



ISTITUTO ZOOPROFILATTICO SPERIMENTALE REGIONI
LAZIO E TOSCANA

"IL MONITORAGGIO AMBIENTALE CON LE API"



Apis mellifera su fiori di lavanda

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana

Roma, 4 maggio 2009

ATTI DEL SEMINARIO

Prefazione

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 alle centraline fisse. Le api, infatti, sono in grado di svelare la salute dell'ambiente per un raggio di azione fino a 3 Km dalla ubicazione delle stazioni di rilevamento.

L'inquinamento ambientale e le recenti emergenze connesse ad una cattiva gestione del territorio (es. diossina, esaclorocicloesano, neonicotinoidi) negli ultimi periodi hanno avuto eco anche nell'opinione pubblica. In particolare, l'esigenza di monitorare con più attenzione l'ambiente che ci circonda ai fini di una sua tutela e della rilevazione delle fonti di inquinamento, costituiscono tematiche di forte attualità.

Il seminario che l'Istituto Zooprofilattico, in collaborazione con ARSIAL ha voluto presentare, ha voluto rappresentare un momento di confronto ed aggiornamento sulla tematica, presentata da esperti del settore.

Nazareno Renzo Brizioli

Direttore Generale IZS Lazio e Toscana

Il Regolamento (CE) 1234/2007, D.M. 23 gennaio 2006. "Programma finalizzato al miglioramento della produzione e commercializzazione dei prodotti dell'apicoltura". Per gli anni 2007-2010 prevede che le azioni di Formazione vengano coordinate dall'Agenzia Regionale per lo Sviluppo e la Innovazione Agricola del Lazio (ARSIAL).

Tra le varie tematiche scelte per la formazione degli operatori del settore apistico laziale, per l'anno 2009, ci è sembrato opportuno sottolineare l'importanza degli apoidei quali insetti test per il monitoraggio ambientale.....

Rita Campanelli

Responsabile di ARSIAL per l'apicoltura.

“Il monitoraggio ambientale con le api”

di *Claudio Porrini* – Dipartimento di Scienze e Tecnologie Agroambientali (DiSTA), area di Entomologia, Università di Bologna.

Le api, insetti laboriosi per antonomasia, appartenenti alla famiglia degli Apidae, sottofamiglia Apinae e tribù degli Apini, vivono in colonie di circa 35.000 - 50.000 individui. La regina, la superfemmina dell'alveare, ha il compito principale di deporre le uova (circa 2.000 al giorno) e di garantire la coesione della famiglia emettendo il cosiddetto “feromone o sostanza reale”. Questo feromone svolge funzioni multiple e fondamentali all'interno dell'alveare. Oltre a tener unito la colonia, è anche un potente attrattivo sessuale per i fuchi ed ha un'azione inibente verso gli ovari delle api operaie e verso il loro istinto a costruire celle reali per l'allevamento di altre regine. I fuchi, gli individui maschi dell'alveare, sono solo qualche migliaio ed hanno il compito di accoppiarsi con le nuove regine. Le altre femmine dell'alveare sono le operaie che è la casta più numerosa e quella che svolge la gran parte dei compiti di questa società. Infatti in successione, a seconda dell'età, esse si occupano di tener pulito le celle dove la regina depone le uova e dove vengono immagazzinate le scorte, dopodiché si dedicano all'alimentazione delle larve. Quando le ghiandole della cera si sono completamente sviluppate, iniziano a costruire i favi di forma esagonale. A questo punto, prima di intraprendere l'attività di foraggiamento all'esterno dall'alveare per raccogliere le diverse sostanze, in particolare nettare e polline, necessarie al sostentamento della famiglia, le operaie assumono il ruolo di guardiane dell'alveare respingendo gli intrusi (vespe, lepidotteri, piccoli mammiferi, ecc.) e controllando il via vai delle bottinatrici. Le api operaie espletano molte altre mansioni all'interno dell'alveare, come la termoregolazione (ventilando e portando acqua per abbassare la temperatura in estate, oppure radunandosi in glomere per innalzarla in inverno) e la pulizia dell'alveare, normalmente attuata dalle api spazzine che rimuovono le compagne morte e i residui di cera dal fondo dell'alveare. Le bottinatrici, che sono circa un quarto dell'intera popolazione, sono deputate a reperire all'esterno tutto ciò di cui la famiglia ha bisogno per potersi e sviluppare. A tale scopo ciascuna di esse ogni giorno compie in media una decina di viaggi per prelevare nettare, polline, melata, acqua e propoli in un'area di circa sette km².

Le api sono degli ottimi indicatori biologici perché segnalano il danno dell'ambiente in cui vivono, attraverso due segnali: l'alta mortalità nel caso di insetticidi e attraverso i residui che si possono riscontrare nei loro corpi, o nei prodotti dell'alveare, nel caso di agrofarmaci poco tossici e di altri agenti inquinanti come i metalli pesanti e i radionuclidi. Molte caratteristiche etologiche e morfologiche fanno dell'ape un buon rivelatore ecologico: è facile da allevare; è un organismo quasi ubiquitario; non ha grandi esigenze alimentari; ha il corpo coperto di peli che la rendono particolarmente adatta ad intercettare materiali e sostanze con cui entra in contatto; è altamente sensibile alla maggior parte dei prodotti antiparassitari (in particolare insetticidi) che possono essere rilevati quando sono sparsi impropriamente nell'ambiente (per esempio durante la fioritura, in presenza di flora spontanea, in presenza di vento, ecc.); l'alto tasso di riproduzione e la durata della vita media, relativamente corta, induce una veloce e continua rigenerazione nell'alveare; ha un'alta mobilità e un ampio raggio di volo che permette di controllare una vasta zona; effettua numerosi prelievi giornalieri; perlustra tutti i settori ambientali (terreno, vegetazione, acqua, aria); ha la capacità di riportare in alveare materiali esterni di varia natura e di immagazzinarli secondo criteri controllabili; necessità di costi di gestione estremamente contenuti, specialmente in rapporto al grande numero di campionamenti effettuati.

Monitoraggio degli agrofarmaci

Come detto precedentemente, le api sono estremamente sensibili agli antiparassitari. Il numero di api morte davanti l'alveare è quindi una variabile molto importante da considerare per questi agenti inquinanti e varia secondo un certo numero di fattori: la tossicità del principio attivo usato, la

presenza e l'estensione delle fioriture delle piante coltivate o spontanee, la presenza delle api nell'apezzamento, o nelle sue vicinanze, durante il trattamento chimico, i mezzi usati per la distribuzione del prodotto, la presenza o meno di vento, ecc. Molte api direttamente investite dall'insetticida in campo, mentre visitavano i fiori per raccogliere il nettare ed il polline, moriranno in campo o durante il loro volo di ritorno, mentre altre api colpite soltanto marginalmente moriranno nell'alveare. In questo caso l'ape funge da indicatore diretto. Nel caso invece di prodotti che non sono particolarmente tossici, l'insetto funge da indicatore indiretto, cioè non sensibile ma esposto e ci fornirà le informazioni sotto forma di residui. Con questa strategia si possono ottenere parecchie informazioni come il livello di mortalità delle api, i principi attivi responsabili, i periodi e le zone ad alto rischio, le colture trattate e gli errori degli agricoltori nella gestione fitoiatrica. È inoltre possibile valutare, con specifici indici, il grado inquinamento ambientale. Alcune classi di agrofarmaci presenti sul mercato, possono anche non provocare mortalità osservabili ma ugualmente causare spopolamenti di alveari o indurre nelle api comportamenti anomali o disorientamento. Per questo motivo nel protocollo di monitoraggio di questi inquinanti, oltre al controllo della mortalità, è prevista anche una valutazione della "forza" e dello stato di salute della famiglia.

In Italia dal 1980 i risultati ottenuti utilizzando l'ape come bioindicatore degli agrofarmaci sono stati numerosi. In particolare dal 1983 al 1986, con l'analisi di 581 campioni di api morte, sono stati individuati i principi attivi di più comune impiego in quegli anni soprattutto nel Nord Italia. Negli anni successivi sono state condotte ricerche più mirate e più circostanziate in molti comprensori. In provincia di Ferrara, nel biennio 1987-1988, si è potuto accertare che i principi attivi maggiormente rinvenuti nei campioni di api morte erano anche quelli più venduti nel territorio provinciale. Una ricerca protratta ininterrottamente dal 1982 al 1993 nella provincia di Forlì, ha messo in evidenza una tendenza nettamente positiva per quanto riguarda la mortalità delle api, e di conseguenza della contaminazione da agrofarmaci dell'agroecosistema forlivese. Tale risultato testimonia una presa di coscienza degli agricoltori di quell'epoca sul corretto impiego dei presidi sanitari, al fine di preservare l'ambiente e l'entomofauna utile, favorita da molteplici azioni informative/dimostrative da parte di vari Enti locali e di ricerca.

Monitoraggio dei metalli pesanti

Una delle caratteristiche fondamentali che differenziano i metalli pesanti da altri contaminanti come gli agrofarmaci, è il tipo di immissione nel territorio e il loro destino ambientale. I prodotti fitosanitari vengono diffusi in maniera puntiforme, sia nel tempo che nello spazio e, a seconda del tipo di molecola chimica, della sua stabilità e affinità con l'organismo bersaglio e l'ambiente circostante, sono degradati dai diversi fattori ambientali in tempi più o meno lunghi. I metalli pesanti, invece, sono emessi in continuazione dalle varie fonti, naturali e antropiche e, non subendo degradazioni, vengono continuamente rimessi in "gioco" entrando nei cicli fisico-biologici. I metalli pesanti possono essere captati dalle api nell'atmosfera tramite il loro corpo peloso e portati nell'alveare insieme al polline, oppure assunti suggendo il nettare dei fiori, l'acqua di pozzanghere, fossi, fontane e ruscelli o insieme alla melata degli afidi. Le variabili da considerare per utilizzare le api, o i prodotti dell'alveare, in tal senso sono parecchie, come ad esempio gli eventi meteorologici, la stagionalità e l'origine botanica del miele.

In una nostra ricerca finalizzata a studiare la captazione dei metalli pesanti da parte delle api, sono stati analizzati 178 campioni di api bottinatrici provenienti da zone urbane, industriali e naturali. Le api, per determinare il quantitativo di inquinanti presenti all'interno e all'esterno del loro corpo, sono state prima "lavate" e poi "disgregate". Il piombo è risultato presente in quantità più elevate nel "disgregato" rispetto al "lavato" nelle prime due aree mentre in quella naturale il rapporto si invertiva. In quest'ultima zona anche il nichel e il cromo erano maggiormente presenti nel "lavato". Si può quindi desumere che la maggior contaminazione dell'area urbana e quella industriale favorisca l'ingestione e l'accumulo degli inquinanti (almeno per il piombo) nel corpo delle api

rispetto all'area naturale.

Monitoraggio dei radionuclidi

Il controllo della contaminazione radioattiva in Italia è iniziata nelle aree circostanti le centrali nucleari di Trino Vercellese e di Caorso diversi anni prima dell'incidente di Chernobyl. Le misure radiometriche sui reperti apistici prelevati non hanno mai registrato alcun residuo di radionuclidi. Ma è stata l'emergenza di Chernobyl (aprile - maggio 1986) a fornire la prova inequivocabile di come l'ape possa funzionare egregiamente anche per il rilevamento dei radioisotopi. In una ricerca svolta dal nostro gruppo nell'ambito di Chernobyl, si è potuto mettere in evidenza, analizzando numerosi campioni di miele, cera, api e polline provenienti da tutta Italia, come quest'ultime matrici risultino le migliori per indicare l'inquinamento da radionuclidi in quanto riflettono fedelmente quelle del terreno e dell'aria. Nel maggio 1998 nei campioni di api prelevati dalle stazioni di monitoraggio ambientale dislocate nella provincia di Bologna, abbiamo rilevato la presenza anomala di Cesio 137. Questo radionuclide artificiale usato in varie applicazioni ad uso civile, è uno dei principali prodotti radioattivi delle reazioni di fissione che avvengono nei reattori nucleari. Si è potuto escludere che la radioattività anomala riscontrata provenisse da impianti nucleari in attività in quanto il Cs-137 non era accompagnato dagli altri radionuclidi che normalmente vengono prodotti durante la fissione. L'evento è stato invece messo in relazione con un incidente accaduto verso la fine di marzo del 1998 in una acciaieria di Algeciras nella Spagna meridionale, con emissione di Cs-137 proveniente da una sorgente radioattiva dismessa e finita in fonderia. I livelli di radioattività erano inferiori alla soglia minima di attenzione, ma la matrice api ne ha prontamente evidenziato la presenza seppure minima nell'ambiente.

Monitoraggio di microrganismi fitopatogeni

Erwinia amylovora (EA) è l'agente causale del colpo di fuoco, la più distruttiva malattia batterica delle Rosacee, in particolare per pero, melo e ornamentali. Nella regione Emilia-Romagna, EA è stata segnalata per la prima volta nel 1994. L'ape può essere un potenziale vettore di EA e quindi gli spostamenti degli alveari per la produzione di miele e per il servizio di impollinazione, sono stati conseguentemente limitati dalla legge. Tuttavia è stato dimostrato che le api possono essere proficuamente utilizzate per il controllo della presenza di EA nell'ambiente. A questo scopo sono state installate diverse stazioni, costituite ognuna da tre alveari, in aree infette, ai bordi di queste e nelle zone non contaminate. In queste stazioni a cadenza settimanale veniva raccolto il polline per essere successivamente esaminato in laboratorio al fine di identificare la presenza del batterio e, tramite le analisi palinologiche, per identificare le specie botaniche visitate dalle api. La determinazione di EA nelle matrici apistiche è basata sul metodo immunoenzimaticachemiluminescente dei prodotti della PCR-ELISA. Almeno un campione di polline proveniente da ognuna delle stazioni situate nelle aree infette è risultato positivo. Un campione di polline prelevato in una stazione di una zona definita non contaminata, ma posizionata ai bordi di un'area infetta, è risultato positivo. Alcuni mesi più tardi nella stessa area è stata segnalata la presenza del batterio. Quindi il polline può essere considerato una buona matrice di facile impiego per il monitoraggio di EA, in particolare nelle aree di espansione della malattia. In effetti negli anni successivi (1999-2002), in seguito a questi incoraggianti risultati, è stata progettata un'indagine per il rilevamento precoce del colpo di fuoco tramite l'utilizzo delle api. Diverse stazioni sono state disposte lungo una linea perpendicolare al fronte di espansione SE dell'epidemia nella provincia di Forlì-Cesena, con la prima stazione vicina all'ultimo focolaio accertato e l'ultima a circa 28 km di distanza verso le zone non ancora interessate dalla malattia. In questo modo sono stati identificati nuovi casi di colpo di fuoco prima dell'individuazione delle squadre di controllo. I risultati ottenuti confermano che l'ape

può essere proficuamente affiancata ai programmi tradizionali, basati sul controllo visivo, per il monitoraggio della presenza di *E. amylovora* nell'ambiente, in particolare per quanto riguarda l'individuazione delle aree infette prima che sulle piante ospiti si evidenzino i sintomi.

Esplosivi: apprendimento olfattivo e condizionamento

Il motivo per cui le api sono considerate ottime candidate all'individuazione di sostanze esplosive, risiede nel fatto che presentano un'elevata capacità di apprendimento degli odori. Per la stragrande maggioranza delle molecole all'ape basta una sola esposizione perché possa fissarne nella memoria l'odore. Il processo di apprendimento associativo degli odori nelle api è una componente essenziale del comportamento di bottinamento. Ovviamente le molecole più facilmente riconosciute dalle api sono quelle dei profumi dei fiori e quindi associabili ad una ricompensa in nettare o polline. Tuttavia esse possono essere indotte a collegare alla ricompensa pressoché qualunque odore, anche quelli solitamente repellenti

Quando un'ape atterra su un fiore la percezione del profumo (stimolo odoroso condizionante), attraverso le antenne, e del nettare, tramite recettori sulle zampe e sulle parti boccali, innesca l'automatica estensione della ligula e il prelievo del nettare (ricompensa). Si crea quindi una associazione tra la percezione degli stimoli odorosi diffusi in concomitanza all'ottenimento della ricompensa e l'automatica estensione della ligula. Riproducendo questa sequenza in laboratorio utilizzando api opportunamente condizionate e immobilizzate, è possibile utilizzare il riflesso di estensione della ligula (PER -Proboscis Extension Reflex) per rilevare la presenza di sostanze esplosive in ambienti chiusi come aeroporti e stazioni ferroviarie. A questo scopo sono stati messi a punto dei kit in cui le api sono collocate in modo che l'estensione della ligula interrompe un raggio laser e comunica al computer l'avvenuta percezione della sostanza ricercata. Più complicato ma possibile è la ricerca di sostanze esplosive in ambienti aperti (per l'individuazione di campi minati nelle aree a rischio), perché le api, condizionate a ricercare un "nettare" che contenga la stessa sostanza, devono essere seguite con un miniradar.



Aree dove sono state condotte le campagne di monitoraggio tramite api dal gruppo di ricerca dell'area di Entomologia del DiSTA dell'Università di Bologna

“Il monitoraggio ambientale con gli apoidei selvatici”

di *Antonio Felicioli* – Università degli Studi di Pisa – Facoltà di Medicina Veterinaria

L'uso degli apoidei per il monitoraggio ambientale si colloca nell'ambito dei sistemi di monitoraggio mediante bioindicatori. L'utilizzo dei bioindicatori è spesso preferito al monitoraggio chimico in quanto permette di descrivere fenomeni spesso non esprimibili in termini matematici, come le interazioni sinergiche fra due o più inquinanti. In questo contesto gli apoidei si presentano come indicatori ambientali di particolare interesse. Questi insetti infatti, oltre ad essere di facile reperibilità e gestione, sono mobili e quindi in grado di visitare aree abbastanza ampie attorno al punto di rilascio costituito dal nido. In queste aree gli apoidei, raccogliendo acqua, cibo e altri materiali, effettuando un numero estremamente elevato di microcampionamenti di varie componenti dell'ambiente circostante. Questo è valido sia per le api mellifiche che per altri apoidei selvatici oggi allevabili. Tra questi le osmie sono di particolare interesse per alcuni tipi di indagine in quanto hanno la caratteristica di visitare un'area circostante il nido minore di quella delle api mellifiche, permettendo indagini su zone più circoscritte. Nelle loro aree di azione le osmie raccolgono acqua, fango, e polline che vengono poi a stoccati nei nidi dove verranno deposte le uova e dove si compirà il ciclo di sviluppo delle discendenti. Alla fine di questo ciclo di sviluppo, all'interno del nido sono presenti varie matrici da analizzare costituite da: il fango usato per chiudere i nidi, il polline che non è stato consumato, i bozzoli sericei, le feci, e le osmie stesse. In questo modo si ha la possibilità di avere due serie di informazioni. Da un lato infatti è possibile valutare la quantità e qualità di contaminanti presenti nell'ambiente (analizzando il polline e il fango) e dall'altro di valutare la dinamica di questi contaminanti nel metabolismo dell'insetto analizzando i suoi secreti (la seta del bozzolo), i suoi escreti (le feci) ed i suoi tessuti (le osmie intere).

“Il monitoraggio ambientale nel parco regionale dei Colli Euganei”

di *Franco Mutinelli* – Centro di Referenza Nazionale per l'Apicoltura, IZS delle Venezie.

Obiettivo del presente studio è stato valutare lo stato di salute dell'ambiente relativo all'area di interesse termale collocata nel Parco Regionale dei Colli Euganei. A tale scopo è stato preso in considerazione l'inquinamento da antiparassitari utilizzando direttamente l'organismo ape come indicatore, e quello da metalli pesanti impiegando la matrice miele quale misura del livello di antropizzazione e relativo impatto sull'ambiente. Nel primo caso si sono volute verificare le modalità di esecuzione delle pratiche agricole ed il loro impatto sul territorio circostante; nel secondo invece si sono presi in considerazione i metalli pesanti in quanto, a differenza delle sostanze organiche, non sono biodegradabili, bensì bioaccumulabili e per questo possono avere effetti tossici. In particolare, cadmio e piombo sono contaminanti ubiquitari, soggetti a rilevanti fenomeni di trasporto atmosferico a lungo raggio in seguito all'emissione da parte di sorgenti locali. L'area oggetto dello studio è collocata nella parte orientale del Parco Regionale dei Colli Euganei ed in particolare ha coinvolto i comuni di Teolo, Abano Terme, Montegrotto Terme, Galzignano Terme, Battaglia Terme ed Arquà Tetrarca. Il progetto di bimonitoraggio ha avuto inizio a giugno 2004 per concludersi a novembre dello stesso anno. Le postazioni di monitoraggio, nel territorio di ciascun comune, sono state costituite con due alveari provvisti di gabbie underbasket dislocati in posizione compatibile con lo studio che si voleva eseguire e con le esigenze delle api stesse. In totale sono state utilizzate 9 postazioni distribuite una o due per comune. Ricerca di pesticidi. Attraverso questo tipo di indagine sono stati valutati 56 composti appartenenti alla classe generica dei pesticidi. In particolare, possono essere identificati composti clorurati, fosforati e carbammati. Ricerca di metalli pesanti. La ricerca di cadmio e piombo è stata realizzata impiegando la tecnica elettrochimica della voltammetria di stripping anodico, ASV (Anodic Stripping Voltammetry)

con scansione a onda quadra. Nel Parco Regionale dei Colli Euganei, la presenza di una abbondante flora spontanea fa sì che l'ape non sia obbligata a bottinare su colture trattate con antiparassitari permettendo così di ridurre l'impatto di quest'ultimi sull'insetto pronubo o comunque di "diluirne" l'azione. Infatti, durante il periodo in cui è avvenuto il monitoraggio, non si sono mai verificate situazioni di elevata mortalità di api. In altri termini, la mortalità che si può definire naturale, non ha mai superato le 50 api per settimana. La presenza di colture trattate con agrofarmaci così come monitorata attraverso le api non rappresenta un fattore di rischio per l'area oggetto di studio. La presenza di piombo nel miele da nido è risultata compresa fra 214 e 488 ng/g a settembre e fra 55 e 154 ng/g a novembre, mentre quella di cadmio si è attestata fra 4 e 14 ng/g e tra < 1 (limite di quantificazione) e 4 ng/g rispettivamente nei prelievi effettuati a settembre e a novembre. Le concentrazioni rimangono tuttavia nell'ordine di grandezza dei dati rilevati in passato e comunque in linea con i risultati di altre indagini condotte sul territorio nazionale. Tali riscontri rappresentano quindi l'inevitabile conseguenza della presenza di queste sostanze nell'ambiente. Va tuttavia sottolineato che nonostante la presenza di metalli pesanti nel miele sia oggetto di monitoraggio ufficiale, non esiste a tutt'oggi una normativa specifica di riferimento che ne definisca il limite massimo di residuo ammesso. I risultati ottenuti sono risultati confortanti per il territorio del Parco Regionale dei Colli Euganei.

“Indagine tecnico-conoscitiva nelle aree naturali protette sulla moria delle api”

di *Valter Bellucci e Stefano Lucci* – ISPRA, Roma

La presente indagine si propone di monitorare, nell'ambito delle aree naturali protette, le problematiche sanitarie degli alveari e il possibile impatto sulle api degli inquinanti rilasciati nell'ambiente dalle attività produttive (morie totali o parziali, presenza di residui nei prodotti delle api, ecc.). Rispetto alla rete di monitoraggio "Apenet", già proposta all'attenzione di diversi Ministeri, il presente studio si differenzia per gli obiettivi generali e per le peculiari caratteristiche degli ambienti studiati. Apenet, infatti, si propone un monitoraggio continuo a carattere nazionale, mentre questo progetto si pone obiettivi più circoscritti e analizza nello specifico gli ecosistemi delle aree naturali protette. Inoltre, intende analizzare e valutare con criteri qualitativi e quantitativi i principali agenti patogeni, le condizioni che ne favoriscono la diffusione e l'effetto che gli inquinanti ambientali di uso agricolo hanno sulla riduzione numerica delle colonie di api. Contemporaneamente, si rileverà la presenza di inquinanti derivanti da altre attività di natura civile ed industriale. Nelle aree sperimentali, saranno esaminate le caratteristiche vegetazionali prevalenti e, relativamente alle attività agricole che nei territori di riferimento costituiscono la principale attività economica, saranno prese in considerazione le colture agrarie presenti e le tecniche colturali impiegate, incluse le strategie di difesa fitosanitaria. L'obiettivo prioritario dello studio è di individuare i fattori che in modo predominante interferiscono con la vitalità delle api. L'approccio proposto consente anche di analizzare le cause della contaminazione dei prodotti dell'alveare che i classici metodi di controllo, quali le analisi per la ricerca dei residui sul prodotto finale, spesso non evidenziano. I risultati qualitativi e quantitativi dell'indagine saranno estremamente utili agli Organismi di controllo per avviare iniziative di assistenza tecnica, mirate e sempre più efficaci, finalizzate al contenimento dell'inquinamento ambientale e la tutela e la sopravvivenza delle api.

Il progetto prevede il supporto tecnico-scientifico ed informatico, attraverso la stipula di specifiche convenzioni, degli Istituti Zooprofilattici Sperimentali delle Regioni Lazio e Toscana (IZS-LT) e delle Venezie (IZS-VE) In particolare, l'IZS LT, in collaborazione con gli altri Enti coinvolti nel progetto, curerà l'organizzazione delle indagini di campo, la gestione e l'elaborazione dei dati.

ISPRA svolgerà un ruolo di coordinamento con le istituzioni tecnico-scientifiche, di elaborazione delle linee generali dell'attività, di controllo delle azioni proposte e di supporto organizzativo.

“Monitoraggio ambientale nel Comune di Frosinone”

di Gerardo Di Giammarino – Istituto Superiore San Benedetto di Latina, e
di Giovanni Formato - IZS delle Regioni Lazio e Toscana

Viene presentato un progetto biennale di monitoraggio ambientale con le api avvenuto nel Comune di Frosinone. Il rilevamento è stato condotto su 14 alveari disposti in maniera tale da coprire l'intero territorio del Comune di Frosinone. Grazie alla realizzazione di campionamenti di miele, propoli, api, polline e cera dai suddetti alveari, è stato possibile valutare la contaminazione ambientale di alcuni metalli pesanti: cadmio, cromo, piombo, rame e zinco. Nel 2007, tra marzo e settembre, sono stati effettuati complessivamente 106 campioni, mentre nel 2008, nel periodo fra maggio e ottobre, i campionamenti eseguiti ammontavano a 205. Nel Comune di Frosinone sono state disposte 7 diverse postazioni, ciascuna costituita da 2 alveari. Le postazioni sono state predisposte in modo tale da rendere inaccessibile le arnie ad estranei ed evidenziandole bene, mediante apposita cartellonistica. Per l'accertamento del livello di inquinamento da metalli pesanti nel Comune di Frosinone, abbiamo scelto solo i risultati ottenuti nel 2008 delle tramite le matrici “api” e “miele”, considerando la maggior quantità di dati presenti in bibliografia ai fini di una comparazione dei risultati. Mentre le api sono in grado di fornire informazioni sull'inquinamento ambientale di tipo “puntiforme” nel tempo e nello spazio, in quanto relativa a pochi giorni precedenti la cattura, il miele fornisce informazioni sull'inquinamento ambientale per un tempo più lungo, perchè deriva dal nettare raccolto da una vasta area nel corso di diversi giorni. In linea di massima, i valori più alti di metalli pesanti riscontrati nella matrice ape sono stati quasi tutti evidenziati nel mese di giugno dalla postazione 1, ubicata presso l'Istituto di Istruzione Superiore “S. Benedetto”, vicino alla strada statale dei Monti Lepini e l'imbocco dell'autostrada Roma-Napoli.

Piombo: il tasso più elevato della *matrice “api”* di tutto il periodo dell'indagine, pari a 16,1 ppb, è stato riscontrato sempre nella postazione 1. Tale valore, risulta comunque molto inferiore rispetto a quelli bibliografici relativi, nella maggior parte dei casi, al periodo in cui il piombo era presente nella benzina: in diverse province dell'Emilia-Romagna, i valori di Pb erano compresi tra 20 e 25.000 ppb (Porrini *et al.*, 2002), in provincia di Roma si sono evidenziati tassi compresi da 610 a 1.250 ppb (Conte e Botrè, 2001), mentre in zone soggette ad elevato traffico veicolare, la contaminazione da piombo arrivava fino a 1.400.000 ppb (Leida *et al.*, 1996). Anche nella *matrice “miele”*, i valori di piombo di Frosinone sono risultati essere inferiori rispetto a quelli riportati in letteratura.

Cromo: la contaminazione rilevata con la *matrice “ape”*, nel Comune di Frosinone, se confrontata con dati di letteratura, risulta inferiore, mentre i valori della *matrice “miele”*, non si discosta dai risultati ottenuti da Conte e Botrè (2001) e da Porrini e collaboratori (2002).

Cadmio: i valori riscontrati nella *matrice “miele”*, sebbene mediamente inferiori da altri studi simili condotti nella provincia di Roma (Conte e Botrè, 2001), hanno evidenziato dei “picchi” anomali (il range da 0,4 a 220 ppb, con un valore medio di 6,1 ppb, contro un valore bibliografico che variava da 2 a 63 ppb con una media di 9,4 ppb).

Zinco: la contaminazione media rilevata dalla *“matrice ape”* risulta pari a 5.290 ppb. Confrontando questi dati con il lavoro di biomonitoraggio ambientale effettuato in alcune province della Lombardia, dove le concentrazioni medie di questo metallo risultavano comprese fra 23.000 e 81.000 ppb (Faccin *et al.*, 2004), si osserva una contaminazione nettamente inferiore. Nella *“matrice miele”* il valore medio è stato pari a 1.190 ppb, risultando inferiore anche a quelli ottenuti da Del Bono in provincia di Reggio Emilia (valore medio pari a 1.806 ppb), Parma (2.066 ppb) e Piacenza (1.644 ppb).

Rame: con la *“matrice miele”* è stato rilevato a maggio, un picco di contaminazione nella postazione 7, cioè nell'area industriale vicina all'aeroporto, pari a 35.100 ppb. Confrontando però il valore medio (1.570 ppb) con quello di Reggio Emilia (993 ppb), Parma (560 ppb) e Piacenza (1.833 ppb) ottenuti da Del Bono nel 1998, non sembrerebbero esserci differenze sostanziali. Dai

risultati emersi attraverso il biomonitoraggio con le api, l'inquinamento della città di Frosinone per i metalli pesanti si diversifica da zona a zona. Alcune aree sembrano essere più soggette a picchi di contaminazione per il cadmio e per il rame. Ulteriori riflessioni potrebbero scaturire con il proseguo dell'indagine e con il confronto dei dati delle centraline fisse presenti in diversi punti della città.

Esercitazione pratica in apiario: come effettuare i campionamenti per il biomonitoraggio

di *Alessandra Giacomelli* – IZS delle Regioni Lazio e Toscana

Per effettuare uno studio di biomonitoraggio ambientale impiegando le api o gli altri prodotti dell'alveare quali bioindicatori o bioaccumulatori, è estremamente importante avere approfondite conoscenze sulle sostanze da ricercare per poter così scegliere le matrici più idonee al loro rilevamento. Infatti le api consentono di ottenere molteplici matrici (api adulte, polline, cera, propoli, miele) dall'alveare, che possono essere campionate nella ricerca di svariati contaminanti ed inquinanti ambientali.

Le famiglie di api da inserire in uno studio di biomonitoraggio devono essere scelte con forza simile tra di loro ed in buono stato di salute e non dovrebbero essere alimentate nel periodo di campionamento. In caso di famiglie deboli è possibile aggiungere un favo di covata purché privo di miele e proveniente da famiglie posizionate nei pressi dell'alveare da rinforzare.

L'apicoltore che accudisce l'apiario destinato al biomonitoraggio deve evitare il più possibile l'impiego dell'affumicatore, fino ad arrivare allo espresso divieto di utilizzo se la ricerca delle sostanze da monitorare potrebbe esserne inficiata (es. ricerca di idrocarburi policiclici aromatici, IPA).

Per evitare le contaminazioni accidentali si richiede il costante impiego, durante i prelievi, di guanti in lattice e di bisturi monouso, nonché di idonei contenitori per i campioni.

Campionamento della matrice miele: dal melario di ogni alveare vengono prelevati 60-100 mg di miele fresco, non opercolato, con 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 viene escissa con bisturi ed il miele è spremuto dal favo in un contenitore sterile monouso. La cera eventualmente presente deve essere, per quanto possibile, allontanata.

Campionamento di api: il prelievo della matrice ape consiste nella cattura di un minimo di ottanta api bottinatrici (circa 10g di api) al rientro in alveare. Per ottenere api bottinatrici, le uniche in movimento costante nel territorio intorno la postazione, verrà chiusa la porticina dell'alveare per facilitare l'accumulo delle bottinatrici sul predellino e per evitare il prelievo di api guardiane o di fuchi. Si preferirà effettuare i campionamenti nelle tarde ore mattutine o nel primo pomeriggio, ossia quando le api mostreranno un'intensa attività di bottinamento. 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 la loro 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 della sopraggiunta mortalità acuta. Inoltre ulteriori campionamenti possono essere costituiti dalle larve e pupe presenti nelle cellette dell'arnia.

Campionamento di cera: il prelievo della matrice cera consiste nella escissione di cera d'opercolo fresca, ottenuta preferibilmente da cellette contenenti miele, impiegando materiale monouso già precedentemente descritto.

Campionamento di polline: dal fondo diagnostico antivarroa si preleverà con pinzette monouso il polline qui presente, in caso non fosse qui presente, si estrarrà il polline direttamente dalle cellette presenti nei favi.

Campionamento di propoli: si stimolerà la produzione di propoli da parte delle api, sollevando con sottili spessori il coprifavo dell'arnia che verrà poi prelevata in idonei contenitori.

“Monitoraggio ambientale in diversi apiari del Lazio e dell’Abruzzo”

di *Monia Perugini* – Facoltà di Medicina Veterinaria - Università di Teramo

L’ape è ormai considerata un valido indicatore biologico per il controllo dell’inquinamento ambientale, grazie anche all’elevata sensibilità nei confronti dei contaminanti, all’alto tasso di riproduzione e ad una vita media di breve durata. Raccogliendo nettare e polline dalla vegetazione ed abbeverandosi all’acqua dei fossi si espone a tutti i possibili rischi di intossicazione derivanti dalla presenza di inquinanti ambientali. Una scorretta gestione territoriale da parte dell’uomo sia nel comparto agricolo come in quello urbano ed industriale si ripercuote inevitabilmente sull’intero ecosistema creando un disagio ambientale che le api, in qualità di bioindicatori, sono in grado di monitorare. Alla luce delle attuali problematiche legate all’inquinamento atmosferico lo scopo di questa ricerca è stato quello di andare ad utilizzare le api come bioindicatori di contaminazione ambientale da idrocarburi policiclici aromatici (IPA) e da metalli pesanti. Gli IPA sono composti ubiquitari e, come tali, si possono ritrovare nell’aria, nel terreno, sulla vegetazione, nell’acqua e negli alimenti. Si tratta di contaminanti ambientali di provata tossicità, le cui concentrazioni sono riscontrabili a livelli elevati nelle aree più urbanizzate ed industrializzate. L’interesse sanitario per questi composti è legato soprattutto alla cancerogenicità sperimentale mostrata da alcuni di essi ed in particolar modo da quelli a maggior peso molecolare come il Benzo(a)pirene. I metalli pesanti sono sostanze chimiche che presentano un’ampia diffusione, sia in ambiente acquatico che terrestre e la cui tossicità risulta strettamente legata alla loro forma chimica. Sono sostanze che presentano una persistenza ambientale notevole e sono in grado di rimanere in sospensione legate al particolato atmosferico, diffondendosi anche lontano dalle fonti di emissione. In questo studio, utilizzando api bottinatrici catturate al rientro in alveare, come bioindicatori della presenza di IPA e metalli pesanti, sono state confrontate aree a differente impatto antropico. Le stazioni di monitoraggio sono state collocate in due differenti regioni, Lazio ed Abruzzo, per monitorare parallelamente aree densamente antropizzate ed aree inserite in contesti quali le riserve naturali o i parchi regionali. In Abruzzo la ricerca è stata condotta utilizzando cinque postazioni, una in prossimità di un inceneritore e quattro dislocate nel parco regionale dei Calanchi di Atri, mentre nel Lazio sono state scelte tre postazioni, di cui una nella zona di Ciampino e le altre due all’interno della tenuta presidenziale di Castelporziano. Ciascuna postazione era costituita da tre arnie Dadant-Blatt standard, con 10 telaini, munite di melario. La sperimentazione è stata condotta nel periodo compreso tra maggio ed ottobre 2007. Gli IPA oggetto della ricerca sono stati i 15 giudicati prioritari dai documenti dell’EPA mentre i metalli pesanti analizzati sono stati il mercurio, il cadmio, il piombo ed il cromo.