

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ  
ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ  
ΚΑΙ ΤΩΝ ΑΤΜΟΣΦΑΙΡΙΚΩΝ ΡΥΠΩΝ  
ΣΤΗ ΜΕΛΙΣΣΟΚΟΜΙΑ**

**Δρ. Φανή Χατζήνα, Βιολόγος--Αναπληρώτρια Ερευνήτρια,  
Ινστιτούτο Μελισσοκομίας- ΕΘΙΑΓΕ**

**Έρευνα χρηματοδοτούμενη από τον ΚΑΝ 797/04 ΕΕ**

Ινστιτούτο Μελισσοκομίας Χαλκιδικής (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.)  
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας, Γ.Π.Α.  
Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων, Μπενάκειο  
Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο  
Εργαστήριο Φυσιολογίας Ζώων, ΑΠΘ

**Εισαγωγή**

Το imidacloprid, ένα νέο-νικοτινοειδές εντομοκτόνο, το οποίο εμφανίζεται με διάφορα εμπορικά ονόματα όπως Admire, Gaucho, Confidor και Premise έχει χρησιμοποιηθεί στην εργασία αυτή ως αντιπτοσωπευτική ουσία της ομάδας του. Το imidacloprid έχει χαμηλή τοξικότητα για τον άνθρωπο και είναι περισσότερο ασφαλές από πολλά οργανοφωσφορικά, ενώ αντιθέτως είναι ιδιαίτερος τοξικό για πολλά μυζητικά έντομα. Για αυτούς τους λόγους το imidacloprid είναι αρκετά διαδεδομένο. Οι μέλισσες θεωρούνται ευαίσθητες στις τοξικές δράσεις του imidacloprid. Οι τρόποι με τους οποίους οι ουσίες αυτές φτάνουν στις μέλισσες είναι ουσιαστικά τρεις: Ο κυριότερος μέσω της διατροφής των μελισσών με γύρη και νέκταρ, ο δεύτερος με τη σκόνη που δημιουργείται κατά τη σπορά και ο τρίτος μέσω των εξωανθικών νεκταρίων που επισκέπτονται πολλές φορές οι μέλισσες. Συνήθως όμως οι μεγαλύτερες επιπτώσεις των νευροτοξικών αυτών ουσιών είναι οι δευτερογενείς επιδράσεις. Ποσότητα της ουσίας imidacloprid 0.07-1 νανογραμμάρια (δισεκατομμυριοστά) ανά μέλισσα δημιουργούν δυσμενείς δευτερογενείς επιδράσεις. Η διάρκεια ζωής της μέλισσας δεν επηρεάζεται αλλά η ποιότητα ζωής της και επόμενα η παραγωγικότητά της είναι εμφανώς μειωμένη. Επιπλέον μελέτες Γάλλων ερευνητών (Suchail *et al*, 2001; Halm *et al.*, 2006) επιβεβαιώνουν την επιβλαβή δράση του imidacloprid στην μέλισσα, είτε μέσω αυξημένης θνησιμότητας είτε μέσω μεταβολών συμπεριφοράς. Στην Ελλάδα δεν είχαν γίνει αντίστοιχες μελέτες στη μελισσοκομική πράξη, η ανησυχία των μελισσοκόμων ωστόσο ήταν έκδηλη (π.χ. Διάβημα από τον Μελισσοκομικό Σύλλογο Ν. Πέλλας «ο Μέγας Αλέξανδρος», 06/05/2005; Μελισσοκομικός Σύλλογος Πέλλας, Μελισσοκομικό Βήμα Τεύχος 27, 2007. Τα ευρήματα της μελέτης αυτής δυστυχώς επιβεβαιώνουν αυτά των άλλων συναδέλφων του εξωτερικού.

Η επίδραση της ρύπανσης της ατμόσφαιρας στις μέλισσες είναι κάτι νέο στην επιστημονική έρευνα και την οικοτοξικολογία. Η επίδραση αυτή είναι δυνατόν να μελετηθεί, δεδομένου ότι οι μέλισσες είναι εξαιρετικοί βιο-δείκτες οι οποίοι απορροφούν υψηλά ποσά περιβαλλοντικών ρυπαντών και έχει αποδειχτεί πως βιοσυσσωρεύουν νιτρικά και βαρέα μέταλλα (Saifutdinova *et al*, 1997). Σε ανάλογη

μελέτη, οι Leita *et al*, (1996) παρατήρησαν πως οι συγκεντρώσεις ήταν αυξημένες στις νεκρές μέλισσες κατά την διάρκεια των πειραμάτων τους.

#### **A. Έλεγχος των επιδράσεων του imidacloprid στην ανάπτυξη των μελισσοσμηνών- Συνθήκες αγρού- Καλλιέργεια βαμβακιού**

Ομάδα μελισσοσμηνών μεταφέρθηκε σε εμποτισμένη με imidacloprid καλλιέργεια βαμβακιού στην έναρξη της άνθησης ενώ άλλη ομάδα τοποθετήθηκε σε συμβατική καλλιέργεια βαμβακιού. Στα μελισσοσμήνη έγιναν μετρήσεις στον πληθυσμό, πριν, 30 ημέρες μετά και 2 μήνες μετά την μεταφορά τους. Επίσης 25 ημέρες μετά συλλέχθηκαν δείγματα μελιού, γύρης και συλλεκτριών μελισσών για ανάλυση υπολειμμάτων. Με την επιστροφή των μελισσοσμηνών στο Ινστιτούτο Μελισσοκομίας διενεργήθηκε το τεστ της συμπεριφοράς υγιεινής.

Οι μετρήσεις του πληθυσμού των μελισσοσμηνών πριν και μετά την μεταφορά τους στην καλλιέργεια βαμβακιού έδειξαν ότι ενώ στους μάρτυρες υπήρχε μία μικρή άνοδος, στα πειραματικά μελισσοσμήνη, σε αυτά δηλαδή που βρίσκονταν στην καλλιέργεια με το εμποτισμένο στο imidacloprid βαμβάκι, ο πληθυσμός μειώθηκε. Μάλιστα η μείωση του πληθυσμού παρέμεινε και για άλλο ένα μήνα ενώ οι μάρτυρες συνέχιζαν να αυξάνονται.

Επίσης, το τεστ της συμπεριφοράς υγιεινής έδειξε ότι τα μελισσοσμήνη που είχαν υποστεί την επίδραση με το imidacloprid είχαν 7% μικρότερη ικανότητα να αντιλαμβάνονται τον νεκρό γόνο σε σχέση με τους μάρτυρες.

Επόμενα, το imidacloprid ακόμα και μέσα από επενδεδυμένο σπόρο βαμβακιού, είχε αρνητική επίδραση στην ανάπτυξη και στην εξυγιαντική συμπεριφορά των μελισσοσμηνών.

#### **B. Υπολείμματα imidacloprid σε μέλισσες, μέλι και γύρη**

Η ανάλυση δειγμάτων μελιού και γύρης από τις πειραματικές κυψέλες καθώς και συλλεκτριών μελισσών, που εξετάστηκαν από το Εργαστήριο Τοξικολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, έδειξε ότι το μέλι και η γύρη ήταν επιβαρυνμένα με μεγάλες ποσότητες με imidacloprid ύψους 7,4 και 5,6 ppb, ενώ οι συλλέκτριες μέλισσες είχαν στο σώμα τους 8,8 ppb imidacloprid, γεγονός που επιβεβαιώνει και τη μεγάλη επιβάρυνση των προϊόντων της κυψέλης. Τα παραπάνω ποσοστά υπολειμμάτων imidacloprid επιβεβαιώνουν ευρήματα άλλων ερευνητών για τα ποσοστά του imidacloprid που ελευθερώνονται στο περιβάλλον από τα φυτά των οποίων οι σπόροι είναι επενδεδυμένοι. Με τον τρόπο επίσης αυτό επιβεβαιώνεται το γεγονός ότι η μέλισσα δρα ως βιο-δείκτης των φυτο-προστατευτικών ρύπων.

#### **Γ. Επίδραση της ελεγχόμενης τροφοδοσίας imidacloprid σε μελισσοσμήνη μέσα σε πειραματικούς κλωβούς πτήσης- Συνθήκες ημι-αγρού**

Το 2010, διενεργήθηκαν 4 πειραματισμοί στο Ινστιτούτο Μελισσοκομίας, μέσα σε κλωβούς πτήσης. Στα μελισσοσμήνη δίνονταν τροφή που περιείχε imidacloprid σε ποσότητες 2ppb στο σιρόπι και 3ppb στη γύρη. Το σιρόπι δίνονταν σε εξωτερικούς τροφοδότες έτσι ώστε να αναγκάζονται οι συλλέκτριες να πετούν για περίπου 11 μέτρα μέσα στους κλωβούς, και η γύρη δίνονταν μέσα στην κυψέλη.

Το χαρακτηριστικό αποτέλεσμα των πειραματισμών ήταν:

1) η σημαντική αύξηση των νεκρών μελισσών μπροστά στις πειραματικές κυψέλες αρκετές ημέρες μετά την τροφοδοσία με το imidacloprid η οποία προκλήθηκε λόγω δυσλειτουργίας στην αντίληψη προσανατολισμού των συλλεκτριών μελισσών έτσι ώστε πολλές συλλέκτριες δεν μπόρεσαν να επιστρέψουν στην κυψέλη τους και χάθηκαν έξω από αυτή και

2) η μείωση του αμυντικού συστήματος των μελισσών και η αύξηση αντίστοιχα της εμφάνισης ασθενειών, όπως χαρακτηριστικά της Νοσεμίας.

#### **Δ. Επίδραση στους υπο-φαρυγγικούς αδένες- Ελεγχόμενη τροφοδοσία-εργαστηριακές μελέτες**

Δύο μελισσοσμήνη τροφοδοτήθηκαν με σιρόπι και γύρη που περιείχε imidacloprid σε δόσεις 2ppb για το νέκταρ και 3ppb για τη γύρη, για 2 μήνες περίπου. Από τα μελισσοσμήνη αυτά συλλέχθηκαν νέο-εκολαπτόμενες μέλισσες 40 ημέρες μετά την έναρξη της τροφοδοσίας, οι οποίες εισήχθησαν σε μικρά κλουβιά εργαστηρίου (10εκx10εκx10εκ). Στις μέλισσες δόθηκε τροφή (γύρη και σιρόπι με ή χωρίς imidacloprid σε δόσεις 2ppb για το νέκταρ και 3ppb για τη γύρη. Δείγματα από μέλισσες σε ηλικία 9 ημερών αλλά και σε ηλικία 14 ημερών διατηρήθηκαν στην κατάψυξη για περαιτέρω μέτρηση της ανάπτυξης των υπο-φαρυγγικών τους αδένων, δηλαδή των αδένων που παράγουν τα βασιλικό πολτό.

Σε επαναληπτικό πειραματισμό, νέο-εκολαπτόμενες μέλισσες από υγιή μελισσοσμήνη εισήχθησαν απευθείας σε μικρά κλουβιά εργαστηρίου και εκτράφηκαν με σκοπό τον έλεγχο των υπο-φαρυγγικών αδένων σε μέλισσες ηλικίας 9 ημερών αλλά και σε μεγαλύτερες ηλικίας μέλισσες (14 ημερών) μετά από επίδραση με imidacloprid.

Η εκτροφή των παραμάνων μελισσών (9 ημερών) με imidacloprid ως λάρβες (μέσα στις κυψέλες) και ως ενήλικες (μέσα στα κλουβιά) έδειξε ότι οι υπο-φαρυγγικοί αδένες, συρρικνώνονται σημαντικά, σε σχέση με αυτών από τις μέλισσες μάρτυρες. Η κύρια μείωση συμβαίνει στις μέλισσες ως ενήλικα έντομα.

Επίσης, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μέλισσες ηλικίας 14 ημερών και άνω που αρχίζουν να παράγουν ιμβερτάση αντί για βασιλικό πολτό, έχουν μικρότερους λοβούς υπο-φαρυγγικών αδένων και οι μέλισσες που είχαν υποστεί την επίδραση με το imidacloprid είχαν σημαντική επιπλέον μείωση του μεγέθους των αδένων αυτών.

Συμπερασματικά, το imidacloprid είχε μία πολύ μεγάλη επίδραση στη μείωση του μεγέθους των υπο-φαρυγγικών αδένων των μελισσών και κατ' επέκταση στην πρωτεϊνική τους δραστηριότητα, και όταν δόθηκε για μεγάλο χρονικό διάστημα αλλά και όταν δόθηκε για σύντομο χρονικό διάστημα. Μικρότεροι αδένες, σημαίνει λιγότερος βασιλικός πολτός, λιγότερα ένζυμα, με ανυπολόγιστες ζημιές για το μέλισσι.

#### **Ε. Επίδραση στο αναπνευστικό σύστημα**

Από τις μέλισσες που εκτράφηκαν στο εργαστήριο, κάποιες μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Φυσιολογίας του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης και εξετάστηκαν ως προς την επίδραση του imidacloprid στον αναπνευστικό ρυθμό. Τάισμα με 0,020ng- 0,030ng imidacloprid την ημέρα ανά μέλισσα προκάλεσε 60%

αύξηση στο μεσοδιάστημα μεταξύ των ριπών της αναπνοής. Επιπλέον η διάρκεια των ριπών αναπνοής μειώθηκε σημαντικά κατά 57 % στις εκτεθειμένες στο imidacloprid μέλισσες σε σχέση με τους μάρτυρες. Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι οι μέλισσες που εκτίθενται και σε απειροελάχιστες ακόμα ποσότητες από imidacloprid αναπνέουν περισσότερο αργά, σαν να δυσκολεύονται, έχουν δηλαδή ένα είδος 'δύσπνοιας'.

Σε άλλο πειραματισμό, η χορήγηση imidacloprid με τοπική επαφή σε δοσολογίες από 25,57 ng ανά μέλισσα μέχρι και 1278,5 ng ανά μέλισσα είχε ως αποτέλεσμα μια σταδιακή αναστολή της σύσπασης του εξωσκελετού της μέλισσας η οποία πιθανότατα οφείλονταν στη δυσλειτουργία των αναπνευστικών κινητικών νευρώνων. Η πιο έντονη απόκριση παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση των 1278,5 ng ανά μέλισσα. Στην περίπτωση αυτή διαπιστώθηκε σχεδόν πλήρης αναστολή της αναπνοής η οποία προκλήθηκε από την αντίστοιχη απενεργοποίηση των κινητικών νευρώνων. Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις της τάξεως των 511,4 και 102,25 ng ανά μέλισσα διαπιστώθηκε έντονη μείωση της αναπνευστικής λειτουργίας.

#### **Z. Έλεγχος της ικανότητας γεύσης και όσφρησης**

Χρησιμοποιώντας πάντα τις ίδιες υπο-θανατηφόρες δοσολογίες του imidacloprid στην τεχνητή τροφοδοσία των μελισσών, συλλέξαμε συλλέκτριες για να ελεγχθεί η ικανότητά τους στην αντίληψη της όσφρησης και γεύσης του σιροπιού. Η ικανότητα αυτή ελέγχεται μέσω 'του αντανακλαστικού της προβοσκίδας' όπως αναφέρεται (proboscis extension reflex). Χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις ζάχαρης με και χωρίς imidacloprid και μετρήθηκε η ικανότητα των μελισσών να αντιλαμβάνονται την ύπαρξη της ζάχαρης στο σιρόπι.

Το αποτέλεσμα έδειξε ότι οι μέλισσες που είχαν υποστεί τροφοδοσία με imidacloprid είχαν μειωμένη αντίδραση στην αναγνώριση των διαλυμάτων ζάχαρης και ειδικότερα των μικρότερων συγκεντρώσεων και αυτών που περιείχαν imidacloprid.

#### **H. Έλεγχος επιδράσεων περιβαλλοντικών ρύπων στην ανάπτυξη των μελισσοσμηνών**

Δύο μεταλλικοί κλωβοί με διαστάσεις 2μ πλάτος, 6 μ μήκος και 2μ ύψος χρησιμοποιήθηκαν για να εγκλωβίσουν ομάδες μικρών μελισσιών στη βιομηχανική περιοχή Σίνδου- Θεσσαλονίκης. Οι κλωβοί σκεπάστηκαν με δίχτυ (ελαιόπανο) για να εμποδίσουν την έξοδο των μελισσών. Το επόμενο έτος τα μελισσοσμήνη αφέθηκαν να αναζητήσουν τροφή ελεύθερα. Στα μελίσσια που χρησιμοποιήθηκαν στους κλωβούς έγιναν μετρήσεις του γόνου και του πληθυσμού πριν και στο τέλος του πειράματος. Το δεύτερο έτος πάρθηκαν δείγματα μελιού και μελισσών για αναλύσεις βαρέων μετάλλων.

Η βιομηχανική περιοχή και οι περιβαλλοντικοί ρύποι δεν είχαν καμία επίδραση στη φυσιολογική ανάπτυξη των μελισσοσμηνών. Η ανάλυση δε των δειγμάτων μελιού έδειξε ότι δεν υπήρχαν διαφορές στους ρύπους που ήταν συσσωρευμένοι στο μέλι, αλλά υπήρχαν διαφορές στους ρύπους που ήταν συσσωρευμένοι στους ιστούς των μελισσών, με το Μόλυβδο, το Σίδηρο, τη Ψευδάργυρο και το Μαγγάνιο να βρίσκονται σε διπλάσια τουλάχιστον ποσοστά στις μέλισσες της βιομηχανικής περιοχής.

## Συμπεράσματα- Συζήτηση

Συνοψίζοντας τα αποτελέσματα των παραπάνω πειραματισμών, μπορούμε να πούμε με πολύ μεγάλη βεβαιότητα τα παρακάτω:

- τα μελισσοσμήνη που μεταφέρθηκαν στις καλλιέργειες βαμβακιού δεν αναπτύχθηκαν στον ίδιο βαθμό με τους μάρτυρες αλλά έχασαν πληθυσμό και παρέμειναν σε χαμηλότερα στάδια
- τα μελισσοσμήνη που είχαν υποστεί την επίδραση με το imidacloprid είχαν μικρότερη ικανότητα να αντιλαμβάνονται τον νεκρό γόνο (περίπου 5-7% λιγότερο από τους μάρτυρες)
- Η ανάλυση δειγμάτων μελιού και γύρης από τις πειραματικές κυψέλες καθώς και συλλεκτριών μελισσών, έδειξε ότι το μέλι και η γύρη ήταν επιβαρυνμένα με μεγάλες ποσότητες με imidacloprid ύψους 7,4 και 5,6 ppb, ενώ οι συλλέκτριες μέλισσες είχαν στο σώμα τους 8,8 ppb imidacloprid, γεγονός που επιβεβαιώνει και τη μεγάλη επιβάρυνση των προϊόντων της κυψέλης αλλά και εμφάνιση της ουσία στους ιστούς της μέλισσας.
- Το imidacloprid προκάλεσε μείωση της ικανότητας προσανατολισμού της μέλισσας και αύξηση της προσβολής από νοσεμίαση
- Το imidacloprid προκάλεσε μείωση στο μέγεθος των λοβών των υποφαρυγγικών αδένων των μελισσών σε παραμάνες και συλλέκτριες μέλισσες
- Τάισμα των μελισσών με υπο-θανατηφόρες δόσεις imidacloprid προκάλεσε αναπνευστικά προβλήματα στις μέλισσες.
- Τέλος οι μέλισσες που είχαν υποστεί τροφοδοσία με imidacloprid είχαν μειωμένη αντίδραση στην αναγνώριση των διαλυμάτων ζάχαρης και ειδικότερα των μικρότερων συγκεντρώσεων.

Με βάση τα παραπάνω και με την εμπειρία της διεθνούς βιβλιογραφίας επιβεβαιώνονται οι εργασίες των συναδέλφων στο εξωτερικό για τις δευτερογενείς επιδράσεις του imidacloprid στον οργανισμό της μέλισσας. Η νευροτοξική αυτή ουσία, έχει πολύ μεγάλη επίδραση σε πολύ μικρές συγκεντρώσεις σε εσωτερικά συστήματα του οργανισμού της μέλισσας, όπως χαρακτηριστικά αναφέρονται το αδενικό σύστημα, και το αναπνευστικό σύστημα, καταστρέφοντας τη λειτουργία τους ή μειώνοντας τη λειτουργία τους σε πολύ μεγάλο βαθμό.

Σε συνδυασμό δε, με την απειλή των ασθενειών και δη της Νοσεμίας, η απώλεια του αμυντικού συστήματος της μέλισσας είναι πολύ μεγάλη. Μέχρι σήμερα, η επίδραση του imidacloprid ελέγχονταν μεμονωμένα. Θεωρούμε όμως, όπως εξ' άλλου φαίνεται και από τα αποτελέσματά μας ότι πρέπει να ελέγχεται σε σχέση και με άλλους παράγοντες, γιατί αποδείχτηκε ότι η δράση του είναι περισσότερο δραστική όταν συνυπάρχει με κάποιον άλλο στρεσογόνο παράγοντα για το μέλισσι.

Οι υποθανατηφόρες δόσεις του imidacloprid που βρέθηκαν στο μέλι και στη γύρη, είναι χαρακτηριστικές εκείνων των καλλιεργειών που οι σπόροι τους είναι εμποτισμένοι. Όμως, η επαναλαμβανόμενη συλλογή τροφής σε τέτοιες καλλιέργειες, για παράδειγμα, μέλισσα που θα μεταφερθούν από το καλαμπόκι, στον ηλιάνθο και μετά στο βαμβάκι, δέχονται για πολύ μεγαλύτερο χρονικό διάστημα την επίδραση της νευροτοξικής αυτής ουσίας, η οποία αν και σε απειροελάχιστες ποσότητες, στην ουσία, αθροίζεται στη γύρη και στο μέλι αλλά και στο κερί. Παρόλα αυτά οι ποσότητες που βρέθηκαν μέχρι στιγμής είναι χαμηλότερες από αυτές που ορίστηκαν ως επιτρεπτές από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία.

Από τα λειτουργικά συστήματα της μέλισσας που έχουν ελεγχθεί, το αδενικό, το αναπνευστικό και το κυκλοφορικό, έχουν βρεθεί να εμφανίζουν αλλοιώσεις και δυσλειτουργίες, μετά την επίδραση με imidacloprid. Το σύστημα το οποίο δεν έχει ελεγχθεί ακόμα είναι το αναπαραγωγικό. Πιστεύουμε όμως ότι και οι κηφήνες αλλά και οι βασίλισσες επηρεάζονται αρνητικά από τη χρήση νευροτοξικών ουσιών. Στην κατεύθυνση αυτή οφείλουμε να κινηθούμε και να ερευνήσουμε το συντομότερο δυνατόν, δεδομένου ότι η γονιμότητα των κηφήνων και των βασιλισσών είναι πρωταρχικής σημασίας για την παραγωγικότητα των μελισσοσμηνών μας.

Φαίνεται τέλος, ότι η ατμοσφαιρική ρύπανση, δεν προκαλεί στη μέλισσα τόσο μεγάλα προβλήματα όσα δημιουργεί στον άνθρωπο. Παρόλα αυτά αυτό δεν έχει αποδειχθεί πλήρως. Καθώς επίσης δεν έχουν εξεταστεί οι ρύποι στις αναπτυσσόμενες μορφές των μελισσών, στο γόνιμο, με μεγαλύτερη λεπτομέρεια. Είναι όμως γεγονός ότι οι ατμοσφαιρικοί μπορούν να μειώσουν τη ποιότητα των προϊόντων της κυψέλης και στο θέμα αυτό οφείλουμε να δείξουμε την ανάλογη ευαισθησία.

### Διεθνής Βιβλιογραφία

- Alaux C. et al. © 2009 Society for Applied Microbiology and Blackwell Publishing Ltd, *Environmental Microbiology*
- Al Mazraáwi, M. (2007) Interaction effects between *Beauveria bassiana* and imidacloprid against *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). *Commun Agric Appl Biol Sci* 72: 549–555.
- Antunez, K., Martin-Hernandez, R., Prieto, L., Meana, A., Zunino, P., and Higes, M. (2009) Immune suppression in the honey bee (*Apis mellifera*) following infection by *Nosema ceranae* (Microsporidia). *Environ Microbiol* 11:2284–2290.
- Arnold, G. (2003) Imidaclopride utilisé en enrobage de semences (Gaucho®) et troubles des abeilles. *Comité Scientifique et Technique de l'Etude Multifactorielle des Troubles des Abeilles* (CST).
- Atkins E.L. (1998) Injury to honeybees by poisoning, in: Graham J.M. (Ed.), *The hive and the honey bee*, Dadant & Sons: Hamilton, Illinois, USA, pp. 1169–1171.
- Beliën, T., Kellers, J., Heylen, K., Keulemans, W., Billen, J., Arckens, L., Huybrechts, R. and Gobin, B., (2009). Effects of sublethal doses of crop protection agents on honey bee (*Apis mellifera*) global colony vitality and its potential link with aberrant foraging activity. *Commun. Appl. Biol. Sci*, 74:245-253
- Bonmatin J. M., I. Moineau, R. Charvet, C. Fleche, M. E. Colin and E. R. Bengsch (2003) A LC/APCI-MS/MS Method for Analysis of Imidacloprid in Soils, in Plants, and in Pollens. *Anal. Chem.* 2003, 75, 2027-2033
- Bonmatin J.M, Marchand P., Charvet R., & Colin M.E (2003) Fate of systemic insecticides in fields (imidacloprid and fipronil) and risks for pollinators. *EurBee2003*
- Bonmatin J. M. · I. Moineau · R. Charvet · M. E. Colin · C. Fleche · E. R. Bengsch (2005) Behaviour of Imidacloprid in Fields. Toxicity for Honey Bees...
- Brown, L. A., Ihara, M., Buckingham, S.D., Matsuda, K., Sattelle, B.D., 2006. Neonicotinoid insecticides display partial and super agonist actions on native insect nicotinic acetylcholine receptors.
- Buckingham S.D., B. Lapied, H. Le Corrionc, F.D. Grolleau and D.B. Sattelle, Imidacloprid actions on insect neuronal acetylcholine receptors, *J. Exp. Biol.* 200 (1997), pp. 2685–2692.
- Chauzat, Marie-Pierre, Faucon, Jean-Paul, Martel, Anne-Claire, Lachaize, Julie, Cougoule, Nicolas, and Aubert, Michel, (2006). A Survey of Pesticide Residues in Pollen Loads Collected by Honey Bees in France. *Apiculture and social insects*, 99(2): 253-262
- Chauzat, Marie-Pierre, Martel, Anne-Claire, Cougoule, Nicolas, Porta, Philippe, Lachaize, Julie, Zeggane, Sarah, Aubert, Michel, Carpentier, Patrice, And Faucon, Jean-Paul,

- (2011). An assessment of honeybee colony matrices, *apis mellifera* (hymenoptera: apidae) to monitor pesticide presence in continental france. *Environmental Toxicology*, 30:1-9
- Colin, M. E., Bonmatin, J. M., Moineau, I., Gaimon, C., Brun, S., Vermandere, J. P., (2004). A Method to Quantify and Analyze the Foraging Activity of Honey Bees: Relevance to the Sublethal Effects Induced by Systemic Insecticides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47 : 387–395
- Cox-Foster, D.L., Conlan, S., Holmes, E.C., Palacios, G., Evans, J.D., Moran, N.A., *et al.* (2007) A metagenomic survey of microbes in honey bee colony collapse disorder. *Science* 318: 283–287.
- Decourtye A., Armengaud C., Renou M., Devillers J., Cluzeau S., Gauthier M., Pham-Delegue M.-H. (2004) Imidacloprid impairs memory and brain metabolism in the honeybee (*Apis mellifera* L.), *Pestic. Biochem. Phys.* 78, 83–92.
- Decourtye, Axel, Devillers, James, Cluzeau, Sophie, Charreton, Mercedes, and Pham-Delègue, Minh-Ha`, (2004). Effects of imidacloprid and deltamethrin on associative learning in honeybees under semi-field and laboratory conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 57: 410–419
- Frazier, M., Mullin, C., Frazier, J., and Ashcraft, S. (2008) What have pesticides got to do with it? *Am Bee J* 148:521–523.
- Girolami V., Mazzon M., Squartini A., Mori N., Marzaro M., Di Bernardo A., Greatti M., Giorio G., Tapparo A., (2009). Translocation of neonicotinoid insecticides from coated seeds to seedling guttation drops: a novel way of intoxication for bees. *Journal of Economic Entomology*, 102 (5): 1808-1815.
- Greatti, M., Sabatini, A. G., Barbattini, R., Rossi, S., Stravisi, A., 2003. Risk of environmental contamination by the active ingredient imidacloprid used for corn seed dressing. Preliminary results. *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 69-72.
- Greatti, M., Barbattini, R., Stravisi, A., Sabatini, A. G., Rossi, S., 2006. Presence of the a.i. imidacloprid on vegetation near corn fields sown with Gaucho® dressed seeds.- *Bulletin of Insectology*, 59 (2): 99-103.
- Gregorc, Ales, and Ellis, James D., 2011. Cell death localization in situ in laboratory reared honey bee (*Apis mellifera* L.) larvae treated with pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99 : 200–207
- Guez, David, Suchail, Séverine, Gauthier, Monique, Maleszka, Ryszard, and Belzunces, Luc P., 2001. Contrasting Effects of Imidacloprid on Habituation in 7- and 8-Day-Old Honeybees (*Apis mellifera*). *Neurobiology of Learning and Memory* 76: 183–191
- Guez, D., Belzunces, L.P., and Maleszka, R., 2003. Effects of imidacloprid metabolites on habituation in honeybees suggest the existence of two subtypes of nicotinic receptors differentially expressed during adult development. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 75 : 217–222
- Halm M.P., Rortais A., Arnold G., Tasei J.N., Rault S., (2006) New risk assessment approach for systemic insecticides: the case of honey bees and imidacloprid (Gaucho). *Environmental Science and Technology*, 40:2448-2454
- Heylen, Kevin, Gobin, Bruno, Arckens, Lutgarde, Huybrechts, Roger, Billen, Johan, 2010. The effects of four crop protection products on the morphology and ultrastructure of the hypopharyngeal gland of the European honeybee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, DOI: 10.1051/apido/2010043
- Jesche, Peter, Nauen, Ralf, Schindler, Michael, Elbert, Alfred, 2011. Overview of the Status and Global Strategy for Neonicotinoids. *J. Agric. Food Chem.*, 59 (7) : 2897–2908
- Maini, Stefano, Medrzycki, Piotr, and Porrini, Claudio, 2010. The puzzle of honey bee losses: a brief review. *Bulletin of Insectology* 63 (1): 153-160.
- Medrzycki, Piotr, Montanari, Rebecca, Bortolotti, Laura, Sabatini, Anna Gloria, Maini, Stefano, Porrini, Claudio, 2003. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bulletin of Insectology*, 56 (1): 59-62.
- Kevan P.G., (1999) Pollinators as bioindicators of the state of the environment: species, activity and diversity. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 74:373-393.

- Matsuda, K., Shimomura, M., Ihara, M., Akamatsu, M., Satelle, D.B., 2005. Neonicotinoids show selective and diverse actions on their nicotinic receptor targets: electrophysiology, molecular biology, and receptor modelling studies. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 69 (8), 1442-1452.
- Nguyen, B.K., Saegerman, C., Pirard, C., Mignon, J., Widart, J., Thirionet, B., *et al.* (2009) Does imidacloprid seed-treated maize have an impact on honey bee mortality? *J Econ Entomol* 102: 616–623.
- Oldroyd, B.P. (2007) What's killing American honey bees? *PLoS Biol* 5: 168.
- Ramirez-Romero R, Chaufaux, J., Pham-Deleque M.H. (2005) Effects of Cry1Ab protoxin, deltamethrin and imidacloprid on the foraging activity and the learning performances of the honeybee *Apis mellifera*, a comparative approach. *Apidologie* 36: 601-611
- Rancan M., Rossi S., Sabatini A.G., (2006) Determination of thiomethoxam residues in honeybees by high performance liquid chromatography with an electrochemical detector and post-column photochemical reactor. *Journal of Chromatography*, 1123: 60-65.
- Rogers M.A., Krischik V.A., Martin L.A., (2007) Effect of soil application of imidacloprid on survival of adult green lacewing, *Chrysoptera carnea* (Neuroptera: Chrysopidae), used for biological control in greenhouse. *Biological Control*, 42: 172-177.
- Rose R., Diveley, G. P., Pettis J. (2007) Effects on honey bees: emphasis on protocol development. *Apidologie* 38: 368-377
- Saifutdinova Z., Shangraeva G., (1997) Honeybee populations as ecotoxicological indicators. *Mutation Research*, 379:76
- Suchail S., Guez D., Belzunces L.P., (2001) Discrepancy between acute and chronic toxicity induced by imidacloprid and its metabolites in *Apis mellifera*. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 20(11): 2482-2486.
- Schmuck, R., Schoning, R., Stork, A., and Schramel, O. (2001) Risk posed to honeybees (*Apis mellifera* L, Hymenoptera) by an imidacloprid seed dressing of sunflowers. *Pest Manag Sci* 57: 225–238.
- Schmuck R., Nauen R., Ebbinghaus-Kintscher U. (2003) Effects of imidacloprid and common plant metabolites of imidacloprid in the honeybee: toxicological and biochemical considerations, *Bull. Insect.* 56, 27–34.
- Suchail S., Guez D., Belzunces L.P. (2000) Characteristics of imidacloprid toxicity in two *Apis mellifera* subspecies, *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1901–1905.
- Suchail, S., De Sousa, G., Rahmani, R., Belzunces, L., P., (2004). In vivo distribution and metabolization of <sup>14</sup>C imidacloprid in different compartments of *Apis mellifera* L. *Pest Management Science* 60, 1056-1062.
- Stokstad, E. (2007) Entomology. The case of the empty hives. *Science* 316: 970–972.
- Weirich G.F., Collins A.M., Williams V.P. (2002) Antioxidant enzymes in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*, 33:3-14
- Wu, Judy Y., Anelli, Carol M., Sheppard, Walter S., 2011. Sub-Lethal Effects of Pesticide Residues in Brood Comb on Worker Honey Bee (*Apis mellifera*) Development and Longevity. *PLoS ONE*, 6 (2): e14720
- Yang, E.C., Chuang, Y.C., Chen, Y.L., and Chang, L.H., 2008. Abnormal Foraging Behavior Induced by Sublethal Dosage of Imidacloprid in the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae). *J. Econ. Entomol.*, 101(6): 1743-1748

### Ελληνική βιβλιογραφία

- Fani Hatjina, Taylan Dogaroglu (2010) Imidacloprid effect on honey bees under laboratory conditions using hoarding cages. *COLOSS Work Shop 'Standardized methods for honey bee rearing in hoarding cages'*, 25.-26 November, Bologna Italy
- Zafeiridou, G., Theophilidis, G (2004). The action of the insecticide imidacloprid on the respiratory rhythm of an insect: The beetle *Tenebrio molitor*. *Neuroscience Letters* 365, 205-209.
- Παπαευθυμίου Χ. (2005) Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Α.Π.Θ.



- Papaefthimiou C., Pavlidou V., Gregorc A., Theophilidis G. (2002) The action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the isolated heart of insect and amphibia, *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 11, 127–140.
- Φανή Χατζήνα: Πρώτα αποτελέσματα από τη μελέτη της επίδρασης του imidacloprid στις μέλισσες. *2<sup>ο</sup> Φεστιβάλ Μελιού, Αθήνα, Δεκέμβριος 2009*
- Χατζήνα Φανή, Χαριστός Λεωνίδας, Κασιώτης Κωνσταντίνος, Ελαιόπουλος Κυριάκος, Μαχαίρα Κυριακή, Εμμανουήλ Νίκος (2011). Οι μέλισσες ως μοντέλο βιο-δείκτη των φυτοπροστατευτικών και ατμοσφαιρικών ρύπων. *14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου 2011(επίσης προς δημοσίευση)*
- Fani Hatjina, Chrisovalantis Papaefthimiou, George Theophilidis, Leonidas Charistos, Taylan Dogaroglu, Maria Bouga, Christina Emannuil, Gerard Arnold (201?) Direct effect of sub-lethal doses of imidacloprid on development of hypopharyngeal glands and respiratory rhythm of honey bees in laboratory conditions (προς δημοσίευση)