

# L'impiego di piante transgeniche resistenti agli insetti rappresenta un rischio per le api mellifere?

Sabine Keil, Jörg Romeis, Peter Fluri\* e Franz Bigler

Stazione federale di ricerche in agroecologia e agricoltura (FAL), Zurigo-Reckenholz, CH-8092 Zurigo

\* Stazione federale di ricerche lattiere (FAM), Centro di ricerche apicole, Liebefeld, CH-3003 Berna

*Le piante transgeniche resistenti agli organismi nocivi e alle malattie contengono nel proprio patrimonio genetico geni che provengono da altre piante, da animali o da microrganismi. Tali geni possono ad esempio costruire proteine in grado di proteggere le piante geneticamente modificate contro i danni provocati da insetti o da funghi. L'obiettivo principale è un impiego più limitato dei prodotti fitosanitari, riducendo di conseguenza pure il potenziale di pericolo per l'ambiente, per gli utilizzatori e per i consumatori.*

Anche per le piante transgeniche, come per ogni nuovo prodotto fitosanitario, prima della messa in commercio vengono testati gli effetti collaterali sugli organismi non bersaglio (p.es. le api mellifere). Nel caso delle api mellifere, i controlli vengono effettuati in ragione della loro importanza dal punto di vista ecologico e economico poiché potrebbe verificarsi una presenza di tossine nelle cellule delle piante e pure nel polline, che assieme al nettare costituisce la base della nutrizione delle api. Nel nettare delle piante transgeniche finora non è stata dimostrata alcuna presenza di proteine transgeniche (Malone & Pham-Delègue, 2001). La bibliografia presa in esame nel presente documento raccoglie le pubblicazioni concernenti il potenziale di pericolo per le api delle piante transgeniche resistenti agli insetti. Poiché tali piante producono proteine che agiscono contro gli insetti, si possono verificare più facilmente anche effetti indesiderati su insetti non bersaglio, come ad esempio le api. Al contrario, tuttavia, il potenziale di pericolo delle piante transgeniche resistenti a malattie e erbicidi sulle api è esiguo. Anche le api comunque rivestono una particolare importanza nell'attuale dibattito sulla stima del reale potenziale di pericolo delle piante transgeniche, in quanto partecipano alla diffusione di materiale transgenico (polline) che può eventualmente portare all'ibridazione di piante transgeniche. Secondo uno studio, che ha suscitato particolare interesse, nell'intestino delle api può aver luogo un trasferimento di materiale transgenico (dal polline) a microrganismi (trasferimento genetico orizzontale) (Reiche *et al.*, 1998). Tale fattispecie non ha potuto ancora essere definitivamente chiarita.

In base alla biologia nutrizionale delle api mellifere, in linea di massima, un contatto con la tossina potrebbe verificarsi in tutte le fasi di sviluppo, qualora questa fosse contenuta nel polline. Il polline è raccolto dalle api operaie e portato nell'apiario per essere trasformato. Il fabbisogno di polline varia in base all'età delle api e alla loro funzione all'interno della colonia e di conseguenza non rimane costante in tutte le fasi dello sviluppo. Esso aumenta nelle larve e nelle giovani api operaie. Queste ultime hanno bisogno di proteine per la formazione della ghiandola ipofaringea, del corpo grasso e degli altri organi. Considerando che le api bottinatrici hanno la funzione di raccogliere polline per farne scorte per la covata e le api adulte non si può escludere una potenziale minaccia per tutte le fasi di sviluppo e per tutte le caste (api operaie, fuchi, ape regina).



I campi di colza in fiore possono rappresentare una notevole fonte di nutrizione per gli insetti a contatto con i fiori. Le colonie d'api alle volte coprono gran parte del loro fabbisogno in polline e nettare con questo raccolto.

Le larve nei primi 3/4 giorni di vita sono nutrite con gelatina reale. Le larve più grandi sono nutrite anche con polline e miele risp. nettare. Le api adulte completano il loro sviluppo in 8-10 giorni. Durante questo periodo lo sviluppo interno (ghiandole, corpo grasso) dipende dalla somministrazione di polline. L'importanza di un approvvigionamento sufficiente di polline per le giovani operaie si ripercuote pure sulle aspettative di vita; in mancanza di polline, infatti la durata della vita delle giovani api operaie è più breve (Maurizio, 1950). Nelle api adulte il fabbisogno di polline è strettamente correlato alla loro attività e diminuisce con l'età (Hrassnigg & Crailsheim, 1998). Il polline non viene solamente consumato dalle operaie, bensì anche trasformato con miele e saliva per renderlo conservabile.

Il quantitativo totale di polline per colonia d'api varia sensibilmente e cioè dai 10 ai 26 kg l'anno (Wille *et al.*, 1985a). Per singola ape è stato determinato un fabbisogno di polline pari a 163 mg



Favo magazzino sezionato. Nei periodi di grande disponibilità di polline, le api ne stoccano scorte che saranno consumate nel giro di alcune settimane o addirittura di mesi.

risp. 36 mg di proteina di polline pura (Wille *et al.*, 1985b). In linea di massima, il polline è ricavato nell'arco di un anno da un'ampia gamma di specie vegetali. Tuttavia, nel quadro di uno studio svolto nell'Altipiano svizzero, è risultato che il 51% del quantitativo totale di polline raccolto in un anno proviene da poche fonti: granoturco, colza, acero, piantaggine minore, tarassaco e pascolo (Wille *et al.*, 1985a).

Questa breve scorsa della biologia nutrizionale delle api mellifere mostra che le possibilità di entrare in contatto con polline transgenico sono innumerevoli. Di seguito viene offerta una panoramica sugli studi svolti finora sugli influssi delle piante transgeniche resistenti agli insetti sulle api mellifere. A tal proposito va sottolineato che la maggior parte di questi studi sono stati svolti con tossina pura e non con piante transgeniche.

Glossario	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	battere del suolo che forma proteine nocive per gli insetti
Espressione genetica	applicazione dell'informazione genetica in una proteina
Gene	unità d'informazione minima del patrimonio genetico
Erbicida	prodotto fitosanitario chimico impiegato nella lotta contro le malerbe
Trasferimento genetico orizzontale	trasferimento di un'informazione genetica tra due organismi oltrepassando i limiti dell'ibridazione
Inibitore della proteasi	inibitore degli enzimi intestinali, che svolgono un ruolo fondamentale nella decomposizione chimica delle proteine
Proteina	albume
Tossina	sostanza nociva
Transgenico	aggettivo utilizzato per organismi nel genoma dei quali, con l'ausilio dell'ingegneria genetica, sono stati impiantati uno o più geni di altri organismi

## Effetto delle piante transgeniche

Il *Bacillus thuringiensis* (BT) è un battere del suolo che produce vari cristalli proteici tossici per alcune categorie di insetti. A seconda delle sottospecie Bt (indicate con Cry), questi cristalli proteici agiscono sui lepidotteri (farfalle), sui coleotteri (scarafaggi) o sui ditteri (insetti con due ali p.es. mosche). Le tossine Bt influiscono sul sistema digerente degli insetti, provocando la sospensione della digestione del cibo. Nei prodotti fitosanitari al Bt comunemente in uso, le tossine sono in una forma inattiva e vengono attivate solamente dopo la digestione del cibo, una volta arrivate nell'intestino. Già da qualche anno, questi prodotti sono usati con successo nella protezione delle piante e sono particolarmente rispettosi degli organismi utili. Considerando che i trattamenti a base di Bt hanno luogo spesso dopo la fioritura, che il livello di persistenza dei batteri nell'ambiente è esiguo e che le tossine sono inattive, in generale la minaccia per le api e per gli altri insetti a contatto con i fiori rimane esigua. Nelle piante transgeniche, invece, in cui è stato trasferito un gene Bt, tali proteine tossiche sono presenti generalmente in tutte le parti della pianta e quindi anche nel polline. A differenza di quanto avviene nei prodotti fitosanitari al Bt, nelle piante transgeniche i prodotti genetici Bt tossici sono già sotto forma attiva.

### Studi con tossina Bt pura

Nella maggior parte degli studi effettuati, le tossine pure sono state testate in base alla loro tossicità sulle api. Studi effettuati con la tossina CryIAC pura (efficace contro i lepidotteri) del cotone transgenico non hanno rivelato alcun effetto significativo sulla mortalità delle larve e delle api mellifere adulte (Sims, 1995). La concentrazione testata era circa cento volte superiore di quella nei pollini del cotone transgenico. A larve di un'età di 1-3 giorni è stata somministrata una soluzione a base di tossina (tossina e acqua distillata) nei favi di covata mentre le api adulte sono state trattate con una soluzione a base di acqua, miele e tossina. In conformità con tali risultati sono gli studi svolti con tossina CryIIA (efficace contro i lepidotteri e i ditteri) con un tenore di proteine analogo a quello riscontrato nel cotone transgenico (Sims, 1997). Sia nelle larve (età 2-3 giorni) sia nelle api adulte (età 3 giorni) non è stato rilevato alcun aumento della mortalità in seguito all'assunzione delle proteine CryIIA.

In un altro studio ad api mellifere adulte è stata somministrata tossina CryIIIB pura (efficace contro i coleotteri) contenuta in una soluzione zuccherina. La tossina non ha avuto alcun effetto sullo sviluppo della covata, sul tasso di sopravvivenza delle larve o sul peso delle pupe (Arpaia, 1996).

In un altro studio tre concentrazioni di tossina CryIBa pura (efficace contro i lepidotteri) sono state mescolate in un nutrimento a base di polline con cui sono state trattate per 7 giorni le api mellifere sfarfallate. Dai risultati relativi all'aspettativa di vita delle api e al tasso di assimilazione del cibo non sono emerse differenze rispetto alle api cui era stato somministrato polline privo di tossina Bt. Nel quadro di uno studio pubblicato recentemente, alle api operaie è stato somministrato polline con tossina CryIBa pura su un arco di 7 giorni. Le api appositamente contrassegnate sono state poi riportate nel loro apiario, senza che fossero registrate variazioni di rilievo rispetto al gruppo di controllo, cui era stato somministrato polline privo di tossina, per ciò che concerne l'aspettativa di vita e l'attività di volo (Malone *et al.*, 2001).



Le larve delle api moltiplicano di quasi mille volte il loro peso corporeo durante i sei giorni della fase di maggiore voracità, assumendo insieme alla gelatina reale anche un certo quantitativo di proteina, contenuto in circa 160 mg di polline. Le api bottinatrici raccolgono tale quantitativo in circa otto voli di raccolta (20 mg di polline al volo).

### Test svolti con polline di piante transgeniche Bt

Finora è stato effettuato un unico studio in cui a larve di api è stato somministrato polline di piante Bt geneticamente modificate (Ahl-Goy *et al.*, 1995). Le

larve (età 4 giorni) nel favo da nido sono state alimentate a base di polline di piante di granturco Bt risp. non modificato geneticamente. Non sono stati rilevati effetti sullo sviluppo delle api derivanti dalla somministrazione di polline di granturco Bt. Il tasso di sopravvivenza delle larve del gruppo di controllo era tuttavia inferiore rispetto a quello delle larve sottoposte al test e trattate con tossina, con valori registrati rispettivamente pari al 65% e al 95%. Tuttavia, poiché la pubblicazione non riportava una descrizione esaustiva del metodo applicato per lo studio, non è stato possibile interpretare questi dati.

Nel quadro di uno studio semi all'aperto, svolto in una tenda a galleria, sono stati analizzati gli effetti delle piante di granturco Bt (CryIAb) sulla mortalità, sullo sviluppo della covata e sull'istinto di raccolta delle api mellifere (Schur *et al.*, 2000). Per tutta la durata del test, non sono stati rilevati effetti negativi causati dal polline di granturco Bt sulle api, tuttavia, anche in questo caso, il primo giorno si è notato un forte aumento del tasso di mortalità del gruppo di controllo non trattato rispetto alle api sottoposte a trattamento. Anche in questo caso la descrizione del metodo utilizzato non è stata sufficiente per consentire una valutazione completa.

## b) Inibitori della proteasi

Gli inibitori della proteasi (IP) sono inibitori di enzimi di provenienza vegetale, animale o microbica. Negli insetti essi comportano un'inibizione degli enzimi della digestione (proteasi) nell'intestino, in modo tale da impedire una completa assimilazione del cibo, causando fenomeni di carenza che possono portare addirittura alla morte. In base all'attività legante, gli inibitori della proteasi si dividono in 4 gruppi principali (Tab. 1).

Tabella 1: Panoramica degli inibitori della proteasi

Tipologia del legame	Inibitore della proteasi
Serina	BBI (Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor)
	BPTI or Aprotinin (Bovine pancreatic trypsin inhibitor)
	CpTI (Cowpea trypsin inhibitor)
	POT-I (Potato Proteinase inhibitor I)
	POT-II (Potato Proteinase inhibitor II)
	SBTI (Soybean Kunitz trypsin inhibitor)
Cisteina	Cystatin (chicken egg white cystatin)
	OC-I (Oryzacystatin)
Aspartil	
Metallo	

A seconda della specificità legante dell'IP e della composizione degli enzimi intestinali di un determinato tipo di insetti, si può verificare l'inibizione di uno o più enzimi. Nel caso delle api mellifere, a svolgere un ruolo importante nella scissione proteica sono gli enzimi proteolitici, come ad esempio la serinproteasi, mentre la cisteinproteasi non è stata riscontrata (Jimenez & Gilliam, 1989). Di conseguenza ci si può attendere un effetto dell'IP di tipo serina sull'attività intestinale delle api. Finora non sono stati effettuati studi con piante transgeniche IP per analizzarne gli effetti eventuali sugli organismi non bersaglio. Per gli studi sugli effetti dell'IP sulle api mellifere sono state impiegate esclusivamente proteine pure. Non sono stati svolti test con piante IP risp. con polline di piante IP.

## Effetti sul tasso di sopravvivenza e sull'aspettativa di vita

*IP di tipo serina:* nell'ambito di test a breve e lungo termine è stata analizzata la tossicità acuta degli IP sulle api mellifere valutandola in base al tasso di sopravvivenza e alla loro aspettativa di vita. Nella maggior parte degli studi a breve termine (durata < 4 giorni) non sono stati riscontrati effetti nocivi degli IP. L'aggiunta di BBI in fave di soia dopo 4 giorni di trattamento di api bottinatrici (età sconosciuta) non ha provocato, in nessuno dei dosaggi testati, un aumento della mortalità (Belzunces *et al.*, 1994). Stessi risultati si sono avuti in altri test con BBI a concentrazioni elevate che non hanno avuto alcun effetto tossico su api adulte (età sconosciuta). Tali concentrazioni erano ben al di sopra del tenore di tossina che si può riscontrare nelle piante transgeniche (Bonadé-Bottino *et al.*, 1998). In un altro studio, è stato somministrato BBI (in soluzione zuccherina) ad api adulte (età 2 settimane). In termini di tasso di sopravvivenza, le api sottoposte a trattamento non hanno mostrato differenze rispetto al gruppo di controllo non trattato (Girard *et al.*, 1998). Nel quadro di uno studio a lungo termine (80 giorni) svolto con BBI alla massima concentrazione testata, l'aggiunta dell'IP in api operaie sfarfallate ha portato ad un aumento della mortalità (Pham-Delègue *et al.*, 2000).

La somministrazione di una maggiore concentrazione di BPTI dopo 8-16 giorni ha comportato una crescita della mortalità delle api sfarfallate (Malone *et al.*, 1995). Gli stessi effetti sono stati riscontrati anche in un altro studio a lungo termine (60 giorni). L'aggiunta di questo IP a concentrazioni elevate ha determinato una riduzione dell'aspettativa di vita nelle api trattate, mentre nessun effetto è stato rilevato con concentrazioni più ridotte (Burgess *et al.*, 1996).

In un altro studio con un IP di tipo serina, CpTI, inoltre, non sono state costatate conseguenze negative sull'aspettativa di vita delle api adulte (età 15 giorni) né nei 2 giorni successivi alla somministrazione attraverso il cibo né all'inoculazione (Picard-Nizou *et al.*, 1997). I dati rilevati attraverso uno studio a breve termine hanno evidenziato la significativa riduzione dell'aspettativa di vita delle api sfarfallate che avevano assunto POT-I e POT-II attraverso le patate (Malone *et al.*, 1998). Una concentrazione elevata di inibitore della proteasi SBTI ha generato una mortalità crescente nelle api sfarfallate dopo 8-16 giorni (Malone *et al.*, 1995). Nell'ambito di uno studio a lungo termine, si sono verificati effetti tossici sulle api sfarfallate dopo 60 giorni dall'assunzione di questo IP (Burgess *et al.*, 1996). Risultati analoghi sono stati ottenuti dagli autori di un altro studio, durante il quale dopo 80 giorni è stata registrata una crescita della mortalità fra le api operaie trattate con SBTI (Pham-Delègue *et al.*, 2000).

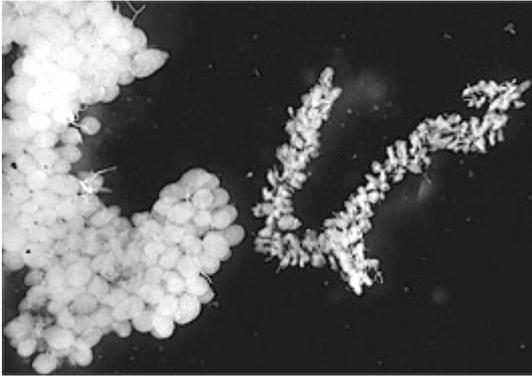
In alcuni studi è stato dimostrato direttamente che l'attività degli enzimi intestinali viene ridotta a seguito dell'assunzione di IP del tipo serina (Belzunces *et al.*, 1994; Burgess *et al.*, 1996; Malone *et al.*, 1995, 1998). Tuttavia, vi sono indizi che fanno pensare alla possibilità delle api di evitare la riduzione dell'attività enzimatica attraverso, ad esempio, la formazione di altri enzimi della digestione (Girard *et al.*, 1998).

*IP di tipo cisteina:* il tasso di sopravvivenza delle api (età 2 settimane) cui è stata somministrata cistatina o OC-I in soluzione zuccherina non si discosta da quello del gruppo di controllo non trattato (Girard *et al.*, 1998). Per quanto concerne l'attività dell'enzima intestinale, non è stato riscontrato alcun effetto negativo, per nessuno dei due IP utilizzati (Girard *et al.*, 1998).

In base agli studi effettuati, è stato dimostrato chiaramente che soltanto nel caso degli IP di tipo serina sono stati riscontrati effetti tossici sulle api, mentre in nessuno degli studi eseguiti finora sono state rilevate conseguenze negative sull'aspettativa di vita causate dagli IP di tipo cisteina. Tuttavia, nel caso degli IP di tipo serina è stato registrato un effetto nocivo soltanto se somministrati in concentrazioni elevate, che



Una volta sfarfallate, le api assumono notevoli quantità di polline per alcuni giorni, il che contribuisce ad una rapida formazione di organi quali le ghiandole ipofaringee o il corpo grasso.



Ghiandole ipofaringee a confronto: ape nutrice di 12 giorni (sinistra) e ape bottinatrice di 24 giorni (destra). Il presupposto essenziale per lo sviluppo delle ghiandole è una corretta assunzione di polline.

comunque non sono presenti nelle piante transgeniche. Va costatato, tuttavia, che gli studi sono stati effettuati esclusivamente su api adulte, sebbene l'assunzione di polline (miscela a base di gelatina reale, polline) abbia inizio già a partire dallo stadio larvale e sebbene, quindi, anche per le larve possa verificarsi un rischio in caso di polline transgenico.

### Effetto sull'istinto di apprendimento

Accanto a studi sulla tossicità diretta degli inibitori della proteasi e dell'effetto fisiologico sugli enzimi intestinali, è stato analizzato anche l'effetto sull'istinto di apprendimento delle api. È stato scoperto che le api, quando entrano in contatto con una soluzione zuccherina, tirano fuori la lingua. Se contemporaneamente si produce anche un odore, questi insetti sono in grado di imparare ad associare

l'odore con la ricompensa (la soluzione zuccherina). L'effetto dell'apprendimento si manifesta quando le api tirano fuori la lingua in presenza soltanto dell'odore.

*IP di tipo serina:* in uno studio dell'apprendimento, la somministrazione per 15 giorni di BBI a concentrazione elevata ha causato una forte riduzione dell'istinto d'apprendimento, mentre nessun effetto è stato riscontrato in relazione a concentrazioni più basse (Pham-Delègue *et al.*, 2000). Il BBI invece non ha dimostrato alcun effetto, quando alle api veniva somministrato in primo luogo cibo privo di tossina introducendo l'IP soltanto all'età di 14-16 giorni (Girard *et al.*, 1998). Elevate concentrazioni di CpTI invece provocavano alterazioni dell'istinto d'apprendimento nelle api operaie (età 14-16 giorni) (Picard-Nizou *et al.*, 1997). Nessun effetto è stato determinato dall'inibitore SBTI (Pham-Delègue *et al.*, 2000).

*IP di tipo cisteina:* alterazioni dell'istinto d'apprendimento delle api in età tra i 14 ed i 16 giorni non sono state rilevate né dopo l'aggiunta di cistatina né di OC-I (Girard *et al.*, 1998). Inoltre, una miscela di OC-I e BBI non ha comportato alcun effetto sull'istinto d'apprendimento, in nessuna delle concentrazioni testate, dopo un trattamento delle api della durata di 15 giorni (Pham-Delègue *et al.*, 2000).

In base agli studi svolti finora, si trae la conclusione che soltanto gli IP di tipo serina possono influire sull'istinto d'apprendimento delle api.

## Discussione

I presenti studi sull'effetto delle piante transgeniche Bt risp. dei loro prodotti sulle api mostrano che in condizioni da laboratorio, finora, non si sono verificati effetti dannosi. Tuttavia in alcuni test di laboratorio sono stati registrati effetti tossici causati da IP puri. Sulla base dei dati raccolti finora, si può dire poco sull'effetto in condizioni naturali (apiari), poiché gli studi effettuati in laboratorio non sono applicabili sul campo. Ciò è dovuto anche al fatto che i test sono stati svolti in laboratorio con la tossina pura. Inoltre, finora sono stati effettuati soltanto pochi studi sulle larve delle api, benché anche tale stadio dello sviluppo sia suscettibile a conseguenze negative dovute alle proteine transgeniche. In base alla biologia nutrizionale delle api appare chiaro che in teoria la possibilità di un contatto con polline transgenico e di un eventuale rischio esiste negli stadi adulto e larvale nonché in tutte le caste, poiché è proprio l'assunzione di polline a rappresentare la fonte principale di proteine. A titolo d'esempio, nelle giovani api operaie, il fabbisogno di polline è particolarmente elevato in ragione dello sviluppo delle ghiandole ipofaringee. Gli studi relativi alla nutrizione con prodotti transgenici svolti finora non hanno sufficientemente preso in considerazione tali aspetti. Nonostante siano state prese in esame anche giovani api operaie, esse, tuttavia, sono state trattate con tossina sciolta in soluzione zuccherina e non sotto forma di polline transgenico. Ciò risulta ancor più importante poiché non è ancora chiaro se e come si modifica la tossicità del

polline transgenico, quando viene predigerito dalle api nutrici e somministrato alle larve e alle altre api.

Sulla base dei test finora svolti con tossine del *Bacillus thuringiensis* la possibilità di un rischio per le api causato dal Bt può essere classificata come esigua. Nessuno degli studi ha evidenziato conseguenze negative sull'aspettativa di vita delle api in seguito all'assunzione di tossina. Tuttavia, anche in questo caso, la maggior parte degli studi con tossina pura è stata effettuata su api adulte di varie età e soltanto pochi hanno preso in esame le larve. Attualmente le piante Bt sono le sole piante resistenti agli insetti ad essere coltivate a scopo commerciale. Per il momento è impossibile sapere con certezza se l'impiego di piante Bt non comporti alcun rischio per le api, poiché sono ancora troppo poche le ricerche svolte con prodotti transgenici, p.es. polline, prendendo in esame gli stadi larvali. Gli unici due studi svolti con piante transgeniche Bt non hanno mostrato alcun effetto tossico per gli stadi analizzati, tuttavia in entrambi i casi la descrizione del metodo utilizzato poco esaustiva e l'alto tasso di mortalità registrato nei gruppi di controllo pongono l'interrogativo della rilevanza dei risultati conseguiti.

Studi di laboratorio con gli inibitori della proteasi mostrano che, se in forma pura, queste tossine possono avere effetti tossici sulle api. Non sono tuttora disponibili studi con piante transgeniche IP (e p. es. con polline). Nel quadro di studi a lungo termine sono state osservate conseguenze negative sull'aspettativa di vita di api in seguito alla somministrazione di soluzioni nutritive ad elevata concentrazione di IP. Sembra ovvio che l'IP serina possa scatenare un effetto tossico, in quanto le serinproteasi predominano nel sistema digestivo delle api. Le cisteinproteasi, al contrario, non sono state riscontrate (Jimenez & Gilliam, 1989). Alcuni studi hanno evidenziato che concentrazioni esigue di IP serina possono influire sull'attività enzimatica, senza tuttavia provocare un aumento della mortalità. Inoltre, è stato riscontrato un influsso negativo sull'istinto d'apprendimento delle api dopo la somministrazione di IP del tipo serina, mentre tali effetti non sono stati osservati con la somministrazione di IP del tipo cisteina.

In un articolo pubblicato recentemente sull'effetto dei prodotti transgenici sulle api mellifere e sui bombi, le autrici pongono l'accento sulle lacune relative al tenore esatto di tossina nei prodotti transgenici che sono il più grosso ostacolo nella progettazione di test sulla tossicità sulle api (Malone & Pham-Delègue, 2001). In mancanza di test standard, questi sono i limiti della significatività degli studi effettuati finora. Occorre inoltre sottolineare la necessità di studi dettagliati, anche con larve, di test con altre caste d'api (durata di sopravvivenza e fertilità della regina e dei fuchi) nonché di un'analisi dello sviluppo delle ghiandole ipofaringee delle api operaie. Innanzitutto va chiarito a quale concentrazione la tossina sia in grado di influire veramente sui vari stadi di sviluppo (e sulle caste), alla luce del fatto che il fabbisogno di polline varia nel corso del ciclo di sviluppo. In futuro occorre che i risultati ottenuti in laboratorio siano ripresi e verificati, per quanto possibile, in test semi all'aperto risp. sul campo utilizzando piante transgeniche invece di proteine pure. Nella scelta delle piante transgeniche, inoltre, occorre tenere in considerazione l'attrattiva dei fiori. A questo proposito, studi svolti con colza transgenica hanno dimostrato che è possibile modificare sia il volume sia la qualità del nettare (Picard-Nizou *et al.*, 1995).



Il polline di granturco viene raccolto dalle api mellifere nel periodo di luglio-agosto, spesso in maniera consistente tanto da rappresentare fino al 30% del raccolto di polline annuale di una colonia. (Foto J. Hättenschwiler)

## Conclusioni:

1. Gli studi finora svolti con piante Bt e con tossina Bt pura non hanno messo in evidenza alcun effetto dannoso per le api mellifere.
2. Nell'ambito di studi di laboratorio con determinati inibitori della proteasi puri è stato riscontrato un effetto tossico per le api.
3. Negli studi è stata analizzata soltanto una parte degli stadi dello sviluppo sebbene in base alla biologia nutrizionale delle api tutti gli stadi e le caste possano entrare in contatto con materiale transgenico (polline).
4. I presenti studi non hanno consentito una valutazione esaustiva dei rischi per le api mellifere posti da piante transgeniche resistenti agli insetti.

## Riassunto

L'introduzione delle piante transgeniche nella lotta contro gli insetti dannosi pone l'interrogativo dell'eventuale effetto che queste possono avere sugli insetti utili, quali, ad esempio, le api mellifere. In tale ambito, negli ultimi anni sono stati pubblicati numerosi studi. Nel presente articolo vengono presentati quelli che hanno preso in esame l'effetto sulle api delle tossine del *Bacillus thuringiensis* (Bt) e degli inibitori della proteasi. Sono stati analizzati i possibili effetti sull'aspettativa di vita, sull'attività dell'enzima della digestione nonché sull'istinto di apprendimento delle api mellifere. La maggior parte di questi studi è stata effettuata in condizioni di laboratorio, analizzando la tossicità delle piante transgeniche risp. delle proteine pure nel quadro di test a breve e a lungo termine. Se gli studi svolti con piante Bt o con loro prodotti non hanno rivelato effetti dannosi per le api mellifere, gli IP puri, invece, si sono dimostrati tossici e ciò risulta evidente considerando che gli enzimi di tipo serina rivestono un'importanza primaria nel processo digestivo che avviene nell'intestino delle api e che gli IP vanno proprio ad agire contro tali enzimi. I presenti studi non hanno consentito una valutazione esaustiva dei rischi per le api mellifere posti da piante transgeniche resistenti agli insetti.

## Bibliografia

- Ahl Goy, P., Warren, G., White, J., Privalle, L. Fearing, P. and Vlachos, D. (1995) Community impact: effects on microorganisms or insects. *Mitteilungen der Biologischen Bundesanstalt Berlin* 309, 50-53.
- Arpaia, S. (1996) Ecological impact of Bt-transgenic plants: 1. Assessing possible effects of CryIIIb toxin on honey bee (*Apis mellifera* L.) colonies *Journal of Genetics and Breeding* 50, 315-319.
- Belzunces, L.P., Lenfant, C. di Pasquale, S. and Colin, M.E. (1994) In vivo and in vitro effects of wheat germ agglutinin and Bowman-Birk soybean trypsin inhibitor, two potential transgene products, on midgut esterase and protease activities from *Apis mellifera*. *Comparative biochemistry and Physiology* 109 B, 63-69.
- Bonadé-Bottino, M., Girard, C., Jouanin, L., Le Métayer, M., Picard-Nizou, A.-L., Sandoz, G., Pham-Delègue, M.-H. and Jouanin, L. (1998) Effects of transgenic oilseed rape expressing proteinase inhibitors on pest and beneficial insects. *Acta Horticultura* 459, 235-239.
- Burgess, E.P.J., Malone, L.A. and Christeller, J.T. (1996) Effects of two proteinase inhibitors on the digestive enzymes and survival of honey bees (*Apis mellifera*) *Journal of Insect Physiology* 42, 823-828.
- Girard, C., Picard-Nizou, A.-L., Grallien, E., Zacommer, B., Jouanin, L. and Pham-Delègue, M.-H. (1998) Effects of proteinase inhibitor ingestion on survival, learning abilities and digestive proteinases of the honeybee. *Transgenic Research* 7, 239-246.
- Hrassnigg, N. & Craisheim, K. (1998) The influence of brood on the pollen consumption of worker bees (*Apis mellifera* L.) *Journal of Insect Physiology* 44, 393-404.

- Jimenez, D.R. & Gilliam, M. (1989) Age-related changes in midgut ultrastructure and trypsin activity in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie* 20, 287-303.
- Malone, L.-A., Giaccon, H.A., Burgess, E.P.J., Maxwell, J.Z., Christeller, J.T. and Laing, W.A. (1995) Toxicity of trypsin endopeptidase inhibitors to honey bees (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology* 88, 46-50.
- Malone, L.-A., Burgess, E.P.J., Christeller, J.T. and Gatehouse, H.S. (1998) In vivo responses of honey bee midgut proteases to two protease inhibitors from potato. *Journal of Insect Physiology* 44, 141-147.
- Malone, L.-A., Burgess, E.P.J. and Stefanovic, D. (1999) Effects of a *Bacillus thuringiensis* toxin, two *Bacillus thuringiensis* biopesticide formulations, and a soybean trypsin inhibitor on honey bee (*Apis mellifera* L.) survival and food consumption. *Apidologie* 30, 465-473.
- Malone, L.A., Burgess, E.P.J., Gatehouse, H.S., Voisey, C.R., Tregidga, E.L. and Philip, B.A. (2001) Effects of ingestion of a *Bacillus thuringiensis* toxin and a trypsin inhibitor on honey bee flight activity and longevity. *Apidologie* 32, 57-68.
- Malone, L.A. & Pham-Delègue, M.-H. (2001) Effects of transgene products on honey bees (*Apis mellifera*) and bumblebees (*Bombus* sp). *Apidologie* 32, 1-18.
- Maurizio, A. (1950) The influence of pollen feeding and brood rearing on the length of life and physiological condition of the honeybee. *Bee world* 31, 9-12.
- Pham-Delègue, M.-H., Girard, C., Le Métayer, M., Picard-Nizou, A.-L., Hennequet, C., Pons, O. and Jouanin, L. (2000) Long-term effects of soybean protease inhibitors on digestive enzymes, survival and learning abilities of honeybees. *Entomologia Experimentalis and Applicata* 95, 21-29.
- Picard-Nizou, A.L., Pham-Delègue, M.H., Kerguelen, V., Douault, P., Marilleau, R., Olsen, L., Grison, R., Toppan, A. and Masson, C. (1995) Foraging behaviour of honey bees (*Apis mellifera* L.) on transgenic oilseed rapoe (*Brassica napus* L. var. *oleifera*). *Transgenic Research* 4, 270-276.
- Picard-Nizou, A.-L., Grison, R., Olson, L., Pioche, C., Arnold, G. and Pham-Delègue, M.H. (1997) Impact of proteins used in plant genetic engineering: toxicity and behavioral study in the honeybee. *Journal of Economic Entomology* 90, 1710-1716.
- Reiche, R., Horn, U., Wölfl, St., Dorn, W. und Kaatz, H.H. (1998) Die Honigbiene als Vektor der Genübertragung von transgenen Pflanzen in die Umwelt. *Apidologie* 29, 401-402.
- Schur, A., Tornier, I. und Neumann, C. (2000) Bt-Mais und non Bt-Mais: Vergleichende Untersuchungen an Honigbienen (Tunnelzeltversuch), 47. Jahrestreffen der Bienenforschungsinstitute, 3.-5. April 2000, Blaubeuren, Deutschland (Poster).
- Sims, S.R. (1995) *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (CryIA(c)) protein expressed in transgenic cotton: effects on beneficial and other non-target insects. *Southwestern Entomologist* 20, 493-500.
- Sims, S.R. (1997) Host activity spectrum of the CryIIA *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* protein: effects on Lepidoptera, Diptera, and non-target arthropods. *Southwestern Entomologist* 22, 395-404.
- Wille, H., Wille, M., Kilchenmann, V., Imdorf, A. und Bühlmann, G. (1985 a) Pollenernte und Massenwechsel von drei *Apis mellifera*-Völkern auf demselben Bienenstand in zwei aufeinanderfolgenden Jahren. *Revue Suisse de Zoologie* (4), 897-914.
- Wille, H., Imdorf, A., Bühlmann, G., Kilchenmann, V. und Wille, M. (1985 b) Beziehung zwischen Polleneintrag, Brutaufzucht und mittlerer Lebenserwartung der Arbeiterinnen in Bienenstöcken (*Apis mellifica*). *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 58, 205-214.