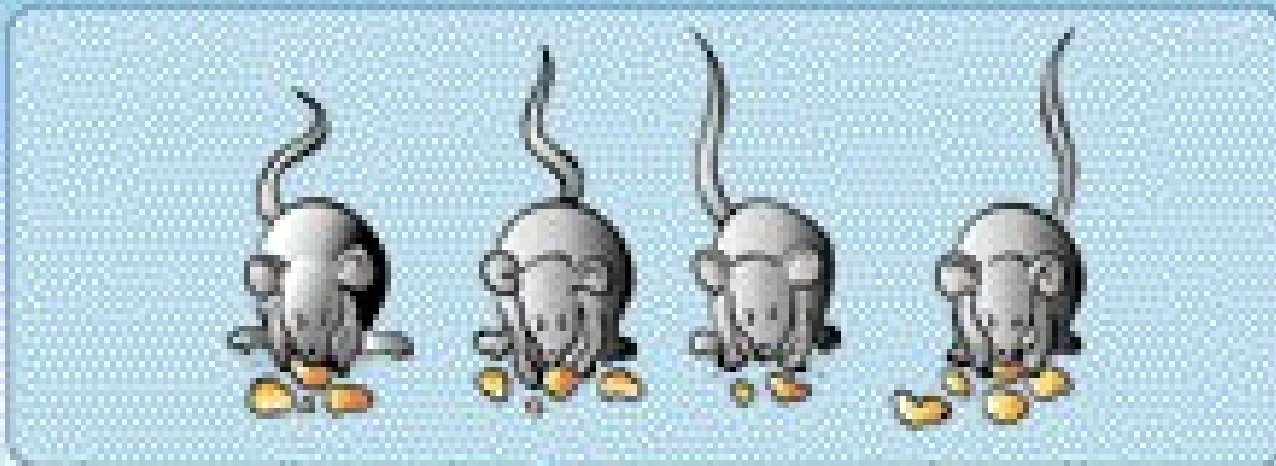
VECCHIA CLASSIFICAZIONE	NUOVA CLASSIFICAZIONE	ABBREVIAZIONE
I classe	 Molto tossico Tossico	T+ T
II classe	 Nocivo	Xn
III classe	 Irritante Attenzione! Manipolare con prudenza	Xi Non classificato
IV classe	-	-

Classe e categoria di pericolo CLP	Pittogrammi CLP	Frasi H e Avvertenze	Simboli DSP	Classe e categoria di pericolo DSP
Tossicità acuta (per via orale, per via cutanea, per inalazione) Categorie di pericolo 1, 2 e 3		PERICOLO H300 H301 H310 H311 H330 H331	T+ 	Molto tossico (per via orale R28, per via cutanea R27, per inalazione R26)
			T 	Tossico (per via orale R25, per via cutanea R24, per inalazione R23)
			Xn 	Nocivo (per via orale R22, per via cutanea R21, per inalazione R20)

Nuova classificazione degli agrofarmaci

I parametri più comunemente utilizzati sono:

- **DL 50:** la dose di una sostanza chimica che determina la morte del 50% degli individui in saggi di tossicità acuta per somministrazione diretta, espressa in termini ponderali per unità di peso corporeo (mg/kg).
- **CL 50:** concentrazione di una sostanza chimica che determina la morte del 50% degli individui in saggi di tossicità acuta per esposizione ambientale, espressa in termini temporali (ore).



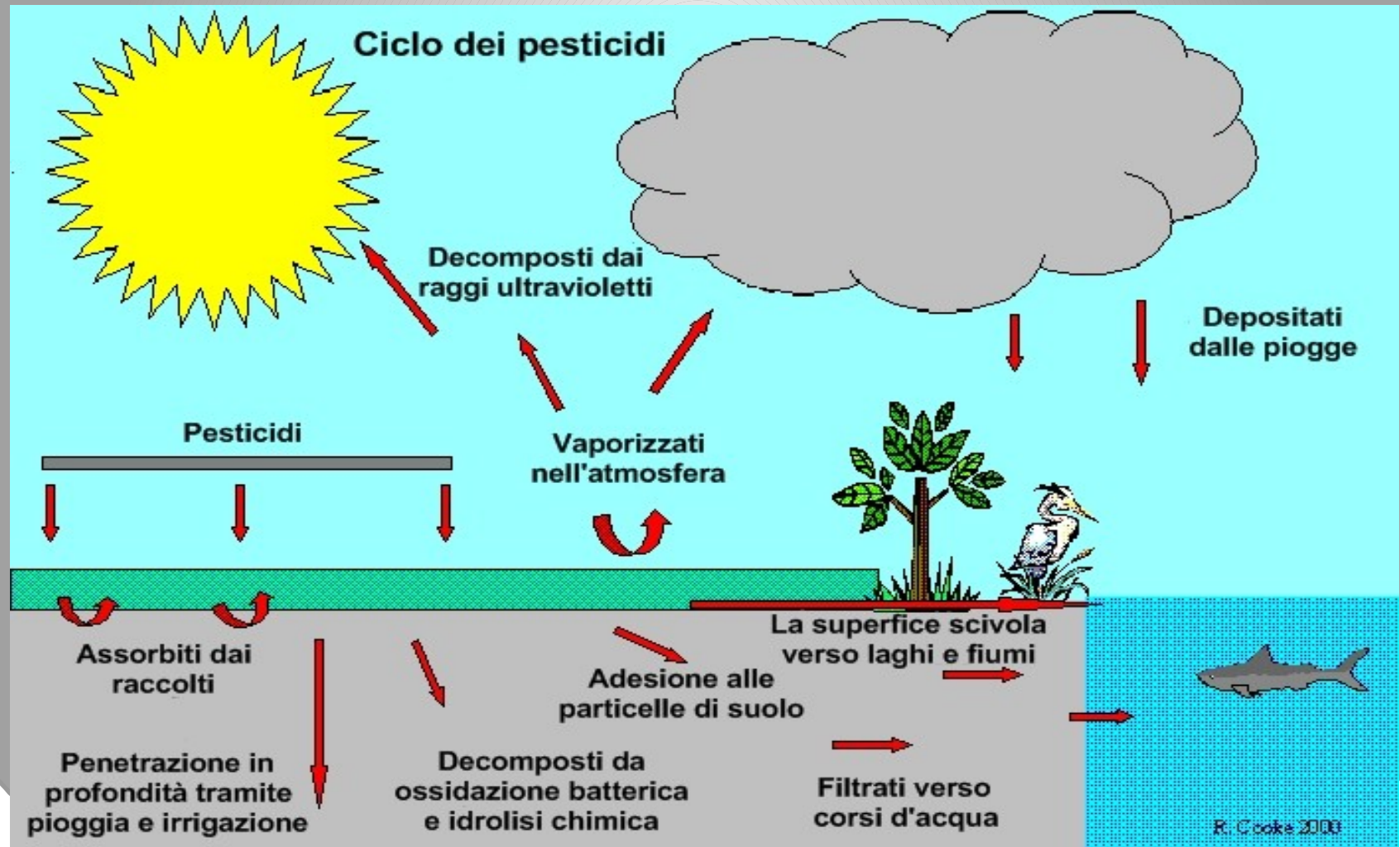
Stima della tossicità acuta

I parametri che caratterizzano la tossicità cronica :

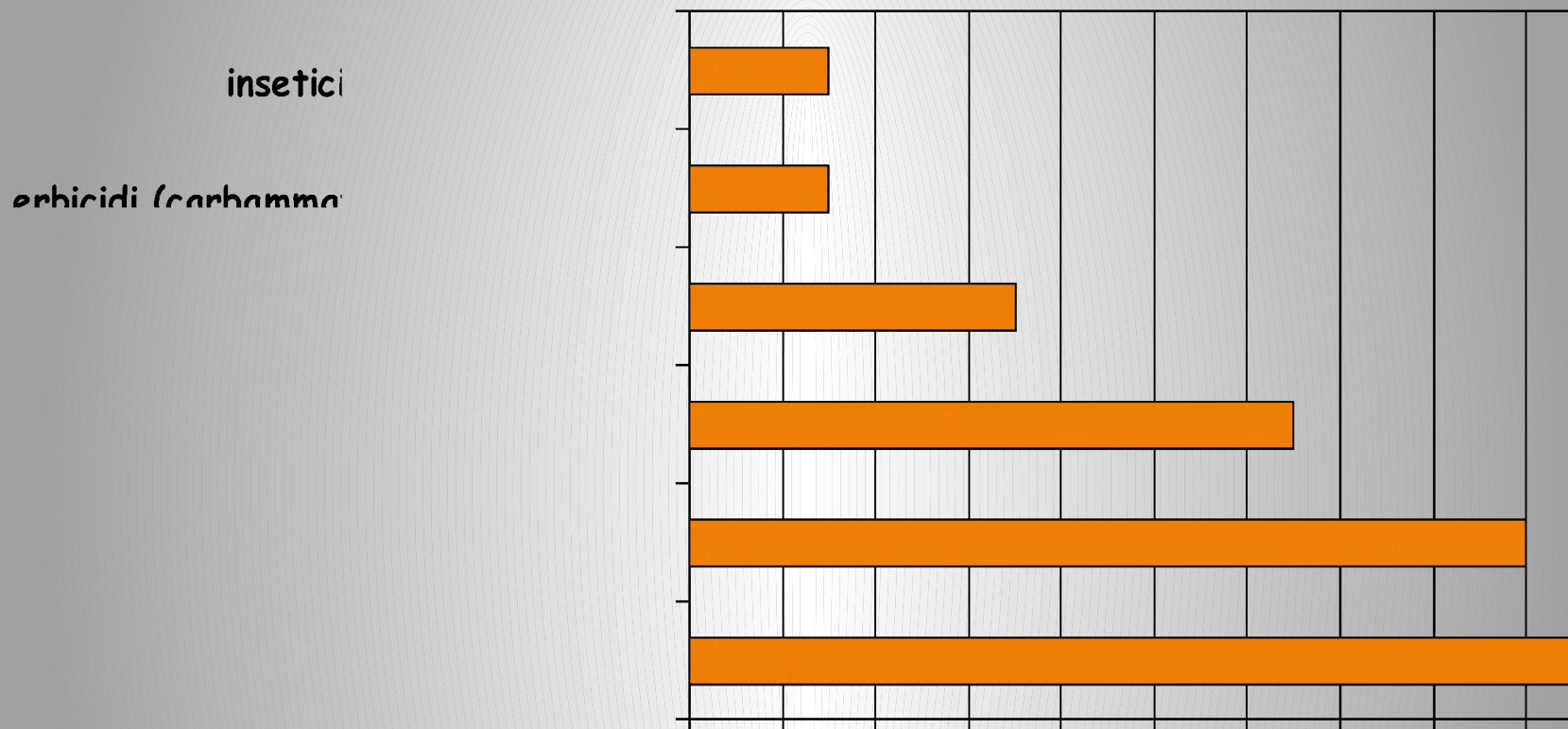
- **NOEL:** (No-Observed-Effect-Level) rappresenta la dose alla quale non si è manifestato alcun effetto in saggi di tossicità.
- **LOEL:** (Lowest-Observed-Effect Level) rappresenta la più bassa dose al quale è stato possibile evidenziare un effetto in saggi di tossicità.
- **ADI:** (acceptable daily intake) la quantità che si può ingerire ogni giorno nell'arco di una vita senza subire danni.

**Questi parametri
tossicologici servono
per poter stabilire la
tossicità di un principio
attivo ed effettuare una
valutazione del rischio
per la salute umana**

Ciclo dei pesticidi



Permanenza nell'olio di soia, di diverse classi di pesticidi ed erbicidi



Classificazione dei Pesticidi

Classificazione in base al tempo necessario xchè il 75-100% dei residui scompaiano dal sito di applicazione:

NON PERSISTENTI

1-12 settimane

Organofosforici

Carbamati

Piretroidi

Erbicidi dipiridilici

MODERATAMENTE PERSISTENTI

1-18 mesi

Diserbanti triazinici e fenilureici

PERSISTENTI

2-5 anni

Organoclorurati

**Maggiore interesse per
tutela umana ed ambientale**

EFSA riconosce la necessità di
nuove linee guida per la
valutazione a scopo
commerciale di fitosanitari in
relazione alle api.



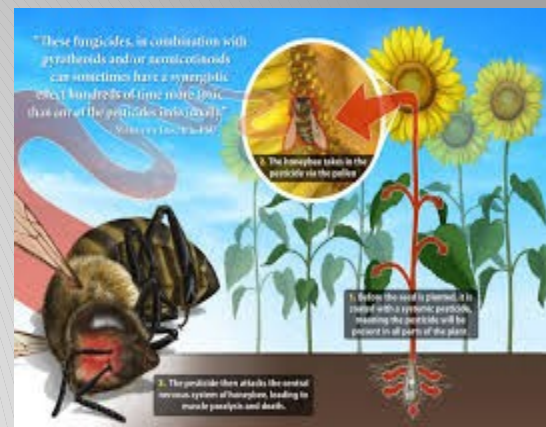
Utilizzati in agricoltura
Prodotti registrati per
api

Anticolinesterasici:
organofosforici



Impiego in
aumento?

Piretroidi:
fluvalinate

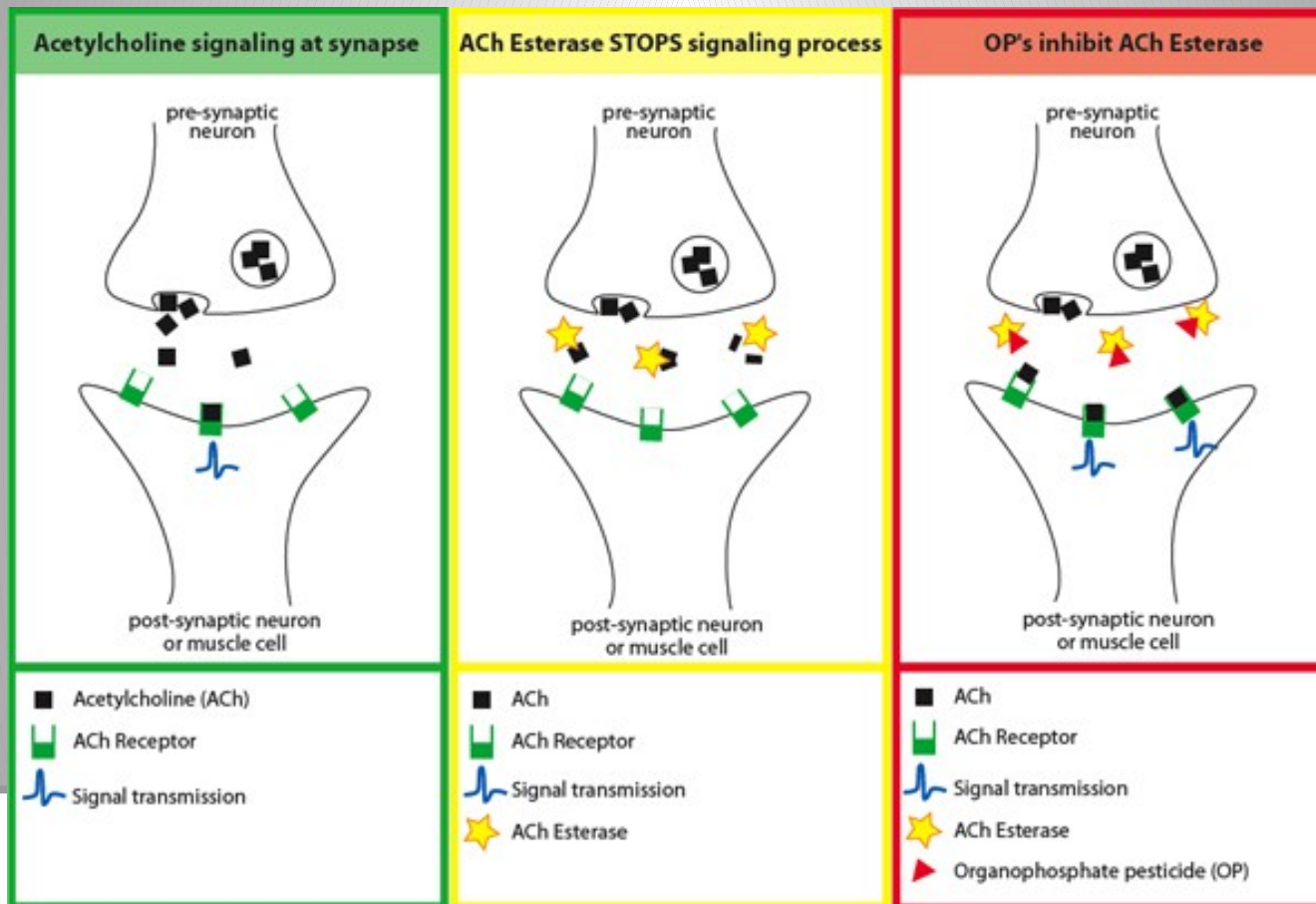


I neonicotinoidi
rappresentano il 25%
dei fitosanitari oggi
commercializzati

**Nuove
molecole:**
neonicotinoidi e
fenilpirazoli

Meccanismo d'azione OP

Inibizione delle acetilcolinesterasi, aumentando la concentrazione di acetilcolina endogena



Principali caratteristiche

Vengono degradati abbastanza rapidamente nell'ambiente. La maggior parte di questi composti subisce una completa degradazione in circa **2-4 settimane**.

Effetti avversi coumaphos: bassa tossicità per le api (LD50: bee = 14.39µg). Mortalità nei trattamenti bassa (4-7%).

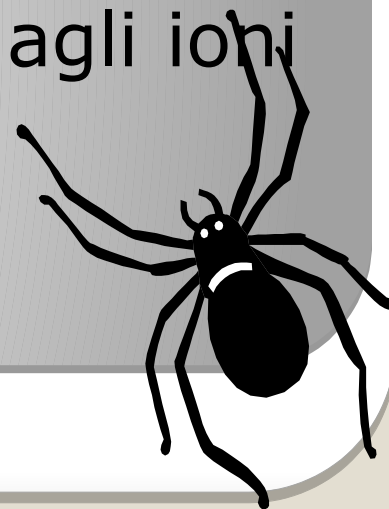
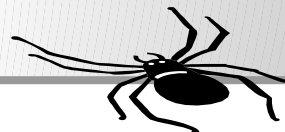
Problema principale: presenza dei residui nella cera/miele

Prodotti commerciali in apicoltura: Perizin (ritirato dal mercato italiano)



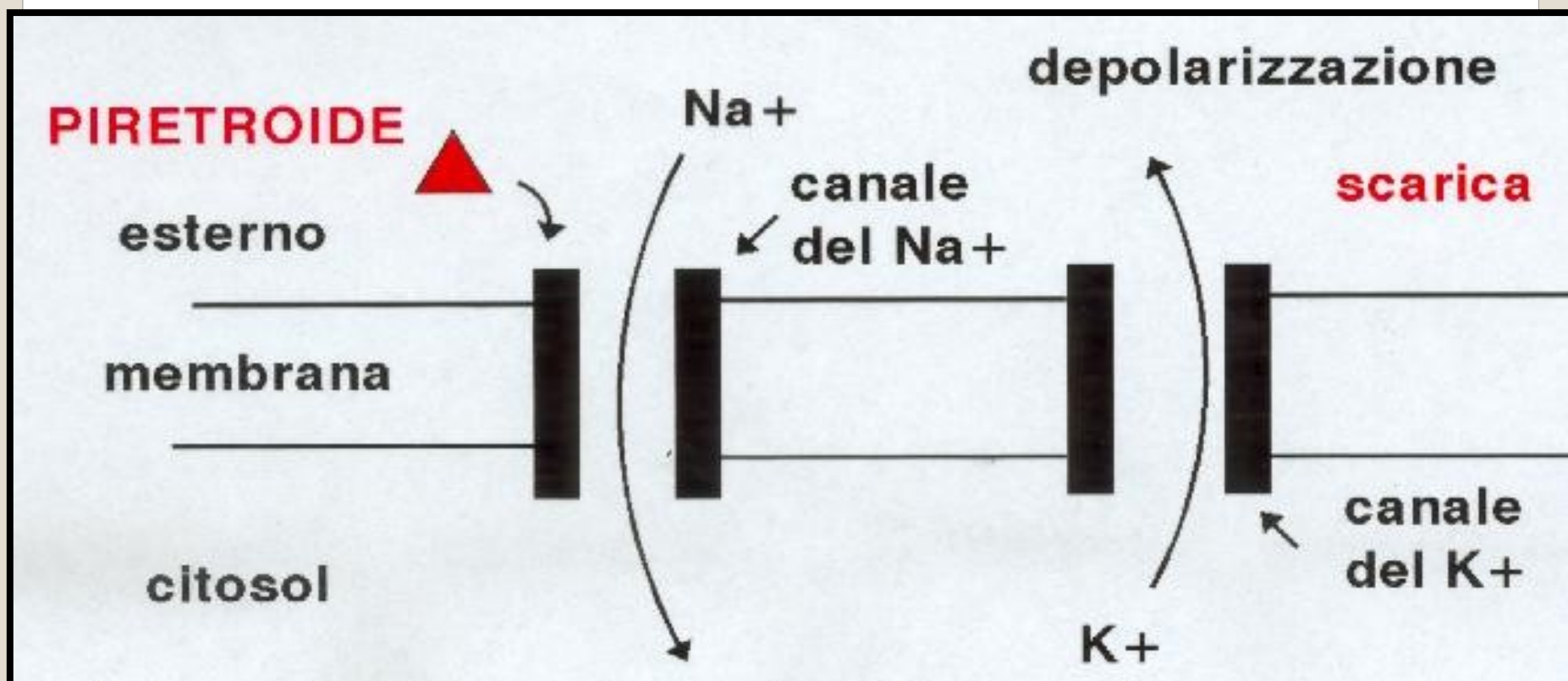
Meccanismo d'azione piretroidi

Piretrine e piretroidi agiscono **esclusivamente per contatto** interferendo con la funzionalità del sistema nervoso degli insetti. Agiscono legandosi sui canali voltaggio-dipendenti del Na, alterando la permeabilità agli ioni Na^{++} e K^{+}



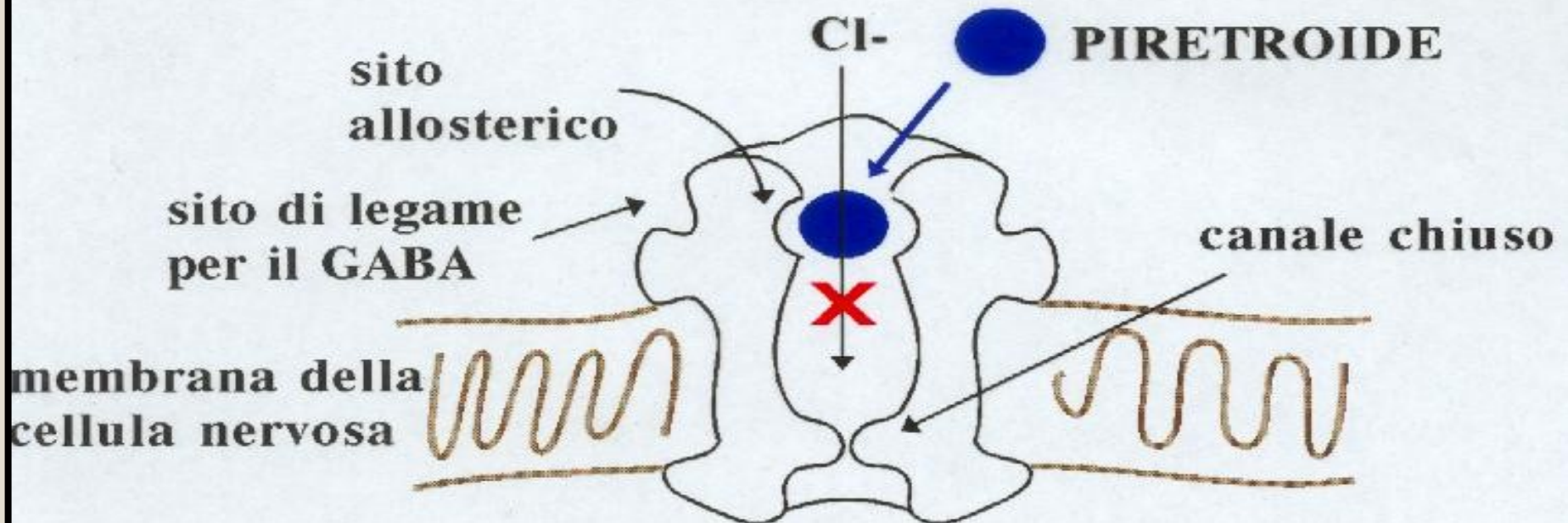
Bloccanti dell'apertura dei canali

I tipo: prolungano la fine del potenziale d'azione, impedendo la chiusura dei canali del Na^+ . Si verifica una depolarizzazione di membrana con scariche ripetitive.



II tipo: causano un ritardo più grande nell'inattivazione dei canali del Na^+ con una depolarizzazione di membrana senza scariche ripetitive.

Inoltre si possono legare al recettore GABA nel SNC dei mammiferi ed artropodi, interferendo con l'entrata degli ioni Cl^- e bloccando la funzione inibitrice di questo recettore.



Principali caratteristiche

Degradazione in funzione di agenti esterni (fotossidazione) e della categoria di appartenenza. Gli animali possiedono proprie capacità di metabolizzazione e di difesa dai piretroidi, in relazione alla qualità e quantità di enzimi carbossidasici, di ossidasi microsomiali e di agenti glicuronanti presenti nel loro organismo.

Effetti avversi : fluvalinate è il meno tossico.

Tossicità per le api inversamente proporzionale alla temperatura. Bombi più piccoli del normale. Azione repellente o interferenze con i meccanismi di comunicazione?

Prodotti commerciali in apicoltura: Apistan

MECCANISMO D'AZIONE NEONICOTINOIDI

- Recettori nicotinici post-sinaptici con azione bifasica: fase di ipereccitabilità seguita da blocco della propagazione impulso nervoso
- Recettori per Ach degli insetti sono più sensibili rispetto a quelli dei vertebrati



Neonicotinoidi autorizzati in Italia – principali caratteristiche

Caratteristiche comuni

stesso meccanismo d'azione – IRAC gruppo 4A;
bassa tossicità relativa per i mammiferi;
basso bioaccumulo;

buona solubilità in acqua;

Differenze importanti

	Solubilità in acqua - mg/l	DT 50 tipico suolo - giorni	Tossicità api acuta 48 ore - µg/ape
Nitroguanidine			
Imidacloprid	610 elevato	191 Persist.	0,0037 orale 0,081 contatto
Thiametoxam	4100 elevato	50 Persist. (metab)	0,005 orale 0,024 contatto
Clothianidin	340 moderato	545 Persist.	0,0038 orale 0,0275 contatto
Cianamidine			
Acetamiprid	2950 elevato	3 Non persist.	8,09 contatto
Tiacloprid	184 moderato	15,5 Non persist.	17,32 orale

Tossicità acuta verso le api (altri insetticidi)

Fipronil 0,00417 orale

Deltamentrina 0,0015 contatto

Clorpirifos etile 0,059

Clorantraniliprole > 4 contatto

Fluvalinate 12 contatto

Diflubenzuron > 25 orale

Spirotetramat > 100 contatto

Metossifenozone > 100 orale

Flonicamid > 51100 contatto

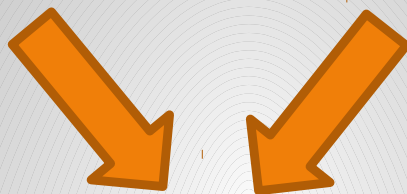




- **E I FUNGICIDI?**



- **E GLI ERBICIDI?**



Ritenuti innocui x le api se presi singolarmente



Effetti sinergici



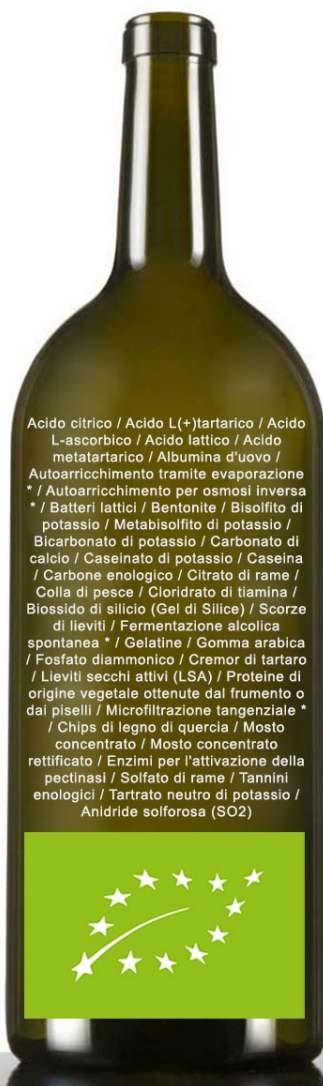
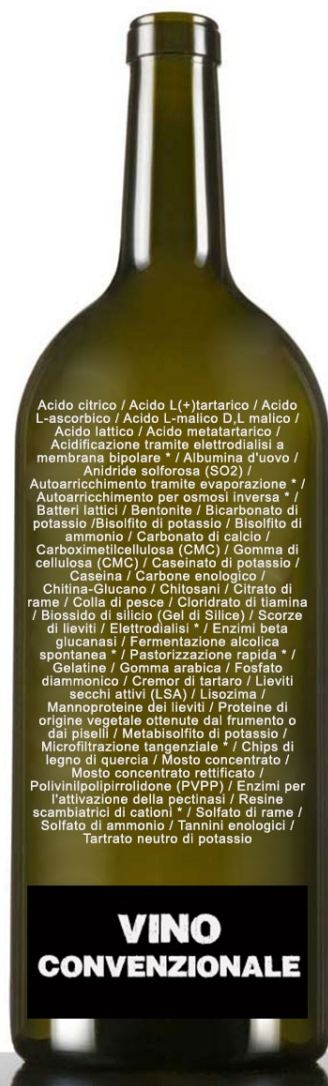


Esposizione diretta

Esposizione indiretta



Oltre l'uva, che ci può essere in una bottiglia di vino?



“Il vino naturale si fa in vigna partendo da vigneti posti in posizioni vocate, non forzando la produzione, stimolando l'equilibrio e la forza delle piante, lavorando per la fertilità del suolo. Alla fine le uve portate in cantina sono sane e ricche, solo partendo da queste uve si può fare un vino naturale.”





**GRAZIE
DELL'ATTENZIONE**