



**Società Italiana di
Medicina Veterinaria
Preventiva**

Via Nizza, 11
00198 Roma
tel +39 06 8540347
fax +39 06 8848446
segreteria@veterinariapreventiva.it
www.veterinariapreventiva.it

Quaderni di Veterinaria Preventiva

05

Publicazione:
Società Italiana di Medicina Veterinaria Preventiva (SIMeVeP)

Presidente:
Antonio Sorice

Coordinatore editoriale:
Vitantonio Perrone

A cura di:

SIMeVeP – Società Italiana di Medicina Veterinaria Preventiva

Gruppo di Lavoro Ambiente e Cambiamenti climatici
Gruppo di Lavoro Sanità, epidemiologia e ricerca in apicoltura

SVETAP – Società Scientifica Veterinaria per l'Apicoltura
(<http://www.izslt.it/apicoltura/svetap/>)

Giovanni Formato
Carlo D'Ascenzi
Michela Mosca
Roberto Bava
Luigino Valentini

Stampato nel mese di maggio 2020

La versione ufficiale del presente documento è esclusivamente quella digitale presente sul sito del sito della SIMeVeP
<http://www.veterinariapreventiva.it>

© La presente pubblicazione è tutelata dalla legge sui diritti d'autore.

La riproduzione anche se parziale è consentita solo per fini non commerciali citandone la fonte.

Sommario

INTRODUZIONE	7
PREFAZIONE	9
CAPITOLO 1. API E IMPOLLINAZIONE	11
1.1 Introduzione.....	11
1.2 L'impollinazione	12
1.3 Api e servizio di impollinazione.....	14
CAPITOLO 2. I CONTAMINANTI AMBIENTALI DI MAGGIOR RILEVANZA IN SANITÀ PUBBLICA DIVERSI DAI PESTICIDI	17
2.1 Introduzione.....	17
2.2 Metalli pesanti	17
2.2.1 Piombo (Pb).....	20
2.2.2 Cadmio (Cd).....	20
2.2.3 Mercurio (Hg)	21
2.2.4 Rame (Cu).....	21
2.2.5 Arsenico (As).....	22
2.2.6 Stagno (Sn).....	23
2.3 Bifenili policlorurati (PCB) e diossine.....	23
2.4 Idrocarburi policiclici aromatici (IPA)	25
2.5 Isotopi radioattivi.....	27
2.6 Fitotossine	28
2.6.1 Alcaloidi pirrolizidinici (AP)	28
2.6.2 Tutina.....	29
2.6.3 Graianotossina	29
2.6.4 Altre fitotossine	29
2.7 Sostanze perfluoroalchiliche (PFAS).....	29
CAPITOLO 3. API E PESTICIDI	31
3.1 Introduzione.....	31
3.2 La sostenibilità dei prodotti fitosanitari	31
3.3 La difesa integrata in agricoltura	34

3.4 Metodi di controllo non chimico	35
3.5 Metodi di controllo chimico	36
3.6 Linee guida EFSA in merito all'esposizione delle api ai pesticidi	36
CAPITOLO 4. ESPOSIZIONE AI PESTICIDI DI APIS MELLIFERA	39
4.1 Introduzione.....	39
4.2 Modalità di contatto tra l'ape ed i pesticidi	39
4.3 Tossicità sulle api dei pesticidi	42
4.4 Effetti di tossicità cronica o sub-letale dei pesticidi sulle api	43
4.5 Esposizione delle api a specifici insetticidi	45
4.6 Effetto sulle api di fungicidi e diserbanti.....	45
4.7 Effetto di alcuni principi attivi utilizzati dagli apicoltori per la lotta alla <i>Varroa</i>	46
4.8 Avvelenamento delle api causato da effetti sinergici tra pesticidi e altri fattori.....	47
4.9 Selettività degli insetticidi nei confronti delle api	47
4.10 Segni di mortalità che possono essere messi in evidenza in apiario	48
4.11 Come contenere i danni da pesticidi.....	50
4.12 Buone prassi agricole e sostenibilità	51
4.13 Interventi di prevenzione e controllo che possono essere intrapresi dall'apicoltore.....	52
CAPITOLO 5. PROTOCOLLI OPERATIVI IN APIARIO PER REALIZZARE UN MONITORAGGIO AMBIENTALE CON APIS MELLIFERA	53
5.1 Introduzione.....	53
5.2 Impiego delle api per il monitoraggio della contaminazione ambientale.....	53
5.3 Sensibilità delle api ai diversi contaminanti ambientali	54
5.4 Costituzione di un apiario-tipo per il monitoraggio ambientale	55
5.5 Gestione degli alveari di monitoraggio	60
5.6 Modalità di prelievo dei campioni	61
5.6.1 Prelievo del miele	61
5.6.2 Prelievo del polline.....	62
5.6.3 Prelievo di covata.....	63
5.6.4 Prelievo di api.....	63
5.6.5 Prelievo di cera	64
5.7 Analisi di laboratorio	65
5.8 I fattori interferenti.....	65



CAPITOLO 6. CONSEGUENZE DELLA CONTAMINAZIONE AMBIENTALE:	
I CAMBIAMENTI CLIMATICI	67
6.1 L'atmosfera	67
6.2 L'effetto serra	67
6.3 Le cause dei cambiamenti climatici.....	68
6.4 Cambiamenti ad oggi rilevati e conseguenze.....	70
BIBLIOGRAFIA	71
SITOGRAFIA	75
ALLEGATO: Linee guida per la gestione delle segnalazioni di moria o spopolamento degli alveari connesse all'utilizzo di agrofarmaci (Ministero della Salute).....	77
RINGRAZIAMENTI	85

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Introduzione

Dopo una lunga pausa, riprende con questa pubblicazione sulle attività di sanità pubblica veterinaria collegate all'apicoltura la collana di manuali dei "Quaderni di veterinaria preventiva". Il testo è frutto dell'impegno di colleghi esperti, ma anche appassionati, dell'allevamento delle api e quindi particolarmente sensibili alle problematiche che da diversi anni interessano l'apicoltura e quindi sulle loro ripercussioni economiche oltre che sanitarie nonché della loro valenza di animali sentinella dello stato dell'ambiente. Come per altri anche questo manuale rappresenta la sinergia tra nostri gruppi di lavoro e un'altra realtà associativa, giovane ma già fortemente affermata, come quella rappresentata dalla Società Scientifica Veterinaria per l'Apicoltura (SVETAP). Come per i precedenti quaderni, il nostro obiettivo è quello di arricchire la "cassetta degli attrezzi" dei veterinari di sanità pubblica, ma non solo, con uno strumento in grado di fornire e meglio catalogare informazioni, sia teoriche che pratiche, per affrontare e quindi gestire tutti quegli *input*, non solo normativi, che coinvolgono in maniera sempre più pressante i colleghi che operano nei Dipartimenti di Prevenzione. Come detto, questo manuale vede la pubblicazione dopo una discreta pausa, ma giunge comunque al momento giusto, vista la recente applicazione del Regolamento 2017/625 che innova completamente il sistema dei controlli ufficiali previsto dal "pacchetto igiene" e in anticipo su quello 2016/429 sulla sanità animale che ancora di più confermerà che "prevenire è meglio che curare". Per ultimo possiamo di certo affermare che, vista ancora la insufficiente attenzione che la formazione universitaria riserva all'allevamento delle api e alle loro produzioni, il testo potrà rappresentare anche un valido strumento di conoscenza per gli studenti e in particolare per quelli per i quali, durante il loro percorso accademico, dovesse nascere attenzione e crescere passione per la medicina veterinaria preventiva.

*Il Coordinatore editoriale
Vitantonio Perrone*

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Prefazione

L'inquinamento ambientale e le recenti emergenze sanitarie connesse alla cattiva gestione del territorio (es. diossina, esaclorocicloesano, neonicotinoidi, etc.) negli ultimi periodi hanno avuto particolare risonanza nell'opinione pubblica. In particolare, si è evidenziata l'esigenza di monitorare con più attenzione l'ambiente che ci circonda ai fini di una maggior tutela della salute delle api, degli altri animali e dell'uomo. Stiamo infatti assistendo da anni ad una progressiva consapevolezza dell'importanza della qualità dell'ambiente per la tutela della salute pubblica e dell'ecosistema in generale. In questo contesto sono più spesso gli animali ad evidenziare precocemente la contaminazione ambientale e, fra questi, le api hanno dimostrato una particolare sensibilità. Negli ultimi anni il monitoraggio con le api ha assunto maggior importanza per le sue caratteristiche di semplicità gestionale, economicità e maggior efficacia di rilevazione rispetto ai metodi tradizionali, fondamentalmente incentrati sulle centraline fisse per il monitoraggio della qualità dell'aria. Le api, infatti, sono in grado di monitorare la qualità dell'ambiente in maniera accurata per un raggio di azione fino a 3 Km dalla ubicazione degli alveari di origine grazie a specifici fenomeni di bio-accumulo. L'impiego dell'ape quale Sistema Sentinella Animale è ormai una pratica consolidata ed ha dimostrato di ottenere una efficace rappresentazione della salubrità ambientale grazie alle caratteristiche etologiche e comportamentali del super-organismo alveare che permettono un costante contatto con l'ambiente circostante.

Con le presenti linee guida vogliamo puntualizzare i principali aspetti metodologici per l'impiego delle api e dei prodotti dell'alveare nel monitoraggio ambientale. In particolare, ci riferiamo alle modalità di gestione degli alveari, alla individuazione della matrice di elezione da utilizzare rispetto al contaminante target, nonché le modalità di campionamento, trasporto ed analisi dei campioni.

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Capitolo 1. Api e impollinazione

1.1 INTRODUZIONE

L'impollinazione è garanzia di biodiversità ed interviene sull'ambiente con un effetto non solo conservativo ma anche di miglioramento genetico, sia per le piante, che per gli animali che se ne nutrono. Questa azione è discreta, poco percettibile all'occhio umano, ma garantisce il mantenimento della catena ecologica del pianeta.

Il tema è certamente attuale. La stessa *Commissione per l'Agricoltura e lo Sviluppo Rurale del Parlamento Europeo* si è espressa a riguardo: *“il settore dell'apicoltura è parte integrante dell'agricoltura europea e rappresenta oltre 620.000 apicoltori nell'UE.... le api e gli altri impollinatori garantiscono, mediante l'impollinazione, la riproduzione di molte piante coltivate e selvatiche, provvedendo alla produzione ed alla sicurezza alimentare nonché alla tutela della biodiversità, a titolo gratuito, in Europa e nel resto del mondo.... l'importanza dell'impollinazione nell'UE non è sufficientemente riconosciuta ed è spesso data per scontata, mentre per esempio negli Stati Uniti ogni anno si spendono due miliardi di euro per l'impollinazione artificiale il settore dell'apicoltura è essenziale per l'UE e apporta un significativo contributo alla società, sia dal punto di vista economico, circa 14,2 miliardi di euro all'anno, sia dal punto di vista ambientale, mantenendo l'equilibrio ecologico e la biodiversità, dal momento che l'84% delle specie vegetali e il 76% della produzione alimentare in Europa dipendono dall'impollinazione ad opera delle api domestiche e selvatiche.... l'apicoltura e gli apicoltori per questo motivo dovrebbero essere al centro della politica agricola comune dell'UE. La futura politica agricola deve alzare il profilo dell'apicoltura, nonché il sostegno ad essa dato, rispetto alla situazione attuale”.*

Il valore garantito dall'impollinazione delle api alle piante coltivate è da 10 a 30 volte superiore a quello dato dai prodotti dell'alveare. In Italia, l'apporto economico dato dall'apicoltura al comparto agricolo è di circa 1.600 milioni di euro annui, con un contributo di ogni singolo alveare di circa 1.240 euro.

L'Europa ospita circa il 10% della diversità mondiale delle api. Studi condotti dall'Organizzazione delle Nazioni Unite per l'Alimentazione e l'Agricoltura (FAO) dimostrano che l'incremento della quantità e della varietà degli insetti impollinatori ha un impatto diretto sulla produttività dei raccolti e può aiutare i piccoli agricoltori ad aumentare la produttività media dei loro raccolti del 24%.

In Belgio e in Francia il 20% del valore della produzione ottenuta dalle colture entomofile (girasole, alberi da frutto, leguminose, ecc.) è data dalle api mellifere. Inoltre, l'opera dei pronubi è fondamentale per garantire anche la qualità dei prodotti: un'impollinazione insufficiente può essere alla base di deformazione e cattiva conservazione dei frutti.

L'importanza dell'apicoltura comunque trascende ampiamente dall'ambito agricolo, in quanto è essenziale per il mantenimento dell'equilibrio ecologico e per la conservazione della biodiversità. Questo importante ruolo viene assicurato da quella che la Legge Quadro sull'apicoltura (L. 313/2004) chiama, pur non dandone una definizione ben precisa, *“impollinazione naturale”*.

Box 1 – Definizione di Ecosistema, ambiente e biodiversità

Per *ecosistema* si intende l'insieme degli organismi viventi (*fattori biotici*) e della materia non vivente (*fattori abiotici*) che interagiscono in un determinato ambiente costituendo un sistema aperto, autosufficiente e in equilibrio dinamico.

Per *ambiente* si intende l'insieme degli ecosistemi che abitano il pianeta.

La *biodiversità* è rappresentata dal numero di specie presenti in un ecosistema e dal numero e dalla complessità delle interazioni esistenti tra le stesse. Queste interazioni sono la condizione per la vita delle specie e per la stabilità del sistema stesso: non si preserva una specie se non si preserva il sistema in cui essa è inserita in tutta la sua complessità.

Fattori antropici come l'urbanizzazione spinta, la cementificazione, l'industrializzazione irrispettosa dell'ambiente, l'allevamento intensivo e l'agricoltura intensiva hanno spesso fortemente alterato e debilitato gli ecosistemi, anche irrimediabilmente, impoverendone la biodiversità animale e vegetale. Fattori ambientali come alluvioni, siccità, incendi, spesso provocati da errori umani, contribuiscono alla scomparsa di specie animali e vegetali che si sono co-evolute nel corso dei millenni. In seguito a questi mutamenti, i territori sono diventati sempre più "alieni" e sempre più inhospitali per le api e i pronubi selvatici. Le monocolture, le monosuccessioni, l'esbosco e l'utilizzo sregolato dei pesticidi hanno compromesso gli equilibri ambientali, tanto da cagionare la drammatica rarefazione degli insetti e degli animali che se ne nutrono (es. uccelli).

L'ape concorre alla tutela, alla conservazione ed alla restaurazione del territorio in virtù della sua attività di impollinazione. Le piante spontanee, rappresentate da 350.000 specie botaniche conosciute, contro le 150 specie coltivate, sono fonte di biodiversità essenziale per il mantenimento della fertilità del suolo, della qualità ambientale e per la produzione di cibo. Alcuni studi condotti nell'ambito del progetto "Mediterranean CooBEEration" hanno dimostrato che attraverso la collocazione di alveari di *Apis mellifera*, aiutati con nutrizione adeguata, si può velocizzare la ripresa della vegetazione in territori oggetto di incendi. L'erica (*Erica arborea*), il cisto a foglie di salvia (*Cistus salvifolius*) e la Ceppica o Enula (*Inula viscosa* o *Dittrichia viscosa*), sono state le piante maggiormente frequentate dagli insetti e l'azione dell'ape si è manifestata nel numero di semi prodotti. La cospicua produzione di semi correlata alla presenza di *Apis mellifera* ed il potenziale di diffusione degli stessi si possono considerare un sicuro indice dell'incremento della biodiversità in zone degradate.

È interessante anche sapere che la perdita e l'impoverimento della biodiversità interferisce negativamente sulla disponibilità dei medicinali. Attualmente il mercato mondiale dei farmaci vale 650 miliardi di dollari e quasi la metà si basa su farmaci tratti, direttamente o indirettamente, dai regni vegetale e animale.

1.2 L'IMPOLLINAZIONE

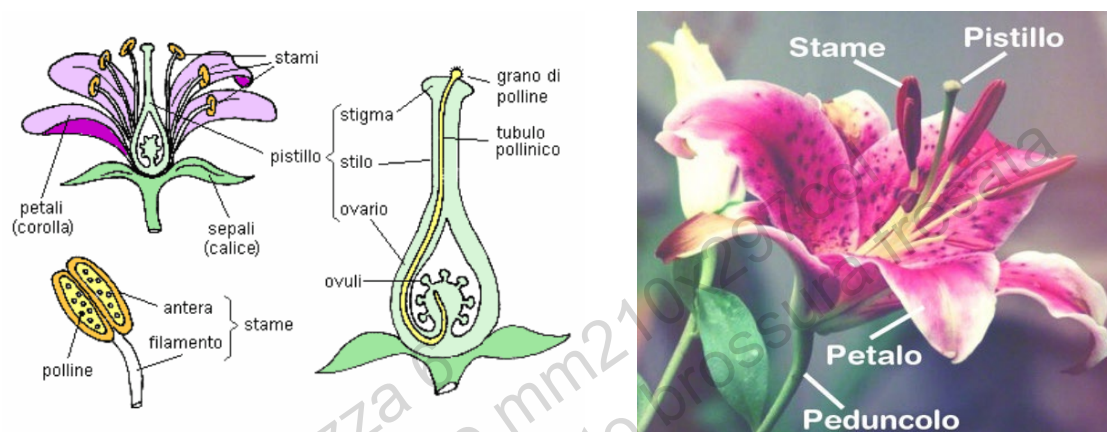
Il *polline* è la cellula riproduttiva maschile di tutte le *Angiosperme* o "piante a fiore" che rappresentano la maggior parte delle piante esistenti.

L'*impollinazione* è fondamentale affinché avvenga la riproduzione sessuata del vegetale e consiste nel trasporto del polline dall'*antera*, parte maschile, allo *stigma*, parte femminile del fiore. Solo dopo questo trasferimento si può avere la fecondazione dell'ovulo che porta alla formazione dei semi ed alla fruttificazione.



Nei fiori troviamo gli organi riproduttori maschili e femminili. Quello maschile è costituito da uno o più *stami*, formati da un filamento che sulla sommità porta un'*antera*. Nelle antere sono alloggiati i *sacchi pollinici* contenenti i *granuli pollinici*. L'apparato femminile è costituito dal *pistillo*, a sua volta formato da *ovario* (contenente l'*ovulo/i*), *stilo* e *stigma*.

Figura n. 1: Struttura del fiore



Il polline può raggiungere lo stigma in molteplici modi. Una volta che arriva sullo stesso rimane imbrigliato a causa della presenza di specifiche papille, oppure mediante un essudato. Qui, tra granulo pollinico e pianta, avviene un'interazione chimica che determina la *germinazione del polline*: dai *pori germinativi* del *granulo pollinico* fuoriesce il *tubetto pollinico*, che sviluppandosi lungo lo stilo veicola i 2 gameti maschili fino all'ovulo. Un gamete feconda la cellula uovo e dà origine al seme, l'altro invece si unisce alla cellula del sacco embrionale e dà origine ad un tessuto con funzione trofica.

Le Angiosperme si dividono in *monoiche*, in cui gli organi sessuali femminili (*gineceo*) e maschili (*androceo*) si trovano sullo stesso individuo (es. mais, castagno, corbezzolo), e *dioiche*, in cui gineceo e androceo si trovano su individui diversi (salice, actinidia, carrubo, lentisco, kiwi); in quest'ultimo caso daranno i frutti solo gli individui che presentano le infiorescenze femminili.

Nonostante la maggior parte delle piante siano monoiche, l'autofecondazione è un processo che non si osserva di norma. In natura tutto è infatti finalizzato ad inibire la consanguineità ed a favorire lo scambio di materiale genetico per aumentare la variabilità all'interno di una popolazione: favorire la possibilità di nuove combinazioni genetiche significa favorire le possibilità di evoluzione ed adattamento della specie, e quindi le sue possibilità di successo. In questo contesto, che favorisce l'eterogamia, il trasferimento del polline ricopre un ruolo fondamentale.

Gli agenti responsabili dell'impollinazione sono diversi: vento (*impollinazione anemofila*), acqua (*i. idrofila*) od animali (*i. zoofila*). Nel terzo caso i "carriers" sono per lo più insetti (*i. entomofila*) ed in minor misura piccoli vertebrati come colibrì e pipistrelli. Ad esempio, le graminacee, la vite e l'olivo sono strettamente anemofile, mentre la maggioranza delle altre colture d'interesse agrario sono entomofile. La maggior parte delle nostre colture dipende infatti dall'attività pronuba degli insetti il cui intervento è in molti casi indispensabile.

Gli insetti pronubi appartengono a vari ordini ed in particolare a quello degli Imenotteri (= insetti con ali membranose), cui appartengono anche le api e gli Apoidei.

La diffusione delle monoculture, che hanno alterato in modo profondissimo l'ambiente, riducendone la biodiversità ed il pascolo per le api, congiuntamente all'utilizzo non appropriato di agrofarmaci, hanno contribuito massicciamente ad una rarefazione se non ad una completa scomparsa in diverse zone dei pronubi naturali.

1.3 API E SERVIZIO DI IMPOLLINAZIONE

Le api sono insetti detti “*generalisti*” o “*polilettrici*” in quanto si riforniscono indifferentemente su specie botaniche molto diverse tra loro, essendo dotate di una ligula piuttosto lunga. Tra gli insetti sono indubbiamente gli impollinatori più importanti in virtù di peculiari caratteristiche: le bottinatrici (ovverosia le più anziane, deputate alla raccolta dall’ambiente esterno di nettare, polline, acqua ed altro) visitando i fiori vengono a contatto con il polline che aderisce alle loro setole (dette anche peli). Negli Apoidei queste sono seghettate e trattengono molto efficacemente i granuli pollinici. Grazie alle numerose visite che le api effettuano sui fiori, grandi quantità di polline vengono scambiate tra soggetti geneticamente diversi, garantendone il successo riproduttivo e la biodiversità. Con la così detta “fedeltà” di foraggiamento, i fiori della medesima specie vengono visitati fino al completo esaurimento delle risorse bottinabili. Ogni alveare può fornire quotidianamente l’attività impollinatrice di un numero elevato di bottinatrici, fino a 15000. Ciascuna ape, a sua volta, può visitare anche 1000 fiori al giorno.

La situazione di carenza di impollinatori naturali, dovuta ad un uso intensivo del suolo e ad uno sconsiderato impiego dei prodotti fitosanitari, di fatto favorisce la richiesta di api allevate per l’impollinazione.

Gli agricoltori sono continuamente sollecitati ad elevare gli standards dei prodotti da loro forniti alla distribuzione: per competere è necessario produrre in quantità e in qualità adeguate alle richieste del mercato, e ad un prezzo concorrenziale. L’attività dei pronubi apporta al settore agricolo un prezioso contributo, purtroppo ad oggi ancora non adeguatamente riconosciuto. Nello specifico, il servizio di impollinazione fornito dagli insetti contribuisce sensibilmente al miglioramento qualitativo e quantitativo della produzione agricola. Affinché possa avvenire una impollinazione adeguata deve esserci un abbondante scambio di polline tra fiori di individui geneticamente diversi (*impollinazione incrociata*). E’ noto che in frutticoltura la fecondazione incrociata favorisce alcuni eventi fortemente auspicabili, quali: l’allegagione (cioè, il passaggio dal fiore al frutto), la resistenza alla cascola (cioè la caduta prematura di gemme/fiori/frutti per cause climatiche o parassitarie), la rapidità di maturazione, la maggior dimensione e la appropriata conformazione del frutto, nonché un aumento della conservabilità dello stesso. Anche il compartimento sementiero ne beneficia ottenendo un aumento della produzione ed un miglioramento delle caratteristiche tecnologiche dei semi.

Solo se la fecondazione degli ovuli è determinata da un’abbondante presenza di polline, la pianta può dare un buon frutto ed i pronubi possono assicurare con le loro ripetute visite questo generoso apporto. Una fecondazione parziale degli ovuli genera invece un frutto piccolo, malformato e con un minor tenore zuccherino.

L’impollinazione incrociata ha poi il vantaggio di ovviare ai casi della così detta “*incompatibilità*”, che sono assai frequenti in frutticoltura: diverse piante, sebbene monoiche, sono *autosterili* in quanto l’*autofecondazione* non può avvenire (*autoincompatibilità* – es. *nelle fragole*); varietà diverse appartenenti alla stessa specie a volte non sono in grado di fecondarsi (*incompatibilità intraspecifica*); alcuni soggetti appartenenti a specie diverse non sono in grado di fecondarsi (*incompatibilità interspecifica*). In tali contesti la presenza di insetti impollinatori è requisito indispensabile alla fruttificazione.

A tutto ciò si deve aggiungere che le api, a differenza delle vespe, non danneggiano i frutti e neanche i tessuti vegetali più delicati, dal momento che non hanno mandibole taglienti, bensì conformate a “spatola” (per lavorare la cera, raccogliere polline/propoli). Con il loro apparato buccale non possono creare soluzioni di continuo sul frutto, bensì solamente suggerire il liquido zuccherino che fuoriesce da lesioni causate da eventi atmosferici o altri insetti.

La tecnica che viene di volta in volta applicata in campo per garantire il servizio di impollinazione tramite gli Apoidei, varia in relazione a numerosi fattori: il tipo di coltura, la sua estensione, le caratteristiche della zona, le condizioni climatiche, le fioriture concomitanti. Solo a seguito di un’accurata valutazione è possibile organizzare un’efficace strategia, individuando il giusto carico di alveari per ettaro, la loro posizione, il momento propizio al loro inserimento e la durata della loro permanenza sulla coltura.



Come prima cosa è necessario scegliere quale insetto pronubo impiegare, in relazione al fiore da impollinare.

Gli Apoidei utilizzati per il servizio di impollinazione sono per lo più l'ape domestica (*Apis mellifera* spp.), i bombi (*Bombus terrestris*) e le osmie (*Osmia rufa*, *Osmia cornuta*). La lunghezza della ligula varia tra i diversi Apoidei e sarà determinante per garantire la raccolta del nettare dal fiore da impollinare. Tutti e tre gli impollinatori sopra citati hanno una ligula lunga e possono quindi accedere anche a nettari più profondi. Le *Andrene* invece, presentando una ligula corta, possono raccogliere il nettare solo da alcune tipologie floreali, caratteristiche delle Ombrellifere, delle Composite e delle Crucifere. Le famiglie di Apoidei presenti nel mondo sono 9, di cui 7 in Europa. Gli Apoidei del genere *Apis* e *Bombus* sono "Apoidei sociali", che cioè vivono in società organizzate divise in caste, in cui i singoli individui agiscono in funzione delle necessità collettive. Invece, le andrene sono "Apoidei comunitari": le cui femmine utilizzano un nido comune in cui ognuna costruisce e approvvigiona la propria prole in maniera autonoma.

Da ultimo, le osmie sono "Apoidei solitari", in cui ciascuna femmina, dopo la fecondazione, costruisce un nido: in genere semplici cavità scavate nel suolo o nel legno, formate da una serie di cellette, in cui depongono un uovo e che riempiono di nettare e di polline; le loro larve si sviluppano esclusivamente grazie a queste provviste, senza ricevere alcun'altra cura dalla madre.

Bozza 6
formato mm2 100x140
allestimento brossura fresco

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Capitolo 2. I contaminanti ambientali di maggior rilevanza in sanità pubblica diversi dai pesticidi

2.1 INTRODUZIONE

Varie sono le sostanze chimiche che possono raggiungere le api e i prodotti dell'apicoltura dall'ambiente circostante agli alveari. I contaminanti ambientali possono infatti raggiungere le api e le materie prime dei prodotti da loro elaborati (nettare, melata, polline, propoli) attraverso l'aria, l'acqua, il suolo e le piante, ed in tal modo essere introdotti negli alveari.

L'area geografica interessata è strettamente legata alla posizione dell'alveare. Benché le api preferiscano bottinare aree quanto più vicine all'alveare, si stima che in caso di necessità possano allontanarsi anche per 10 km. Tuttavia, l'*home range* di un'ape generalmente comprende un'area esterna all'alveare di circa 7 km², con voli che raggiungono un raggio di 3 km.

Le conseguenze di queste contaminazioni riguardano vari aspetti rilevanti ai fini della salute pubblica, quali la salute delle api, la sicurezza alimentare e la sicurezza dell'ambiente.

Innanzitutto, molti dei contaminanti che le api incontrano nel loro ambiente sono pericolosi per la salute dell'uomo, che li può assumere con i prodotti alimentari dell'alveare, rappresentati soprattutto da miele, polline, pappa reale e propoli.

Molte di queste sostanze sono lesive della salute e del benessere delle api. Vari programmi di monitoraggio indicano elevate percentuali di perdite nelle famiglie, in particolare in Europa e Nord America, ma osservazioni simili, sebbene meno documentate, sono state fatte anche in altre parti del mondo. L'impatto che l'esposizione ai contaminanti chimici ambientali ha sulle api è molto variabile, in relazione al tipo di sostanza, alle dosi assunte e alla combinazione di altri *stressors* fisici, chimici, biologici e nutrizionali che possono agire in concomitanza.

L'elenco dei principali contaminanti ambientali, di cui i prodotti dell'apicoltura rappresentano efficaci indicatori ed al tempo stesso veicoli alimentari per l'uomo, include, oltre i pesticidi, metalli pesanti (Pb, Cd, Hg, Cu, As, Sn), bifenili policlorurati (PCB) e diossine, idrocarburi policiclici aromatici (IPA), isotopi radioattivi, fitotossine, sostanze perfluoroalchiliche (PFAS).

In questo capitolo tracciamo un sintetico profilo dei principali contaminanti chimici ambientali riscontrati nei prodotti dell'apicoltura, lasciando ad una trattazione specifica ed approfondita dei pesticidi ai capitoli che seguono.

2.2 METALLI PESANTI

Tra i contaminanti ambientali, i metalli pesanti rivestono un ruolo di primaria importanza. Alcuni di questi sono presenti naturalmente nell'ambiente, altri sono introdotti nell'ecosistema come conseguenza di attività agricole o industriali, quali il trasporto auto veicolare, l'incenerimento dei rifiuti, la combustione di carburanti e di lubrificanti, ecc.

Quando si parla di inquinamento da metalli pesanti, ci si riferisce normalmente solo ad alcuni di questi elementi, i maggiori responsabili dei danni ambientali, ossia: il mercurio, il cadmio, il cromo e il piombo.

I metalli pesanti si accumulano lentamente e progressivamente nelle ossa, nel fegato, nei reni, nei tessuti connettivi, nel cervello e in altri organi. Il nostro organismo non riesce, con i normali processi detossificanti, a

rimuoverli. Senza l'ausilio di sostanze chelanti, capaci di legarsi al metallo e di trasportarlo all'esterno dell'organismo, permangono per decenni e rappresentano un serio pericolo per la salute. L'eccesso di queste molecole nel nostro corpo, infatti, blocca l'attività di numerosi complessi enzimatici determinando un danno metabolico. Sono responsabili di una vasta gamma di sintomi spesso di difficile interpretazione. All'esposizione ai metalli pesanti sono associati molteplici effetti sulla salute, con diversi livelli di gravità e condizioni: problemi ai reni e alle ossa, disordini neurocomportamentali e dello sviluppo, ipertensione, diabete, tumore.

Di seguito si elencano i principali sintomi che possono essere osservati nell'uomo in caso di intossicazione da metalli pesanti.

- Alluminio: danni al sistema nervoso centrale, demenza, perdita di memoria, autismo.
- Antimonio: danni cardiaci, diarrea, vomito, ulcera allo stomaco.
- Arsenico: cancro linfatico, cancro al fegato, cancro della pelle.
- Bario: ipertensione, paralisi.
- Bismuto: dermatite, stomatite ulcerosa, diarrea.
- Cadmio: malattia itai-itai, diarrea, dolori di stomaco, vomito, fratture ossee, danni immunitari, disordini psicologici, tumore.
- Cromo: danni ai reni e al fegato, problemi respiratori, cancro polmonare.
- Rame: irritazioni al naso, bocca ed occhi, cirrosi epatica, danni al cervello e ai reni, emicranie croniche.
- Gallio: irritazione alla gola, difficoltà respiratorie, dolori alla cassa toracica.
- Afnio: irritazione agli occhi, alla pelle e alle mucose.
- Indio: danni al cuore, reni e fegato.
- Iridio: irritazione agli occhi e al tratto digestivo.
- Lantanio: cancro polmonare, danni al fegato.
- Piombo: danni al cervello, disfunzioni alla nascita, danni ai reni, difficoltà di apprendimento, distruzione del sistema nervoso.
- Manganese: turbe alla coagulazione del sangue, intolleranza al glucosio, disordini allo scheletro.
- Mercurio: distruzione del sistema nervoso, danni al cervello, danni al DNA.
- Nichel: embolia polmonare, difficoltà respiratorie, asma e bronchite cronica, reazioni allergiche della pelle.
- Palladio: altamente tossico e cancerogeno, irritante per le mucose.
- Platino: alterazioni del DNA, cancro, danni all'intestino e reni.
- Rodio: macchie alla pelle, potenzialmente tossico e sospetto cancerogeno.
- Rutenio: altamente tossico e cancerogeno, danni alle ossa.
- Scandio: embolia polmonare, danni al fegato.
- Stronzio: cancro ai polmoni, nei bambini difficoltà di sviluppo delle ossa.
- Tantalio: irritazione agli occhi e alla pelle, lesione del tratto respiratorio superiore.
- Tallio: danni allo stomaco, al sistema nervoso, coma e morte; per chi sopravvive rimangono danni al sistema nervoso e paralisi.



- Stagno: irritazione agli occhi e alla pelle, emicrania, dolori di stomaco, difficoltà ad urinare.
- Tungsteno: danni alle mucose e alle membrane, irritazione agli occhi.
- Vanadio: disturbi cardiaci e cardiovascolari, infiammazioni allo stomaco ed intestino.
- Ittrio: altamente tossico, cancro ai polmoni, embolia polmonare, danni al fegato.

Queste sostanze tossiche vengono assorbite dal nostro organismo per ingestione, inalazione o per via cutanea.

I metalli pesanti possono contaminare anche i prodotti dell'alveare attraverso le materie prime che le api introducono nell'alveare, quali il nettare, la melata, la propoli, o direttamente, dall'ambiente circostante, così come anche dalle superfici con cui entrano in contatto i prodotti.

Ci sono evidenze che cadmio, rame e piombo si bioaccumulano in *Apis mellifera*, sia negli adulti che nelle larve, così come nelle riserve di miele, cera e propoli. Questi metalli hanno significativi effetti negativi sulla salute e sulla sopravvivenza delle api.

Oltre a influire sulla produttività e sulla sopravvivenza delle piante, la contaminazione ambientale di metalli pesanti espone le api a livelli potenzialmente tossici. Ciò può causare indebolimento delle famiglie, fino a livelli estremi, con elevata mortalità e collasso. È stato dimostrato che la presenza nei fiori di alcuni contaminanti metallici, come manganese, alluminio e nichel, ha determinato la modificazione della frequenza delle visite di insetti impollinatori ed un impatto negativo sulle loro capacità di movimento. L'effetto sull'attività e sulla sopravvivenza degli impollinatori può essere importante anche quando le concentrazioni di metalli pesanti sono inferiori ai livelli di rischio minimi per la salute umana.

La tossicità nell'uomo si verifica già a basse concentrazioni, a causa dell'effetto accumulo esercitato da tali molecole. I danni riguardano i reni, il sistema nervoso, il sistema immunitario, includendo anche il potenziale cancerogenetico. Il danno deriva dalla interazione con diverse proteine dell'organismo, con conseguente alterazione dei sistemi di detossificazione, di riparazione del DNA, con variazione epigenetica nell'espressione genica.

Tabella n. 1: % di campioni mirati di miele non conformi per residui di metalli pesanti nella UE negli anni 2009-2015

Sostanza	% risultati non conformi			Stati Membri coinvolti (1)
	media	max	min	
Piombo Pb	1,12	1,93	0,19	AT;CZ;DK;EE;FR;GR;HR;IE;LV;PL
Rame Cu	0,50	1,05	0,00	DE
Cadmio Cd	0,33	0,91	0,00	GR
Arsenico As	0,03	0,18	0,00	PL
Stagno Sn	0,03	0,18	0,00	CZ

(1): Austria (AT), Belgio (BE), Bulgaria (BG), Croazia (HR), Cipro (CY), Repubblica Ceca (CZ), Danimarca (DK), Estonia (EE), Francia (FR), Germania (DE), Grecia (GR), Ungheria (HU), Irlanda (IE), Italia (IT), Lettonia (LV), Lituania (LT), Malta (MT), Olanda (NL), Polonia (PL), Portogallo (PT), Romania (RO), Slovacchia (SK), Slovenia (SI), Spagna (ES), Svezia (SE), Regno Unito (UK).

Belgio (BE), Bulgaria (BG), Cipro (CY), Ungheria (HU), Italia (IT), Lituania (LT), Malta (MT), Olanda (NL), Portogallo (PT), Romania (RO), Slovacchia (SK), Slovenia (SI), Spagna (ES), Svezia (SE) e Regno Unito (UK) non hanno avuto campioni positivi.

I residui di metalli pesanti più frequentemente identificati nell'Unione Europea nei prodotti dell'apicoltura, incluso il miele, sono: piombo (Pb), cadmio (Cd), mercurio (Hg), rame (Cu), arsenico (As), stagno (Sn). La tabella 1 mostra la percentuale di campioni non conformi per i metalli pesanti nel miele rilevati

dai piani nazionali residui effettuati nell'UE ai sensi della direttiva 96/23/CE¹, recepita in Italia con il Decreto Legislativo 16 marzo 2006, n. 158².

2.2.1 Piombo (Pb)

È un contaminante ambientale naturale, ma il suo largo uso in passato ha aumentato la sua presenza, fino a livelli critici. Si accumula nell'organismo, con particolare riferimento al sistema nervoso centrale, che è il principale organo bersaglio. Nel 2006 l'Agenzia internazionale per la ricerca sul cancro (IARC) ha classificato il Pb inorganico come "probabilmente cancerogeno per l'uomo" (gruppo 2A). Dagli anni '70 in Europa sono state prese misure di prevenzione, escludendo il Pb da vernici, benzina, lattine per alimenti e tubature dell'acqua. Si stima che il solo abbandono del piombo tetraetile come additivo antidetonante delle benzine abbia comportato una riduzione di circa il 25% del livello di inquinamento.

Fra tutti i metalli pesanti riscontrabili nel miele, il Pb è quello che desta la maggiore preoccupazione, anche per la dimensione delle non conformità riscontrate (Tabella 1). L'EFSA ha identificato una dose di riferimento (BMDL01) pari a 0,50 µg/kg di peso corporeo al giorno, in base al rischio di effetti neurotossici sullo sviluppo nei bambini piccoli.

Secondo EFSA l'esposizione al rischio vede una concentrazione di Pb nel miele caratterizzata da valori massimi di 2.140 µg/kg, con un 7% dei campioni caratterizzato da concentrazioni superiori a 100 µg/kg. Il Regolamento (CE) n. 1881/2006³ ha fissato il limite massimo di Pb nel miele in 0,10 mg/kg. I limiti di prestazione richiesti ai metodi analitici sono stabiliti dal Regolamento (UE) n. 836/2011⁴.

2.2.2 Cadmio (Cd)

Si ritrova nell'ambiente sia come contaminante naturale, che come derivato da attività industriali e agricole. È presente nell'aria, nel fumo di sigaretta, nelle aree prospicienti le fabbriche di zinco e come elemento secondario in alcuni processi di sintesi industriali. Il suo organo target è il rene, ma i dati sull'esposizione umana al Cd nella popolazione generale sono stati anche statisticamente associati ad un aumentato rischio di cancro a livello di polmone, endometrio, vescica e mammella.

Il comitato misto di esperti FAO/OMS per gli additivi alimentari ha stabilito un'assunzione mensile tollerabile provvisoria di 25 µg/kg di peso corporeo, mentre EFSA ha indicato un'assunzione settiman-

¹ Direttiva 96/23/CE del Consiglio del 29 aprile 1996 concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti e che abroga le direttive 85/358/CEE e 86/469/CEE e le decisioni 89/187/CEE e 91/664/CEE. GU L 125 del 23/05/1996. [Modificata e integrata da atti successivi, di cui da ultimo dalla Direttiva 2013/20/UE del Consiglio del 13 maggio 2013. GU UE L 158 del 10/06/2013].

² Decreto Legislativo 16 marzo 2006, n. 158. Attuazione della direttiva 2003/74/CE che modifica la direttiva 96/22/CE del Consiglio, del 29 aprile 1996, concernente il divieto di utilizzazione di talune sostanze ad azione ormonica, tireostatica e delle sostanze beta-agoniste nelle produzioni animali e della direttiva 96/23/CE, del Consiglio, del 29 aprile 1996, concernente le misure di controllo su talune sostanze e sui loro residui negli animali vivi e nei loro prodotti, come modificata dal regolamento 882/2004 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 29 aprile 2004, nonché abrogazione del decreto legislativo 4 agosto 1999, n. 336. GU n.98 del 28/04/2006.

³ Regolamento (CE) n. 1881/2006 della Commissione del 19 dicembre 2006 che definisce i tenori massimi di alcuni contaminanti nei prodotti alimentari. GU L 364 dell'20/12/2006. [Modificato ed integrato da atti successivi, di cui da ultimo dal Regolamento (UE) 2018/290 della Commissione del 26 febbraio 2018. GU UE L 55 del 27/02/2018].

⁴ Regolamento (UE) n. 836/2011 della Commissione del 19 agosto 2011 che modifica il regolamento (CE) n. 333/2007 relativo ai metodi di campionamento e di analisi per il controllo ufficiale dei tenori di piombo, cadmio, mercurio, stagno inorganico, 3-MCPD e benzo(a)pirene nei prodotti alimentari. GU UE L 215 del 20/08/2011.



nale tollerabile (TWI) di 2,5 µg/kg di peso corporeo, per garantire una protezione sufficiente di tutti i consumatori.

L'esposizione al rischio alimentare da Cd conseguente al consumo di miele nella UE indica che su 2.269 campioni analizzati, la distribuzione della concentrazione è oscillata fra 3,61 µg/kg (limite inferiore), e 14,4 µg/kg (limite superiore), corrispondente ad un contributo al raggiungimento delle quantità ingeribili tollerabili che, in relazione ai diversi consumi, va dallo 0,3% per le categorie "bambini piccoli", "altri bambini" e "adolescenti", al 3,1% per la categoria "anziani". La UE non ha definito il tenore massimo ammissibile per Cd nel miele. I limiti di prestazione richiesti ai metodi analitici sono stabiliti dal Regolamento (UE) n. 836/2011.

2.2.3 Mercurio (Hg)

La forma organica del Hg, rappresentata dal metilmercurio, desta le maggiori preoccupazioni nell'uomo, in quanto può costituire oltre il 90% del mercurio totale presente nei pesci e nei frutti di mare. Minori preoccupazioni destano invece i tenori di mercurio inorganico.

Il metilmercurio si forma attraverso un ciclo geobiochimico nei sedimenti dei grossi corpi d'acqua (oceani, ma anche fiumi) da mercurio inorganico, inquinante ambientale, per poi entrare nella catena trofica marina.

Il rischio da Hg riguarda soprattutto le aree inquinate. La tossicità si esplica prevalentemente sui feti e sui neonati in via di sviluppo, dove provoca danni nel tessuto nervoso centrale. L'esposizione fetale dipende dagli elevati livelli di metilmercurio rilevati nelle madri, a seguito di alti consumi di pesci (soprattutto grossi predatori marini) contaminati.

Bogdanov ha riportato i risultati di alcuni controlli condotti su miele in Slovacchia, Francia e Polonia. La quantità di Hg rilevata era compresa tra <0,001 e 0,212 mg / kg.

L'EFSA ha stabilito una dose settimanale tollerabile (TWI) per il mercurio inorganico di 4 µg/kg di peso corporeo e per il metilmercurio di 1,3 µg/kg di peso corporeo.

Su 892 campioni di miele europeo, dei quali il 64% non raggiungeva il limite di rilevabilità, la concentrazione di mercurio è oscillata da 0 µg/kg a 32 µg/kg.

Attualmente l'UE non ha stabilito il tenore massimo ammissibile per Hg nel miele. I limiti di prestazione richiesti ai metodi analitici sono stabiliti dal Regolamento (UE) n. 836/2011.

2.2.4 Rame (Cu)

Per gli organismi viventi, vegetali e animali, compreso quello umano, il Cu rappresenta un micronutriente essenziale. È un componente fondamentale di molti enzimi, compresi quelli coinvolti nella sintesi dei neurotrasmettitori, nel metabolismo energetico e nella reticolazione del collagene e dell'elastina. I fabbisogni stimati sono: per gli adulti uomini, di 1,6 mg/die; per gli adulti donne, di 1,3 mg/die; per i bambini da 1 a <3 anni, di 0,7 mg/die; per i bambini da 3 a <10 anni, di 1 mg/die; per i ragazzi e le ragazze da 10 a <18 anni, rispettivamente di 1,3 e 1,1 mg/die; per i bambini di età compresa tra 7 e 11 mesi, di 0,4 mg/die.

La sua presenza nell'ambiente è sia naturale che indotta da attività antropiche. Infatti, il Cu è un elemento naturale, presente nel suolo, che le piante assimilano nei loro tessuti, ma non in concentrazioni superiori alla quantità necessaria alla copertura dei fabbisogni.

Il cibo e l'acqua sono le principali fonti di esposizione al rame nei paesi sviluppati. I cibi particolarmente ricchi di rame sono la carne e il fegato di vitello, maiale, ovini, la cioccolata, il tè, il caffè. Nell'acqua potabile la concentrazione del rame varia ampiamente, in dipendenza dalle sue caratteristiche di durezza, pH, concentrazione di anioni, concentrazione di ossigeno, temperatura, e dalle condizioni tecniche del sistema di distribuzione: la fonte principale di contaminazione è, infatti, spesso la corrosione delle tubature rivestite di Cu, soprattutto in sistemi in cui l'acqua ha un pH acido o alti livelli di carbonato.

Un contributo importante alla presenza di Cu nell'ambiente è conseguente all'impiego di prodotti fitosanitari che lo contengono nelle proprie sostanze attive. Le forme più utilizzate sono idrossido di rame, ossicloruro di Cu, miscela bordolese, solfato di rame tribasico e ossido di rame. L'EFSA ammette una carenza di dati sulla reale contaminazione da mercurio dei prodotti dell'apicoltura, compreso il miele.

I dati sulla tossicità nell'uomo non sono ancora conclusivi, in quanto gli studi effettuati sugli animali di laboratorio non si sono mostrati utili come modello trasferibile all'uomo.

La ADI del Cu, stabilita da EFSA nel 2008, è stata confermata a 0,15 mg Cu/kg di peso corporeo/giorno, in linea con i valori stabiliti dall'OMS nel 1996, sulla base dei dati relativi all'uomo adulto e ai neonati (adulti: 0,2 mg Cu/kg peso corporeo/giorno; neonati: 0,15 mg Cu/kg peso corporeo/giorno).

Proprio in considerazione del fatto che compare nelle sostanze attive di vari prodotti fitosanitari, si stima che la sua diffusione nell'ambiente, in prodotti vegetali e animali, possa costituire un'esposizione cronica pari al 72,3% dell'ADI, a cui dovrebbe essere aggiunto un ulteriore 15,1% per l'esposizione conseguente al consumo di acqua potabile. Attualmente la UE non ha stabilito tenori massimi ammissibili per Cu negli alimenti. Per l'acqua potabile la OMS ha stabilito un valore guida di 2 mg/L. La UE, con la Direttiva 98/83CE⁵ ha fissato un limite di 2 mg/L, mentre l'Italia, con il suo recepimento avvenuto con Decreto Legislativo 31/2001 e s.m.i.⁶, ha fissato un limite più restrittivo, pari ad 1 mg/L.

2.2.5 Arsenico (As)

È un metalloide onnipresente a basse concentrazioni nelle rocce, nel suolo e nelle acque sotterranee naturali, con cui le api possono essere in contatto, con conseguente trasferimento al miele e agli altri prodotti dell'apicoltura. La forma chimica dotata di maggiore tossicità è quella inorganica, sia trivalente che pentavalente, in quanto viene facilmente assorbita nel tratto gastrointestinale; mentre i composti di arsenico organico sono meno tossici, in quanto vengono assorbiti in bassa quantità e rapidamente eliminati con le urine. La *International Agency for Research on Cancer* (IARC) ha riportato i composti inorganici dell'arsenico nel gruppo I, ovvero tra le sostanze cancerogene accertate per l'uomo. In tal senso, As induce stress ossidativo con conseguenti mutazioni e aberrazioni cromosomiche, nonché alterazione dell'espressione genica.

I principali effetti avversi segnalati associati all'ingestione a lungo termine di arsenico inorganico nell'uomo sono lesioni cutanee, cancro, tossicità per lo sviluppo, neurotossicità, malattie cardiovascolari, anomalo metabolismo del glucosio e diabete.

L'EFSA, ha identificato un range di valori di dose di riferimento (BMDL01) tra 0,3 e 8 µg/kg di peso corporeo/giorno, in base al rischio di tumori del polmone, della pelle e della vescica, nonché di lesioni cutanee.

L'esposizione al rischio correlato al consumo di miele nella UE indica, su un numero di campioni superiore a 1.000, di cui quote oscillanti fra il 61% e il 100% al di sotto del limite di rilevabilità, una concentrazione di As inorganico oscillante fra 0,0 e 31,9 µg/kg. Attualmente la UE non ha stabilito il tenore massimo ammissibile per As nel miele. Per le acque destinate al consumo umano è previsto un limite di 10 µg/L per l'arsenico totale.

⁵ Direttiva 98/83/CE del Consiglio del 3 novembre 1998 concernente la qualità delle acque destinate al consumo umano. GU L 330 del 05/12/1998. [Modificata e integrata da atti successivi, di cui da ultimo dalla Direttiva (UE) 2015/1787 della Commissione del 6 ottobre 2015. GU L 260 del 07/10/2015].

⁶ Decreto Legislativo 2 febbraio 2001, n. 31. Attuazione della direttiva 98/83/CE relativa alla qualità delle acque destinate al consumo umano. GU n.52 del 3-3-2001 - Suppl. Ordinario n. 41.



2.2.6 Stagno (Sn)

Si trova naturalmente negli alimenti. In forma di sali stannosi e stannici, e di cloruro stannoso (SnCl_2) è un additivo alimentare autorizzato (E512). Nell'uomo, gli effetti acuti derivanti dal consumo di cibi e bevande contaminati sono stati caratterizzati da sintomi gastrointestinali. La casistica indica che i sintomi gastrointestinali acuti insorgono per ingestione di alimenti inscatolati con concentrazioni di stagno di 250 mg/kg e di bevande inscatolate con concentrazioni di 150 mg/kg, a seguito di contaminazione provocata dal recipiente in cui erano stati confezionati.

EFSA ha potuto stabilire che i livelli di esposizione generali non costituiscono un rischio significativo. Il Regolamento 1881/2006 ha stabilito un tenore massimo ammissibile di Sn negli alimenti contenuti in barattoli pari a 200 mg/kg, al fine di proteggere i consumatori dall'insorgenza di effetti gastrointestinali acuti. I limiti di prestazione richiesti ai metodi analitici sono stabiliti dal Regolamento (UE) n. 836/2011.

2.3 BIFENILI POLICLORURATI (PCB) E DIOSSINE

Il termine "diossine" si riferisce più specificamente a due gruppi di composti planari triciclici, rappresentati da 75 congeneri di policlorodibenzo-p-diossine (PCDD) e 135 congeneri di policlobenzofurani (PCDF). Le figure n. 2 e n. 3 descrivono la struttura chimica dei due tipi di diossine.

Figura n. 2: Molecola della tetra-cloro-para-dibenzo-diossina

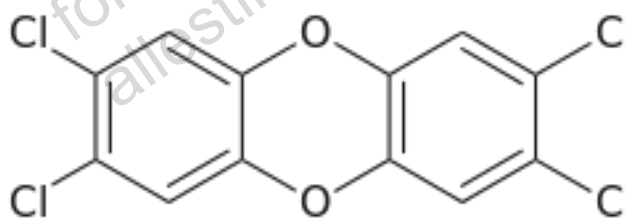
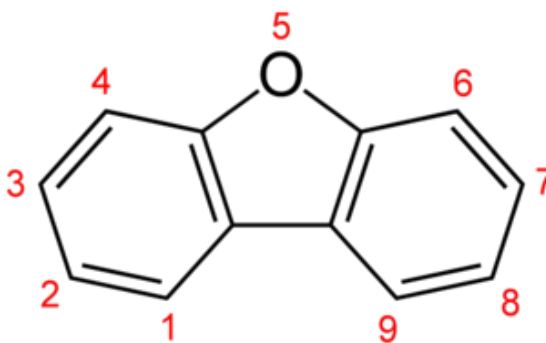


Figura n. 3: Molecola del dibenzofurano

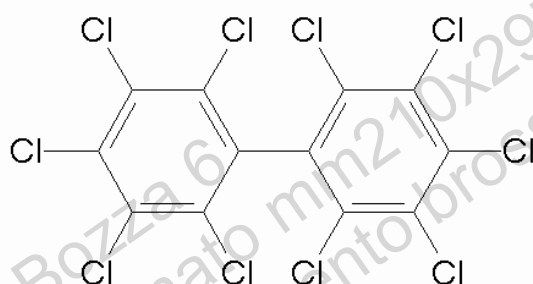


I dati tossicologici indicano che più del 90% dell'esposizione umana a diossine deriva dagli alimenti e di questi, quelli di origine animale contribuiscono di norma all'80% dell'esposizione complessiva. Le diossine sono generate in diversi processi termici e industriali come sottoprodotti indesiderati e

spesso inevitabili. Vengono emesse in atmosfera e possono essere trasportate per grandi distanze, per depositarsi successivamente sul suolo, nell'acqua e sulle parti arboree dei pascoli e dei seminativi, rendendosi così disponibile per l'ingestione soprattutto da parte di animali al pascolo o in allevamenti all'aperto. Quelle che arrivano in acqua possono essere trasportate dalle acque superficiali e raccolte nei sedimenti. Poco significativo, invece, è l'assorbimento radicale da parte delle piante, per cui i vegetali non costituiscono in genere una fonte di contaminazione importante.

I PCB sono un gruppo di composti organoclorurati che derivano dalla clorazione del bifenile (vedi Figura n. 4). Sono costituiti da 209 congeneri diversi che, in base alle caratteristiche strutturali e agli effetti tossicologici, possono essere divisi in due gruppi.

Figura n. 4: Molecola dei PCB



Un gruppo è composto da 12 congeneri che possono facilmente adottare una struttura complanare e mostrare proprietà tossicologiche simili alle diossine. Questo gruppo viene quindi definito "PCB diossina-simili" (DL-PCB). La maggior parte degli altri PCB non mostra tossicità simile alla diossina e sono quindi definiti "PCB non diossina-simili" (NDL-PCB). Tra i PCB NDL, sei sono considerati indicatori appropriati per diversi PCB, in varie matrici campionarie: PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153 e PCB-180.

I PCB hanno avuto un uso diffuso in numerose applicazioni industriali e sono stati massicciamente prodotti per diversi decenni, raggiungendo una produzione mondiale totale stimata in 1,2-1,5 milioni di tonnellate, fino a che non sono stati banditi nella maggior parte dei paesi negli anni '80. Tuttavia, ne restano ancora oggi grossi quantitativi in apparecchiature elettriche, plastiche, edifici e nell'ambiente. Generalmente venivano utilizzati in due tipologie di applicazione: 1) in sistemi chiusi, come ad esempio fluidi elettrici in apparecchiature elettriche (principalmente trasformatori), i cui meccanismi di contaminazione ambientale presuppongono delle perdite, oppure incendi, scarichi illeciti, smaltimento inadeguato; 2) in sistemi aperti, come additivi per antiparassitari, ritardanti di fiamma, isolanti, vernici, ecc., i cui meccanismi di contaminazione ambientale presuppongono le discariche abusive, con l'emissione in atmosfera del contaminante a seguito di evaporazione.

La contaminazione ambientale di PCB e diossine in Europa è diminuita a partire dagli anni '70, in seguito agli sforzi congiunti da parte delle pubbliche autorità e dall'industria. A tal fine sono stati fissati livelli d'azione con la Raccomandazione 2013/711/UE⁷ che riguarda oltre che le diossine e PCB anche i furani.

PCB e diossine sono composti chimici molto stabili, poco solubili in acqua, ma con una forte lipo-affinità. La natura lipofila e l'elevata resistenza alla degradazione rendono tali molecole ubiquitarie, difficilmente degradabili. Hanno capacità di bioaccumulazione nella catena alimentare, con fenomeni di

⁷ Raccomandazione della Commissione del 3 dicembre 2013 sulla riduzione della presenza di diossine, furani e PCB nei mangimi e negli alimenti. 2013/711/UE. GU L 323 del 04/12/2013.



amplificazione delle concentrazioni. Possono causare effetti avversi sul sistema nervoso, immunitario ed endocrino, compromettere la funzione riproduttiva e causare cancro.

La TWI di diossine e PCB diossina-simili è stata stimata nel 2001 in 14 pg TEQ/kg. Più recentemente l'Agencia USA per la Protezione Ambientale (EPA) ha proposto di ridurre la dose settimanale a 4,9 pg/kg di peso corporeo.

I PCB NDL suscitano diversi tipi di risposta rispetto alle diossine e ai DL-PCB, inclusi effetti neurologici, neuroendocrini, endocrini, immunologici e cancerogeni.

A causa della loro esposizione potenzialmente elevata, PCB e diossine costituiscono un'importante emergenza di sanità pubblica in tutto il mondo.

Le quantità trovate nel miele sono basse, in particolare nel prodotto raccolto in aree inquinate. Nel 2012 l'EFSA ha stimato l'esposizione alimentare dei livelli di DL-PCB e dei 6 indicatori NDL-PCB nel miele, indicando i seguenti risultati:

DL-PCBs: su 41 campioni, di cui il 17,1% con concentrazioni inferiori al limite di rilevabilità, i tenori oscillavano fra 0,0 e 0,05 pg TEQ_{WHO 05}/g

NDL-PCBs: su 85 campioni, di cui l'88,2% al di sotto dei limiti di rilevabilità, concentrazioni oscillanti fra 0,10 e 1,92 µg/kg.

Attualmente la UE non ha stabilito il massimo tenore ammissibile per diossine e PCB nel miele e negli altri prodotti dell'apicoltura.

2.4 IDROCARBURI POLICICLICI AROMATICI (IPA)

Per IPA, noti anche con l'acronimo inglese PAH, si intende un'ampia gamma di composti organici contenenti solo carbonio e idrogeno, costituiti da due o più anelli aromatici benzenici condensati in un'unica struttura.

Gli IPA sono composti apolari e questa caratteristica permette il loro bioaccumulo con distribuzione nei compartimenti idrofobici degli organismi viventi, quali i tessuti adiposi e nelle stesse membrane cellulari che riescono facilmente a penetrare; in più la loro lipofilia li rende solubili in molti solventi organici e possono trovarsi con frequenza adsorbiti al particolato atmosferico.

Le molecole più rappresentative sono benzo(a)pirene (Figura n. 5), benzo(a)antracene, benzo(b)fluorantene e crisene (Figura n. 6).

Figura n. 5: Molecola del benzopirene

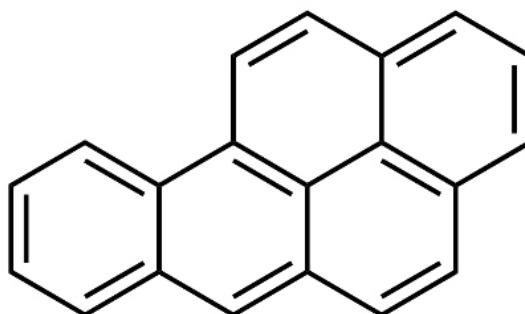
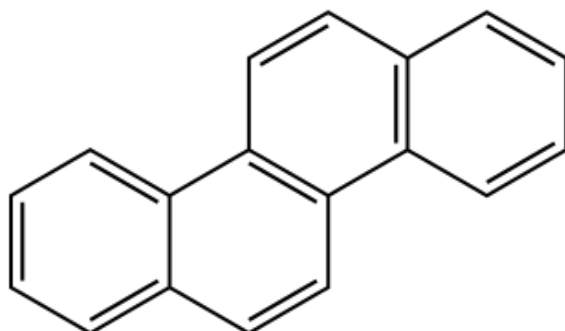


Figura n. 6: Molecola del crisene



Gli IPA sono presenti naturalmente nel carbone, nel petrolio greggio e nella benzina. Sono inoltre prodotti dalla combustione incompleta di tutti i materiali naturali. Sorgenti di IPA sono anche gli incendi di boschi e foreste, nonché di campi agricoli.

Sono classificati in base al numero di anelli aromatici presenti nella loro struttura. Altamente liposolubili, sono facilmente assorbiti dal tratto gastrointestinale dei mammiferi e rapidamente distribuiti in un'ampia varietà di tessuti, con una marcata tendenza alla localizzazione nel grasso corporeo. La sostanza chimica più semplice è il naftalene, composto da due anelli aromatici, ampiamente usato per controllare l'infestazione da falene.

Gli IPA sono sostanze chimiche presenti nel suolo, nei sedimenti e nelle sostanze oleose. Non si degradano facilmente in condizioni naturali e si bioaccumulano. Sono principalmente prodotti dall'attività antropica.

Gli IPA sono inquinanti che derivano da processi di combustione dei materiali organici. Fonti naturali di IPA sono rappresentate da attività vulcanica ed incendi boschivi. Fonti di origine antropica sono principalmente dovute ad attività industriali, impianti di riscaldamento e motori a scoppio. Molti IPA vengono creati in corso di combustioni incomplete di combustibili fossili, come in quella del legname, dei grassi, del tabacco, dell'incenso e dei prodotti organici in generale, quali rifiuti urbani. La lunga lista di fonti di IPA include le industrie cartiere chimiche e plastiche, inceneritori di rifiuti organici ed i depositi di sostanze tossiche. L'inquinamento ambientale si verifica con la creazione di composti tra le molecole di IPA ed il particolato atmosferico. Gli IPA sono infatti composti altamente instabili all'aria e per l'azione fotolitica della luce solare possono reagire facilmente con composti quali l'ozono e gli ossidi di azoto. In aggiunta, le polveri sottili possono catturare diverse molecole di IPA prodotte nella combustione e riescono a legarle a sé con dei legami idrogeno. Ciò comporta un notevole aumento di dispersione degli inquinanti e di persistenza degli stessi nell'atmosfera. Gli IPA possono entrare nell'organismo umano sia attraverso l'apparato respiratorio, sia attraverso l'ingestione di cibo, quindi mediante l'apparato gastrointestinale. Tra tutti gli IPA, il benzo(a)pirene (BaP) è considerato il più pericoloso per la salute umana; gli apparati più colpiti da queste sostanze sono il sistema respiratorio, il sistema urinario e il sistema gastroenterico, dove possono causare, rispettivamente, carcinoma polmonare, carcinoma della vescica e carcinoma dello stomaco. Esistono infatti patologie professionali determinate dal contatto cronico e continuativo con fonti di IPA: tumori degli addetti all'asfaltatura ed alla lavorazione del carbone, tumori dei fumatori, tumori degli spazzacamini.

I residui di IPA possono essere trovati in tutti i prodotti dell'apicoltura (miele, polline, propoli, pappa reale e cera) e anche nel corpo delle api. La loro tossicità è molto variabile a seconda della molecola. Alcuni IPA sono completamente non tossici, altri mostrano evidenti prove di mutagenicità e genotossicità nelle cellule somatiche in animali sperimentali in vivo, e molti hanno anche mostrato



chiari effetti cancerogeni in vari tipi di biotest su animali sperimentali. Il benzo(a)pirene, la molecola più studiata, è considerato dalla IARC cancerogeno accertato. In uno studio condotto nel 2008 sull'esposizione al rischio alimentare di IPA nei prodotti dell'apicoltura, EFSA ha concluso che tale rischio era modesto, per cui non vi erano le condizioni per adottare misure specifiche di gestione del rischio. Gli alimenti possono essere contaminati da fonti ambientali, dalla lavorazione industriale degli alimenti e da alcuni tipi di preparazione degli alimenti domestici.

In uno studio svolto nel 2009 su aree naturali protette, solo le api hanno mostrato la presenza di IPA a maggior peso molecolare; le stesse molecole non sono state trovate nei prodotti dell'apicoltura. Inoltre, le concentrazioni medie nei campioni di miele erano inferiori e non positivamente correlate a quelle riscontrate nelle api. Questo risultato evidenzia il fatto che questi contaminanti possono raggiungere il miele attraverso le api, ma allo stesso tempo, le basse concentrazioni trovate dimostrano che questa matrice non rappresenta un bioindicatore appropriato della contaminazione ambientale da IPA. Le api, che sono esposte agli agenti inquinanti della polvere atmosferica nel corso dei loro voli, ne vengono a contatto durante la raccolta del polline dai fiori e sono in grado di riflettere i cambiamenti nelle concentrazioni di IPA, anche quando l'alveare si trova in un sito protetto, lontano da ogni possibile fonte di inquinamento.

Le api possono contaminare loro stesse e i prodotti dell'apicoltura raccogliendo sostanze antropiche (catrame stradale), invece di raccogliere resine dagli alberi per produrre la loro propoli. La contaminazione nel miele può essere ereditata dalle sue materie prime (nettare, melata e polline) o essere trasferita dalle api durante la trasformazione del nettare e della melata. Il nettare, il componente base del miele, dovrebbe avere una bassa contaminazione di IPA nelle piante a causa del suo basso contenuto di lipidi e del suo scarso potenziale di bioaccumulo degli stessi. Il polline ha concentrazioni più elevate di IPA, ma contribuisce in modo trascurabile alla composizione del miele. Gli studi hanno dimostrato che un picco di contaminazione nel polline o nelle api non aumenterebbe la contaminazione del miele nel periodo successivo. Inoltre, l'esposizione del miele ai contaminanti è altamente specifica e potrebbe dipendere dall'origine botanica. Infatti, la traslocazione di queste sostanze dal suolo alla pianta è specifica per specie e la morfologia dei fiori determina l'esposizione del nettare agli IPA atmosferici.

Infine, pochi studi hanno correlato le concentrazioni di IPA nei prodotti delle api con l'uso del fumo da parte degli apicoltori durante le operazioni svolte negli alveari, benché sia una possibile fonte di contaminazione nelle api, che potrebbe spiegare la contaminazione di fondo riscontrata in molti campioni di miele.

2.5 ISOTOPHI RADIOATTIVI

Secondo Bogdanov, i principali isotopi radioattivi riscontrati nel miele sono il Potassio-40 (^{40}K) e il Cesio-137 (^{137}Cs). Un monitoraggio nel miele effettuato in Italia ha rilevato valori di ^{40}K da 7,28 a 101 Bq/kg. In Polonia lo stesso radioisotopo ha fornito valori da 39 a 123 Bq/kg. ^{137}Cs ha un'emivita di trenta anni e la sua contaminazione è legata ad incidenti nucleari. Il Regolamento UE (Euratom) 2016/52⁸ stabilisce i livelli massimi per alcuni isotopi radioattivi in diversi alimenti. Per il miele, incluso nella categoria "Altri prodotti alimentari esclusi quelli secondari", i valori massimi tollerabili sono i seguenti:

⁸ Consiglio europeo. Regolamento (Euratom) 2016/52 del Consiglio del 15 gennaio 2016 che fissa i livelli massimi ammissibili di radioattività per i prodotti alimentari e per gli alimenti per animali a seguito di un incidente nucleare o in qualsiasi altro caso di emergenza radiologica e che abroga il regolamento (Euratom) n. 3954/87 del Consiglio e i regolamenti (Euratom) n. 944/89 e (Euratom) n. 770/90 della Commissione. GU L 13 del 20.1.2016.

- Somma degli isotopi dello stronzio, in particolare Sr-90: ≤ 750 Bq / kg;
- Somma degli isotopi di iodio, in particolare I-131: ≤ 2.000 Bq / kg;
- Somma degli isotopi emettitori alfa di elementi di plutonio e transplutonio, in particolare Pu-239 e Am-241: 80 Bq / kg;
- Somma di tutti gli altri nuclidi di emivita superiori a 10 giorni, in particolare Cs-134 e Cs-137: 1.250 Bq/kg.

In occasione della vasta contaminazione conseguente all'incidente di Chernobyl si poté sperimentare la capacità delle api nel rilevare la contaminazione ambientale in Italia. I monitoraggi svolti poterono accertare che tra i componenti dell'alveare il polline risulta il miglior indicatore della contaminazione ambientale da radionuclidi. Anche le api danno indicazioni sensibili ed affidabili, così come la cera; mentre il miele è risultato l'indicatore peggiore.

2.6 FITOTOSSINE

Le fitotossine sono sostanze chimiche tossiche prodotte dalle piante a scopo di difesa contro gli animali erbivori, loro predatori. Tra le fitotossine è possibile includere gli alcaloidi pirrolizidinici, le tutine e le grayanotossine.

2.6.1 Alcaloidi pirrolizidinici (AP)

Gli AP sono metaboliti secondari prodotti da più di 6000 specie di piante, diffuse in tutto il mondo, principalmente appartenenti alle famiglie botaniche delle Boraginaceae (ad es. *Heliotropium* spp.), Asteraceae (ad es. *Senecio* spp.) e Fabaceae (ad es. *Crotalaria* spp.). La loro struttura chimica è formalmente derivata dalla pirrolizidina. I dati disponibili indicano che la tossicità degli AP su uomo e animali riguarda le molecole insature in posizione 1 e 2, che danno epatotossicità, tossicità dello sviluppo, genotossicità e cancerogenicità.

EFSA ha identificato una dose di riferimento per il rischio di cancerogenicità pari a un BMDL₁₀ di 237 µg/kg di peso corporeo al giorno, ed una dose di riferimento per il rischio acuto a breve termine pari a 2 mg/kg di peso corporeo al giorno, segnalando come le stime di esposizione identificassero un rischio reale per i consumatori elevati di tè ed infusi alle erbe.

A livello europeo, nella popolazione adulta, l'esposizione cronica media attraverso il consumo di miele varia tra 0,1 e 7,4 ng/kg di peso corporeo al giorno, mentre per i consumatori elevati (95° percentile) è risultato tra 0,4 e 17,6 ng/kg di peso corporeo al giorno. Una maggiore esposizione è stata stimata tra i consumatori di miele nella popolazione giovane, dove nei consumatori medi, le stime oscillavano tra 0,3 e 27 ng/kg di peso corporeo al giorno, e negli alti consumatori, tra 0,7 e 31,1 ng/kg di peso corporeo al giorno.

Al fine di valutare la rilevanza dei livelli di esposizione, EFSA ha utilizzato un approccio basato sul margine di esposizione (MOE) per calcolare gli effetti cumulativi genotossici e cancerogeni degli AP. Il modello prevede di giudicare di scarsa rilevanza ai fini della salute pubblica valori ≥ 10.000 . I livelli di esposizione cronica media calcolati in consumatori di miele acquistato al dettaglio hanno denotato MOE compresi tra $>1.000.000$ e 32.000 e tra 593.000 e 13.500, rispettivamente per gli adulti a consumo medio e al 95° percentile. Per i gruppi più giovani della popolazione, i MOE erano compresi tra 790.000 e 8.800, e tra 339.000 e 7.600, rispettivamente per il consumo medio e al 95° percentile. Allo stesso tempo, nei riguardi del rischio acuto, EFSA ha concluso che l'esposizione alimentare acuta alle PA attraverso il consumo di tè, infusi di erbe e miele costituisce un basso rischio, considerando che c'è un margine di oltre tre ordini di grandezza tra i livelli di esposizione e la dose nota più bassa associata a effetti avversi acuti sull'uomo.



Tenuto conto dei risultati ottenuti e delle incertezze legate alla limitazione dei dati a disposizione, EFSA raccomanda di ampliare le conoscenze al fine di definire misure incisive di gestione del rischio relativo al consumo di miele contaminato da AP.

2.6.2 Tutina

La tutina è una neurotossina prodotta da piante del genere *Coriaria* (Coriariaceae), diffuse in Nuova Zelanda. Il miele contaminato deriva dalla melata realizzata a partire da queste piante. I sintomi clinici comprendono vomito, nausea, sintomi neurologici, coma e morte. Il governo neozelandese ha fissato nel 2015 in 0,7 ml/kg il limite massimo tollerabile di tutina nel miele.

2.6.3 Graianotossina

La graianotossina è contenuta nel nettare di alcune piante appartenenti alla famiglia delle Ericaceae, comprendenti alcuni Rododendri che crescono sulle montagne della regione orientale del Mar Nero in Turchia e anche in Giappone, Nepal, Brasile e alcune parti del Nord America. In Europa sono presenti solo in alcuni giardini ornamentali, in quanto non autoctone. Le foglie, i rami, il polline e il miele che derivano da queste piante risultano tossici. I sintomi clinici comprendono vertigini, debolezza, nausea, vomito, disturbi del ritmo cardiaco, raramente la morte. Generalmente i sintomi scompaiono spontaneamente entro le 24 ore.

I mieli europei non hanno la possibilità di raggiungere livelli pericolosi di graianotossina.

2.6.4 Altre fitotossine

Altre fitotossine potenzialmente presenti nel miele derivano dalle seguenti piante:

- *Tripetaleia paniculata* e *Ledum (Rhododendron) palustre*;
- piante di *Datura* (dal Messico e dall'Ungheria);
- Fiori di *Atropa belladonna* e piante di *Hyoscamus niger* (dall'Ungheria);
- *Serjania lethalis* (dal Brasile);
- *Gelsemium sempervirens* (dal sud-ovest degli USA), che produce alcaloidi legati alla stricnina.

Sebbene la sintomatologia degli avvelenamenti da fitotossine nel miele possa differire a seconda della specifica tossina, i sintomi più comuni comprendono generalmente capogiri, nausea, vomito, convulsioni, mal di testa, palpitazioni, fino alla morte.

2.7 SOSTANZE PERFLUOROALCHILICHE (PFAS)

Sono composti organici formati da una catena alchilica di lunghezza variabile (in genere da 4 a 14 atomi di carbonio) totalmente fluorurata, e da un gruppo funzionale idrofilico, generalmente un acido carbossilico o solfonico.

I PFAS sono stati utilizzati a partire dagli anni '50 come emulsionanti e tensioattivi in prodotti per la pulizia, nella formulazione di insetticidi, rivestimenti protettivi, schiume antincendio e vernici. Sono impiegati anche nella produzione di capi d'abbigliamento impermeabili, in prodotti per stampanti, pellicole fotografiche e superfici murarie, in materiali per la microelettronica. Vengono usati inoltre nei rivestimenti dei contenitori per il cibo, come ad esempio quelli dei "fast food" o nei cartoni delle pizze d'asporto, nella produzione di politetrafluoroetilene (PTFE o teflon) (dalle note proprietà antiaderenti) e di nuovi materiali che hanno trovato applicazione in numerosi campi come quello tessile. Come conseguenza dell'estensiva produzione e uso dei PFAS e delle loro peculiari caratteristiche fisico-chimiche,

questi composti sono stati spesso rilevati in concentrazioni significative in campioni ambientali e in organismi viventi, incluso esseri umani.

Le molecole più utilizzate e studiate di questa famiglia sono l'acido perfluorooctanoico (PFOA) e l'acido perfluorooctansolfonico (PFOS), le cui strutture chimiche sono descritte nelle figure n. 7 e n. 8.

Figura n. 7: Acido perfluorooctanoico (PFOA)

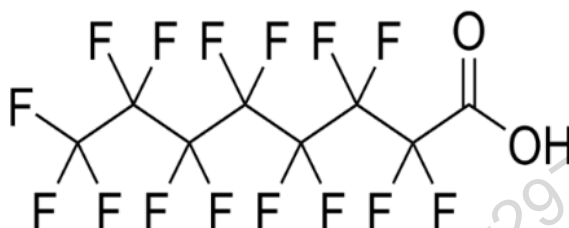
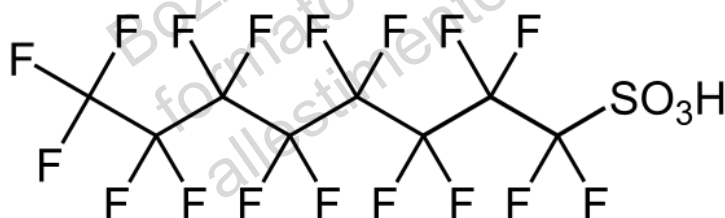


Figura n. 8: Acido perfluorooctano solfonato (PFOS)



Il PFOS e il PFOA possono accumularsi nell'organismo e occorrono perciò molti anni prima che l'organismo sia in grado di eliminarli.

Il pesce sembra essere un'importante fonte di esposizione umana al PFOA, sebbene i dati potrebbero essere influenzati dai risultati di studi in aree relativamente inquinate, che probabilmente sopravvalutano l'esposizione di pesci comunemente consumati. Esistono pochissimi dati, soprattutto per l'Europa, che possono servire da indicatori affidabili dell'esposizione alimentare a queste sostanze.

I dati provenienti da studi in animali da laboratorio testimoniano che PFOS e PFOA inducono tossicità epatica, con alterazione del metabolismo degli acidi grassi e lo sviluppo di tumori con meccanismo non genotossico.

PFOS e PFOA possono attraversare la barriera emato-encefalica, possono attraversare la placenta e quindi essere trasferiti al feto, possono anche essere trasferiti alla prole attraverso l'allattamento, sebbene i livelli registrati nel latte siano inferiori a quelli nel plasma materno.

Nel 2008 EFSA ha identificato in 0,03 mg/kg bw/day il NOAEL di PFOS, e lo ha considerato una base adatta per derivare una TDI pari a 150 ng/kg bw/day, applicando un fattore di incertezza globale (UF) di 200. Relativamente all'esposizione al rischio da PFOS, il gruppo di esperti scientifici CONTAM ha osservato che l'esposizione alimentare indicativa di 60 ng/kg bw/day è inferiore al TDI, ma che le persone più esposte all'interno della popolazione generale potrebbero superare leggermente questo TDI.

Riguardo a PFOA, EFSA ha identificato un NOAEL di 0,06 mg/kg bw/day, da cui è stata calcolata una TDI di 1,5 µg/kg bw/day. In questo caso, l'esposizione alimentare indicativa media e di alto livello è stata stimata in 2 e 6 ng/kg bw/day, ben al di sotto del TDI di 1,5 µg/kg bw/day.



Capitolo 3. Api e pesticidi

3.1 INTRODUZIONE

I prodotti fitosanitari, denominati anche fitofarmaci, agrofarmaci o semplicemente pesticidi, hanno la funzione di proteggere la salute delle piante. In base al tipo di avversità contro cui agiscono, vengono classificati in:

- Antiparassitari, tra i quali abbiamo gli insetticidi, gli acaricidi, i nematocidi, i molluschiocidi o limacidi;
- Anticrittogamici o fungicidi;
- Rodenticidi;
- Diserbanti o erbicidi;
- Fitoregolatori, rappresentati da prodotti di sintesi che, agendo su base ormonale, interferiscono sui processi naturali delle piante, ad esempio i radicanti;
- Fisiofarmaci, utilizzati in caso di disordini nutrizionali, idrici, climatici, di illuminazione;
- Repellenti, rappresentati da prodotti che, in virtù del loro odore/sapore, proteggono le coltivazioni da uccelli, conigli ecc.;
- Modificatori del comportamento, che modificano il normale comportamento degli insetti, come ad esempio avviene con i feromoni.

Per quanto concerne il loro impiego, è di fondamentale importanza utilizzarli in maniera appropriata, anche al fine di tutelare la salute dell'uomo (sia utilizzatore che consumatore), degli animali (es. api o altri insetti utili) ed ai fini della protezione ambientale più in generale.

3.2 LA SOSTENIBILITÀ DEI PESTICIDI

La Direttiva 2009/128/CE⁹, relativa all'uso sostenibile dei pesticidi, è la prima norma europea che individua, nella difesa integrata e nell'agricoltura biologica, i sistemi produttivi da incentivare per ridurre l'impatto dell'uso dei pesticidi sulla salute dell'uomo e sull'ambiente (inteso come complesso di organismi non bersaglio). In Italia tale direttiva è stata recepita con il Decreto Legislativo 14 agosto 2012, n. 150¹⁰, a cui è seguito il Decreto 22 gennaio 2014 sull'adozione del Piano Nazionale d'Azione per l'uso sostenibile

⁹ Direttiva 2009/128/CE del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. GU L 309 del 24/11/2009. [Modificata e integrata da atti successivi, di cui da ultimo dal Regolamento (UE) 2019/1243 del Parlamento europeo e del Consiglio del 20 giugno 2019. GU L 198 del 25/07/2019].

¹⁰ Decreto Legislativo 14 agosto 2012, n. 150. Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. GU n. 202 del 30-8-2012 - Suppl. Ordinario n. 177.

dei pesticidi (PAN)¹¹. Il PAN “si prefigge di guidare, garantire e monitorare un processo di cambiamento delle pratiche di utilizzo dei pesticidi verso forme caratterizzate da maggiore compatibilità e sostenibilità ambientale e sanitaria, con particolare riferimento alle pratiche agronomiche per la prevenzione e/o la soppressione di organismi nocivi. Il Piano si propone di raggiungere i seguenti obiettivi generali:

- ridurre i rischi e gli impatti dei pesticidi sulla salute umana, sull'ambiente e sulla biodiversità;
- promuovere l'applicazione della difesa integrata, dell'agricoltura biologica e di altri approcci alternativi;
- proteggere gli utilizzatori dei pesticidi. e la popolazione interessata;
- tutelare i consumatori;
- salvaguardare l'ambiente acquatico e le acque potabili;
- conservare la biodiversità e tutelare gli ecosistemi.

La contaminazione ambientale dei prodotti fitosanitari avviene in vari modi, tra cui:

- polveri generate durante la semina con sementi conciate;
- ripetuta applicazione sui suoli arabili e nelle acque a uso agricolo;
- dilavamento nelle acque superficiali e sotterranee;
- assorbimento dei pesticidi da parte delle piante non bersaglio attraverso le radici, con conseguente traslocazione a polline, nettare, gocce di guttazione, ecc.

Quanto emerso comprova la potenziale esposizione cronica e acuta degli organismi non bersaglio.

Alcuni pesticidi sono definiti sistemici in base alla possibilità di penetrare e diffondersi nella pianta. L'assorbimento può avvenire a livello di radici o foglie e richiede un certo tempo, di norma qualche ora, e una temperatura sufficientemente alta, indicativamente oltre i 12-15 °C. Questi pesticidi hanno una più lunga persistenza, una volta assorbiti non sono più dilavabili dalle piogge, e quindi conseguono una maggiore efficacia, potendo colpire il parassita anche nelle parti non direttamente raggiunte dal trattamento. Se tali prodotti vengono distribuiti in prefioritura possono successivamente contaminare nettare e polline compromettendo la salute delle api.

L'applicazione del principio di sostenibilità da parte delle autorità europee ha comportato negli ultimi anni l'applicazione di forti limitazioni d'uso per numerose molecole ritenute non idonee per i loro effetti tossici sull'uomo, sugli animali e sull'ambiente.

Grazie anche all'introduzione del principio di sostenibilità, nel contesto internazionale si riconosce che la UE abbia uno dei sistemi normativi più severi al mondo per quanto riguarda l'approvazione dei pesticidi. I criteri di approvazione, incentrati sulla tutela della salute umana, sulla tutela della salute degli animali e sulla tutela della salute dell'ambiente, sono prescritti dal Regolamento (CE) n. 1107/2009¹², il quale stabilisce anche i requisiti relativi alla tutela delle api.

¹¹ Ministero delle Politiche Agricole Alimentari e Forestali. Decreto 22 gennaio 2014. Adozione del Piano di azione nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n. 150 recante: «Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi». GU n.35 del 12/02/2014

¹² Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. GU UE L 309 del 24.11.2009.



Sulla base dei principi stabiliti, i prodotti fitosanitari possono essere approvati solo se il loro uso:

- provoca un'esposizione trascurabile per le api o
- non ha effetti acuti o cronici inaccettabili sulla sopravvivenza e sullo sviluppo delle colonie di api.

Coerentemente ai principi sanciti dal Regolamento quadro, le disposizioni che disciplinano le procedure di autorizzazione delle sostanze attive, contenute nei Regolamenti (UE) n. 283/2013¹³ e n. 284/2013¹⁴, fanno specifico riferimento alla tutela delle api.

Fra i pesticidi, particolare attenzione è stata ovviamente riposta verso gli insetticidi, il cui uso può essere possibile solo se l'esposizione verso le api non si verifica o è ridotta a livelli che non generano effetti dannosi.

Insetticidi organoclorurati, come il DDT, sono stati utilizzati in tutto il mondo prima che divenissero noti la persistenza, il bioaccumulo e gli impatti negativi sul funzionamento dell'ecosistema, oltre che sulla salute umana. In seguito, sono stati vietati in molti paesi.

Gli organofosfati sono stati in gran parte ritirati dal mercato a causa dei loro effetti, anche se costatati tardivamente, sulla salute umana e sulla fauna selvatica.

Un'analisi a parte meritano i neonicotinoidi e il fipronil. Questi fitofarmaci sistemici ci stanno a testimoniare le conseguenze indotte da metodologie di valutazione del rischio poco adeguate, a cui conseguono misure regolamentarie inefficaci.

Circa un terzo del mercato globale degli insetticidi (in termini monetari nel 2010) è costituito dai neonicotinoidi e dal fipronil; questi possono essere usati nelle coltivazioni agricole e in quelle orticole e forestali, mediante concia dei semi, trattamento fogliare, trattamento del terreno o iniettandoli nel tronco. Inoltre, sono ampiamente utilizzati come antiparassitari e contro altri insetti vettori di malattie negli animali da compagnia, nel bestiame e nei pesci da allevamento. Vengono utilizzati anche nella disinfestazione urbana e domestica e per conservare il legname. Sono contemporaneamente applicati in centinaia di colture, tra cui figurano anche i principali prodotti agricoli commerciati. Data la loro natura sistemica, i neonicotinoidi, il fipronil (anche se in misura minore) e i relativi metaboliti tossici vengono assorbiti dalle radici o dalle foglie, e quindi traslocati in tutte le componenti vegetali (foglie, fiori, radici e steli, nonché polline e nettare).

L'utilizzo massiccio e le proprietà intrinseche di questi composti hanno causato un'estesa contaminazione di terreni agricoli, acqua dolce, paludi, vegetazione non bersaglio, ecosistemi vari, al punto che oggi si trovano in tutti i comparti ambientali, quali terreno, acqua e aria. Entrambi i pesticidi hanno un impatto sia letale che subletale, non solo sugli invertebrati, ma anche su alcuni vertebrati.

In generale, la letteratura esistente dimostra chiaramente che l'attuale livello di inquinamento dovuto all'uso autorizzato di neonicotinoidi e fipronil spesso eccede il livello di concentrazione minima nociva, per un ampio gruppo di specie non bersaglio. Inoltre, è provato che questi composti chimici hanno impatti negativi sia a livello biologico sia ecologico. La combinazione tra uso profilattico, persistenza, mobilità e tossicità cronica, potrebbe avere effetti sostanziali sulla biodiversità e sul funzionamento degli ecosistemi.

¹³ Regolamento (UE) n. 283/2013 della Commissione, del 1° marzo 2013, che stabilisce i requisiti relativi ai dati applicabili alle sostanze attive, conformemente al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari. GU UE L 93 del 3.4.2013, pagg. 1-84

¹⁴ Regolamento (UE) n. 284/2013 della Commissione, del 1° marzo 2013, che stabilisce i requisiti relativi ai dati applicabili ai prodotti fitosanitari, conformemente al regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari. GU UE L 93 del 3.4.2013, pagg. 85-152

Tutti gli studi esaminati nel Worldwide Integrated Assessment indicano che l'attuale livello di utilizzo di neonicotinoidi e fipronil non rappresenta un approccio sostenibile alla lotta antiparassitaria. Inoltre, esso compromette tutte quelle azioni mirate a preservare la biodiversità, le funzioni e i servizi ecosistemici attuati da numerosi organismi. Negli ambienti agricoli attuali, risulta sempre più evidente che i trattamenti mediante questi principi attivi, così come la loro applicazione profilattica, siano incompatibili con i principi della lotta antiparassitaria integrata.

Finalmente, nel 2012, nuovi studi scientifici hanno indicato che l'uso di alcuni insetticidi neonicotinoidi e del fipronil era incompatibile con la salute delle api e degli altri insetti pronubi.

La loro spiccata tossicità verso gli insetti riguarda il sistema nervoso centrale, con paralisi e morte. Sono impiegati anche in applicazioni veterinarie per il controllo delle zecche e delle pulci in animali domestici.

Nel 2013 la Commissione ha severamente limitato l'uso di tre neonicotinoidi (clothianidin, imidacloprid e thiamethoxam) per proteggere le api (Regolamento (UE) n. 485/2013¹⁵). A seguito del parere espresso da EFSA, la Commissione nel 2018 ha vietato completamente l'uso all'aperto delle tre sostanze attive, che quindi possono essere utilizzate solo all'interno di serre. Alla luce di queste restrizioni, i richiedenti il rinnovo dell'approvazione di clothianidin e thiamethoxam hanno ritirato le loro domande. Di conseguenza, l'approvazione di queste sostanze è scaduta rispettivamente il 31 gennaio 2019 e il 30 aprile 2019. Per quanto riguarda imidacloprid, il termine per la presentazione della domanda di rinnovo dell'autorizzazione è il 31 gennaio 2020 e la data di scadenza è il 31 luglio 2022.

A febbraio 2018 l'EFSA ha definitivamente stabilito che la maggior parte degli usi dei pesticidi neonicotinoidi sono rischiosi per le api selvatiche e quelle mellifere. L'Autorità ha aggiornato le proprie valutazioni del rischio relative ai tre neonicotinoidi clothianidin, imidacloprid e thiamethoxam, attualmente soggetti a restrizioni nell'UE.

Per quanto riguarda il fipronil, la Commissione europea, con il Regolamento 781/2013¹⁶, ne ha proibito l'uso nel trattamento di sementi.

3.3 LA DIFESA INTEGRATA IN AGRICOLTURA

Per difesa integrata si intende una strategia che consente di limitare i danni derivanti dai parassiti delle piante, utilizzando tutti i metodi e le tecniche disponibili nel rispetto dell'ambiente e della salute dell'uomo. Mentre la difesa chimica a calendario, ora vietata, mira all'eliminazione dell'agente di danno, la difesa integrata si propone di raggiungere un equilibrio economicamente vantaggioso per l'agricoltore e rispettoso dell'uomo e dell'ambiente. La difesa esclusivamente chimica richiede interventi costanti e sempre più frequenti, ha efficacia di breve durata ed aumenta il rischio di resistenza. La difesa integrata, invece, non induce resistenza, ha un'elevata sostenibilità ed un'efficacia di lunga durata.

La normativa prevede due livelli di applicazione della difesa integrata: uno volontario ed uno obbligatorio. Il secondo coinvolge tutte le aziende agricole e, più in generale, tutti gli utilizzatori pro-

¹⁵ Regolamento di esecuzione (UE) n. 485/2013 della Commissione, del 24 maggio 2013, che modifica il regolamento di esecuzione (UE) n. 540/2011 per quanto riguarda le condizioni di approvazione delle sostanze attive clothianidin, thiametoxam e imidacloprid, e che vieta l'uso e la vendita di sementi conciate con prodotti fitosanitari contenenti tali sostanze attive. GU UE L 139 del 25/05/2013.

¹⁶ Regolamento di esecuzione (UE) n. 781/2013 della Commissione, del 14 agosto 2013, che modifica il regolamento di esecuzione (UE) n. 540/2011 per quanto riguarda le condizioni di approvazione della sostanza attiva fipronil e che vieta l'uso e la vendita di sementi trattate con prodotti fitosanitari contenenti tale sostanza attiva. GU UE L 219 del 15/08/2013.



fessionali di pesticidi. Il Manuale di Difesa Integrata del MIPAAF, “Guida per l’applicazione dei principi generali della difesa integrata obbligatoria definiti dall’allegato III della direttiva 2009/128/C”, fornisce una prima guida di applicazione.

A partire dal 1° gennaio 2014 la difesa integrata è diventata obbligatoria, attuabile su larga scala. La sua applicazione si basa sul principio della sostenibilità e prevede una strategia di protezione delle colture che unisce, efficacia a convenienza, oltre che il rispetto dell’ambiente e la sicurezza del prodotto.

Per l’applicazione di questa strategia sono essenziali delle conoscenze di base ed un costante impegno in campo per monitorare lo stato di salute della coltivazione.

Gli interventi, essendo decisi in base ad un attento calcolo dei costi, realizzano un vantaggio economico nel lungo periodo, determinato sia da un minor numero che da un minor costo degli stessi.

Si devono utilizzare i metodi che hanno i minori effetti indesiderati sulle superfici e sulle specie non bersaglio, tra cui gli impollinatori.

Con la difesa integrata si riducono anche i rischi per la salute dell’operatore. L’agricoltore diventa protagonista attivo decidendo, sulla base di elementi certi, quando e come intervenire.

Lo scopo è il mantenimento ed il rafforzamento degli equilibri naturali.

Il primo passo è quello di interferire sulle condizioni che favoriscono lo sviluppo e la diffusione degli organismi dannosi. In questo senso, l’aumento di biodiversità comporta un aumento di equilibrio. A tali fini è previsto l’utilizzo di cultivar resistenti/tolleranti certificate se disponibili, l’applicazione di strategie diverse di semina e trapianto, l’esecuzione di consociazioni, rotazioni ecc. Da alcuni anni è stato messo in evidenza come l’allestimento di bordure e siepi, utilizzando piante nettariifere (es. borragine), determini un incremento significativo di organismi quali impollinatori ed altri insetti utili, i quali svolgono un ruolo importante contribuendo a mantenere le colture in buono stato vegeto-produttivo e garantendo l’equilibrio dell’agro-ecosistema.

Le colture devono essere costantemente tenute sotto controllo, prevedendo l’esecuzione di eventuali interventi solo dopo aver accertato l’effettiva presenza e la consistenza dell’agente di danno. Cade quindi completamente l’approccio di una difesa predeterminata a calendario, ed è altresì previsto un monitoraggio eseguito mediante il campionamento visuale ed il campionamento con trappole.

Alla fase di monitoraggio segue la valutazione della convenienza economica di un intervento, pilastro portante della difesa integrata. Si può optare per i metodi di controllo delle avversità solamente se le misure preventive adottate non si dimostrano sufficienti. I metodi di lotta devono garantire le migliori condizioni di sostenibilità dal punto di vista della salute umana e della protezione dell’ambiente. I metodi di controllo delle avversità possono essere di tipo non chimico o chimico. Solo nel caso in cui i primi non siano in grado di garantire un adeguato controllo degli organismi nocivi si potrà ricorrere all’utilizzo dei mezzi chimici.

A differenza della difesa biologica, la difesa integrata prevede anche l’uso del mezzo chimico di sintesi per mantenere l’agente di danno al di sotto della soglia di intervento.

3.4 METODI DI CONTROLLO NON CHIMICO

Fra i mezzi di controllo non chimico, i mezzi biologici sono altamente sostenibili e specifici, come ad es. l’impiego di antagonisti degli insetti/funghi e di piante resistenti/tolleranti.

I mezzi agronomici consistono in interventi tecnici specifici, come ad es. la potatura e lavorazioni varie. I mezzi fisici e meccanici consistono in interventi quali l’utilizzo di reti antinsetto.

3.5 METODI DI CONTROLLO CHIMICO

Secondo la direttiva 2009/128/UE e il regolamento europeo 1107/2009¹⁷ sull'immissione in commercio dei pesticidi, la scelta della sostanza attiva da utilizzare deve essere indirizzata verso quelle che, oltre ad essere dotate di un'adeguata efficacia, siano quanto più possibile selettive (non attive verso gli organismi utili, tra cui gli impollinatori) ed abbiano effetti minimi sulla salute umana e sull'ambiente; inoltre va limitato o evitato l'uso dei pesticidi che contengono sostanze attive classificate, a livello europeo, come "candidate alla sostituzione".

Sono disponibili mezzi chimici diversi:

- mezzi chimici bio-tecnici, come molecole derivate da organismi biologici, dotate di elevata specificità di azione e basso impatto ambientale, come ad es. i feromoni sessuali e le tossine del *Bacillus thuringiensis*;
- mezzi chimici propriamente detti, prodotti la cui sostanza attiva è costituita da molecole di sintesi o naturali, la cui scelta dovrebbe privilegiare quelli aventi un minor impatto verso l'uomo e l'ambiente, limitando quelli ad ampio spettro, preferendo quelli più selettivi.

Vanno considerate anche le modalità di applicazione del mezzo chimico, in quanto possono aumentare di molto la sua selettività. Diventa strategico poter effettuare interventi localizzati, possibili solo grazie ad una costante presenza in campo e ad un'attenta valutazione dell'andamento delle infestazioni. Per evitare fenomeni di resistenza, quando un prodotto si dimostra estremamente efficace, è bene evitarne un utilizzo smodato per non comprometterne l'efficacia. Può essere indicato l'impiego di miscele, per es. contro alcuni funghi, così come può essere opportuno ricorrere ad un'alternanza di prodotti, meglio se caratterizzati da meccanismi d'azione differenti.

3.6 LINEE GUIDA EFSA IN MERITO ALL'ESPOSIZIONE DELLE API AI PESTICIDI

La crescente attenzione dell'opinione pubblica verso le problematiche ambientali ed il forte collegamento con il mondo delle api ha portato la Commissione Europea a richiedere un parere scientifico all'Agenzia Europea per la Sicurezza Alimentare (European Food Safety Authority – EFSA) al fine di valutare i potenziali rischi per gli apoidei in merito all'uso dei pesticidi. L'EFSA ha quindi pubblicato nel luglio 2013 il suo parere fornendo delle vere e proprie linee guida per valutare i potenziali rischi per le api da miele, i bombi e le api solitarie conseguenti all'uso di pesticidi.

Tali linee guida tengono conto non solo dei rischi derivanti dall'esposizione acuta, ma anche a quelli derivanti dalla esposizione cronica o ripetuta ai pesticidi, sia sugli adulti che sulle larve delle api (tossicità cronica e cumulativa). Inoltre, non solo vengono prese in considerazioni le api domestiche, ma anche i bombi e gli Apoidei solitari.

Il processo di valutazione del rischio proposto si basa su due elementi principali:

- una valutazione preliminare dell'esposizione, in base alla concentrazione ambientale del prodotto alla quale le api possono essere esposte;

¹⁷ Regolamento (CE) n. 1107/2009 del Parlamento europeo e del Consiglio, del 21 ottobre 2009, relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. GU L 309 del 24/11/2009. [Modificato e integrato da atti successivi, di cui da ultimo dal Regolamento (UE) 2018/605 della Commissione del 19 aprile 2018. GU L 101 del 20/04/2018].



- una valutazione del livello massimo accettabile di danno che può essere causato alle api rispetto a una serie di indicatori direttamente correlati alla forza della colonia.

Per l'ape mellifera sono stati individuati i seguenti indicatori:

- sopravvivenza e sviluppo delle colonie;
- salute delle larve;
- comportamento delle api adulte;
- quantità delle api (ad esempio, una riduzione superiore al 7% delle dimensioni della colonia, è da ritenere inaccettabile);
- capacità di riprodursi.

Per i bombi e le api solitarie, partendo dai dati utilizzati per *Apis mellifera*, si devono applicare ulteriori fattori di sicurezza che tengono conto delle differenze nella sensibilità ai pesticidi e di elementi quali il comportamento in fase di alimentazione e allevamento. In particolare, vengono prese in considerazione le seguenti vie di esposizione:

- il contatto con spray o particelle sottoforma di pulviscolo particolato di pesticida che le api potrebbero assumere durante le fasi di foraggiamento;
- il consumo di polline;
- il consumo di nettare;
- il consumo di acqua (liquido di guttazione, acque di superficie e pozzanghere);
- la esposizione ai metaboliti dei pesticidi che possono essere rinvenuti sia nel polline che nel nettare.

Le linee guida EFSA propongono modelli di valutazione del rischio a più livelli, per ciascuno dei quali dovrà essere comunque raggiunto un idoneo livello di protezione per le api.

Il primo livello ha lo scopo di individuare i prodotti fitosanitari che hanno un rischio trascurabile per le api, per i quali non è necessario effettuare ulteriori test. Livelli superiori più complessi, invece, dovranno prevedere anche ulteriori studi di campo e semi-campo, ovvero studi condotti all'esterno di un laboratorio utilizzando ambienti circoscritti quali gabbie o tunnel.

Il rischio potenziale viene determinato valutando i seguenti dati:

- tossicità acuta da contatto per gli adulti, espressa in $\mu\text{g}/\text{ape}$ (LD50);
- tossicità orale acuta per gli adulti, espressa in $\mu\text{g}/\text{ape}$ (LD50);
- tossicità orale cronica per gli adulti (inclusa una valutazione degli effetti sulle ghiandole ipofaringee - HPGs), espresse in $\mu\text{g}/\text{ape}$ al giorno (10-d LD50 e NOEL per HPG);
- tossicità per le larve nel periodo di sviluppo, espressa in $\mu\text{g}/\text{larva}$;
- considerazione dei potenziali effetti cumulativi.

Dopo una prima fase di sperimentazione ed in seguito a sollecitazioni da parte della Commissione Europea, l'EFSA ha attivato procedure per la revisione di queste linee guida (luglio 2019). Sulle revisioni proposte, i rappresentanti dei diversi Stati Membri dovranno esprimere il proprio parere. A tal fine è stato istituito un gruppo consultivo presso l'EFSA, con lo scopo di raccogliere le diverse informazioni e coordinare la revisione.

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Capitolo 4. Esposizione ai pesticidi di *Apis mellifera*

4.1 INTRODUZIONE

Le api sono particolarmente esposte alla contaminazione da pesticidi impiegati in agricoltura, sia per la loro capacità di bottinare su una vasta area intorno all'alveare e sia per l'alta organizzazione sociale di cui godono, la quale, in seguito ad una contaminazione con pesticidi, potrebbe essere compromessa con ripercussioni più complesse rispetto ad altri insetti non sociali.

4.2 MODALITÀ DI CONTATTO TRA L'APE ED I PESTICIDI

La contaminazione non intenzionale delle api, del miele e degli altri prodotti dell'apicoltura da residui di pesticidi è causata da trattamenti in contesti agricoli (trattamenti alle colture vegetali), zootecnici (trattamenti su altri animali da allevamento), od urbani (es. per la lotta alle zanzare oppure sui pets) effettuati nell'area prospiciente gli alveari. La versatilità d'uso di molte sostanze attive rende talvolta molto difficile identificare le fonti di contaminazione.

Insetticidi, organoclorurati, organofosforati e carbammati sono stati oggetto di monitoraggio nel miele e negli altri prodotti dell'apicoltura. Sebbene la percentuale di campioni positivi sia relativamente alta, in assenza di sintomatologia evidente sulle api, la quantità rilevata è generalmente bassa.

I prodotti dell'apicoltura sono spesso anche contaminati da residui di fungicidi ed erbicidi. I piani nazionali di monitoraggio svolti in Europa, oltre ai residui di antiparassitari decritti sopra, segnalano in particolare il riscontro di non conformità conseguenti a vinclozin, un fungicida, e ad acetamiprid, un insetticida neonicotinoide utilizzato nelle colture agricole, ma anche in trattamenti domestici contro formiche e altri insetti.

Gli LMR di riferimento per le verifiche sul miele, rappresentati in pratica dagli stessi limiti di determinazione analitica, sono considerati sufficientemente restrittivi ai fini della salute umana. In aggiunta, le non conformità rilevate ci consentono di poter affermare che il grado di esposizione al rischio correlato con il consumo umano di miele, polline, pappa reale e propoli è relativamente basso. La stessa cosa non possiamo sempre affermarla per le api. Le api sono infatti molto più esposte ai prodotti fitosanitari, tanto che l'utilizzo intensivo di questi ausili sta diventando una problematica sempre più considerevole per il mondo dell'apicoltura.

Relativamente ai fitosanitari impiegati nelle colture agricole, le api possono venirne a contatto in diversi modi:

- essendo direttamente investite dal trattamento;
- raccogliendo nettare, melata, polline, propoli sulle colture trattate o contaminate per effetto deriva, sul cotico erboso fiorito;
- raccogliendo rugiada e acqua di guttazione sulle colture trattate o contaminate per effetto deriva;
- raccogliendo acqua contaminata da pozzanghere o canali di scolo;
- intercettando con i peli che ricoprono la cuticola le particelle in sospensione atmosferica sorvolando le zone trattate;
- la covata può essere esposta all'azione degli agrofarmaci anche per contatto attraverso la cera e per ingestione di polline stoccato (pane d'api).

A prescindere dal principio attivo, molti sono i fattori che influiscono sugli effetti tossici prodotti dall'uso di un pesticida. Lo stesso prodotto tossico può essere distribuito sotto varie forme, la più comune delle quali è quella liquida. Anche la maggioranza delle formulazioni polverulente vengono distribuite in mezzo liquido.

In generale si può affermare che più un principio attivo è diluito, minore è il rischio. Il rischio a sua volta, può essere ulteriormente contenuto a seconda della natura del diluente e degli additivi. Alcune sostanze oleose aggiunte agli spray (oli minerali, xilene) ne riducono la pericolosità per le api. Ciò sembra avvenire per un supposto effetto repulsivo, oppure perché facilitano il rapido assorbimento del principio attivo da parte della pianta, riducendo per i pronubi le possibilità di contaminazione.

Se però le polveri vengono distribuite tali e quali, i principi attivi che contengono possono divenire molto pericolosi per la loro lunga persistenza sulle piante e sull'ape. Il corpo di quest'ultima è infatti particolarmente adatto a raccogliere un prodotto anch'esso polverulento: il polline. Le bottinatrici che si imbrattano il corpo di veleno, lo raccolgono nelle cestelle e lo trasportano all'interno dell'alveare, dove potrà esplicare la sua azione tossica anche dopo molto tempo.

Determinante è anche la dimensione del particolato e lo stato fisico con cui è distribuito. In questo caso si evidenziano due fenomeni determinanti per la definizione del livello di rischio: da un lato la possibile deriva del prodotto fitosanitario causata dalle correnti aeree e dalla pressione di applicazione, dall'altro l'attitudine delle api a raccogliere ogni sorta di materiali polverulenti. Un prodotto subisce una deriva tanto maggiore quanto più minuto è il suo stato fisico e quanto maggiori sono la pressione e l'altezza a cui è distribuito.

In genere i formulati granulari (0,5-1 mm) risultano i meno pericolosi in quanto vengono somministrati direttamente al terreno, non subiscono deriva e la loro dimensione grossolana non induce le api a raccogliarli. Di contro, la formulazione in polveri e micro-incapsulati rappresentano il maggior veicolo di rischio. Le microcapsule possono avere dimensioni simili a quelle del polline (30-40 μm), inducendo le bottinatrici a raccogliercle e a portarle in alveare. Queste formulazioni sono ideate per rilasciare le molecole di fitofarmaco lentamente, così a carico della colonia si riscontra una mortalità di individui differita nel tempo, che può perdurare anche per 19 mesi. In questo caso i maggiori danni sono a carico della covata, per cui si assiste ad un lento e progressivo spopolamento dell'alveare, senza peraltro notare una significativa mortalità di adulti. La pericolosità degli spray, generalmente intermedia fra le due appena citate, è funzione della dimensione delle particelle e della concentrazione del principio attivo.

Anche fattori ambientali come vento, temperatura ed umidità possono influire sulla tossicità di un pesticida. Ad esempio, la tossicità del fluvalinate a temperature relativamente basse aumenta del 30%.

In commercio si trovano anche insetticidi "incapsulati", il cui principio attivo è inserito all'interno di minuscoli granelli di plastica o gomma porosa, di dimensioni simili a quelle dei granuli pollinici (20-40 μm). Questi preparati hanno la caratteristica di liberare nell'ambiente la sostanza insetticida di cui sono impregnati molto lentamente, permettendo quindi di ridurre il numero dei trattamenti, in particolare contro generazioni sfasate nel tempo di uno stesso insetto. Si è però scoperto quasi subito che gli insetticidi microincapsulati possono indurre devastanti effetti nell'alveare, in quanto la microcapsula è di dimensioni simili al granulo di polline che le api bottinatrici raccolgono. Il capostipite di questo gruppo è stato il Penncap M., che aveva come principio attivo il metil-parathion. Thurbner nel 1978 osservò che il Penncap M. poteva essere tossico all'interno dell'alveare anche dopo 27 mesi dal suo impiego! Negli ultimi anni molti altri prodotti microincapsulati di nuova generazione sono apparsi sul mercato. Questi sono dei polimeri, della dimensione di 10-15 μm , che rilasciano lentamente le sostanze attive in essi contenute quando la pellicola d'acqua che le avvolge si asciuga. Le prove sugli effetti verso le api di queste formulazioni di pesticidi sono fra loro contraddittorie. In alcune ricerche si afferma che non esistono marcate differenze fra i diversi prodotti microincapsulati e fra questi e i formulati tradizionali, mentre in altre si sostiene il contrario. Tali formulati sono stati molto impiegati



per i trattamenti viticoli contro lo *Scaphoideus titanus*, il vettore della flavescenza dorata della vite, determinando nei primi anni del 2000, soprattutto in Piemonte e in Emilia-Romagna, forti mortalità di api perché gli interventi, eseguiti prima della fine della fioritura, favorivano il trasporto all'interno dell'alveare del polline di vite con le micidiali microcapsule.

Anche gli IGR (Insecticides Growth Regulators) sono prodotti utilizzati in agricoltura ormai da molti anni. Il loro scopo è quello di colpire processi fisiologici e strutture tipiche degli invertebrati salvaguardando, in questo modo, gli altri organismi utili. La loro azione si esplica sui processi di sviluppo e metamorfosi, ragione per cui sono chiamati "regolatori di crescita"; agiscono più lentamente, ma sono più selettivi rispetto ad altri insetticidi. Alcuni di questi prodotti sono però stati incolpati di indurre alterazioni nella metamorfosi degli stadi giovanili dell'ape e di provocare malformazioni su adulti di operaie e malformazioni a carico delle api regine.

Alcune tecniche di semina hanno dimostrato di amplificare la diffusione dei prodotti fitosanitari, esponendo le api a rischi inaccettabili.

La semina a file è una tecnica mediante la quale le sementi vengono posizionate nel terreno meccanicamente e poi ricoperte. Prima dell'avvento delle seminatrici, le sementi venivano generalmente piantate a mano. Vengono impiegate seminatrici pneumatiche di precisione utilizzando l'aria in depressione e un disco selettore, che consentono loro di prelevare e depositare un solo seme alla volta. In questa soluzione tecnologica è un ventilatore centrifugo ad assicurare la depressione. La depressione, però, fa sì che la ventola aspiri anche piccole particelle di polvere e particolato. Lo sfregamento di queste con le pellicole di concia delle sementi genera delle polveri che vengono poi emesse dalla ventola e disperse nell'aria. L'aria emessa dalle seminatrici con all'interno il particolato ha una temperatura generalmente superiore alla temperatura atmosferica, questo comporta che l'aria emessa, e con essa le polveri disperse, tende ad alzarsi e a diffondersi e non a depositarsi sul terreno. Si ha, quindi, lo sviluppo di nubi di polvere contenente frammenti di concia che si disperdono in una vasta area, anche oltre 20 metri attorno alla seminatrice e per più di 3 metri di altezza. Le api, durante i loro voli di bottinamento, possono incappare in queste polveri di insetticida con esiti subletali e/o letali per esse.

La contaminazione può avvenire anche a notevole distanza dal campo trattato, a causa dell'effetto deriva provocato da condizioni climatiche non ottimali per il trattamento (presenza di vento). Il contatto indiretto con residui di principio attivo sulla vegetazione è un'altra via di esposizione delle bottinatrici in campo, il cui rischio, in funzione del tempo di persistenza della molecola utilizzata, può essere anche molto prolungato nel tempo. Il trattamento delle sementi (concia) di diverse colture con alcuni insetticidi, in particolare neonicotinoidi, può determinare un pericolo per le api paragonabile a quello delle formulazioni spray. La proprietà di molti pesticidi di essere traslocati per via sistemica a tutte le parti della pianta, come i neonicotinoidi, implica un altro possibile pericoloso scenario per le api bottinatrici che possono essere contaminate bottinando nettare, polline, melata e acqua di guttazione. Le alte concentrazioni riscontrate in quest'ultima matrice sarebbero in grado di provocare effetti tossici nelle api adulte, benché almeno in Italia sul mais, questa fonte di approvvigionamento di acqua non è risultata attrattiva per le bottinatrici, diversamente da altri Paesi dove, su melone e colza, è stata dimostrata la frequentazione delle api.

La contaminazione di polline e nettare, comunque, è da considerarsi come la principale via di esposizione delle bottinatrici in campo. La presenza nel polline dei principi attivi usati durante il trattamento alle colture è stata verificata in numerosi casi, come ad esempio: trattamenti spray nei frutteti, trattamenti concianti di mais e girasole o trattamenti al terreno nello zucchini. L'elevata persistenza nel suolo di molecole come l'imidacloprid, usato nella concia, può inoltre determinare l'assorbimento e la traslocazione fino al polline, in piante non trattate ma coltivate su terreno contaminato, anche a distanza di molti mesi.

Nelle analisi condotte per valutare la qualità dei mieli partecipanti al concorso nazionale "Grandi mieli d'Italia" (Premio Giulio Piana) del 2012, i residui di neonicotinoidi, i pesticidi probabilmente più impiegati in questi ultimi anni, sono stati riscontrati in circa il 15% dei campioni analizzati.

La pericolosità di un prodotto è in relazione anche alla morfologia fiorale. In seguito a trattamenti fitosanitari, l'inquinamento dei nettari dei fiori di melo, ad esempio, è decisamente superiore a quelli dei fiori di medica. Infatti, questi ultimi hanno l'apparato nettario in posizione molto più profonda e protetta di quanto avvenga nel fiore del melo. Anche la distanza tra luogo di bottinamento e apiario gioca un ruolo importante. Se questa è breve, le api potrebbero trasportare nettare e polline contaminati anche in maniera elevata, senza immediate conseguenze letali, permettendo di accumulare residui di pesticidi nell'alveare. Quantità elevate di questi residui presenti nel polline e nel nettare determinano un rischio di esposizione significativo per le api di casa, per la covata, per i fuchi e per la regina. Numerosi studi hanno, infatti, evidenziato la grande diversità di principi attivi che può essere ritrovata analizzando le matrici dell'alveare come polline fresco, polline stoccato (o pane d'api) e cera. Quelli più frequentemente ritrovati sono acaricidi per uso apistico, seguiti da fungicidi e insetticidi di tutte le classi chimiche. Il rischio di esposizione all'interno dell'alveare è quindi correlato principalmente alla quantità di polline ingerito. Per questo motivo si ipotizza che le api nutrici e le larve siano le più esposte al rischio di ingerire residui di pesticidi. Analogamente, anche i fuchi e la regina possono essere contaminati attraverso il cibo, anche se gli studi su queste due caste sono ancora limitati rispetto a quelli riguardanti le api operaie, per la difficoltà di esecuzione delle sperimentazioni.

Nel trasporto sistemico di alcuni principi attivi all'interno della pianta, le molecole originarie vengono metabolizzate dal sistema di detossificazione e degradate in altri composti. Un fenomeno simile ha luogo anche all'interno del corpo delle api che vengano in contatto con il composto di partenza. In alcuni casi i metaboliti possono risultare anche più tossici rispetto al composto di partenza. I metaboliti sono in grado di raggiungere in modo sistemico tutti i tessuti della pianta trattata e di contaminare risorse nutritive importanti per le api.

4.3 TOSSICITÀ SULLE API DEI PESTICIDI

Le modalità con cui l'ape può essere avvelenata sono fondamentalmente due: ingestione e contatto, separatamente od associate.

In generale, per esercitare la sua tossicità nei confronti dell'insetto, la molecola di fitofarmaco deve penetrare nel lacunoma e, se la sua azione è per contatto, superare la cuticola, se viene ingerito oltrepassare la parete intestinale, o gli spiracoli del sistema respiratorio se agisce per asfissia. Quindi si diffonde nell'emolinfa e raggiunge il sistema nervoso, penetrando la guaina mielinica che avvolge i nervi. I segni clinici dipendono dal meccanismo d'azione del principio attivo.

Non tutti i pesticidi sono tossici o pericolosi per le api in egual misura, inoltre, una valutazione a parte andrebbe eseguita sugli Apoidei selvatici. Fino a poco tempo addietro, i dati relativi a questa categoria erano desunti dagli studi inerenti le api, più di recente, in Europa, ci si sta adoperando per la messa a punto di test specifici da eseguire su questi importanti insetti, così da evidenziare la tossicità dei diversi pesticidi, che varia anche in relazione alla taglia del pronubo.

In generale si può valutare la tossicità sia dei pesticidi, che della formulazione tal quale. Si suole misurare ed esprimere la tossicità acuta, tralasciando quella cronica e quella determinata da dosi sub-letali (la prima è facilmente misurabile, a differenza delle altre due che sono invece difficilmente osservabili e quantificabili).

È possibile classificare la pericolosità dei pesticidi nei confronti delle api in relazione alla tossicità acuta (DL 50) ed alla tossicità residuale (RT 25). Questi due parametri sono stati ricavati sperimentalmente: il primo rappresenta la dose letale di principio attivo che provoca la mortalità del 50% degli individui testati; il secondo rappresenta il tempo di decadimento del principio attivo necessario per ridurre la mortalità del 25%. Un utilizzo congiunto di questi due parametri nella valutazione della tossicità di un fitofarmaco consente di formulare un giudizio attendibile, ma tuttavia incompleto, dal momento che non viene affatto considerata la tossicità cronica. Quest'ultima, è quella determinata da dosi sub-letali, i cui danni sono difficilmente rilevabili.



Le molecole dei pesticidi possono essere raggruppate in tre classi di pericolosità per le api:

- alta tossicità – da non usare in presenza di fioriture né in presenza di api;
- media tossicità – con RT 25 relativamente alto, da usare solo dopo il tramonto;
- bassa tossicità – da usare preferibilmente al mattino presto o nelle ore di inattività delle api.

Tabella n. 2: Tossicità dei pesticidi sulle api parametrata sulla base della DL50

DL50 ($\mu\text{g} = \text{g } 10^6$)	Tossicità
≥ 100	praticamente non tossico
$\leq 99,99$	debolmente tossico
$\leq 10,99$	moderatamente tossico
< 2	altamente tossico

(Fonte: Accorti, 2000)

Tabella n. 3: Tossicità dei pesticidi sulle api parametrata sulla base della RT25

RT25 (ore)	Tossicità
< 2	minimo rischio con api in volo
$2 < h < 8$	minimo rischio dopo il tramonto
> 8	mai in fioritura

(Fonte: Accorti, 2000)

4.4 EFFETTI DI TOSSICITÀ CRONICA O SUB-LETALE DEI PESTICIDI SULLE API

Al di là della tossicità acuta, i pesticidi sono responsabili, evidentemente, di effetti sub-letali, effetti cronici, determinabili anche per sinergia fra diversi stressors, ancora poco studiati.

Gli effetti sub-letali dei fitofarmaci possono determinare anche altre modificazioni nello sviluppo e nel comportamento delle api:

- deficit nella termoregolazione (piretroidi: deltametrina);
- alterazioni dello sviluppo morfologico delle regine (coumaphos, fluvalinate);
- diminuzione dell'accettazione e della fertilità delle regine (piretroidi: bifentrina e deltametrina);
- riduzione della vita media degli adulti (dimetoato e fenoxycarb) e quindi un passaggio prematuro dal ruolo di nutrici ad altri ruoli funzionali all'interno dell'alveare con ripercussioni nell'allevamento della covata;
- malformazioni a carico della covata, come nel caso del fenoxycarb, regolatore della crescita (IGR) apparentemente innocuo per le api adulte;
- abbassamento delle difese immunitarie.

L'equipe del dottor Delbac del CNRS francese ha evidenziato, tramite studi di comparazione, l'ef-

fetto sinergico di *Nosema ceranae* e dosi sub-letali dell'insetticida fipronil nel determinismo di una più alta prevalenza di mortalità nelle api. L'esposizione cronica è stata effettuata a un dosaggio (1µg/L di saccarosio diluito nello sciroppo) comunemente rilevabile all'interno di un alveare in zone con contaminazione da pesticidi. La coesposizione tra *Nosema ceranae* e fipronil ha provocato in tutti i campioni esaminati una mortalità dopo 22 giorni compresa tra il 66% e l'84%, molto elevata rispetto al 23% e al 39% di *Nosema ceranae* e fipronil somministrati singolarmente.

Non solo per la nosemiasi, ma anche per la parassitosi da *Varroa destructor* o la proliferazione del virus delle ali deformi (DWV) è stata evidenziata un'analogha correlazione coi pesticidi.

Un recente studio ha evidenziato come dosi sub-letali dei neonicotinoidi clothianidin e thiamethoxam, rispettivamente ad 1/5 e 1/25 della DL 50, combinate a stress nutrizionale, riducano la sopravvivenza delle api. Il sinergismo tra questi due fattori ha provocato nelle api una notevole riduzione del consumo di cibo, del tenore di glucosio nell'emolinfa e del trealosio.

In relazione all'attività di impollinazione, il team di ricerca guidato da Penelope Whitehorn dell'Università di Stirling, ha dimostrato la correlazione negativa tra esposizione a neonicotinoidi e la raccolta di polline da parte degli Apoidei. I ricercatori hanno monitorato la frequenza, la lunghezza e il picco delle vibrazioni delle api durante l'attività di bottinamento sul fiore, evidenziando che, per l'esposizione a pesticidi, le api emettevano un ronzio più breve, basso e raccoglievano meno polline.

Sempre in relazione all'attività di foraggiamento, ma questa volta nettario, James Nieh, professore di biologia alla UC San Diego, ha scoperto come le api esposte a dosi subletali di imidacloprid gradiscano soluzioni con maggiore contenuto zuccherino (in natura è invece normale che il nettare presenti un'elevatissima percentuale di acqua). Le conseguenze rispetto alle capacità di approvvigionamento degli alveari possono quindi rilevarsi importanti, infatti, una piccola percentuale di api dal "palato fino" potrebbe "viziare" il comportamento dell'intera colonia comunicando, attraverso le danze, solo quelle fonti nettario ritenute loro appetibili.

Quindi, per valutare adeguatamente l'azione dei pesticidi nei confronti delle api, animali sociali per eccellenza, non è sufficiente stabilire il livello di mortalità che questi prodotti possono provocare nelle diverse condizioni, ma è necessario esaminare anche gli effetti sub-letali, perché dosi molto basse potrebbero provocare alterazioni nel sistema di comunicazione, nelle attività sociali, nelle capacità cognitive e nell'orientamento. I prodotti fitosanitari che inducono effetti di questo tipo sono essenzialmente quelli con un'azione di tipo neurotossico. Il parathion e l'imidacloprid, in dosi sub-letali, sembrerebbero influire negativamente sulla capacità di comunicare alle compagne, tramite la danza, la posizione della fonte di cibo. Alcuni neonicotinoidi (imidacloprid, clothianidin, thiamethoxam e acetamiprid) e il fipronil, ingeriti dalle api in dosi sub-letali, o per contatto indiretto con polveri contaminate, interferiscono negativamente sulla memoria visiva legata ai colori e con l'apprendimento spaziale, essenziali nell'orientamento delle api per individuare le fonti di cibo e per ritrovare la via del ritorno verso l'alveare.

Anche alcuni insetticidi piretroidi (permetrina e deltametrina) in dosi sub-letali, fino a 25 volte inferiori alla DL50, possono disturbare la capacità delle api bottinatrici di far ritorno all'alveare. A livello cognitivo gli effetti sub-letali degli insetticidi neonicotinoidi sono risultati più marcati rispetto a quelli provocati dai piretroidi o dai fosfororganici, riducendo l'attività di volo e ritardando notevolmente il tempo di ritorno all'alveare. L'ingestione di concentrazioni sub-letali di imidacloprid provoca nelle api, dopo 72 ore dal trattamento, anche la riduzione del diametro degli acini delle ghiandole ipofaringee, il cui sviluppo nelle nutrici è fondamentale per la secrezione di gelatina reale. Mentre la sua azione combinata con *Nosema ceranae*, determina la diminuzione dell'attività della glucosio-ossidasi, enzima coinvolto nell'immunità sociale. Dosi sub-letali (2,5 e 4,5 ng/ape) di deltametrina somministrate per contatto inducono una forte ipotermia nelle api, effetto osservato anche in somministrazione combinata con il fungicida prochloraz.



4.5 EFFETTI SULLE API DI SPECIFICI INSETTICIDI

Gli esteri fosforici ed i carbammati interferiscono sulla trasmissione degli impulsi nervosi inibendo l'enzima acetilcolinesterasi. I tossici competono con l'acetilcolina e si legano all'enzima impedendo la demolizione del neurotrasmettitore, che si accumula nelle rispettive sinapsi, portando al blocco della motilità di varie parti del corpo, come zampe, ali e canale alimentare, cui consegue la morte per inedia.

I piretroidi hanno un'alta affinità per i canali del sodio dei nervi a livello dei quali causano drastiche modificazioni nella cinetica di apertura con ostacolo alla ripolarizzazione della membrana e conseguente blocco della conduzione dell'impulso. Un altro sito d'azione dei piretroidi è rappresentato dai recettori per l'acido gamma-aminobutirrico (GABA), sui quali esercitano effetto inibitorio, causando una sintomatologia di tipo convulsivo.

I neonicotinoidi agiscono sui recettori nicotinici postsinaptici ai quali si legano persistentemente causando una risposta bisafica: ad un iniziale aumento della frequenza di scariche spontanee segue il blocco completo della propagazione dell'impulso nervoso. I diversi sottotipi di questi recettori sono localizzati interamente nel SNC degli insetti. I recettori α degli insetti sono più sensibili all'imidacloprid rispetto a quelli dei vertebrati a causa della diversa affinità di legame per i sottotipi recettoriali.

Il fipronil, un insetticida ad ampio spettro appartenente alla famiglia chimica dei fenilpirazoli, agisce bloccando il canale del Cl GABA-dipendente alterando la trasmissione dell'impulso nervoso. È utilizzato per il controllo di vari insetti del suolo durante lo stadio di crescita larvale e agisce per contatto e ingestione.

I neonicotinoidi e il fipronil sono sostanze altamente neuro-tossiche, che persistono e si accumulano nel suolo, nei sedimenti, nell'acqua, nelle piante trattate e in quelle non trattate. La persistenza nei terreni, nei corsi d'acqua e nelle piante non bersaglio ha durata variabile ma pur sempre considerevole: per esempio, l'emivita dei neonicotinoidi nel terreno può superare i 1.000 giorni, mentre, nelle piante legnose può persistere per un periodo superiore a un anno. La persistenza di queste sostanze, congiuntamente alla loro capacità di essere idrosolubili, causa contaminazione su larga scala di terreni e sedimenti, corsi d'acqua, piante trattate e non trattate.

Alcuni studi sulle provviste di cibo nelle colonie di api mellifere dimostrano che le colonie sono costantemente e cronicamente esposte a neonicotinoidi, fipronil e ai loro metaboliti, alle volte in combinazione con altri pesticidi.

4.6 EFFETTO SULLE API DI FUNGICIDI E DISERBANTI

Gli anticrittogamici e i diserbanti sono composti che hanno dimostrato di avere una tossicità relativamente contenuta nei confronti delle api, almeno in rapporto a quella degli insetticidi e degli acaricidi.

In quasi tutte le prove effettuate su anticrittogamici e diserbanti alle dosi consigliate, sia in laboratorio che in campo, si è avuta una tossicità bassa. Secondo Johansen nessun fungicida è risultato dannoso alle api, mentre per Arzone lo zineb, un anticrittogamico annoverato come non pericoloso, ha dimostrato per contatto diretto, sia in laboratorio sia in campo, singolarmente od associato allo zolfo, una mortalità significativa, pur se contenuta, delle api. In un'altra prova, un altro fungicida, lo ziram, è risultato leggermente tossico sia per ingestione sia per contatto. Oltre ad una seppur leggera azione tossica diretta, gli anticrittogamici possono avere anche un'azione sulla prolificità delle regine. Infatti, molti apicoltori che partecipano al servizio di impollinazione in Romagna, hanno notato che alveari portati nelle coltivazioni del melo, dove si fa ampio uso di prodotti anticrittogamici in piena fioritura, sovente, e senza nessuna ragione apparente, nei mesi successivi subiscono un lento e progressivo spopolamento senza nessun aumento della mortalità. Anche se ciò non comporta la perdita della famiglia, ne pregiudica però totalmente il raccolto. Questo comportamento si potrebbe spiegare ipotizzando un'azione inibente sulla prolificità della regina da parte degli anticrittogamici usati durante la fioritura dei meli.

Se i fungicidi da soli non provocano gravi mortalità, probabilmente possono invece interferire sul delicato sistema sociale e fisiologico delle api o agire in combinazione con altri fattori di stress. In varie

indagini condotte negli ultimi anni, è stato riscontrato come nelle aree a coltivazione intensiva, i fungicidi siano un potenziale fattore di stress per le api. Inoltre, è stata osservata una maggiore probabilità di infezione da *Nosema ceranae* in api sane nutrite con polline contaminato da fungicidi, mostrando un generale indebolimento nella capacità di resistere agli attacchi del parassita. Se questi dati verranno suffragati da altre prove, dovrà essere completamente rivista la presunta innocuità degli anticrittogamici e se gli agricoltori vorranno ancora avere le api durante la fioritura delle loro coltivazioni, dovranno rivedere i loro programmi di lotta fitoiatrica.

Lo stesso discorso vale per i diserbanti, ritenuti attualmente scarsamente tossici nei confronti delle api. In quanto ritenuti atossici, gli erbicidi, soprattutto in passato, non sono stati oggetto di studio di tossicità sulle api. Resta in ogni caso il fatto che essi contribuiscono in maniera non indifferente a privare le api di un ottimo *pabulum* qual è quello rappresentato dalle erbe spontanee, presenti in ampia scala e in tutte le stagioni. Il famoso glifosate, l'erbicida più usato al mondo e con sospetti effetti cancerogeni sull'uomo, non ha attività sistemica ed ha una tossicità acuta medio-bassa sulle api (DL 50 > 100µg/ape). Malgrado questo, recenti studi ne hanno dimostrato gli effetti sub-letali sulle api esposte alle quantità riscontrabili nell'ambiente, in cui si osservano alterazioni delle capacità cognitive necessarie per la navigazione in volo e per il ritorno all'alveare.

La convinzione che gli erbicidi non siano dannosi deriva dal fatto che essi vengono per lo più usati negli stadi precoci di apparizione delle cosiddette infestanti, quando ancora non sono visitate dalle api. Spesso tuttavia, specie nel caso di diserbo delle arboree, i trattamenti avvengono senza tener conto dello stadio di sviluppo e della fenologia floreale delle spontanee, contaminando così i fiori, sia direttamente che per deriva.

Un'altra ragione di apparente innocuità degli erbicidi deriva dal fatto che i maggiori danni sono a carico della covata (azione mutagenica), valutazione spesso trascurata nelle ricerche e pertanto fenomeno difficilmente rilevato (clorofenossiacetici, dalapom sodium, cloramben, EPTC).

4.7 EFFETTO DI ALCUNI PRINCIPI ATTIVI UTILIZZATI DAGLI APICOLTORI PER LA LOTTA ALLA *VARROA*

L'apicoltore può contribuire a contaminare i prodotti dell'alveare e questo avviene solitamente in due modi:

- 1) applicando trattamenti illeciti, come ad esempio gli acaricidi non registrati per la lotta alla *Varroa*, o gli antibiotici per il controllo delle malattie infettive;
- 2) applicando trattamenti leciti, ma non rispettando quanto previsto in etichetta, come ad esempio non allontanando i melari in corso di trattamento, quando questa pratica è invece prescritta;
- 3) impiegando in maniera impropria l'affumicatore, contaminando l'alveare e i melari con IPA e altri prodotti della combustione utilizzati con l'affumicatore.

Attualmente in Italia sono in commercio per il controllo della *Varroa* i seguenti principi attivi:

- prodotti a basso impatto ambientale: acido ossalico, acido formico, timolo;
- prodotti ad alto impatto ambientale: amitraz, fluvalinate, flumetrina.

Da studi condotti sugli acaricidi coumaphos e fluvalinate, si è visto che tali molecole possono interferire con lo sviluppo morfologico delle regine, provocando una diminuzione di peso nelle larve e comportamenti anomali dopo lo sfarfallamento. Il coumaphos a basse concentrazioni (100 ppm), inibisce l'accettazione delle regine trattate in alveari testimone, mentre bifentrina e deltametrina inducono una diminuzione di fertilità e fecondità.

La covata può essere invece esposta all'azione dei pesticidi per contatto attraverso la cera e per ingestione di polline stoccato (pane d'api). La sopravvivenza e la longevità delle api sviluppate da larve allevate su favi con un ampio numero di residui di pesticidi nella cera, è risultata inferiore e con uno



sfarfallamento ritardato, rispetto a quelle cresciute su favi nuovi.

Gli studi sugli effetti sub-letali dei pesticidi non si dovrebbero limitare alle singole api ma estendersi, anche con l'ausilio di modelli (date le difficoltà che si possono incontrare nella conduzione delle prove di campo), all'intera famiglia, in quanto colpiscono funzioni ed aspetti centrali nella vita sociale delle api. In una ricerca svolta considerando questi aspetti, è stato evidenziato che esponendo le bottinatrici di una famiglia per tre mesi al nettare di colza contaminato con thiamethoxam, e simulando contemporaneamente, con l'aiuto di un modello, un moderato tasso di ovideposizione della regina, la popolazione è diminuita drasticamente fin sotto la soglia critica di 5.000 unità, predisponendo l'alveare al collasso. Sebbene la sperimentazione si sia basata su di una previsione statistica, questa è supportata sia da dati sperimentali sull'orientamento delle bottinatrici e sulla fertilità delle regine a livello individuale, sia dalla considerazione che la probabilità di sopravvivenza di ogni singola ape non può considerarsi indipendente dalla mortalità del gruppo di individui in cui è inserita.

4.8 AVVELENAMENTO DELLE API CAUSATO DA EFFETTI SINERGICI TRA PESTICIDI E ALTRI FATTORI

Le api possono essere esposte a vari pesticidi contemporaneamente attraverso molteplici vie, quali ad esempio l'applicazione consecutiva di trattamenti con diversi principi attivi, l'uso di miscele di prodotti, oppure entrambe le eventualità, che sono estremamente frequenti nella realtà di campo. Inoltre, a causa dell'ampio raggio di volo, le bottinatrici possono attraversare diversi campi trattati e quindi entrare in contatto con differenti prodotti. Un'altra via di contatto si realizza attraverso i residui rintracciabili nei prodotti raccolti dalle api, soprattutto in polline, nettare e melata. La deltametrina e il prochloraz (combinazione già citata in precedenza), se vengono utilizzati in miscela, risultano molto più tossici rispetto al loro impiego sequenziale oppure singolo.

Anche l'associazione tra i neonicotinoidi e i fungicidi azolici presenta un carattere sinergico negativo nei confronti delle api adulte. Il trattamento combinato per contatto con triflumizolo, ad esempio, aumenta la tossicità dell'acetamiprid e del thiacloprid di 200 e 1.000 volte rispettivamente. Analogamente la DL50 del thiacloprid è risultata di 500 volte più bassa in corrispondenza del trattamento abbinato con il propiconazolo. Vi sono altri casi, invece, in cui la miscela di due principi attivi è meno pericolosa dell'uso singolo, come è stato osservato, ad esempio, per l'insetticida fosfororganico dimetoato miscelato con l'erbicida fenossicarbossilico 2,4-DB.

I trattamenti con acaricidi contro la *Varroa* possono sensibilizzare maggiormente le api verso alcuni pesticidi, con un effetto molto più evidente rispetto ad alveari non trattati. La compresenza di *Nosema ceranae* e imidacloprid, in concentrazioni sub-letali nel polline, ha provocato conseguenze debilitanti sul sistema di difesa individuale e della famiglia. In particolare, è stato dimostrato come le spore del patogeno siano in grado di replicarsi più velocemente in api esposte indirettamente all'imidacloprid durante lo stadio larvale. È stato inoltre osservato che il clothianidin, in quantità sub-letali, induce la proliferazione del virus delle ali deformate (DWV).

La temperatura di allevamento della covata e il regime alimentare possono influire sul corretto sviluppo della famiglia. In condizioni non ottimali questi fattori contribuiscono allo stress indotto da un'intossicazione da pesticidi ed agiscono in modo sinergico. Le larve allevate ad una temperatura sub-ottimale (33°C) hanno mostrato una minore sensibilità (DL50 alta) al trattamento con dimetoato, ma gli adulti sfarfallati avevano un tasso di sopravvivenza inferiore rispetto al controllo, mantenuto a 34,5°C.

4.9 SELETTIVITÀ DEGLI INSETTICIDI NEI CONFRONTI DELLE API

In generale si può affermare che la maggior parte delle sostanze chimiche usate come insetticidi sono tossiche per le api, anche se alcune lo sono più di altre. Troppo spesso sono stati messi in commercio principi attivi dichiarati innocui per le api, o più in generale per gli insetti utili, con molta leggerezza.

Non si riesce infatti a comprendere come sia possibile che sostanze pubblicizzate come efficaci nel contenimento di svariate specie di insetti dannosi (largo spettro di azione), quando si tratta di insetti utili divengano improvvisamente innocue e selettive. Un caso emblematico dei decenni scorsi è quello dell'endosulfan, un prodotto dichiarato completamente innocuo per le api dalla casa produttrice, ma che successivamente si è dimostrato devastante. Oppure, in tempi più recenti, quello dei neonicotinoidi impiegati per la concia delle sementi che, pur avendo tossicità alta, si pensava fossero senza nessun rischio per le api per quest'uso.

Abbiamo visto all'inizio come non tutti i pesticidi siano tossici o pericolosi allo stesso modo per le api. Esiste un elenco di principi attivi, attualmente consentiti in Italia e altri tolti dal mercato solo di recente, che divide le molecole in tre classi tossicologiche sulla base alla loro DL50, ossia la dose in grado di uccidere il 50% di una popolazione esposta. La scelta di indicare la classe di tossicità esclusivamente basandosi sul dato più standardizzato della DL50 è dovuta alla molteplicità dei metodi adottati nei saggi di tossicità e pericolosità, soprattutto in quelli di campo o semi campo, che rendono problematica l'interpretazione dei dati, a volte totalmente contrastanti tra loro.

Nello specifico un principio attivo è stato definito con tossicità "Alta", "Media" o "Bassa" quando il suo valore di DL50 era rispettivamente all'intero delle seguenti classi: <2, tra 2 e 99 e >99 µg/ape. Nella maggior parte dei casi è stato riportato il valore di tossicità per contatto e, in mancanza di questo, quello per ingestione. Se entrambi erano disponibili, è stato scelto il valore più basso.

È bene comunque sottolineare come la DL50 di per sé non indica il grado di pericolosità di una molecola nei confronti delle api, dato che la tossicità deve essere sempre messa in relazione con il livello di esposizione. Inoltre, il recente caso dei neonicotinoidi, indicati come una delle principali cause delle attuali problematiche apistiche, ha messo in evidenza come anche bassi livelli di esposizione possono interferire con il benessere di questi animali, attraverso gli effetti sub-letali e sinergici, con effetti negativi sulle capacità, ad esempio, di homing, di memorizzazione, di apprendimento e di termoregolazione. Le recenti procedure proposte dall'EFSA per la valutazione del rischio dei pesticidi nei confronti delle api vanno sempre più in questa direzione.

4.10 SEGNI DI MORTALITÀ CHE POSSONO ESSERE MESSI IN EVIDENZA IN APIARIO

Il sintomo più evidente di un avvelenamento da fitofarmaci, in particolare da insetticidi, è la presenza di numerose api morte, spesso con ligula estroflessa in seguito a rigurgito, davanti all'alveare.

In ogni colonia muoiono per cause naturali almeno un centinaio di api al giorno, di cui la maggior parte in pieno campo (80-90%). Un 10-20% muore all'interno dell'alveare ed i corpi vengono portati all'esterno da operaie specializzate, le "necrofore". Generalmente gli individui morti vengono trasportati in volo fino ad alcune decine di metri dall'alveare, mentre solo un numero esiguo di essi circa l'1,1%, viene semplicemente "spazzato" appena fuori dalla porticina. È proprio a questi ultimi che si fa riferimento per valutare l'andamento della mortalità: essendo, infatti, il numero delle necrofore limitato, maggiore è la mortalità, più numerosi sono i cadaveri che si rinvencono subito sotto l'alveare.

Tabella n. 4: Grado di mortalità stimata sulla base del numero di api morte quotidianamente in prossimità dell'alveare.

N. api morte	Grado di mortalità
< 110	Naturale, fisiologica
200 - 400	Bassa: possibile avvelenamento
500 - 900	Media: probabile avvelenamento
> 1000	Alta: grave avvelenamento



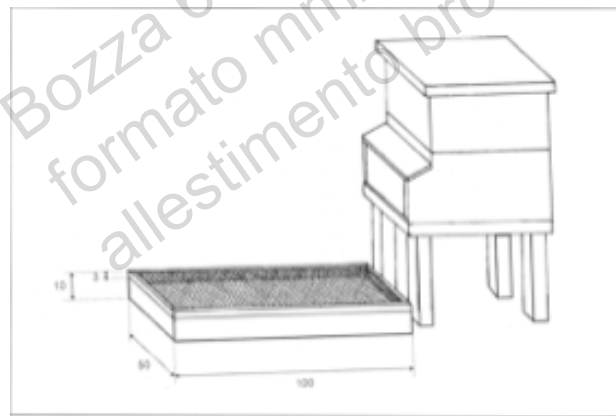
Poiché le api morte sono mangiate da lucertole, vespe, uccelli, ecc, per valutare il fenomeno è necessario avvalersi di tecniche quali: l'impiego di gabbie da posizionare sotto e davanti l'alveare (gabbie *underbasket*) oppure utilizzando bei contatori elettronici di api (c.d. *bee counter*).

Con le prime è possibile conteggiare le api che morendo, vengono espulse dalle necrofore dall'alveare.

Con il *bee counter*, possiamo calcolare le api morte in campo durante la raccolta di scorte o che non riescono a far rientro in alveare.

Le gabbie *underbasket* possono essere più o meno efficienti e devono assolvere ad alcuni requisiti. Oltre ad essere in grado di raccogliere le api espulse dall'alveare, non devono interferire con le normali attività che si svolgono sul predellino, come volo e ventilazione, o facilitare l'accesso a eventuali sapro-fagi, per esempio le vespe; devono permettere un facile conteggio, essere resistenti alle condizioni climatiche, facilmente applicabili e smontabili e, soprattutto, economiche. Uno dei problemi maggiori per queste strutture risiede nel fatto che le api possono abituarsi a tal punto alla presenza della gabbia che cominciano a considerarla una parte dell'alveare e, quindi, a rimuovere le api morte.

Figura n 9: Gabbia *underbasket*



(Fonte: Porrini et alii, 2000)

Oltre ad un aumento generico della mortalità, in corso di avvelenamento, si possono riscontrare anche altri sintomi a carico delle api adulte, quali:

- api con spasmi, tremori, che girano su se stesse, striscianti ed incapaci di volare;
- api con un comportamento di difesa alterato, cioè guardiane con un comportamento aggressivo esacerbato od all'opposto azzerato;
- api che eseguono la danza all'esterno dell'alveare;
- alterazioni a carico della regina che, per gli effetti dilazionati nel tempo, si manifestano come una riduzione progressiva dell'ovideposizione fino alla completa cessazione della stessa per sterilità (carbaryl).

Diverse molecole, come neonicotinoidi e fipronil, assunte in dosi molto basse, incapaci di causare morte, determinano effetti sub-letali: l'imidacloprid ad esempio ha effetti sub-letali già alla dose di 0,1 ng/ape (ng = g 10⁻⁹). Questi prodotti hanno un'azione neurotossica ed inducono alterazioni del sistema di comunicazione, delle attività sociali, delle capacità cognitive e dell'orientamento. Quale conseguenza si può osservare ad esempio un deficit della capacità

di *homing*, per alterazioni dell'apprendimento e della memoria visiva. Anche la comunicazione delle bottinatrici alle compagne può essere fortemente compromessa: la danza dell'addome, che indica la direzione della fonte di cibo rispetto al sole, viene eseguita all'interno dell'alveare, ma in modo scorretto.

Il metodo che ha permesso lo sviluppo di studi degli effetti sull'apprendimento e la memoria olfattiva è il P.E.R. (*Proboscis Extension Reflex*, riflesso dell'estensione della ligula). Il test si basa sulla presentazione di un odore (stimolo condizionato) alle api, in concomitanza con una soluzione zuccherina (stimolo incondizionato) con la quale vengono stimulate le antenne; in risposta allo zucchero, l'ape estroflette la ligula e riceve quindi una ricompensa. In questo modo l'ape associa l'odore con la ricompensa e, quando si troverà di nuovo ad "annusare" l'odore appreso, estrofletterà la ligula in attesa della ricompensa. La durata di questa memoria olfattiva può persistere anche per diversi giorni. Grazie a questo metodo, è stato possibile indagare tre differenti processi cognitivi: l'abituazione ad uno stimolo, l'apprendimento di un odore e la memoria a breve, medio e lungo termine. Il potenziale tossico di alcuni insetticidi ad attività neurotrofa può esplicitarsi in ognuna di queste fasi, ed in particolare l'esposizione ad insetticidi neonicotinoidi, ha dimostrato correlazione positiva con gli errori cognitivi.

È poi risaputo che la sindrome da spopolamento degli alveari è causata da una combinazione di fattori che agendo in concerto indeboliscono la colonia fino al collasso. In questo complesso causale, sospetti conducono ai pesticidi, oltre ai patogeni e agli stress nutrizionali. Un possibile effetto è l'inibizione del sistema immunitario e il conseguente sviluppo di malattie.

4.11 COME CONTENERE I DANNI DA PESTICIDI

Il presupposto fondamentale per la riduzione degli avvelenamenti da pesticidi in apicoltura sarebbe una presa di coscienza, da parte di tutti gli operatori, sull'importanza strategica dell'ape per la produzione agricola e per la biodiversità ambientale. Purtroppo però, nelle nostre campagne raramente si guarda all'ape con il giusto rispetto dovuto alla sua utilità, o, quando le viene riconosciuta, si equipara un alveare ad uno strumento con cui incrementare e migliorare la produzione, fino a quando, finito l'uso, si butta, e l'anno successivo se ne impiega uno nuovo.

È indispensabile, inoltre, la collaborazione tra agricoltori e apicoltori; non solo per la scelta del prodotto da usare, del metodo di applicazione e delle condizioni di impiego, prerogativa fino ad ora esclusiva degli agricoltori, ma anche sui tempi, sui luoghi e sulla collocazione degli alveari nei campi coltivati. In molti casi, infatti, le api muoiono in seguito all'inosservanza delle più elementari norme di utilizzo di questi prodotti chimici, come lo sfalcio preventivo della flora spontanea o l'esecuzione dell'intervento fitosanitario verso sera e in assenza di vento.

È importante sistemare gli alveari a una distanza di sicurezza (almeno 30 m) dalle coltivazioni, in modo da non ostacolare le pratiche agricole aziendali, e per evitare che siano direttamente investiti da eventuali trattamenti fitosanitari resisi necessari durante il periodo di permanenza delle api. La presenza di siepi e bordure circostanti i campi coltivati, o intorno agli alveari, andrebbe salvaguardata in quanto queste strutture funzionano, oltre che da aree rifugio per gli insetti utili, anche come barriera all'effetto deriva.

Prima di effettuare operazioni con prodotti chimici, l'agricoltore dovrebbe sempre valutare con estrema cura i livelli d'infestazione dei vari parassiti sulle colture, al fine di evitare interventi inutili se non addirittura dannosi. E comunque non bisogna mai intervenire durante la fioritura (anche parziale) delle specie entomofile e anemofile, coltivate e spontanee, o in presenza di flussi di melata. Spesso la causa di estese e gravi morie di api non sono i trattamenti effettuati durante la fioritura delle piante coltivate, bensì mentre sono in fioritura le sottostanti, o circostanti, piante selvatiche. Quando si è costretti a intervenire chimicamente occorre quindi accertarsi che nella zona da trattare non vi siano piante spontanee in fioritura, nel qual caso occorrerà preventivamente sfalciarle. La scelta dei prodotti da impiegare dovrebbe essere effettuata fra quelli meno tossici per le api e meno pericolosi per l'ambiente. Il momento migliore in cui eseguire l'intervento fitosanitario è normalmente nel pomeriggio inoltrato o



nelle prime ore del mattino, prima che si levi il sole, e quando il vento è molto ridotto. È necessario fare molta attenzione alla presenza di rugiada che metterebbe a disposizione delle api, qualora avessero la necessità di importare dell'acqua in alveare, del materiale contaminato. Le temperature estive possono indurre le api a formare "la barba" davanti all'alveare, esponendole maggiormente ai trattamenti fitosanitari, mentre gli abbassamenti di temperatura prolungano notevolmente l'effetto residuale dei pesticidi. Nel caso di trattamenti non programmati (in particolare con principi attivi tossici per le api), dettati da un improvviso problema fitoiatrico, l'agricoltore dovrebbe avvertire immediatamente l'apicoltore per spostare gli alveari nel più breve tempo possibile; operazione da effettuare, se possibile, anche nella malaugurata evenienza di un avvelenamento in corso. Se il trasferimento non fosse realizzabile, è necessario chiudere gli alveari per qualche ora coprendoli con teli (preferibilmente di juta) bagnati, rifornendoli di acqua tramite alimentatori e assicurare la circolazione dell'aria con l'inserimento di un melario vuoto e/o togliendo il cassettino sottostante. La chiusura delle api è un'operazione molto delicata, specialmente se le temperature sono elevate, e deve essere controllata da vicino dall'apicoltore. Gli alveari, se tutto va bene, vanno aperti solo dopo qualche ora dal termine dell'intervento fitosanitario, inserendo le trappole per la raccolta del polline, in modo da ridurre l'importazione di materiale contaminato, e fornendo nel contempo un'adeguata alimentazione.

4.12 BUONE PRASSI AGRICOLE E SOSTENIBILITÀ

L'applicazione dei principi dell'agricoltura integrata e la collaborazione fra agricoltori ed apicoltori sono i presupposti su cui lavorare per ridurre l'impatto degli agrofarmaci sulle api. L'utilizzo non oculato dei pesticidi, compromettendo la salute delle colonie, può vanificare il servizio di impollinazione che le stesse dovrebbero garantire. A scanso di equivoci, il servizio di impollinazione dovrebbe essere regolato da contratti scritti in cui siano indicati in modo chiaro diritti/doveri delle parti coinvolte. Di seguito si riporta una sintesi di buone prassi che si dovrebbero applicare per salvaguardare i pronubi e garantire un'impollinazione adeguata delle colture. Essendo tali principi per lo più estrapolati dal contributo dell'Accorti in "Api e impollinazione" (2000), vogliamo indicare la seguente parte come "protocollo Accorti".

L'agricoltore dovrebbe seguire queste azioni di prevenzione:

- 1) impiegare gli agrofarmaci come previsto dal PAN, riducendone al minimo l'impiego, evitandone l'uso preventivo, utilizzando solo prodotti autorizzati, seguendo pedissequamente le indicazioni riportate sull'etichetta e ciò che è eventualmente previsto da specifiche norme regionali;
- 2) concordare il momento dell'intervento fitosanitario con gli apicoltori e scegliere il prodotto meno tossico, nella formulazione meno pericolosa, preferendo ad esempio le preparazioni granulari agli spray, evitando i microincapsulati;
- 3) non trattare in fioritura, in presenza di vento o quando è previsto un abbassamento delle temperature; non utilizzare prodotti sistemici in prefioritura;
- 4) non trattare durante la produzione di melata (sia nei frutteti che in foresta);
- 5) ove necessario, evitare di trattare nelle ore calde della giornata in cui è massima l'attività di foraggiamento delle api, tenendo comunque presente che ogni coltura attrae diversamente le api nel corso della giornata: l'erba medica, ad esempio, mantiene la sua capacità attrattiva nell'intero arco del giorno, mentre il melone è per lo più visitato dal mezzo giorno al primo pomeriggio;
- 6) preferire i trattamenti all'imbrunire a quelli mattutini, per ridurre di 2-4 volte l'impatto sui pronubi, e se possibile eseguire trattamenti notturni in estate (h. 20:00-5:30), applicando tali principi anche ai trattamenti per le colture anemofile, dato che di sera il foraggiamento è sospeso;

- 7) falciare il cotico erboso fiorito o le infestanti sottostanti/limitrofe alle colture almeno due giorni prima del trattamento, nelle ore in cui l'attività delle api è minima o cessata del tutto;
- 8) qualora si debbano usare prodotti tossici e persistenti eseguire i trattamenti solo in completa assenza di fioritura;
- 9) porre grande attenzione all'utilizzo dei diserbanti e delle miscele di agrofarmaci;
- 10) avvertire almeno 2 giorni prima del trattamento gli apicoltori, possibilmente anche quelli che si trovano nel raggio di 3-4 km;
- 11) astenersi dal trattare in un raggio di 30 metri dagli alveari e non dirigere mai il trattamento verso di essi;
- 12) non trattare le colture se le api fanno la "barba" fuori dall'alveare ed avvisare l'apicoltore;
- 13) non contaminare mai le acque, non disperdere l'acqua di risciacquo.

4.13 INTERVENTI DI PREVENZIONE E CONTROLLO CHE POSSONO ESSERE INTRAPRESI DALL'APICOLTORE

Le Buone Pratiche Apistiche specifiche per gli avvelenamenti delle api da agrofarmaci prevedono di:

- 1) prendere contatto con gli agricoltori confinanti, o comunque che insistono almeno nel raggio di 1 km dall'apiario, per ricordargli di effettuare i trattamenti nel rispetto delle norme: divieto di trattamenti insetticidi o con altre sostanze tossiche per le api in fioritura, trattamenti eseguiti al tramonto, in assenza di vento e di fioriture sotto le piante trattate;
- 2) prima del trattamento: se possibile, quando si sa che una zona viene trattata, trasferire a scopo cautelativo gli alveari in un altro luogo. Se le colonie non possono essere spostate: chiudere le porticine di volo degli alveari il giorno che viene effettuato il trattamento, coprendoli con teli (es. di iuta) bagnati. Aggiungere un melario vuoto e/o levare il cassetto diagnostico sotto il fondo del nido per evitare colpi di calore nella colonia. Riaprire dopo qualche ora dal termine del trattamento (meglio il giorno dopo). Piantare una siepe alta almeno 2 metri attorno all'apiario, al fine di ridurre l'impatto dei fenomeni di deriva degli agrofarmaci a causa del vento;
- 3) dopo il trattamento: somministrare agli alveari acqua (ad esempio, mediante i nutritori o abbeveratoi) per ridurre la possibilità di assumere agrofarmaci con acqua di rugiada o con altre fonti contaminate. Possibilmente inserire trappole del polline (che andrà eliminato) nei giorni immediatamente successivi al trattamento per ridurre il rischio che la covata si alimenti con pane d'ape contaminato;
- 4) se dopo l'esposizione si nota uno spopolamento o una moria di api: allontanare dalle colonie i favi di scorte (miele fresco e polline); alimentare con sciroppo zuccherino e/o candito proteico per evitare che le api si alimentino di nettare e/o polline contaminato; aggiungere altre api e/o covata da famiglie sane, non venute a contatto con i trattamenti da agrofarmaci; sostituire le regine, in quanto l'intossicazione potrebbe ridurre alcune sue funzioni biologiche, in particolare l'ovodeposizione.
- 5) Denunciare immediatamente l'accaduto all'autorità territorialmente competente (Servizi Veterinari delle Aziende USL), come prevedono le Linee Guida per la gestione delle segnalazioni di moria o spopolamento degli alveari connesse all'utilizzo di agrofarmaci (Allegato).



Capitolo. 5 Protocolli operativi in apiario per realizzare un monitoraggio ambientale con *Apis mellifera*

5.1 INTRODUZIONE

Le famiglie di api consentono di ottenere molteplici matrici potenzialmente idonee al monitoraggio ambientale: api adulte, polline, cera, propoli, miele.

Tra i possibili contaminanti ambientali trattati nel presente documento, quelli maggiormente investigati sono: pesticidi, metalli pesanti, radionuclidi, idrocarburi policiclici aromatici (IPA) ed antibiotici.

Le matrici che utilizzeremo per il nostro monitoraggio varieranno in funzione del contaminante che vorremo ricercare.

Al tempo stesso, anche gli alveari oggetto di monitoraggio, però, dovranno rispondere a ben precisi pre-requisiti, al fine di evitare possibili *bias* sui risultati analitici delle molecole oggetto dello studio.

5.2 IMPIEGO DELLE API PER IL MONITORAGGIO DELLA CONTAMINAZIONE AMBIENTALE

Con il termine “biomonitoraggio” si intende l’insieme delle metodologie che utilizzano esseri viventi per trarre informazioni sullo stato dell’ambiente. Il biomonitoraggio permette di stimare gli effetti biologici dell’inquinamento: dà informazioni sullo stato di salute dell’ambiente valutando i danni subiti da bersagli presenti nell’area di studio o appositamente introdotti. Per valutare la concentrazione degli inquinanti atmosferici si possono utilizzare specie viventi quali i licheni, vegetali (con ampia possibilità di scelta: dagli organismi più semplici quali i muschi, alle specie erbacee come il tabacco od arboree come gli ulivi ed i pini) e specie animali (api, coleotteri, lombrichi e lo stesso uomo). Tali specie evidenziano, in seguito ad una esposizione prolungata ad agenti nocivi, danni quantificabili (esprimibili in danni fogliari od aumento della mortalità), accumulo cronico delle sostanze, nel caso del biomonitoraggio con utilizzo di api, il rilevamento delle sostanze nei vari prodotti dell’alveare. Nelle metodologie del biomonitoraggio si possono distinguere due tipologie di organismo test:

- i bioindicatori, organismi che subiscono variazioni evidenti nella fisiologia, nella morfologia o nella distribuzione sotto l’influsso delle sostanze presenti nell’ambiente;
- i bioaccumulatori, organismi in grado di sopravvivere agli inquinanti, che li accumulano nei loro tessuti; con il loro uso è possibile ottenere dati sia di tipo qualitativo che quantitativo.

In Italia il monitoraggio dell’inquinamento atmosferico si attua essenzialmente tramite centraline automatiche di rilevamento. Tali apparecchiature misurano direttamente le concentrazioni di determinati inquinanti in campioni d’aria prelevati dall’atmosfera: quando una o più di tali sostanze superano i livelli di soglia stabiliti per legge, scattano i provvedimenti per limitare le emissioni, come ad esempio l’interruzione del traffico veicolare. Questo tipo di monitoraggio, che prevede elevati costi per le apparecchiature e la loro manutenzione, generalmente esegue il rilevamento solo di alcuni parametri (CO, NOX, SO₂, benzene, ed altri) ed in un numero limitato di stazioni (fisse o mobili). È evidente quindi la

difficoltà di effettuare un controllo su vaste aree, così come spesso sono completamente assenti dati su contaminanti quali i metalli pesanti e gli idrocarburi policiclici aromatici.

Il biomonitoraggio, rispetto alle tecniche fisico chimiche risulta conveniente per i limitati costi gestionali.

Le api, insetti pronubi appartenenti alla famiglia degli imenotteri, da anni sono oggetto di studio quali bioindicatori del nostro ambiente. Basti pensare che ogni giorno un'ape visita qualcosa come cinque milioni di fiori, in circa ventimila voli al giorno, coprendo così una superficie di circa 7 km quadrati. Nell'alveare grazie a questo flusso continuo di bottinatrici viene trasportato polline, nettare, acqua, prelevati nelle zone circostanti. Ed è attraverso lo studio di queste sostanze che possiamo avere informazioni dettagliate della qualità ambientale, sottoposta giornalmente a milioni di micro prelievi.

I motivi che fanno di *Apis mellifera* un ottimo biondicatore risiedono nella sua biologia:

- facile allevamento, quasi ubiquitario;
- tasso di riproduzione elevato;
- elevato numero di bottinatrici per alveare;
- alta mobilità;
- corpo rivestito da peli;
- varietà di ambienti ispezionati: suolo, vegetazione, acqua, aria.

È quindi possibile impiegare le api come organismi sentinella dell'inquinamento agro-ambientale. Al tempo stesso è necessario anche evidenziare i limiti di questo impiego.

Un primo limite è dato dal rallentamento del metabolismo delle api durante l'inverno o quando le temperature esterne si abbassano verso le zero. Questo potrebbe rendere difficile il monitoraggio dei contaminanti in alcune aree geografiche in cui il clima è più rigido, soprattutto in alcuni periodi dell'anno quali fine autunno e inverno.

Un altro limite è dato dalla mancanza di volo delle api (e quindi anche del monitoraggio ambientale da loro condotto) durante i giorni di pioggia.

Infine, considerando la necessità di dover visitare gli alveari senza affumicatore, per evitare la possibilità di contaminazione da idrocarburi policiclici aromatici (IPA) o metalli pesanti, la stessa gestione delle api potrebbe risultare difficoltosa. La stessa sicurezza degli operatori durante le fasi di campionamento potrebbe essere messa a repentaglio.

5.3 SENSIBILITÀ DELLE API AI DIVERSI CONTAMINANTI AMBIENTALI

Le api dimostrano una scarsa sensibilità tossicologica nei confronti dei metalli pesanti, tossici per l'uomo, derivanti dall'inquinamento ambientale, pertanto tendono ad accumularli e li ritroveremo come residui nei prodotti dell'alveare e nelle stesse api. Al contrario, si può affermare che la maggior parte delle sostanze chimiche usate come insetticidi sono tossiche per le api, anche se alcune lo sono più di altre (argomento trattato al capitolo 4). Inoltre il recente caso dei neonicotinoidi, ha messo in evidenza come anche bassissimi livelli di esposizione possono interferire con il benessere delle api attraverso effetti sub-letali e sinergici, con effetti negativi sulle capacità, ad esempio, di homing (capacità nel ritorno all'alveare), di memorizzazione, di apprendimento e di termoregolazione. Le recenti procedure proposte dall'EFSA per la valutazione del rischio dei pesticidi nei confronti delle api vanno sempre più in questa direzione.



5.4 COSTITUZIONE DI UN APIARIO-TIPO PER IL MONITORAGGIO AMBIENTALE

Quando vogliamo effettuare un monitoraggio con le api, dobbiamo mettere a punto uno specifico protocollo operativo finalizzato alla costituzione di uno o più apiari adibiti allo scopo, da cui procederemo a prelevare regolarmente (in base a scadenze e matrici predefinite), i prodotti dell'alveare che vorremmo studiare.

Il tutto dovrà avvenire in condizioni di assenza di contaminazione causata dall'operatore/apicoltore (es. per impiego dell'affumicatore o trattamento delle api con gli stessi principi attivi che vogliamo monitorare).

La scelta della postazione va preceduta da uno studio dell'areale, per stabilire il luogo più idoneo per il raggiungimento degli obiettivi previsti (es. contaminante da studiare e fonte di inquinamento). Una volta individuata la posizione, è opportuno che ne vengano rilevate le coordinate geografiche, per sviluppare le mappe di uso del suolo nell'area buffer. Possono anche essere raccolti, se necessario, dati sulla flora spontanea, o sulle aree coltivate, nel raggio di 1,5 Km dall'apiario, per individuare eventuali fonti di contaminazione (es. trattamenti fitoiatrici). Ove ritenuto importante, dovranno essere raccolte informazioni generali sulle pratiche agronomiche circostanti l'area oggetto di studio e sulle tipologie di colture presenti negli appezzamenti agricoli. Infine, dove necessario, potranno anche essere realizzati sopralluoghi per mappare gli areali e censire le specie botaniche nelle aree buffer attorno agli apiari.

Una volta identificate le aree ideali possono essere collocati gli alveari per il monitoraggio ambientale.

Da questi saranno quindi effettuati campionamenti di matrici utili a valutare il livello di contaminazione agro-ambientale. Ad esempio: api bottinatrici/nutrici; covata opercolata/non opercolata; miele non opercolato/opercolato/da melario; polline (es. da trappola, ogni 2-3 giorni); cera di opercolo/favo tal quale.

Figura n. 10: Immagine di una zona adiacente ad un inceneritore, sottoposta a monitoraggio con le api (foto IZSLT)



Figura n. 11: Apiario di monitoraggio ambientale (foto IZSLT)



Figura n. 12: Dettaglio di una zona circostante all'apiario di monitoraggio (foto ISPRA-IZSLT)



Figura n 13: Posizionamento di un apiario di monitoraggio in prossimità di un aeroporto internazionale (foto IZSLT)

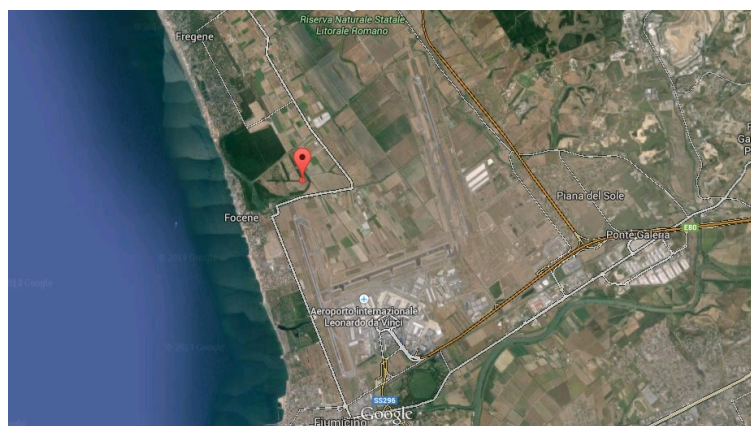




Figura n. 14: Postazioni considerate idonee per il posizionamento dell'apiario nella valle del fiume Sacco (foto IZSLT).

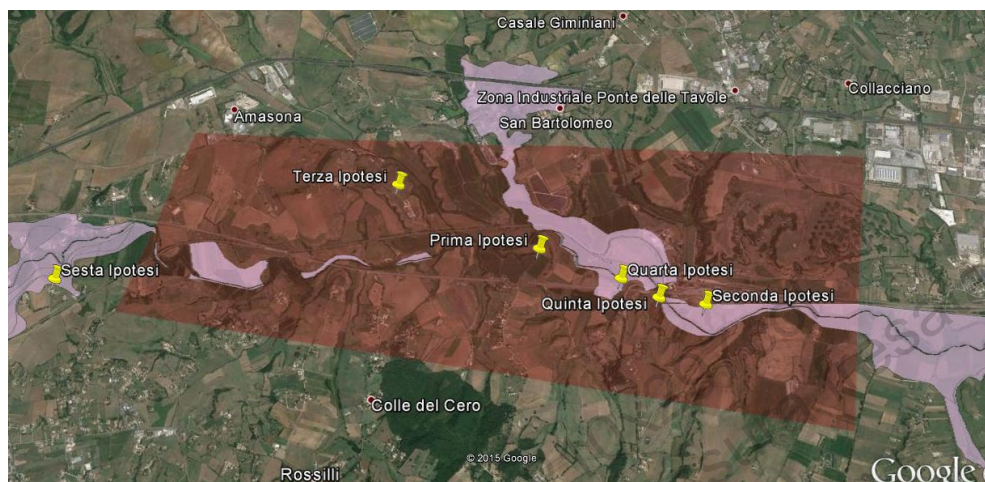
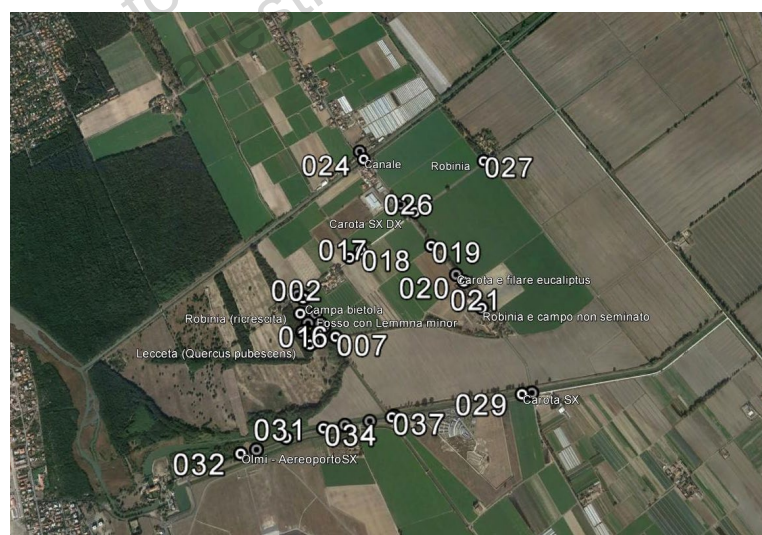


Figura n. 15: Veduta aerea dell'area intorno l'apiario, sono indicati i punti GIS cartografati con i relativi tipi di colture, flora spontanea o margini boscati dei coltivi, infrastrutture e aree edificate (foto ISPRA-IZSLT).



Ogni apiario di monitoraggio dovrà essere costituito da almeno 2 o 3 alveari e posizionato fisicamente il più vicino possibile alla zona da controllare per i livelli di contaminazione. Questo sia per garantire sempre la presenza di colonie vive e vitali, ma anche per facilitare gli studi di replicabilità statistica.

Tutti gli alveari dovranno essere in piena salute e dovranno avere forza simile tra loro, anche al fine di capire se intervengono malattie concomitanti non dovute a spopolamento da contaminazione ambientale esterna.

Prima di iniziare lo studio, avremo cura che gli alveari individuati per il monitoraggio:

- 1) siano stati gestiti secondo il metodo biologico (non impiego di prodotti a forte impatto ambientale);
- 2) siano stati messi completamente a sciame al fine di eliminare residui di contaminanti pregressi

(es. a livello di cera, propoli, etc.). A tal fine sarà stata realizzata la rimozione di tutti i favi presenti nell'alveare, preservando solo le api adulte, facendo attenzione a non disperdere nella messa a sciame l'ape regina.

- 3) siano stati travasati in arnie nuove, tinteggiate con vernice atossica, ad acqua e solo esternamente, provviste di telaini di legno nuovi con una striscia di circa 5 cm di cera biologica con funzione di starter (c.d. "favo starter").

Figura n. 16: Dettaglio di un favo provvisto di foglio cereo biologico: c.d. "favo starter" (foto IZSLT)



Figura n. 17: Favo starter da nido su cui le api hanno iniziato a costruire le cellette di cera ed hanno iniziato a deporre covata e scorte (miele e polline). Da questo favo sarà già possibile prelevare campioni per le analisi di laboratorio. (foto IZSLT)





Figura n. 18: Alveare sentinella perfettamente insediato sui telaini starter (foto IZSLT)



Figura n. 19: Possibile problematica di costruzione di “favi soprannumerari”, legata alla messa a sciame in quanto non si è riempito del tutto lo spazio del nido con “favi starter” (foto IZSLT)



Tra le possibili problematiche legate alla messa a sciame è possibile annoverare:

- 1) Assenza di fonti nettariere sufficienti alla ripresa della colonia. La presenza di abbondanti fonti nettariere nel periodo di costituzione dell’apiario sentinella (preferibilmente primavera) permette alle famiglie di api messe a sciame di ricostruire l’intero alveare. In caso contrario è possibile che le famiglie periscano in breve tempo.
- 2) Fuga dello sciame. Dopo la messa a sciame, la colonia di sole api potrebbe interamente uscire dalla nuova arnia per ricercare un altro luogo di insediamento. Al fine di evitare tale evento, si consiglia di ingabbiare la regina per i primi 3-5 giorni dal momento del travaso.
- 3) Spostamento della colonia al di fuori dei telaini starter. Anche in seguito all’ingabbiamento della

regina è possibile che, successivamente alla sua liberazione, le api preferiscano costruire favi nuovi in altri spazi distanti dai favi starter. Per ovviare a tale problematica sarà sufficiente riempire tutto lo spazio a disposizione nel nido con i favi starter. In ogni caso i favi naturali potranno essere prelevati ed impiegati per le analisi.

5.5 GESTIONE DEGLI ALVEARI DI MONITORAGGIO

La gestione degli alveari di monitoraggio deve seguire rigide regole al fine di evitare ogni possibile contaminazione delle matrici apistiche dovuta all'opera dell'apicoltore. Di seguito sono elencate alcune norme generali da rispettare nel periodo di campionamento:

- 1) non inserire all'interno degli alveari dedicati al monitoraggio ambientale alcun tipo di materiale (organico o inorganico). Solo a titolo di esempio, non è possibile inserire favi contenenti scorte (es. miele o pane d'ape), covata o anche solo cera provenienti da altre colonie (soprattutto se provenienti da altri apiari od alveari non utilizzati per il monitoraggio ambientale della stessa postazione!);
- 2) non alimentare le api. Ogni tipo di alimentazione (miele, candito, sciroppo, polline) potrebbe portare all'interno degli alveari sentinella sostanze indesiderate contenute nei mangimi/sciropi/canditi che falserebbero le analisi del monitoraggio;
- 3) non utilizzare l'affumicatore. Il suo impiego potrebbe infatti falsare i dati del monitoraggio (es. per quanto concerne gli IPA od i metalli pesanti);
- 4) utilizzare attrezzature apistiche (leva, affumicatore) in acciaio inox e pulirle sempre da eventuali residui prima e dopo il loro impiego;
- 5) utilizzare dispositivi per la protezione individuale (DPI) nuovi, dedicati allo scopo, integri e puliti;
- 6) per evitare contaminazioni accidentali si richiede il costante impiego, durante i prelievi, di guanti in lattice e di bisturi monouso, nonché di idonei contenitori sterili per i campioni;
- 7) non trattare le api con farmaci. Quest'ultimo aspetto si è rivelato quello più critico per la sopravvivenza degli alveari di monitoraggio. La gestione della varroa, infatti, ormai affermata quale una delle principali cause di mortalità e spopolamento degli alveari a livello mondiale, è cruciale nella normale pratica apistica. Nel caso degli alveari sentinella, l'unica pratica per il contenimento dell'infestazione ammessa è infatti l'asportazione di covata. Quest'ultima può essere praticata anche in diversi periodi dell'anno ma da sola è improbabile che riesca a garantire la sopravvivenza delle famiglie. Anche ricorrendo ad acido ossalico per analisi di laboratorio ed avendo cura di impiegare acqua ultrapura per la diluizione, rimane il rischio di contaminare l'alveare con eventuali contaminanti presenti nello zucchero. L'elevata mortalità degli alveari, in alcuni casi anche del 100% nel corso di una stagione apistica, è senza dubbio un aspetto critico nell'impiego delle api quali sentinelle dell'inquinamento agro-ambientale.



5.6 MODALITÀ DI PRELIEVO DEI CAMPIONI

Protocolli operativi andranno definiti per ogni matrice da campionare, riguardo ai quantitativi da prelevare per ciascun alveare, in base all'inquinante e al tipo di accertamento analitico da svolgere.

Tabella n. 5: Tipologia di matrice e quantitativo da prelevare in base all'inquinante da ricercare (* matrice di elezione)

Radionuclidi	Metalli pesanti	β -HCH
Miele*: 300g Polline*: 200g Cera*: 300g Api: 200g	Miele*: 20 g Polline*: 20 g Covata*: 20 g (api in 200 opercoli, pari a 10x10 cm) Api*: 20 g (200 api) Cera (di opercolo): 20 g	Miele*: 20 g Polline*: 20 g Api*: 20 g (200 api) Cera (di opercolo)*: 20 g Covata: 20 g (api in 200 opercoli, pari a 10x10 cm)
Prodotti fitosanitari	IPA	
Polline*: 20 g Miele: 20 g Api*: 20 g (200 api) Cera (di opercolo)*: 20 g Covata: 20 g (api in 200 opercoli, pari a 10x10 cm)	Polline*: 10 g Api*: 20g (200 api) Cera: 50 g	

Nella fase di stesura dello studio dovremo anche definire un protocollo di campionamento per ogni apiario. Questo cambierà in funzione della zona in cui è ubicato l'apiario e della conseguente attività di volo delle api. Nella tabella sottostante riportiamo un esempio.

Tabella n. 6: Esempio di protocollo di campionamento da realizzare

Periodo	Cadenza di campionamento	Numero di campionamenti
aprile 2015 – settembre 2015	Mensile	6
ottobre 2015-novembre 2015	Bimensile	1
Totale		7

I campionamenti saranno stabiliti in base agli obiettivi ed alle necessità specifiche. A titolo di esempio, potremmo avere per ogni apiario di monitoraggio, 1 dato per ogni contaminante da ciascun alveare. A tal fine, per ogni data di prelievo sarà necessario campionare, per ogni molecola di contaminante, 1 campione per ogni matrice (cera, polline, api ecc.) per ogni alveare.

Queste, nello specifico, le modalità di prelievo delle singole matrici.

5.6.1 Prelievo del miele

Se vogliamo garantire il monitoraggio di contaminazione recente, il miele da utilizzare per le analisi deve essere fresco, non opercolato. Tale miele avrà quasi certamente una umidità superiore al 18%. La valutazione del tasso di umidità dei singoli campioni sarà effettuata direttamente in campo con l'utilizzo di un rifrattometro (mielometro). La parte di favo scelta per il campionamento (di dimensioni 15x15 cm) viene escissa con bisturi sterile (da sostituire dopo ogni prelievo) ed il miele viene spremuto dal favo in un contenitore sterile monouso (busta presto-chiuso). La cera eventualmente presente deve essere, per quanto possibile, allontanata.

Figura n. 20: Favo contenente miele fresco, idoneo al campionamento finalizzato a monitorare una contaminazione recente



5.6.2 Prelievo del polline

Il polline deve essere prelevato mediante trappole raccogli polline posizionate almeno 24 ore prima del prelievo. Le trappole presenti in commercio sono costruite con materiali molto eterogenei (legno, plastica, ferro) ma da preferire sono quelle in materiale facilmente pulibile e disinfettabile, con rete raccogli polline in acciaio inox. Il polline deve essere prelevato dalla trappola entro 48 ore e posto in un contenitore sterile monouso (busta presto-chiuso). Da evitare la presenza di api morte o residui di varia natura nel contenitore.

Figura n. 21: Polline raccolto mediante trappola, inserito all'interno di una busta presto-chiuso sterile





5.6.3 Prelievo di covata

La quantità di covata da impiegare per il monitoraggio è solitamente costituita da pupe di api in 200 opercoli, pari a una porzione di favo 10x10 cm (20 g). La porzione di favo viene escissa con bisturi sterile (da sostituire dopo ogni prelievo) e posta in un contenitore sterile monouso (busta presto-chiuso). Le pupe campionate saranno immediatamente riposte in contenitori termici contenenti ghiaccio secco od altro idoneo materiale per la crioconservazione, così da ridurre l'attività vitale nel più breve tempo possibile. La separazione delle pupe dal favo è facilitata a temperatura di congelamento, previa disciolatura delle cellette con bisturi sterile.

5.6.4 Prelievo di api

Il prelievo della matrice ape consiste nella cattura di un minimo di 200 api bottinatrici (circa 20g di api) al rientro in alveare. In questo modo avremo raccolto api esposte alla contaminazione esterna. Per ottenere api bottinatrici, effettivamente le uniche in movimento costante nel territorio intorno la postazione, verrà chiusa la porticina dell'alveare per facilitare il loro accumulo sul predellino di volo. Si preferirà effettuare i campionamenti nelle tarde ore mattutine o nel primo pomeriggio, ossia quando le api mostreranno un'intensa attività di bottinatura. Ciascun campione dovrà essere immediatamente pesato per garantire una quantità minima di 10g. Inoltre, le api campionate saranno immediatamente riposte in contenitori termici contenenti ghiaccio secco od altro idoneo materiale per la crioconservazione, sì da ridurre l'attività vitale nel più breve tempo possibile. Oltre al campionamento di api bottinatrici può risultare determinante il campionamento di api morte presenti nei pressi dell'alveare, per permettere l'identificazione delle sostanze responsabili in caso di sopraggiunta mortalità acuta da avvelenamento.

Figura n. 22: Prelievo della covata con bisturi sterile



Figura n. 23: Prelievo delle api bottinatrici. Nota: sull'alveare è posizionata la trappola per la raccolta del polline, chiusa



5.6.5 Prelievo di cera

Il prelievo della matrice cera consiste nella escissione di cera d'opercolo fresca (quindi, recentemente stirata), ottenuta preferibilmente da cellette contenenti miele. Per il prelievo utilizzeremo il solito materiale monouso già precedentemente descritto. In assenza di cera di opercolo recentemente costruita (rinvenibile grazie al colore più chiaro), è possibile prelevare campioni di cera nelle parti terminali del favo che siano state recentemente costruite (vedi foto). In questo caso la campionatura è facilitata con i telaini starter impiegati negli alveari sentinella.

Figura n. 24: Prelievo di cera





5.7 ANALISI DI LABORATORIO

Le metodiche di laboratorio normalmente adottate presso l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana per la ricerca dei contaminanti ambientali sono:

- la gascromatografia massa/massa (GC-MS/MS) per gli agrofarmaci (pesticidi);
- la cromatografia liquida ad alta prestazione con rilevazione fluorimetrica (HPLC-FLD);
- la spettrometria di massa quadrupolare per i metalli pesanti;
- la spettrometria gamma per i radionuclidi gamma-emittenti (^{131}I , ^{134}Cs , ^{137}Cs e ^{40}K).

5.8 I FATTORI INTERFERENTI

Esistono fattori "esterni", cioè non dipendenti *stricto sensu* dall'ambiente, che possono interferire sui livelli di contaminazione dei prodotti dell'alveare. In particolare, il ricorso all'affumicatore.

L'affumicatore è uno strumento impiegato in apicoltura per produrre fumo con lo scopo di tranquillizzare le api durante l'ispezione degli alveari. Fisicamente è composto da un cilindro metallico chiamato fornello dove l'apicoltore inserisce del materiale combustibile; legato al fornello c'è un coperchio che viene chiuso una volta acceso il combustibile, in modo che la combustione avvenga senza fiamma e produca fumo. Il fornello è alimentato attraverso un mantice azionato a mano; il fumo fuoriesce attraverso un beccuccio, più o meno lungo in base al modello, situato sul coperchio. Il fumo viene indirizzato dove l'apicoltore ne ha più bisogno mentre opera sulla famiglia.

Lo scopo dell'affumicatore è rendere le api più docili, disorientate e meno aggressive per il tempo della visita. È stata fatta l'ipotesi che l'odore del fumo richiami alle api il pericolo di un incendio, spingendole a fare una grande scorta di miele, nell'eventualità di dover abbandonare l'arnia. Una volta riempite di miele, le api hanno grosse difficoltà ad estrarre il pungiglione.

L'affumicatore è quindi uno strumento fondamentale per la pratica apistica quotidiana. Molto importante è cosa si brucia all'interno del fornello per produrre fumo. Esistono infatti diversi tipi di combustibile che vengono impiegati dagli apicoltori. Quelli suggeriti poiché oltre al fatto di essere materiali naturali, forniscono al fumo diversi aromi che sono apprezzati sia dalle api che dall'apicoltore durante la sua attività, sono: cippato, aghi di pino, rami, bastoni, foglie secche, pellet, tabacco, cotone, juta, erba, tutoli di mais, ecc. I combustibili che invece non vanno impiegati sono: specie vegetali velenose, come ad esempio il sommacco e alcune specie di edera, plastica, gomma, stracci unti.

Ma il materiale che viene maggiormente utilizzato dagli apicoltori per la sua reperibilità e per la velocità di accensione è il cartone. In commercio esistono diversi tipi di cartone: quello da imballaggio ordinario e quello per l'imballaggio di alimenti. A differenza del cartone da imballaggio ordinario, il cartone destinato a venire a contatto con gli alimenti potrebbe presentare il vantaggio derivante dall'ottemperanza ai requisiti legali sulla capacità a non cedere contaminanti all'alimento, benché tali requisiti siano definiti per condizioni del tutto diverse dallo stato di combustione.

Quando abbiamo bisogno dell'affumicatore, accendiamo il cartone al suo interno per produrre fumo. Il fumo per definizione è "una dispersione liquida di particelle solide che derivano dalla combustione incompleta del combustibile", fra le quali sono presenti molti composti altamente tossici o irritanti.

I principali componenti del fumo derivante dalla combustione del cartone ad una temperatura media di 400°C per 4,8g di campione sono:

- monossido di carbonio 0,758 mg/g
- anidride carbonica 4,088 mg/g

- acido cianidrico 0,004 mg/g
- acroleina 0,014 mg/g
- formaldeide 0,074 mg/g.

Nel fumo, inoltre, sono presenti idrocarburi policiclici aromatici (IPA), che si sprigionano dalla combustione, e metalli pesanti, che possono essere anche presenti nelle vernici o nei collanti.

Il meccanismo di formazione degli IPA durante il processo di combustione è alquanto complesso; consiste principalmente nella ripolimerizzazione di frammenti d'idrocarburo, che si formano durante il processo noto come cracking (la frammentazione in numerose parti delle molecole più grosse del combustibile a contatto con il fuoco). La reazione di ripolimerizzazione avviene soprattutto in condizioni di mancanza d'ossigeno e, conseguentemente, la velocità di formazione degli IPA aumenta con il diminuire del rapporto ossigeno/combustibile.

Per i suddetti motivi, quando si deve fare uno studio di monitoraggio ambientale con le api non deve essere utilizzato l'affumicatore.

Bozza 6
formato mm210x297
allestimento brossura fresco



Capitolo 6. Conseguenze della contaminazione ambientale: i cambiamenti climatici

La contaminazione generata dall'uomo impatta notevolmente sull'ambiente, provocando una lunga serie di cambiamenti, tra cui quelli climatici. Questi ultimi possono rivoluzionare gli equilibri ecosistemici attuali e mettere a repentaglio la salute stessa degli animali e dell'uomo.

Per comprendere quali siano i meccanismi fisico-chimici alla base dei cambiamenti climatici è necessario approfondire lo studio dell'atmosfera e comprendere l'importanza dell'effetto serra.

6.1 L'ATMOSFERA

L'atmosfera può considerarsi come l'insieme dei gas, particelle liquide e solide, che avvolgono la terra. La presenza di un'atmosfera assicura la vita sul nostro pianeta ed è la sede di molti fenomeni che vanno dall'arcobaleno alle aurore boreali, dai cambiamenti climatici alle piogge acide.

La densità dell'atmosfera decresce in maniera esponenziale man mano che ci si allontana dalla superficie terrestre, pertanto oltre il 99% dei suoi componenti sono confinati nelle prime decine di chilometri d'altezza dal suolo. Essendo, quindi, la parte inferiore della stessa quella che contiene la maggior parte dei gas ed anche quella più facilmente raggiungibile dalle emissioni di composti provenienti dalla superficie terrestre, eventuali emissioni dovute alle attività umane possono avere degli effetti non trascurabili sull'equilibrio dell'atmosfera.

La distribuzione dei gas nell'atmosfera è un ulteriore elemento di fragilità, poiché i composti responsabili dei cambiamenti climatici o del degrado della qualità dell'aria sono presenti in traccia (concentrazioni in ordini di grandezza inferiori a quelle dei composti principali), per cui aumenti di emissioni ne possono facilmente alterare le concentrazioni. Infatti, la maggior parte dell'atmosfera (circa il 99.8%) è costituita da azoto, ossigeno ed argon, composti che non hanno alcun ruolo nei processi responsabili dei cambiamenti climatici, così come in quelli di degrado della qualità dell'aria, mentre il ruolo fondamentale è svolto da alcuni dei composti inclusi nel restante 0.2%. Ad esempio, l'anidride carbonica (CO_2) ha concentrazioni dell'ordine di 400 ppm (parti per milioni, cioè per ogni milione di molecole in atmosfera se ne hanno 400 di CO_2). Anche gli altri composti clima-alteranti come metano (CH_4), protossido di azoto (N_2O) ed ozono (O_3) sono presenti in atmosfera con un rapporto di mescolamento dell'ordine dei ppm e ppb (parti per bilione). Quindi una delle ragioni per cui le attività umane possono interferire pesantemente sul clima è che le concentrazioni dei composti clima-alteranti sono ordini di grandezza (milioni di volte) più basse rispetto a quelli maggioritari, di conseguenza un piccolo aumento di emissioni si ripercuote pesantemente sulle concentrazioni in atmosfera, causando un aumento dell'effetto serra.

6.2 L'EFFETTO SERRA

L'effetto serra, cioè la proprietà di alcune molecole di assorbire (intrappolare) la radiazione riemessa dalla superficie terrestre, è un fenomeno del tutto naturale, ed anzi, fondamentale per la vita sulla terra. Infatti, se nell'atmosfera terrestre non vi fossero gas serra, la temperatura media del nostro pianeta sarebbe di circa -18°C , situazione alquanto inospitale per tante forme di vita. Al contrario, l'effetto serra garantisce una temperatura mediata su tutto il globo, di circa 15°C .

Da queste considerazioni si evince come l'effetto serra sia di per sé fondamentale per sostenere il sistema terra così come lo conosciamo.

Il fenomeno allarmante, a cui stiamo assistendo negli ultimi decenni, è l'aumento, come mai era avvenuto in passato, delle concentrazioni dei composti clima-alteranti che ha come effetto immediato il rafforzamento dell'effetto serra e, quindi, l'aumento della temperatura media dell'atmosfera.

I processi per cui avviene l'effetto serra sono una diretta conseguenza di alcune caratteristiche fondamentali della radiazione emessa dal sole e di quella riemessa dalla terra, oltre che di proprietà di interazione tra la radiazione ed alcuni composti presenti nell'atmosfera terrestre. Lo spettro di lunghezze d'onda della radiazione solare ha una distribuzione di energia compresa tra l'ultravioletto ed il primo infrarosso, con la gran parte di energia centrata nell'ultravioletto-visibile. Al contrario, la radiazione riemessa dalla terra è tutta nell'infrarosso, con la maggior parte della distribuzione centrata intorno a 10 μm . Pertanto, il fattore fondamentale è che la radiazione proveniente dal sole ha delle lunghezze d'onda del tutto separate, spettralmente, da quelle riemesse dalla terra. A ciò si aggiunge la proprietà dei gas serra di essere alquanto trasparenti alle lunghezze d'onda comprese tra l'ultravioletto e il visibile, ma di essere, al contrario, molto efficaci nell'assorbire quelle nell'infrarosso. Da tutto ciò si deduce il perché solo alcuni composti atmosferici siano "gas serra": le loro caratteristiche intrinseche fanno sì che la radiazione solare le possa attraversare e quindi raggiungere la superficie terrestre minimamente alterate, mentre la radiazione riemessa dalla terra viene intrappolata, con un conseguente effetto di riscaldamento della superficie terrestre.

6.3 LE CAUSE DEI CAMBIAMENTI CLIMATICI

Il gas serra che più contribuisce all'aumento della temperatura media della terra è l'anidride carbonica (CO_2). Questa molecola, emessa naturalmente in atmosfera dalla vegetazione, è uno dei prodotti dei processi di combustione, per cui molte delle attività antropiche (ad esempio trasporti con mezzi a motore a scoppio, utilizzo di combustibili fossili per il riscaldamento di edifici, produzione di energia elettrica ed attività industriali), sono sorgente aggiuntiva di CO_2 .

L'aumento costante della concentrazione di CO_2 , a partire dagli anni '50, riflette in maniera chiara l'aumento di attività umane che utilizzano combustibili fossili. Si pensi che dai circa 280 ppm di concentrazione di CO_2 del periodo pre-rivoluzione industriale si è passati ai 400 ppm attuali, un aumento di quasi il 40%. Ciò ha provocato un'amplificazione (forcing) dell'effetto serra con incrementi della temperatura media globale, anch'essa perfettamente correlata all'aumento di attività umane dipendenti da combustibili fossili. La vita media della CO_2 , cioè il tempo che questa molecola trascorre in atmosfera prima di essere rimossa, è di un centinaio di anni, pertanto, una volta emessa in atmosfera vi rimane e svolge il suo ruolo di gas serra circa un secolo. La caratteristica di questo gas di avere una vita media molto lunga in atmosfera, fa della CO_2 un gas ben mescolato in atmosfera, cioè le sue concentrazioni, escludendo le variazioni locali, sono mediamente abbastanza simili su tutta la terra, nonostante le emissioni varino molto tra paesi a forte industrializzazione e quelli poco sviluppati. Quindi, tutte le problematiche climatiche legate all'aumento delle emissioni di CO_2 sono assolutamente globali (l'atmosfera non ha confini territoriali e i moti orizzontali e verticali delle masse d'aria trasportano i composti da zone con elevate emissioni a quelle con minori) e, inoltre, altamente inique perché gli effetti riguardano tutti, indipendentemente dal contributo alle emissioni nocive.

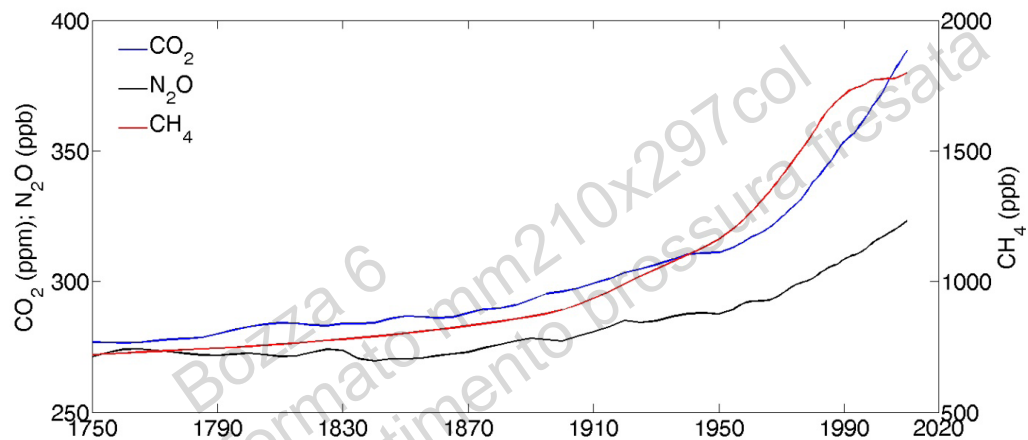
Altro gas serra è il metano (CH_4), secondo per importanza in termini di contributo al forcing radiativo¹⁸, è anch'esso ben mescolato in atmosfera con vita media di una decina di anni e viene

¹⁸ Il forcing radiativo è la misura dell'influenza di un fattore (ad esempio l'aumento dell'anidride carbonica o altri gas serra nell'atmosfera) nell'alterazione del bilancio tra energia entrante ed energia uscente nel sistema Terra-atmosfera. Esso è indice del peso di un fattore nel meccanismo dei mutamenti climatici. Un forzante



prodotto dalle risaie, dal metabolismo dei bovini e dalle perdite dei metanodotti. Le concentrazioni di CH_4 dall'era preindustriale sono raddoppiate, passando da 0,8 ad 1,7 ppm. Gas clima alterante è anche il protossido di azoto (N_2O), passato dai 271 ppb del 1750 ai 323 ppb del 2011, derivante prevalentemente dalle attività agricole (concimi azotati) e dai reflui zootecnici.

Figura n. 25: Andamento dei gas serra principali a partire dal 1750 sulla base dei dati forniti dall'IPCC, 2013



L'ozono, infine, che nel rapporto IPCC è considerato il terzo gas serra in termini di contributo al forcing radiativo, ha la caratteristica di contribuire a riscaldare il pianeta (forcing positivo) quando si trova nella bassa atmosfera, dove per altro è anche un dannoso inquinante per l'uomo e la vegetazione. Mentre quando è situato a distanze superiori a 20 km dal suolo, l'ozono (detto stratosferico), sebbene contribuisca a raffreddare in maniera molto limitata il pianeta (forcing negativo), costituisce quello strato protettivo per le radiazioni UV (dannose per i tumori della pelle), che vengono assorbite in alta atmosfera in maniera da raggiungere la superficie terrestre molto attenuate.

Il vapore acqueo, seppure contribuisca meno dei precedenti gas serra al forcing radiativo, a causa della minor abbondanza in atmosfera, è di notevole importanza poiché, in termini di assorbimento della radiazione, e quindi di efficacia come gas serra, è superiore anche alla CO_2 (circa 93,5 watt/m², contro circa 50 watt/m² della CO_2). Inoltre, amplifica l'effetto serra attraverso quello che viene definito processo di feedback: l'aumento di temperatura provocato dall'aumento di CO_2 ed altri gas serra provoca l'aumento dell'evaporazione degli oceani e quindi aumento di vapore acqueo in atmosfera, di conseguenza c'è un aumento di assorbimento di radiazione che induce l'aumento della temperatura, e di nuovo maggior evaporazione e rafforzamento dell'effetto serra.

Si può pertanto concludere, che il contributo al forcing radiativo è dominato dalle attività antropiche ed influenzato in maniera molto marginale da quelle naturali, come ad esempio la variazione di radiazione solare incidente sulla terra dovuta alle variazioni di attività solare, la quale oscilla tra un massimo ed un minimo con un periodo di undici anni.

positivo è associato ad un riscaldamento della superficie terrestre, mentre un forzante negativo è associato ad un raffreddamento. È generalmente espresso in W/m².

6.4 CAMBIAMENTI AD OGGI RILEVATI E CONSEGUENZE

Le osservazioni sulla superficie terrestre e su quella degli oceani dimostrano che nel periodo 1901-2012, mediando le misure effettuate su tutto il globo, la temperatura atmosferica è aumentata di 0,89 °C, mentre è aumentata di 0,72 °C nel periodo 1951-2012. Pertanto, in quest'ultimo lasso di tempo la temperatura è aumentata con un rate di 0,12 °C per decade.

L'aumento della temperatura è ben correlato con quello delle concentrazioni di CO₂. Aumenti identici si registrano per gli altri gas serra. Ad esempio, il metano rispetto al periodo preindustriale, è aumentato di 2,5 volte, passando da 720 ppb a 1803 ppb, con aumenti sensibili a partire dal 1997 come già indicato nella Figura n. 25.

Il livello del mare, anche in questo caso le osservazioni si riferiscono ad una media su tutto il globo, registra un aumento di 0,19 m nel periodo 1901-2010, con un aumento tendenziale più marcato a partire dal 1931.

Diversi fenomeni inaspettati o estremi, nelle più svariate sfaccettature del sistema terra, possono essere ricondotti, in termini di cause dirette o indirette ai cambiamenti climatici.

L'agricoltura è uno dei termometri più sensibili e molte volte inequivocabili, in quanto la temperatura e la disponibilità di acqua in questo settore hanno un ruolo preponderante. L'anticipo della fioritura e del raccolto è un fenomeno osservato per diverse colture, con variazioni che dipendono dal tipo di pianta. L'area mediterranea è una della più vulnerabili, perché l'aumento di temperatura è accompagnato dalla diminuzione di piogge e quindi dall'inaridimento dei terreni.

Nel Mediterraneo, in diversi studi sono stati osservati anticipi della fioritura, così come della raccolta di diverse piante, dell'ordine 0,5 giorni/anno. Anche nella vendemmia i cambiamenti degli ultimi decenni sono molto evidenti: in alcune aree e per alcune varietà di uva, l'anticipo della vendemmia può raggiungere anche diverse settimane rispetto a quanto avveniva precedentemente.

Ovviamente, le analisi su scala globale dei report, come quello dell'*Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC), hanno una grossa rilevanza perché permettono di effettuare valutazioni di carattere generale, ma allo stesso tempo bisogna tener presente che, a livello locale, le variazioni di temperatura osservate, così come tutti gli altri mutamenti conseguenza dei cambiamenti climatici, possono essere molto diversi, a causa di fattori regionali o locali che amplificano o attenuano gli effetti osservati in generale.



BIBLIOGRAFIA

- Abdel-Shafy, H. I., Mansour, M. S., 2016. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), 107-123.
- Accorti M. (2000). Api e fitofarmaci. Regione Toscana, edizioni della Giunta Regionale.
- Accorti M., Luti F. (2000). Api e impollinazione. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Alaux C., Brunet J.L., Dussaubat C., Mondet F., Tchamitchan S., Cousin M., Brillard J., Baldy A., Belzunces L.P., Le Conte Y. (2009) Interactions between *Nosema* microspores and a neonicotinoid weaken honeybees (*Apis mellifera*). *Environ Microbiol.* 2010 Mar; 12(3): 774–782. doi: 10.1111/j.1462-2920.2009.02123.x
- Aufauvre J., Biron D. G., Vidau C., Fontbonne R., Roudel M., Diogon M., Vigues B., Belzunces L. P., Delbac F. e Blot N. (2012). Parasite-insecticide interactions: a case study of *Nosema ceranae* and fipronil synergy on honeybee. *Science Report*.
- Aygun A., Sahin A., Karaca Y., Turkmen S., Turedi S., Ahn S.Y., Kim S., Gunduz A. 2017. Grayanotoxin levels in blood, urine and honey and their association with clinical status in patients with mad honey intoxication. *Turkish Journal of Emergency Medicine* 18 (2018) 29-33. dx.doi.org/10.1016/j.tjem.2017.05.001
- Bianco P.M. (a cura di), 2015. Impatto sugli ecosistemi e sugli esseri viventi delle sostanze sintetiche utilizzate nella profilassi antizanzara. ISPRA, Quaderni Ambiente e Società 10/2015.
- Bogdanov S. 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie*, 2006, 37 (1), 1-18.
- Bortolotti L., Montanari R., Marcelino J., Medrzycki P., Maini S. e Porrini C. (2003) Effects of sub-lethal imidacloprid doses on the homing rate and foraging activity of honey bees. *Bulletin of Insectology*.
- Bulgarelli D. *et al.* 2012 Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota *Nature* Vol. 488:91–95.
- Burden C.M., Morgan M.O., Hladun K.R., Amdam G.V. 2019. John J. Trumble³ & Brian H. Smith¹ Acute sublethal exposure to toxic heavy metals alters honey bee (*Apis mellifera*) feeding behaviour. *Scientific Report*. (2019) 9:4253, <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40396-x>.
- Carpana E., Lodesani M. (2014) Patologia e avversità dell'alveare.
- Celli G., Maccagnani B. 2003. Honeybees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology* 56 (1): 137-139, 2003
- Contessi A. (2016). Le api, biologia, allevamento, prodotti. Edagricole.
- Contessi A., Formato G. (2018). Malattie delle api e salute dell'alveare. Edagricole.
- Contessi A.. (2016). Le api, biologia, allevamento, prodotti. Edagricole.
- Cox R. L. e Wilson W. T. (1984) Effects of permethrin on the behavior of individually tagged honey bees, *Apis mellifera* L. (Hymenoptera: Apidae). *Environmental Entomology*.
- Cristofolini G. (2010). www.bo.cnr.it/events/Giornata-biodiversità.
- Cristofolini G. (2013). Manuale tecnico. PP-ICON - Plant-Pollinator Integrated CONservation approach: a demonstrative proposal.
- Crowder D. W., Jabbour R., 2014 Relationships between biodiversity and biological control in agroecosystems: Current status and future challenges. *Biological Control* Vol. 75: 8–17
- Cruz A. d. S., Silva-Zacarin E. C. M. d., Bueno O. C. e Malaspina O. (2010) Morphological alterations induced by boric acid and fipronil in the midgut of worker honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae. *Cell Biology and Toxicology*.
- D'Ascenzi C., Formato G., Mannaioni G., Carnesecchi E., Carracciolo I. In: Food safety e food security,

scenari futuri e ineludibile evoluzione della prevenzione primaria. Buone Pratiche di Sanita Pubblica Veterinaria per la One Health e la Sicurezza Alimentare. Società Italiana di Medicina Veterinaria Preventiva. Disponibile su: www.veterinariapreventiva.it

D'Ascenzi C., Formato G., Martin P. 2019. Chemical hazards in honey, in Smulders F.J.M., Rietjens I.M.C.M. and Rose M. Chemical hazards in foods of animal origin. Wageningen Academic Publishers <https://doi.org/10.3920/978-90-8686-877-3>

Dall'Acqua G., Franchini S., Minghetti G., Taddia A.. Api e impollinazione. Terra Trentina. <https://www.yumpu.com/it/document/view/16417182/api-e-impollinazione-da-terra-trentina-https://>

Di N., Hladun K.R., Zhang K., Liu T.X., Trumble J.T. 2016. Laboratory bioassays on the impact of cadmium, copper and lead on the development and survival of honeybee (*Apis mellifera* L.) larvae and foragers. *Chemosphere*. 2016 Jun; 152:530-8. [10.1016/j.chemosphere.2016.03.033](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.033)

DM 22-01-14 sull' "adozione del Piano Nazionale d'azione per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari" (PAN).

EFSA (European Food Safety Authority), 2005. Opinion of the Scientific Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies on a request from the Commission related to the Tolerable Upper Intake Level of Tin. *The EFSA Journal* (2005) 254, 1-25. Available online: http://www.efsa.eu.int/science/nda/nda_opinions/catindex_en.html

EFSA (European Food Safety Authority), 2008a. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food chain on Perfluorooctane sulfonate (PFOS), perfluorooctanoic acid (PFOA) and their salts. *The EFSA Journal* (2008) 653, 1-131. Available online: <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2008.653>

EFSA (European Food Safety Authority), 2008b. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. *The EFSA Journal* (2008) 724, 1-114. Available online: <https://www.efsa.europa.eu/it/efsajournal/pub/724>

EFSA (European Food Safety Authority), 2012a. Lead dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* 2012;10(7):2831. doi:10.2903/j.efsa.2012.2831. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.

EFSA (European Food Safety Authority), 2012b. Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA Journal* 2012;10(1):2551. doi:10.2903/j.efsa.2012.2551. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal.

EFSA (European Food Safety Authority), 2012c. Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM); Scientific Opinion on the risk for public health related to the presence of mercury and methylmercury in food. *EFSA Journal* 2012;10 (12):2985. doi:10.2903/j.efsa.2012.2985. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA (European Food Safety Authority), 2012d. Update of the monitoring of levels of dioxins and PCBs in food and feed. *EFSA Journal* 2012;10(7):2832. doi:10.2903/j.efsa.2012.2832. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA (European Food Safety Authority), 2014. Dietary exposure to inorganic arsenic in the European population. *EFSA Journal* 2014;12(3):3597. doi:10.2903/j.efsa.2014.3597. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA (European Food Safety Authority), 2015. NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal* 2015;13(10):4253. doi:10.2903/j.efsa.2015.4253. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal

EFSA (European Food Safety Authority), 2016. Dietary exposure assessment to pyrrolizidine alkaloids in the European population. *EFSA Journal* 2016,14(8):4572. Available on line: www.efsa.europa.eu/publications.

EFSA (European Food Safety Authority), 2017. Panel on Contaminants in the Food Chain. Risks for



- human health related to the presence of pyrrolizidine alkaloids in honey, tea, herbal infusions and food supplements. EFSA Journal 2017;15(7):4908 (www.efsa.europa.eu/efsajournal).
- EFSA (European Food Safety Authority), 2018. Arena M., Auteri, D., Barmaz S. Bellisai G., Brancato A., Brocca D., Bura L., Byers H., Chiusolo A., Court Marques D., Crivellente F., De Lentdecker C., Egsmose M., Erdos Z., Fait G., Ferreira L., Goumenou M., Greco L., Ippolito A., Istace F., Jarrah S., Kardassi D., Leuschner R., Lythgo C., Magrans J.O., Medina P., Miron I., Molnar T., Nougadere A., Padovani L., Parra Morte J.M., Pedersen R., Reich H., Sacchi A., Santos M., Serafimova R., Sharp R., Stanek A., Streissl F., Sturma J., Szentes C., Tarazona J., Terron A., Theobald A., Vagenende B., Verani A., Villamar-Bouza L. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance copper compounds copper(I), copper(II) variants namely copper hydroxide, copper oxychloride, tribasic copper sulfate, copper(I) oxide, Bordeaux mixture. EFSA Journal 2018;16(1):5152. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5152>. Available online: www.efsa.europa.eu/efsajournal
- Ellis, P. R., J. A. Hardman, T. C. Crowther & P. L. Saw, 1993. Exploitation of the resistance to carrot fly in the wild carrot species *Daucus capillifolius*. *Annals of Applied Biology* Vol. 122 : 79–91.
- Erdős N. (2018). Relazione sulle prospettive e le sfide per il settore dell'apicoltura dell'UE, (2017/2115 - INI). Commissione per l'agricoltura e lo sviluppo rurale. A8-0014/2018.
- Felicioli A. (2000). Api e impollinazione. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Ferilli F., Barbattini R., Milani N. (2001). L'ape, forme e funzioni. Calderini Edagricole. ⁷
- Ferron P., 1978. Biological Control of Insect Pests by Entomogenous Fungi. *Annual Review of Entomology*, Vol. 23: 409-442. Guglielmo M., 2009. Valle del Sacco: dall'emergenza al rilancio. *La Regione*, anno 1, n.1, pp. 14-21.
- Fismes, J., Perrin-Ganier, C., Empereur-Bissonnet, P., Morel, J.L., 2002. Soil to root transfer and translocation of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetables grown on industrial contaminated soils. *J. Environ. Qual.* 31, 1649–1656.
- Formato G. (2017). Progetto di ricerca corrente IZS LT 06/14 RC “Produzione locale del polline: analisi dei pericoli e studio di un modello per la loro prevenzione”.
- Formato G.. (2017). Progetto di ricerca corrente IZS LT 06/14 RC “Produzione locale del polline: analisi dei pericoli e studio di un modello per la loro prevenzione”.
- Frediani D. (1993). Le api per l'impollinazione, manuale pratico ad uso dell'apicoltore e dell'agricoltore. FAI.
- Frediani D. (2000). Api e impollinazione. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Galloni M. (2013). Manuale tecnico. PP-ICON - Plant-Pollinator Integrated CONservation approach: a demonstrative proposal.
- Girotti A.. (1983). Apicoltura e impollinazione. Edagricole.
- Guida all'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari - Sardegna Agricoltura 11-12-2015, www.sardegnaagricoltura.it>pubblicazioni>opuscoli e manuali.
- Haritash, A. K., Kaushik, C. P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Journal of hazardous materials*, 169(1-3), 1-15.
- Harris C.R., Moy P., 1978. Insecticide residues in organic soil of the Holland Marsh, Ontario, Canada, 1972-75, *Journal of Economic Entomology*, Vol. 7 | (1): 97 -101.
- Hill, D. S., 1987. *Agricultural insect pests of temperate regions and their control*, Cambridge University PressBook, Cambridge, 659 p.
- Lambert, O., Veyrand, B., Durand, S., Marchand, P., Le Bizec, B., Piroux, M., Pouliquen, H., 2012. Polycyclic aromatic hydrocarbons: bees, honey and pollen as sentinels for environmental chemical contaminants. *Chemosphere*, 86(1), 98-104.

- Lambin M., Armengaud C., Raymond S. e Gauthier M. (2001) Imidacloprid-induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*.
- Lodesani M. (2009). *L'ape regina, allevamento e selezione*. Edizioni Avenue media.
- Maggid A. D., Kimanya M. E., Ndakidemi PA., 2014. The contamination and exposure of mercury in honey from Singida, Central Tanzania. *American Journal of Research Communication*, 2014, 2(10): 127-139.
- Maini S., Porrini C., Renzi M.T. (2014). Sintesi delle ricerche sugli effetti indesiderati dei pesticidi nei confronti delle api. *Dossier l'Apis*.
- Manuale di difesa integrata MIPAAF - Guida per l'applicazione dei principi generali della difesa integrata obbligatoria definiti dall'allegato III della direttiva 2009/128/C.
- Matsumoto T. (2013) Reduction in homing flights in the honey bee *Apis mellifera* after a sublethal dose of neonicotinoid insecticides. *Bulletin of Insectology*.
- MATTM (Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare), CNR-IRSA. 2017. Realizzazione di uno studio di valutazione del Rischio Ambientale e Sanitario associato alla contaminazione da sostanze perfluoroalchiliche (PFAS) nel Bacino del Po e nei principali bacini fluviali italiani. Disponibile su: https://www.minambiente.it/sites/default/files/archivio/allegati/reach/progetto_PFAS_sintesi.pdf
- Meli M.A., Desideri D., Roselli C., Feduzi L., Benedetti C., 2016. Radioactivity in honey of the central Italy. *Food Chemistry* 202 (2016) 349-355.
- Mengozzi G., Soldani G. (2010) *Tossicologia Veterinaria*.
- Ministero della Salute. 2016. Acque potabili – Parametri: il rame. <http://www.salute.gov.it/portale/temi/documenti/acquepotabili/parametri/RAME.pdf>
- Mirwan H.B., Kevan P.G. (2013). Social Learning in Bumblebees (*Bombus impatiens*): Worker Bumblebees Learn to Manipulate and Forage at Artificial Flowers by Observation and Communication within the Colony. *Psyche* DOI:10.1155/2013/768108.
- New Zealand Government, 2016. Ministry for Primary Industries, Compliance Guide to the Food Standard: Tutin in Honey. Available online: <http://www.mpi.govt.nz/dmsdocument/20489-compliance-guide-to-the-food-standard-tutin-in-honey-2016>
- Parrish, Z.D., White, J.C., Isleyen, M., Gent, M.P.N., Iannucci-Berger, W., Eitzer, B.D., Kelsey, J.W., IncorviaMattina, M., 2006. Accumulation of weathered polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by plant and earthworm species. *Chemosphere*. 2006 Jul;64(4):609-18.
- Perugini, M., Di Serafino, G., Giacomelli, A., Medrzycki, P., Sabatini, A. G., Persano Oddo, L., Amorena, M., 2009. Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons in bees (*Apis mellifera*) and honey in urban areas and wildlife reserves. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(16), 7440-7444.
- Pettis J. S., Collins A. M., Wilbanks R. e Feldlaufer M. F. (2004) Effects of coumaphos on queen rearing in the honey bee, *Apis mellifera*. *Apidologie*.
- Pierotti L. (2000). *Api e impollinazione*. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Pinzauti M. (2000). *Api e impollinazione*. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Porrini C. (2014). *Ecocoscienza* (4):42-43.
- Porrini C., Monaco L., Meorzycki P. 2000. Rilevamento della mortalità di *Apis mellifera* L. (Hymenoptera Apidae) nel biomonitoraggio dei pesticidi: strutture a conf onto e prospettive. *Boll. 1st. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna*, 54: 101-112, 2000.
- Ranallo C., 2009. Valle del Sacco: da disastro ambientale a distretto agroenergetico di, *Ecologiae*, febbraio 10, 2009. <http://www.ecologiae.com/valle-del-sacco-disastro-ambientale- distretto-agroenergetico/4936/>



- Ricciardelli D'Albore G. (1985). Flora visitata da alcuni insetti e relativo ruolo nell'impollinazione delle colture agrarie. *Entomologia*(XX): 39-68 .
- Ricciardelli D'Albore G., Intoppa F. (2000). Fiori e api, la flora visitata dalle Api e dagli altri Apoidei in Europa.
- Rondinini T., Agnes A., Calzoni G.L. (2014). Il servizio di impollinazione tramite api nella frutticoltura professionale. *Frutticoltura* (4): 38-40.
- Rondinini T., Ortolani M., Pinzauti M. (2000). Api e impollinazione. Regione Toscana, Edizioni della Giunta Regionale.
- Rortais A., Arnold G., Dorne J.L., More S.J., Sperandio G., Streissl F. Szentes C., Verdonck F. 2017. Risk assessment of pesticides and other stressors in bees: Principles, data gaps and perspectives from the European Food Safety Authority. *Science of the Total Environment* 587–588 (2017) 524–537.
- Tautz J. (2008). Il ronzo delle api. Springer.
- Tonelli D., Gattavecciba E., Ghini S., Porrini C. , Celli G., Mercuri A.M. 1990. Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, Articles*, Vol. 141, No. 2 (1990) 427-436.
- Tosi S., Nieh J.C., Sgolastra F., Cabbri R., Medrzycki P. (2017). Neonicotinoid pesticides and nutritional stress synergistically reduce survival in honey bees... *Proc Biol Sci.* 284(1869). pii: 20171711. DOI: 10.1098/rspb.2017.1711
- Van der Sluijs J. P., Simon-Delso N., Goulson D., Maxim L., Bonmatin J.-M. e Belzunces L. P. (2013) Neonicotinoids, bee disorders and the sustainability of pollinator services.
- Van der Sluijs J.P., Amaral-Rogers V., Belzunces L.P., Bijleveld van Lexmond M.F.I.J., Bonmatin J-M., Chagnon M., Downs C.A., Furlan L., Gibbons D.W., Giorio C., Girolami V., Goulson D., Kreuzweiser D.P., Krupke C., Liess M., Long E., McField M., Mineau P., Mitchell A.D., Morrissey C.A. Noome D.A., Pisa L., Settele J., Simon-Delso N., Stark J.D., Tapparo A., Van Dyck H., van Praagh J., Whitehorn P.R., Wiemers M. (2015). Conclusions of the Worldwide Integrated Assessment on the risks of neonicotinoids and fipronil to biodiversity and ecosystem functioning. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 148-154.
- Vemmer M. Patel A., 2013. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. *Biological Control* Vol.67, (39): 380–389
- Whitehorn P. R., Wallace C. & Vallejo-Marin M. (2017) Neonicotinoid pesticide limits improvement in buzz pollination by bumblebees.
- Zheng, L., Cui, H., Song, K., Zhan, G., and Zheng, S. 2004. Mass Production and Control Efficiency of Natural Enemies in Vegetable Crops. *Proceedings of the 15th International Plant Protection Congress*, May 11-16, 2004, p. 113.

SITOGRAFIA

- <http://www.isprambiente.gov.it/it/biodiversità/le-domande-più-frequenti-sulla-biodiversità/perche-e-importante-la-biodiversita>.
- <https://www.efsa.europa.eu/it/press/news/130527>.
- <https://www.efsa.europa.eu/it>
- http://www3.unisi.it/farmacia/2002_2003/farmacia/programmi/farmaci_per_uso_veterinario_chimfarm.pdf
- <http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/GUIDA%20PRODOTTI%20FITOSANITARI%20ED.2015/Cap3-Scheda3-4.pdf>

http://www3.unisi.it/farmacia/2002_2003/farmacia/programmi/farmaci_per_uso_veterinario_chimfarm.pdf

<https://www.efsa.europa.eu/it/press/news/130527>.

<http://www.venetoagricoltura.org/upload/pubblicazioni/GUIDA%20PRODOTTI%20FITOSANITARI%20ED.2015/Cap3-Scheda3-4.pdf>

<http://www.magazine.unibo.it/archivio/2017/04/07/ambiente-e-biodiversita-i-dati-sul-valore-e-il-ruolo-delle-api>.

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Ministero della Salute

DIREZIONE GENERALE DELLA SANITA' ANIMALE E DEI FARMACI VETERINARI
Ufficio II ex DGSA – Sanità animale ed anagrafi:
Viale Giorgio Ribotta, 5 - 00144 Roma

Registro – Registro – classif. **I.1.a.e/2014/7**

Allegati : 1

0016168-31/07/2014-DGSAF-COD_UO-P

Trasmissione elettronica
N. prot. DGSAF in Docspa/PEC

Regioni e Province autonome
Assessorati sanità
II.ZZ.SS
Loro sedi
Centro di referenza per l'apicoltura
IZS delle Venezie
Sede di Padova
Trasmissione via PEC

OGGETTO: Linee guida per la gestione delle segnalazioni di moria o spopolamento degli alveari connesse all'utilizzo di agrofarmaci.

La salute delle api può essere compromessa non solo da malattie infettive e infestive ma anche dall'azione acuta o cronica di alcuni fitofarmaci che possono determinare fenomeni di moria o spopolamento di alveari. A tale riguardo diversi studi hanno già evidenziato connessioni tra i fenomeni prima citati e l'azione di particolari prodotti.

Sulla base di queste premesse e anche in considerazione delle frequenti segnalazioni di moria che pervengono dagli apicoltori in determinati periodi dell'anno, si ritiene opportuno che le Regioni adottino un approccio più sistematico nei confronti della gestione delle morie di api in cui vi sia la sospetta azione di fitofarmaci. Fino ad oggi infatti le segnalazioni sono state gestite a livello regionale con procedure non sempre uniformi e in maniera disomogenea sul territorio nazionale per cui i dati raccolti non sono rappresentativi né esaustivi mentre si riterrebbe opportuno intensificare le indagini conoscitive su questi fenomeni.

A tal proposito questa Direzione ha redatto specifiche linee guida per la gestione delle suddette segnalazioni di moria con l'intento di fornire istruzioni di intervento che comunque potranno essere adattate alle realtà organizzative e alle priorità individuate da ciascuna Regione o Provincia autonoma. In particolare preme sottolineare che gli interventi risulteranno tanto più efficaci quanto più sarà rapido e contestuale il coinvolgimento di tutte le figure interessate, tenuto conto che spesso i principi attivi ricercati sono soggetti a una rapida degradabilità. I sopralluoghi effettuati dalle figure preposte non dovranno tralasciare approfondite analisi cliniche in apiario per escludere che i fenomeni segnalati non siano stati dovuti a eventuali cause di origine infettiva o infestiva.

Ciò premesso si forniscono in allegato le Linee guida per la gestione delle segnalazioni di moria o spopolamento degli alveari connesse all'utilizzo di agrofarmaci.

Si ringrazia per l'attenzione e si resta a disposizione per ogni chiarimento.

IL DIRETTORE GENERALE
(d.ssa Gaetana Ferri)
* *F.to Gaetana Ferri*

* Firma autografa sostituita a mezzo stampa, ai sensi dell'art.3, comma 2, del D.lgs.39/1993

Referente del procedimento: Dr. Andrea maroni Ponti – 06 5996814 email: a.maroni@sanita.it
Referente dell'Ufficio II: Dr. Ruocco Luigi – 06.59946755 - email: lruocco@sanita.it

Linee guida per la gestione delle segnalazioni di moria o spopolamento degli alveari connesse all'utilizzo di fitofarmaci

Scopo: fornire indicazioni operative per la gestione delle segnalazioni di mortalità/spopolamento di alveari con particolare riguardo a quelle di origine chimica dovute all'utilizzo di prodotti fitosanitari.

Definizioni

Arnia: il contenitore destinato alla famiglia di api

Alveare: l'arnia contenente una famiglia di api

Apiario: un insieme unitario di alveari

Postazione: il sito di un apiario

Veterinario Ufficiale della ASL Referente per l'apicoltura: veterinario ufficiale ASL nominato come referente per la gestione dei diversi aspetti sanitari riguardanti la filiera apistica.

Premessa:

Le api possono essere interessate da malattie infettive o parassitarie, ma anche da intossicazioni da prodotti fitosanitari che possono manifestarsi in forme acute o croniche e arrecare mortalità dell'intero alveare o di parte di esso con fenomeni di spopolamento più o meno gravi.

Recentemente vi sono state diverse segnalazioni di moria da parte degli apicoltori ma gli interventi non sono stati uniformi sia in relazione alla tipologia delle figure coinvolte sia per le procedure adottate.

Tale situazione ha comportato la produzione di dati insufficientemente rappresentativi ed esaustivi e poco confrontabili tra loro.

Sulla base di queste premesse si è ritenuto pertanto predisporre linee guida nazionali con l'obiettivo di rendere più omogenea l'attività di intervento a seguito di segnalazioni di fenomeni di moria e spopolamento.

A) Obiettivi:

Raccogliere informazioni sulle cause di moria e spopolamento degli alveari con particolare riguardo a quelle di origine chimica dovute all'utilizzo di prodotti fitosanitari.

Tale attività di monitoraggio deve essere prevalentemente di tipo conoscitivo. I dati raccolti saranno eventualmente utilizzati per predisporre, in un secondo tempo, misure di prevenzione basate sul rischio.

Le procedure individuate su base regionale dovranno quindi favorire quanto più possibile l'emersione del fenomeno coadiuvando gli apicoltori attraverso l'attività di formazione con particolare riguardo alle tempistiche di segnalazione, tipologia di dati e informazioni da raccogliere e comunicare al veterinario Ufficiale della ASL in corso di sopralluogo.

B) aspetti clinici rilevabili in apiario utili per indirizzare il sospetto verso una moria causata da prodotti fitosanitari o da cause infettive/infestive.

- 1) Frequentemente i fenomeni di mortalità, possono interessare l'intera famiglia di api o parte di essa (senza però che la famiglia venga a morte). In altri casi si può verificare uno spopolamento più o meno improvviso di alveari ma non vanno assolutamente sottovalutati fenomeni di mortalità (presenza di api morte o moribonde o poco vitali, con sintomatologia nervosa) che si manifestano con livelli superiori alla norma riferita a quel periodo dell'anno e a quella data situazione. In relazione a questo ultimo aspetto la presenza di un numero significativo di api morte/moribonde non sempre è accompagnato da eventi estremi come la morte della famiglia o a spopolamento clinicamente rilevabile (che comunque potranno presentarsi in tempi successivi), e verosimilmente è frequente nelle fasi iniziali degli avvelenamenti
- 2) il sospetto di avvelenamento da prodotti fitosanitari si verifica in maniera particolare in alcune stagioni (periodo primaverile o inizio estate, anche se non esclusivamente) e spesso in apiari posti in vicinanza di aree coltivate.
Episodi di mortalità si possono registrare anche in ambiente urbano a seguito di trattamenti con insetticidi in aree verdi oppure possono essere di natura dolosa (es. problemi di vicinato, liti tra apicoltori);
- 3) Occorre però sottolineare che anche alcune malattie infettive o parassitarie in particolari situazioni possono causare morie accompagnate da una sintomatologia tale da far sospettare ad un primo approccio casi di avvelenamento.
Ciò si può verificare in presenza di infestazioni massive da *Varroa* (tipiche di errori gestionali da parte degli apicoltori nella lotta a questo acaro) in grado di provocare a volte morie di interi alveari. In questi casi e a differenza dei casi di avvelenamento, verranno contestualmente rilevati i classici sintomi di varroasi massiva associata a virosi delle api: covata irregolare, api morte in fase di sfarfallamento, opercoli forati con insetti adulti già formati all'interno.
Sempre nei casi di varroasi massiva è possibile osservare molte famiglie orfane o fucaiole; carenza di ovodeposizione della regina associata a elevata mortalità della covata dovuta a varroasi massiva associata a virosi, con forte riduzione della popolosità degli alveari destinati a morire in un tempo più o meno lungo. Gli spopolamenti o le morti da varroasi massiva possono rinvenirsi in ogni momento dell'anno ma sono tipiche del periodo tardo estivo (dopo che la *Varroa* ha raggiunto i picchi massimi di infestazione) o inizio primavera (in concomitanza con la prima visita primaverile degli alveari) in quanto le api non riescono a svernare in modo appropriato. Normalmente la sintomatologia clinica è già sufficiente ad emettere una diagnosi e pertanto a scartare l'ipotesi di avvelenamento causata da prodotti fitosanitari. Ad ogni modo, le analisi delle api morte in fase di sfarfallamento, evidenziano forti cariche virali e presenza di virus normalmente associati alla varroa (ABPV – virus della paralisi acuta, DWV – virus delle ali deformi).
Infine anche la *Senotainia tricuspis*, può ridurre la popolazione di api (in particolare nel periodo estivo, specie se abbinata a varroasi).
- 4) Un'altra patologia di natura infettiva delle api che può far presentarsi con segni di avvelenamento è rappresentata dal virus CBPV (virus della paralisi cronica). In tale caso negli alveari colpiti si possono osservare api tremolanti sul predellino o anche all'interno nella parte alta del nido e molte api morte a terra davanti agli alveari. Tale patologia è tipica del periodo primaverile-estivo. Gli alveari colpiti rimangono costantemente spopolati e non vanno in produzione. Gli accertamenti analitici sulle api con sintomatologia clinica evidenzieranno in questi casi la presenza di virus in quantità elevata a carico degli adulti. E' possibile effettuare una diagnosi differenziale tra questa forma infettiva e gli avvelenamenti da prodotti fitosanitari poiché generalmente non è interessato l'intero apiario, bensì singoli alveari.
- 5) Altre patologie delle api che interessano la covata (es. peste americana, peste europea), generalmente non inducono a sospettare un avvelenamento poiché solitamente è interessata solo una parte di alveari e sono contraddistinti da una sintomatologia clinica caratteristica.
- 6) *Nosema* spp. è stato chiamato in causa per i fenomeni di spopolamento degli alveari.
A tale riguardo mentre per *Nosema apis* la forma clinica, tipica del periodo primaverile è generalmente associata ad una enterite con evidenti segni di escrementi sul predellino di entrata ed

all'interno del nido; per *Nosema ceranae* risulta ancora necessario approfondire il suo ruolo sulla dinamica della popolazione delle api. In ogni caso, sarebbe opportuno effettuare contestualmente indagini diagnostiche verso *N. ceranae* quando ci si trova di fronte a un sospetto di avvelenamento, tenuto conto della sinergia d'azione che è stata recentemente evidenziata tra questo patogeno delle api ed il neonicotinoide Clothianidin.

C) figure predisposte all'intervento e funzioni da svolgere

1) Veterinario Ufficiale della ASL Referente per l'apicoltura:

Interviene a seguito di segnalazione di moria/spopolamento effettuando il sopralluogo in apiario e procedendo se necessario al campionamento di api morte, polline o api moribonde.

Richiede gli esami diagnostici in funzione degli esiti dell'indagine clinica effettuata in apiario e dei dati raccolti.

Se previsto dalle competenti autorità regionali e in funzione delle informazioni raccolte effettua se opportuno il prelievo di campioni di vegetali nell'area circostante l'apiario (almeno 1 km di raggio)

2) Figura deputata al campionamento di matrici vegetali

Figura individuata dall'Autorità regionale competente nell'ambito del Dipartimento di prevenzione (tecnici della prevenzione o altre figure individuate nel Servizio igiene alimenti e nutrizione) o al di fuori di essa che effettua il campionamento di matrici vegetali in funzione del rischio evidenziato.

3) Istituti zooprofilattici sperimentali :

Eseguono le analisi di laboratorio dirette alla ricerca di eventuali molecole chimiche o di agenti eziologici infettivi/infestivi.

4) Centro di referenza per l'apicoltura: è responsabile della raccolta dei dati dei casi di avvelenamento.

D) Procedure di intervento a seguito di segnalazione di mortalità/spopolamento.

a) attivazione a seguito di segnalazione.

- 1) la segnalazione di moria effettuata dall'apicoltore o da chiunque rilevi il fenomeno deve essere eseguita il prima possibile considerato la rapida degradazione (fotosensibilità) di molte molecole chimiche presenti nei prodotti fitosanitari. In considerazione di ciò risulta essenziale che gli apicoltori siano adeguatamente informati sui tempi e modalità di segnalazione nonché sulle figure da contattare (entro quando effettuare la segnalazione, numero di telefono da contattare anche in fase di reperibilità, informazioni che l'apicoltore deve raccogliere);
- 2) le segnalazioni di morie/mortalità o malattie di alveari dovranno essere comunicate al Servizio veterinario competente per territorio che provvederà a smistarle al Veterinario Referente per l'apicoltura e se previsto alle altre figure professionali individuate nel Dipartimento di prevenzione o altri Enti ai fini di un rapido intervento sul posto.
- 3) Il sopralluogo in caso di sospetto avvelenamento dovrà essere effettuato **in maniera congiunta** dalle diverse figure deputate all'intervento così da indirizzare in maniera più efficace il tipo di prelievo/prova diagnostica da effettuare sul campione di api (ricerca della molecola chimica ritenuta causa della moria sulla base della indagine anamnestica e delle pratiche agricole nelle zone circostanti/eventuale diagnosi differenziale) e sui vegetali presenti nella zona circostante l'apiario. L'intervento dovrà essere effettuato entro massimo 24-36 ore dalla segnalazione;
- 4) Le visite dovranno essere svolte in presenza dell'apicoltore applicando misure di biosicurezza.

E) Operazioni da effettuare in apiario

1) identificazione /visita dell'apiario soggetto a segnalazione da parte del veterinario Ufficiale

- a) verificare la registrazione dell'apiario presso l'anagrafe apistica;
- b) accertare la presenza e la numerosità di api morte o moribonde (con incapacità al volo, ridotta mobilità, tremori, presenza di ligula estroflessa) davanti a tutti gli alveari o sul predellino dell'arnia (

a tale riguardo considerato che la mortalità spesso non è distribuita in maniera uniforme all'interno dell'apiario e le famiglie più forti in genere sono le più colpite è necessario eseguire i controlli in più alveari per valutare il fenomeno nel suo insieme).

Ai fini della valutazione del fenomeno occorre evidenziare che l'erba alta, davanti agli alveari, può ostacolare notevolmente il rilevamento della mortalità nonché la raccolta delle api morte. Per tale motivo in caso di monitoraggio prolungato sarà opportuno porre dei materiali puliti davanti agli alveari (es. teli, coperchi degli alveari rovesciati) o procedere allo sfalcio delle erbe circostanti;

- c) la verifica dovrà essere effettuata anche dentro gli alveari inclusi i nidi o sul fondo degli stessi e compatibilmente con le condizioni climatiche;
- d) anche l'assenza di api o una loro marcata riduzione numerica potrebbe deporre per l'origine tossica del fenomeno (eventualmente concomitante ad altre cause di natura patologica);
- e) se possibile, fotografare o meglio ancora filmare gli alveari colpiti e le api morte/moribonde con sintomatologia clinica.

2) indagine clinica in apiario

- a) al fine di individuare la matrice più idonea da campionare, indirizzare l'attività diagnostica ed evitare richieste di analisi non adatte al contesto epidemiologico rilevato, Il veterinario Ufficiale della ASL deve effettuare una indagine clinica in apiario per orientare il sospetto verso una causa di origine chimica (fitosanitari) o biologica (malattie infettive/parassitarie). Sulla base di tale valutazione individuerà il tipo di campioni da prelevare, gli esami diagnostici da richiedere e parimenti l'indagine da condurre in apiario e nel territorio circostante;
- b) Il campione con il verbale di prelievo (allegato I) sarà inviato all'IZS territorialmente competente per le ricerche del caso.
- c) Ai fini della raccolta dei dati sul fenomeno di moria o spopolamento dovrà inoltre compilare il modulo di cui all'allegato II.

3) ulteriori indagini in caso di sospetto avvelenamento

- a) Il veterinario Ufficiale referente per l'apicoltura o la figura individuata dal piano regionale per indagare l'eventuale correlazione tra moria e prodotti fitosanitari raccoglierà informazioni sulle attività agricole in essere ed individuerà le aree probabilmente trattate con prodotti fitosanitari verosimilmente causa della mortalità (anche in base alle informazioni anamnestiche fornite dagli apicoltori);
- b) qualora si sospetti la correlazione tra l'utilizzo di un determinato prodotto fitosanitario e la mortalità /spopolamento delle api verranno raccolte informazioni sulle condizioni di utilizzo del prodotto (es. condizioni operative, data di trattamento, prescrizioni di utilizzo rispettate, presenza o meno di piante /cotica erbosa fioriti nelle vicinanze o nelle piante spontanee sottostanti), nonché la verifica della registrazione del trattamento;
- c) L'accertamento sull'utilizzo di prodotti fitosanitari sarà effettuato primariamente in aree collocate a breve distanza (< 1 km circa), essendo poco probabile che l'avvelenamento sia avvenuto a distanza maggiore. A tale riguardo occorre sottolineare che il fenomeno di moria può essere dipeso non solo da un trattamento effettuato su piante in fioritura, ma anche da trattamenti effettuati su semine con concianti/geodisinfestanti, fertirrigazione, trattamenti su piante con melata.
- d) Il veterinario Ufficiale dovrà inoltre raccogliere informazioni sui trattamenti eseguiti dall'apicoltore in precedenza negli alveari, loro modalità di attuazione o altre operazioni di gestione dell'apiario (trasporto, chiusura)

4) Campionamento di api, polline e matrici vegetali:

4.1 api morte o moribonde:

- a) In presenza di mortalità di famiglie o di loro spopolamento nonché di significativa mortalità di api, è sempre opportuno procedere al campionamento di api morte o moribonde (preferibilmente entro le 24 ore dalla comparsa della sintomatologia fino ad un massimo di 36 ore) evitando di raccogliere terriccio, erba o di api morte da tempo (queste ultime sono di aspetto più opaco e in parte mutilate o putrefatte).

- b) Campioni ottimali sono costituiti da circa **1000 api** (minimo **250**) per consentire le ricerche di prodotti fitosanitari; campioni più ridotti limitano sensibilmente la ricerca di molecole chimiche.
- c) E' consigliabile campionare api con pallottole di polline separatamente in un contenitore a parte (questo potrà essere utile anche per individuare la possibile area di "pascolo").
- d) Il/i campione/i è prelevato in aliquota unica effettuando eventualmente pool tra più alveari e utilizzando idonei contenitori rigidi, poi chiusi in sacchetti contrassegnati.
- e) Il campione con il verbale di prelievo (allegato I) sarà inviato all'IZS territorialmente competente per le ricerche diagnostiche.

4.2 matrici vegetali

- f) Si procederà al campionamento di vegetali oggetto di trattamento e/o di altre matrici che potrebbero essere di interesse (es. erba o altre piante, specialmente se con fioriture in atto, sottostanti o a breve distanza dalle colture trattate, acqua presente nelle pozzanghere, liquido irrorato direttamente sulle piante.....).

4.3 Pane delle api (polline depositato nei favi):

Il campionamento del pane delle api può risultare particolarmente utile per la verifica della presenza di sostanze chimiche e per evidenziare eventuali correlazioni con le sostanze trovate in altre matrici

- a) E' possibile prelevare un porzione di favo o in alternativa può essere prelevato anche del polline depositato di recente nei favi (il polline si può estrarre dalle cellette con aghi o pinzette).

4.5 Favi con covata malata accertata durante il sopralluogo:

- a) prelevare dagli alveari con malattie della covata un campione di larve malate o porzione di favo di covata non opercolata e opercolata (10x10 cm per accertamenti sanitari ad es. peste americana, peste europea, virus, covata calcificata);
- b) prelevare anche da tutti gli alveari malati una porzione di favo opercolato con lesioni di almeno 10x10 cm per analisi microbiologiche e virologiche.

5) Conservazione del campione:

- a) I campioni destinati all'analisi tossicologica vanno conservati in buste presto-chiuse a -20°C , avendo cura di indicare con pennarello indelebile e sull'etichetta delle buste il nome dell'apicoltore, la data e gli alveari (numero identificativo) da cui sono state prelevate le api. I campioni così realizzati vanno conservati sempre a -20°C fino alla consegna (da effettuarsi nel più breve tempo possibile) presso la sede IZS territorialmente competente (sono da evitare congelamento e scongelamento)
- b) nel caso si sospetti anche la presenza di una malattia è consigliabile eseguire un altro campione, di dimensioni più ridotte (in contenitore rigido, da refrigerare se consegnato direttamente all'IZS o congelare se consegnato in tempi successivi).
- c) Per la ricerca di *Senotainia tricuspidis* prelevare le api con sintomi e conservare a temperatura ambiente api bottinatrici utilizzando un contenitore non a tenuta ermetica, es. con tappo del contenitore con piccoli fori per assicurare la aereazione.

6) Ricerche chimiche:

- a) in questo contesto e al fine di indirizzare le ricerche di laboratorio occorrerà indicare le molecole da ricercare e a tale riguardo risulterà essenziale il confronto con i tecnici esperti di prodotti fitosanitari individuati dal Piano regionale recatisi contestualmente con il veterinario Ufficiale sul luogo dove è stato rilevato il fenomeno di mortalità/spopolamento. Qualora non emergano informazioni anamnestiche che indirizzino le ricerche, queste dovranno essere effettuate verso i principali prodotti fitosanitari utilizzati in zona. A tale riguardo risulterà necessario indicare la priorità sul verbale.

ALLEGATO 1

ASL

VERBALE DI PRELIEVO API n.

data / /2014

Prelievo eseguito dal VETERINARIO UFFICIALE DOTT.

Apicoltore*

residenza via Comune

apiario Via Comune

(* se nuovo utente è necessario il C.F. o P. Iva

Cod Aziendale coordinate geografiche

MATERIALE PRELEVATO N. BARATTOLI / SACCHETTI IDENTIFICATI COME SEGUE

..... API VIVE / MORTE / MORIBONDE + PUPE LARVE da alveare n API VIVE / MORTE / MORIBONDE + PUPE LARVE da alveare n API VIVE / MORTE / MORIBONDE + PUPE LARVE da alveare n API VIVE / MORTE / MORIBONDE + PUPE LARVE da alveare n API VIVE / MORTE / MORIBONDE + PUPE PRELEVATE IN POOL DA DIVERSE FAMIGLIE..... API CON POLLINE, VIVE / MORTE / MORIBONDE da alveare n POLLINE PRELEVATO DAI FAVI da alveare n PEZZI DI FAVO da alveare n
.....

INSERIRE TUTTO IL MATERIALE IN CONTENITORI PULITI ERMETICAMENTE CHIUSI

CONSERVARE A - 20°C (ECCEPTE CHE PER RICHIESTA NOSEMA SPP. che prevede materiale possibilmente refrigerato O CON CONSEGNA IN TEMPI RAPIDI AL LABORATORIO).

 Per ricerca di *Senotainia tricuspidis*, mantenere a TEMPERATURA AMBIENTECONSERVATI A TEMPERATURA AMBIENTE REFRIGERATI CONGELATI**MOTIVO DEL PRELIEVO:** Piano di RICERCA IZS DIAGNOSTICA ALTRO

PER:

 MORTALITA' FAMIGLIE (possibilmente inviare api morte e pezzi di favo con resti di covata) SPOPOLAMENTO ALVEARI (se reperibili, inviare api possibilmente vive + pezzi di favo con varie matrici) MORTALITA' DI API ANOMALA (inviare api morte recentemente o moribonde) MORTALITA' DI API CON **SOSPETTO AVVELENAMENTO** (inviare api morte recentemente o moribonde e possibilmente in altro contenitore api con polline; per eventuali matrici vegetali, campionare a parte con verbale di prelievo) PESTE AMERICANA (inviare favo con covata morta, opercolata) PESTE EUROPEA (inviare favo con covata morta, sia opercolata che non opercolata) NOSEMA SPP. (inviare almeno 60 api bottinatrici) VARROASI (inviare favo con covata opercolata, api, detriti del fondo) ACARIOSI (inviare api vive) VIROSI (inviare un favo con tutte le fasi di sviluppo della covata; api adulte vive e morte, varroe adulte)**RICHIESTA:** NUMERAZIONE SPORE: *Paenibacillus larvae* *Nosema spp* CONFERMA SOSPETTO CLINICO ALTRE RICERCHE: **ricerca neonicotinoidi** **ricerca fitofarmaci**

NOTE E DATI ANAMNESTICI PER INDIRIZZARE ANALISI

 ASSENZA DI MALATTIE DENUNCIABILI PRESENZA DI COVATA CALCIFICATA PRESENZA DI FAMIGLIE CON SVILUPPO STENTATO

L'APICOLTORE

IL VETERINARIO UFFICIALE

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata



Ringraziamenti

Si ringraziano SIMeVeP e SVETAP per aver accolto favorevolmente l'iniziativa di dedicare questo libro al delicato e fragile equilibrio esistente tra le api e l'ambiente. Tutti siamo infatti chiamati a contribuire al raggiungimento della one health ed a garantire un futuro sostenibile alle generazioni presenti e future.

Si ringraziano inoltre tutti coloro che hanno contribuito con i loro preziosi commenti e suggerimenti alla stesura finale del presente documento.

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata

Bozza 6
formato mm210x297 col
allestimento brossura fresata

Finito di stampare nel mese di maggio 2020
con tecnologia *print on demand*
presso il Centro Stampa "Nuova Cultura"
p.le Aldo Moro n. 5, 00185 Roma
www.nuovacultura.it
per ordini: ordini@nuovacultura.it

[Int_STAMPE00457_a4col_MP06]