

Predisposizione della “Rete di biomonitoraggio permanente” per l’analisi dei livelli di contaminazione ambientale e delle produzioni agricole nell’area del nucleo industriale “Termoli-Guglionesi”, con l’impiego dell’ ape da miele (*Apis mellifera* L.)



Predisposizione della “Rete di biomonitoraggio permanente” per l’analisi dei livelli di contaminazione ambientale e delle produzioni agricole nell’area del nucleo industriale “Termoli-Guglionesi”, con l’impiego dell’ ape da miele (*Apis mellifera* L.)

Indagine di studio proposta da:

<i>Direzione Tecnico Scientifica ARPA Molise - U.O.C. - A.T.I.</i>	<i>Dott. Remo Manoni Dott. Luigi Iafigliola Dott. Giovanni Sardella</i>	
<i>Università degli Studi del Molise</i>	<i>Prof. Antonio De Cristofaro</i>	

Unità coinvolte:

<i>Dipartimento Arpa, Campobasso</i>	<i>Dott.ssa Maria Grazia Cerroni</i>	
<i>Laboratorio chimico del Dip. Arpa - Campobasso</i>	<i>Dott. Bernardino Principi</i>	

Soggetto proponente

ARPA MOLISE
Direzione Tecnico Scientifica ARPA Molise - U.O.C. - A.T.I.
Osservatorio Regionale per la qualità degli alimenti di origine vegetale

Progettazione

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DEL MOLISE
Dip. Agricoltura, Ambiente ed Alimenti

Prof. Antonio De Cristofaro
Prof. Ordinario di Apicoltura, Controllo biologico ed integrato ed Entomologia agraria

Aiuto progettazione

Dott. Agr. Luigi Iafigliola
Collaboratore tecnico agronomo presso ARPA Molise

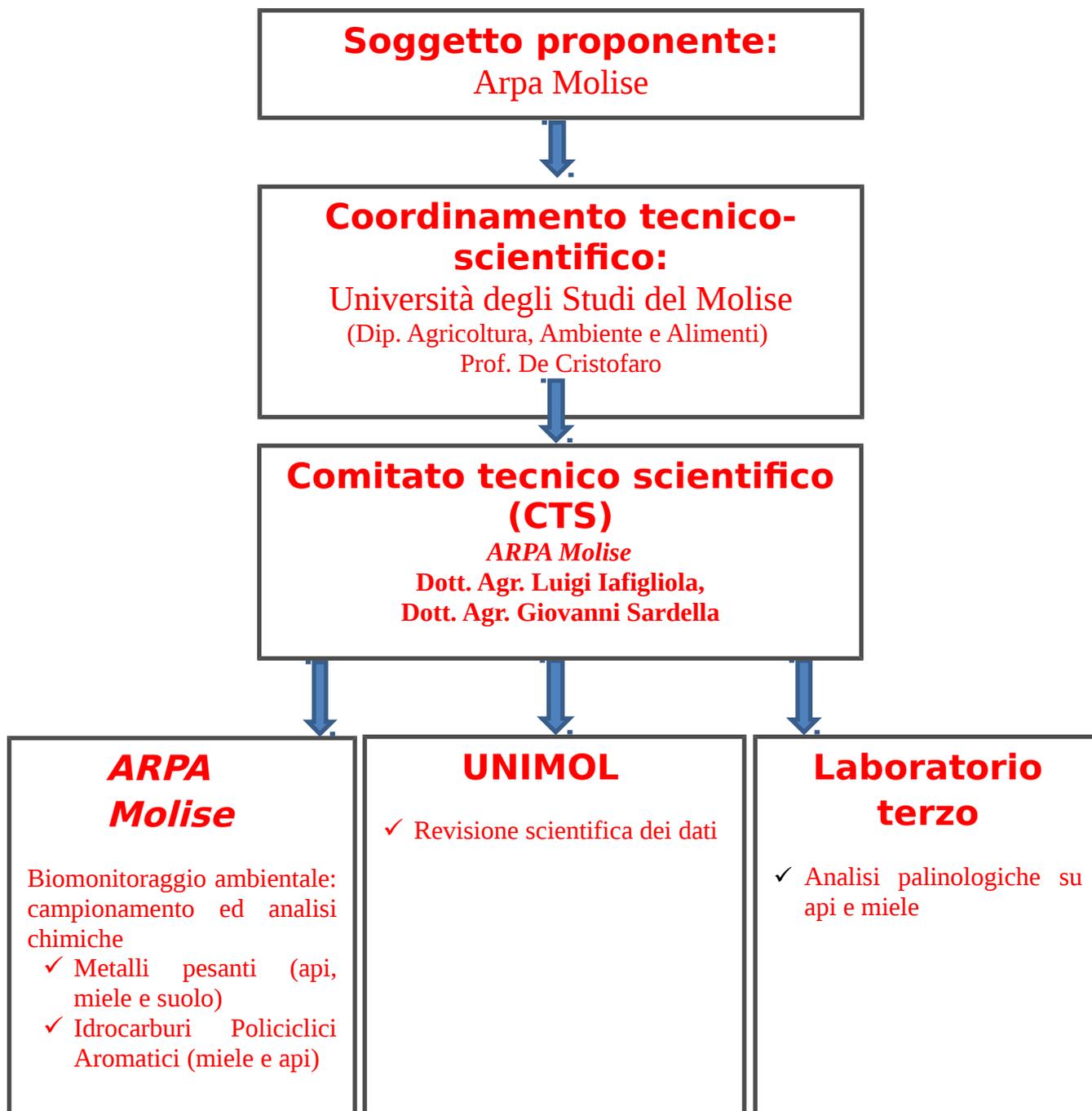
Coordinamento Tecnico-Scientifico

Prof. Antonio De Cristofaro (UNIMOL)

Referente Tecnico

Dott. Agr. Luigi Iafigliola, Ph.D. (ARPAM)

ORGANIGRAMMA PROGETTO



INDICE:

1. Obiettivi generali

Abstract

2. Stato dell'arte

3. Obiettivi e descrizione delle attività

4. Descrizione dell'area di studio

5. Descrizione delle stazioni di campionamento

6. Considerazioni sulla metodologia

7. Installazione delle stazioni di monitoraggio

8. Analisi di laboratorio

9. Elaborazione dei dati e risultati attesi

10. Analisi dei costi

11. Tempi di realizzazione

12. Prospetto delle necessità

ALLEGATI

Abstract

Il progetto, sinteticamente ed in generale, si sviluppa secondo 2 direttrici fondamentali, attuabili anche in via progressiva e modulare sull'intera Regione Molise, caratteristica di reale innovatività ed unicità dello stesso, sia a livello locale che nazionale e internazionale.

1. Rete permanente di biomonitoraggio mediante l'ape da miele per le zone industriali, siti contaminati ed urbane

La rete si basa su moduli (postazioni) costituiti da 2 alveari (ogni alveare garantisce circa dieci milioni di microprelievi giornalieri da aria, acqua, suolo e vegetazione) da cui sarà prelevato il materiale da esaminare alla ricerca di eventuali inquinanti (metalli pesanti, Idrocarburi policiclici aromatici). Ogni modulo copre una superficie di 7 km². Le stazioni di biomonitoraggio saranno garantite da Arpa Molise o da apicoltori che detengono apiari nei siti di interesse.

2. Rete permanente di biomonitoraggio mediante l'ape da miele per le zone agricole

La rete si basa su moduli (postazioni) costituiti da 2-3alveari (ogni alveare garantisce circa dieci milioni di microprelievi giornalieri da aria, acqua, suolo e vegetazione) da cui sarà prelevato il materiale da esaminare alla ricerca di eventuali inquinanti (agrofarmaci). Ogni modulo copre una superficie di 7 km². Le stazioni di biomonitoraggio saranno garantite da Arpa Molise o da apicoltori che detengono apiari nei siti di interesse.

Soggetti attuatori del progetto

L' ARPA Molise, che intende dotarsi di un valido sistema di biomonitoraggio, tutelare la biodiversità e favorire l'incremento della produttività agricola, sarà l'Ente promotore del progetto e l'Università degli Studi del Molise, mediante il prof. Antonio De Cristofaro, in qualità di progettista e docente di Apicoltura, avrà la supervisione scientifica attraverso la stipula tra ARPAM ed UNIMOL di una convenzione di prestazione scientifica a titolo gratuito.

In futuro potranno partecipare al progetto, nell'ottica di allargare la rete di biomonitoraggio all'intera Regione Molise, l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale Abruzzo e Molise e le Associazioni apistiche manifestanti interesse.

Nel rispetto dei propri ruoli istituzionali, anche in relazione all'utilizzazione dei risultati ottenibili dal presente progetto, sono quindi soggetti promotori ed attuatori, con i seguenti ruoli:

Agenzia Regionale per la Protezione dell'Ambiente del Molise (ARPAM) (Partner, esecuzione analisi, CTS);

Università del Molise (UNIMOL) (Partner, Direzione Scientifica, CTS).

1. Obiettivi generali

Il progetto è incentrato sul ruolo fondamentale ricoperto dall'ape da miele nell'ambiente, inteso nella sua accezione più ampia. In estrema sintesi, l'ape è alla base della produzione agricola (circa l'80% delle piante coltivate si avvale dell'impollinazione entomofila, con conseguente miglioramento quantitativo e, soprattutto, qualitativo delle produzioni; l'ape garantisce un incremento, ampiamente sottostimato, della PLV agricola delle colture interessate pari ad almeno 1.000 Euro/ha) e rappresenta attualmente, insieme ai suoi prodotti, il più completo biosensore (bioindicatore e bioaccumulatore), in grado di fornire, laddove correttamente utilizzata come tale, una mole notevole di dati sullo stato di salute dell'ambiente.

Le potenzialità di tale insetto e di alcuni suoi prodotti (miele, cera, polline, propoli, pappa reale) sono utilizzate dal progetto per perseguire i suoi principali obiettivi, di seguito riportati.

- ✓ **Biomonitoraggio dello stato di salute del territorio** ed elaborazione dei dati scientifici con lo scopo di contribuire alla possibile **Certificazione ambientale** di interi comprensori molisani nel rispetto delle normative europee, mediante integrazione con i rilievi ottenuti con altri sistemi di monitoraggio (es. centraline fisse, analisi dei comparti ambientali, analisi degli alimenti, ecc.) e certificazione nonché evidenziare eventuali criticità ambientali dovute alla particolare predisposizione dei siti strategicamente biomonitorati. I dati raccolti saranno ampiamente spendibili anche nell'ambito del **Piano Sanitario Nazionale**, laddove lo stesso individua gli indicatori biologici quale strumento di monitoraggio della diffusione e distribuzione dei contaminanti ambientali, e del **Piano di Azione Nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari**, adottato con DM del 22 gennaio 2014 (GU n. 35 del 12.02.2014), laddove lo stesso si propone di "individuare indicatori utili alla misura dell'efficacia delle azioni poste in essere con il Piano e favorire un'ampia divulgazione dei risultati del relativo monitoraggio" e prevede tra le priorità lo studio dell'impatto ambientale dei prodotti fitosanitari.
- ✓ **Tutela della biodiversità animale e vegetale**, essendo le api le principali impollinatrici della flora autoctona (90% dei vegetali presenti), e da cui dipende la sopravvivenza di intere biocenosi appenniniche, a partire proprio dagli ecotipi locali di ape da miele, o selezionando opportunamente popolazioni fortemente adattate al territorio di riferimento, le uniche capaci di garantire una perfetta impollinazione di specie spontanee e coltivate.
- ✓ **Incremento generalizzato delle produzioni agricole regionali**, ivi comprese quelle tipiche e quelle di interesse zootecnico, sia da un punto di vista quantitativo che qualitativo, conseguente alla maggior diffusione sul territorio delle aziende apistiche, in particolare mettendo a disposizione degli apicoltori popolazioni fortemente adattate al territorio. Si sottolinea che la rarefazione dei pronubi ha assunto carattere di assoluta emergenza di importanza mondiale.
- ✓ **Incremento ed utilizzazione della rete di biomonitoraggio sul territorio regionale**, da costituire in collaborazione con tutte le Associazioni apistiche presenti sul territorio, che peraltro hanno già manifestato interesse all'iniziativa, **a tutela dell'attività apistica stessa**, e quindi dell'agricoltura, della biodiversità e dell'ambiente in generale, segnalando in tempo reale il manifestarsi delle sempre più recenti emergenze sanitarie ed ambientali.

2. Stato dell'arte

Negli ultimi anni sono sempre più numerosi gli enti e le strutture pubbliche (Regione Marche per le aree protette, Basilicata per il Metaponto, Emilia Romagna, Piemonte, Sicilia, ecc.) che si occupano di effettuare una continua osservazione dei fenomeni evolutivi e inquinanti degli ecosistemi. L'ambiente è sempre più spesso monitorato e controllato per verificare variazioni specifiche e/o di massa dato che è periodicamente sottoposto all'immissione di sostanze inquinanti di varia origine e natura.

Sono stati studiati vari sistemi di monitoraggio ambientale per verificare l'incidenza delle attività dell'uomo, ad esempio dopo la realizzazione di un'opera (una zona industriale, una strada, ecc.).

Sono oggetto specifico di rilevamento:

- inquinanti organici (delle acque, del suolo, dei prodotti agroalimentari, ecc.);
- inquinanti inorganici (delle acque, del suolo, dei prodotti agroalimentari, ecc.);
- agrofarmaci;
- inquinanti chimico-biologici;
- inquinanti atmosferici;
- polveri ultrafini e nanoparticelle.

Il monitoraggio è effettuato, nella maggior parte dei casi, avvalendosi di centraline di rilevamento fisse o semi mobili che riescono a immagazzinare informazioni che sono poi elaborate.

Attraverso il monitoraggio strumentale dell'ambiente si acquisiscono dati di tipo quantitativo, relativi all'istante del campionamento (situazione puntuale in un preciso momento storico) e ad ogni singolo inquinante.

Ulteriore metodo di monitoraggio dell'inquinamento ambientale è quello che prevede l'utilizzo di organismi viventi (biomonitoraggio).

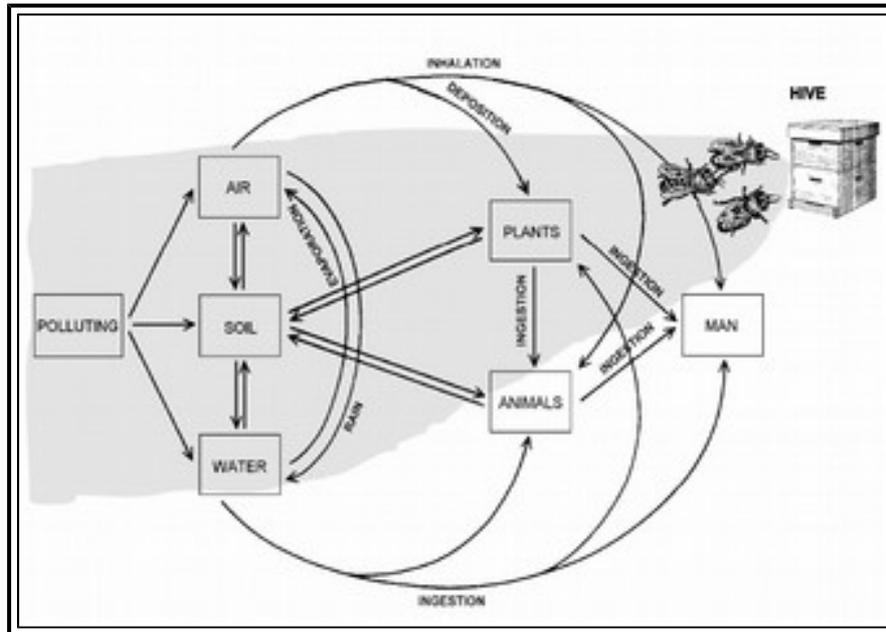
Il biomonitoraggio è effettuato attraverso organismi *bioaccumulatori* (organismi in grado di sopravvivere in presenza di inquinanti che accumulano nei loro tessuti, es. i licheni; con opportune analisi è possibile ottenere dati sull'inquinamento sia di tipo qualitativo che quantitativo) e/o *bioindicatori* (organismi che subiscono variazioni evidenti nella fisiologia, nella morfologia o nella distribuzione spaziale sotto l'influsso delle sostanze presenti nell'ambiente, es. l'ape).

Attraverso il biomonitoraggio si riescono a raccogliere informazioni più generali sullo stato di salute dell'ambiente valutando anche i danni subiti dagli organismi bersaglio presenti nell'area di studio o appositamente introdotti (biomonitoraggio di tendenza).

L'attività di biomonitoraggio, quindi, ha un ruolo importante e sempre crescente in quanto rispetto alle tecniche analitiche tradizionali offre diversi vantaggi:

- riesce a fornire stime sugli effetti combinati di più inquinanti sugli esseri viventi;
- ha costi di gestione limitati;
- offre la possibilità di coprire con relativa facilità vaste zone e territori diversificati, consentendo un'adeguata mappatura del territorio;
- può essere un valido mezzo che aiuta a sensibilizzare e formare le persone sul tema dell'importanza della qualità ambientale.

Una vastissima bibliografia scientifica dimostra che un eccellente bioindicatore è rappresentato dalle api da miele [es. *Apis mellifera ligustica* (Spinola, 1806)]. Le api sono in grado di segnalare l'eventuale danno chimico subito dall'ambiente in cui vivono, attraverso due segnali: l'alta mortalità, nel caso dei fitofarmaci con attività insetticida, e attraverso i residui che si possono riscontrare ed accumulare nei loro corpi o nei prodotti dell'alveare, nel caso di tutti gli agrofarmaci e di agenti inquinanti come i metalli pesanti e i radionuclidi, rilevati tramite analisi di laboratorio. Tenuto conto che il raggio medio di azione delle api può arrivare anche a 2 km dal rispettivo alveare, si riescono ad acquisire dati di un territorio molto vasto, fino a circa 6 – 8 km².



(da Porrini et al. 2002)

L'ape è quindi oggi ritenuta senza ombra di dubbio un elemento attivo nella catena produttiva perché in grado di produrre miele ecc. e garantire produttività al territorio ma anche un elemento indicatore dello stato di salute di un ambiente.

Il biomonitoraggio realizzato con api ha già una sua storia. L'impiego dell'ape nel monitoraggio ambientale risale al 1935 quando Jaroslav Svoboda, dell'Istituto per le ricerche in apicoltura di Libčice, vicino Praga, indicò le ripercussioni negative degli inquinanti industriali sulle api che bottinavano nei territori densamente popolati e industrializzati di Trinec in Cecoslovacchia. Negli anni successivi numerose esperienze sono state intraprese per verificare l'efficacia di questo imenottero come indicatore della presenza di contaminanti nell'ambiente. Lo stesso Svoboda e colleghi osservarono un aumento dello Stronzio⁹⁰ nelle api e nei loro prodotti all'inizio degli anni '60, probabilmente dovuto agli esperimenti nucleari nell'atmosfera in corso in quel periodo. Numerosi sono stati i programmi di biomonitoraggio negli anni successivi che hanno visto quest'insetto essere utilizzato, in diversi Paesi ed in alcune regioni italiane, per evidenziare fonti di inquinamento anche molto pericolose.

In generale possiamo distinguere tre categorie di *bioindicatori ambientali*:

- specie indicatrici: organismi, vegetali o animali, la cui presenza o assenza in un ambiente può essere associata in modo specifico a un determinato tipo di inquinamento dell'ambiente stesso;
- indicatori veri: organismi che manifestano modificazioni morfologiche e/o strutturali in seguito alla presenza di un determinato inquinante (mostrando, nel caso dei migliori organismi indicatori, un danno proporzionale alla dose di inquinante incontrata);
- accumulatori e/o collettori: organismi accumulatori di particolari inquinanti.

A seconda dell'attribuzione dell'ape a una delle tre categorie fondamentali di indicatori biologici (specie indicatrici, indicatori veri, accumulatori o collettori) possiamo giungere a conclusioni di tipo diverso. L'ape, come singolo individuo, essendo pressoché ubiquitaria, può teoricamente essere considerata una specie indicatrice (1^a categoria). La sua assenza in un biotopo, denuncia l'esistenza di condizioni sfavorevoli conseguenti alla presenza di contaminanti ad alto rischio tossicologico per l'ape o all'assenza di fonti di cibo (monocolture intensive di vegetali ad impollinazione non entomofila con diserbo esasperato).

La famiglia, entità standard minima per indagini di monitoraggio, mostrando attraverso la mortalità delle bottinatrici un danno proporzionale alla contaminazione, può essere considerata un indicatore vero (2^a categoria). Tuttavia l'alveare è per eccellenza un collettore e un accumulatore, quindi riferibile alla 3^a categoria. I materiali raccolti e portati in arnia possono veicolare selettivamente sostanze presenti nell'ambiente, che possono poi essere ricercate:

- nel miele, nella cera, nelle pallottoline di polline, nella propoli (api come collettori) (Celli, 1992);
- nel corpo delle larve o degli adulti (api come accumulatori) (Accorti *et al.*, 1991).

La scelta dell'ape nei programmi di biomonitoraggio rispetto ad altri organismi, oltre a quanto già detto, è dovuta principalmente alla facile reperibilità, all'economicità di impiego, alla presenza di un efficace apparato sensoriale, ecc. L'ape, inoltre, è diffusa in tutti gli ambienti, ha un tasso di riproduzione molto elevato che, associato ad una vita media relativamente breve, garantisce un rinnovamento ciclico rapido e continuo della famiglia; inoltre, quando esplora il territorio per raccogliere nettare, polline, propoli, acqua o melata intercetta, con il suo corpo peloso, le particelle in sospensione nell'atmosfera. Esponendosi quindi facilmente a possibili intossicazioni, può efficacemente essere impiegata come bioindicatore (Celli e Porrini, 1994).

L'ape si può definire un sensore viaggiante a differenza di altri bioindicatori, perlopiù immobili. Se si considera, per fare un calcolo empirico, che in un alveare in buono stato vi sono circa 10.000 bottinatrici e che ogni bottinatrice visita giornalmente circa un migliaio di fiori, si può dedurre che una colonia di api effettua 10 milioni di microprelievi ogni giorno, senza considerare il trasporto di acqua che nelle giornate calde può raggiungere anche il mezzo litro (Pinzauti e Felicioli, 1998). Di conseguenza l'ape frequenta attivamente il territorio, preleva dei campioni di sostanze eventualmente contaminate, si contamina a sua volta e torna all'alveare; l'insetto stesso diventa così un possibile campione da sottoporre alle analisi di laboratorio.

Da alcuni anni è stato messo a punto un protocollo di sperimentazione in campo per conoscere il tragitto, dall'ambiente all'alveare, delle diverse sostanze chimiche, in particolare di quelle ad uso agricolo, e il loro impatto sull'ape. La metodologia prevede la predisposizione di una rete di monitoraggio con stazioni di rilevamento caratterizzate da due alveari, il conteggio periodico delle api morte, la determinazione della contaminazione di nettare, polline, api morte, miele, cera e larve e la valutazione dell'attività di volo e di bottinamento.

Attualmente la validità dell'ape come indicatore biologico è stata dimostrata per inquinamenti da:

- agrofarmaci (inquinamento agricolo);
- metalli pesanti (inquinamento urbano e industriale);
- idrocarburi policiclici aromatici (inquinamento urbano e industriale);
- radionuclidi (inquinamento radioattivo);
- diossina, PCB (inquinamento urbano e industriale);
- polveri sottili

Le caratteristiche etologiche dell'ape e il suo stretto rapporto con l'ambiente, fanno di questo insetto un interessante indicatore biologico degli agrofarmaci.

L'attività di bottinamento del territorio circostante l'alveare è, come detto, di circa 6-8 Km² e i prelievi che l'ape effettua in questa area sono diversi: oltre al nettare e al polline, raccoglie la melata degli afidi, sugge l'acqua di fossi e pozzanghere, si posa sul terreno e sulle foglie e, avendo un corpo peloso, intercetta e veicola le particelle in sospensione atmosferica durante il volo. Inoltre l'ape, facendo ritorno all'alveare, permette, attraverso analisi chimiche e il controllo numerico della popolazione, di individuare eventuali sostanze inquinanti diffuse anche in zone lontane dalla postazione. La metodologia adottata si basa su un importante presupposto: l'ape, che come bioindicatore, intercetta e assimila, attraverso le trachee, la frazione di contaminante biodisponibile (Porrini *et al.*, 2006), risulta essere un buon indicatore diretto degli insetticidi rispondendo alla loro immissione nell'ambiente con un rilevante numero di api morte, mentre nel caso di principi attivi non particolarmente abbattenti l'insetto funziona come indicatore indiretto e fornirà informazioni sotto forma di residui (Celli e Porrini, 1991).

I controlli settimanali e le analisi di laboratorio, quindi, consentono di ottenere dei dati continuamente aggiornati sulla presenza di fitofarmaci nell'ambiente.

Morie di api sono possibili con la presenza di insetticidi come i fosfororganici (che bloccando con la fosforilazione l'acetilcolinesterasi favoriscono un accumulo di acetilcolina nelle sinapsi e

provocano avvelenamento da blocco colinergico con conseguente rapida morte) ed i carbammati (che inibiscono ugualmente l'acetilcolinesterasi ma, competendo con l'acetilcolina, occupano stabilmente il sito attivo dell'enzima impedendo l'ingresso dell'acetilcolina). Il numero di api morte è direttamente proporzionale alla tossicità e alla pericolosità del principio attivo impiegato.

Da tempo si è accertato come il grado di contaminazione del nettare sia in stretta dipendenza con la morfologia florale e dunque con il grado di esposizione dei nettari. Ad esempio i fiori di melo, più esposti, realizzeranno gradi di contaminazione da prodotti fitosanitari più elevati dei fiori di medica, che ha nettari più protetti e profondi. L'ape risulta essere un eccellente bioindicatore dei prodotti fitosanitari specialmente in un territorio povero dal punto di vista della vegetazione selvatica; in questo caso l'insetto è obbligato a bottinare sulle specie coltivate o nei pressi di queste e sarà più facile quindi che venga in contatto con gli eventuali principi attivi irrorati (Celli e Porrini, 1991). *In tutti questi casi l'ape diventa un valido strumento di campo per identificare tempi e modi di uso di sostanze a rischio di tossicità ed evidenziare in tempo reale l'eventuale uso improprio di fitofarmaci.*

L'ape e i suoi prodotti sono stati utilizzati anche per valutare l'inquinamento ambientale da metalli pesanti quali cromo, nichel, piombo (Gazziola *et al.*, 2000) e cadmio in ambiente urbano (Cesco *et al.*, 1994) oltre che Idrocarburi Policiclici Aromatici (IPA) nelle zone industriali. Per questo tipo di studio il miele e la melata si prestano ottimamente. Mieli di nettare contaminati da piombo sono un sicuro indice di inquinamento ambientale. La melata tende a concentrare il piombo, in quanto esso è oggetto di sospensione, di continuo ricircolo e quindi di ricaduta nello stesso ambiente, specialmente in zone ad alta concentrazione urbana. Per il rilevamento del contenuto in metalli pesanti vengono eseguite analisi utilizzando l'assorbimento atomico.

L'inquinamento dell'aria è diventato un problema planetario. Ogni qualvolta avviene un rilascio di radioattività in atmosfera, i radionuclidi dopo un certo tempo si depositano al suolo. La ricaduta può avvenire anche a grande distanza dal luogo di emissione e può essere umida o secca in relazione alla presenza o meno di precipitazioni. Il monitoraggio pluriennale realizzato dal Servizio di Fisica Sanitaria di Udine sulla concentrazione dell'isotopo Cesio¹³⁷ rilasciato nell'atmosfera dopo l'incidente di Chernobyl, e presente in diversi campioni di miele del Friuli-Venezia Giulia, ha fornito risposte a numerose domande sul comportamento e sul destino di questo radionuclide nell'ambiente (Barbattini *et al.*, 1996). Analisi standard di laboratorio per le radio determinazioni vengono eseguite sulla matrice miele utilizzando la spettrofotometria gamma. Considerando la rapidità nell'eseguire le misurazioni di spettrometria gamma, la facilità del reperimento dei campioni e i risultati ottenuti, il miele può essere ritenuto un buon indicatore di contaminazione radioattiva.

Alla luce di quanto esposto, l'uso dell'ape e dei prodotti dell'alveare quale indicatori della salute dell'ambiente e della salubrità dei prodotti vegetali di cui l'uomo si ciba, è da ritenersi ampiamente affidabile. È auspicabile, quindi, che in un prossimo futuro maggiore attenzione sia prestata alla vita di questi utilissimi insetti pronubi e che la loro salvaguardia contribuisca a rendere più proficuo il rapporto tra attività umane e rispetto dell'equilibrio ambientale (cfr. seconda direttrice progetto).

Bibliografia

- Accorti M., Guarcini R., Persano Oddo L., 1991. L'ape: indicatore biologico e insetto test. REDIA, 74: 1-15.
- Barbattini R., Frilli F., Greatti M., Giovani C., Fadone A., Padovani R., 1996. Radiocesio nei mieli del Friuli-Venezia Giulia dopo l'incidente di Chernobyl. Atti Conv. «10 anni da Chernobyl: Ricerche in Radioecologia, Monitoraggio ambientale e Radioprotezione», Trieste, 4-6 marzo 1996: 133-142.
- Celli G., Porrini C., 1991 - L'ape un efficace bioindicatore dei pesticidi. Le Scienze n. 274: 42-54
- Celli G., 1992. L'ape come indicatore biologico dei pesticidi. Convegno «Ape Test», Firenze, 28 marzo 1992:15-19.
- Celli G., Porrini C., 1991. L'impiego dell'ape nel monitoraggio ambientale degli antiparassitari. L'Italia agricola 128 (1): 43-48.
- Celli G., Porrini C., 1994. L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi. L'ape nostra amica, 16 (5): 4-15.
- Cesco S., Barbattini R., Agabiti M.F., 1994. L'ape: insetto test dell'inquinamento ambientale da cadmio e piombo? L'ape nostra amica, 16 (4): 34-38.

Gazziola F., Sbrenna G., Barbattini R., Sabatini A.G., 2000. *Apis mellifera* gatherer of honeydew of *Metcalfa pruinosa*: studies on properties of derived honey. *Ins. Soc. Life* 3: 125-130.

Pinzauti M., Felicioli A., 1998. Metodologia impiegata nei programmi di monitoraggio dei radionuclidi e dei metalli pesanti con alveari. *Atti del Workshop «Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale»*, Roma, 26-27 novembre 1998: 303-310.

Porrini C., 1999 - Metodologia impiegata nei programmi di monitoraggio dei pesticidi con api. In: Piccini C., Salvati S. (eds), *Atti del Workshop "Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale"*, Roma, 26-27 novembre 1998, ANPA, Serie Atti 2/1999: 311-317.

Porrini C., Sabatini A.G., Medrzycki P., Sgolastra F., Bortolotti L., 2006 - The pragmatism of honey bees as environmental bioindicators. *Proceedings of the Second European Conference of Apidology (Vladimir Vesely & Dalibor Titěra Eds.)*, Praga 10 – 14 Settembre 2006, Pp. 84-85.

C. Porrini, S. Ghini, S. Girotti, A.G. Sabatini, E. Gattavecchia, and G. Celli. Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy, 2002 :186-247.

3. Obiettivi e descrizione delle attività

Il Molise dispone di un territorio particolarmente vocato all'utilizzo dell'ape per la valutazione dello stato di salute ambientale.

L'apicoltura molisana, costituita da apicoltori professionisti ed hobbisti che operano prevalentemente nelle aree collinari situate tra i 300 e i 800 m s.l.m., evidenzia come l'ape trova un habitat ottimale per il suo all'allevamento che ne suggerisce un uso che va oltre la semplice produzione di miele, pappa reale e polline.

La Regione Molise è esposta principalmente a tre potenziali tipologie di fonti autoctone di inquinamento ambientale che potrebbero ripercuotersi negativamente sulla salubrità dei prodotti agricoli e, quindi, sulla salute umana, oltre alla possibile presenza di rifiuti illecitamente occultati di origine ignota. Le possibili fonti autoctone di inquinamento sono rappresentate dalle eventuali emissioni di tipo agricolo, di tipo urbano e di tipo industriale.

L'inquinamento urbano, che automaticamente può ripercuotersi sulle produzioni agricole vicine, può essere originato dai principali centri abitati della Regione. L'inquinamento di tipo industriale può essere originato dai principali nuclei industriali di Pozzilli - Venafro, Bojano - Campochiaro e Guglionesi - Termoli - Larino.

Alla luce di quanto su esposto, il presente progetto intende predisporre una "Rete di biomonitoraggio permanente" per le analisi dei livelli di contaminazione ambientale e delle produzioni agricole nell'area della zona industriale "Termoli-Guglionesi" mediante l'ape da miele al fine di evidenziare, mensilmente ed annualmente, possibili rischi e compromissioni chimico-ambientali atte a salvaguardare la salute dell'uomo, dell'ambiente e dei prodotti agroalimentari.

Saranno installate, quindi, centraline (alveari) dislocate in punti strategici del nucleo industriale di Termoli-Guglionesi, nel centro urbano di Termoli, nella zona agricola adiacente la zona industriale e una centralina nella zona incontaminata dell'Oasi Lipu di Casacalenda.

4. Descrizione dell'area di studio

L'area interessata dallo studio è ubicata a ridosso della costa adriatica molisana e si estende per circa 10 Km². Occupa i territori dei comuni di Termoli, Campomarino, Guglionesi e Portocannone. Il territorio di questi comuni è a vocazione prevalentemente agricola, in cui viene praticata un'agricoltura intensiva volta a massimizzare le capacità produttive dei suoli. L'area considerata comprende il polo industriale della Valle del Biferno dove sono localizzate 128 aziende in esercizio (Fonte Cosib). Le attività svolte sono molteplici, ma le più significative per il loro risvolto ambientale sono quelle legate alla produzione e distribuzione di energia elettrica, alla fabbricazione di parti ed accessori per autoveicoli e loro motori, alla fabbricazione di prodotti chimici di base e alla fabbricazione di materie plastiche.

Le sorgenti di traffico veicolare sono costituite dall'Autostrada A14 che attraversa l'area in direzione nord-ovest sud-est e una strada a scorrimento veloce, la Statale 647 che la attraversa in direzione est ovest.



Foto dell'area di studio

5. Descrizione delle stazioni di campionamento

Ogni stazione di monitoraggio sarà formata da due alveari muniti di una gabbia di raccolta delle api morte, denominata "underbasket" (Accorti *et al.*, 1991b), posizionata sotto l'entrata (Foto 1).



Arnia con gabbia underbasket per il biomonitoraggio

Tale gabbia è formata da un telaio di legno diviso in due parti unite da una cerniera: quella inferiore è munita di una rete di metallo a maglie strette e quella superiore con una a maglie larghe.

Gli alveari impiegati devono essere omogenei dal punto di vista della loro, cosiddetta, forza. Tale forza si valuta mediante accurate visite agli alveari. In questi controlli si registrano su apposite schede alcuni importanti dati, come l'attività delle bottinatrici di fronte all'alveare, l'età della regina, il numero di telaini coperti dalle api, il numero di quelli occupati dalla covata, nuova e vecchia, la sua compattezza e discontinuità, la presenza di celle di fuchi e celle reali, il numero di telaini con miele vecchio e nuovo, polline, ecc.

6. Considerazioni sulla metodologia

Il nucleo industriale di Termoli si estende per circa 6,5 km² ed è caratterizzata da fonti di emissioni dovute principalmente ad industrie chimiche, metalmeccaniche e di produzione di energia elettrica. Fuori dal perimetro del nucleo industriale si estende un'ampia zona agricola.

Per tale motivo, l'attività di biomonitoraggio verterà su analisi chimiche di laboratorio per la ricerca dei principali *metalli pesanti*, *idrocarburi policiclici aromatici*, *agrofarmaci* presenti nel corpo delle

api e nel miele fresco appena raccolto attraverso periodici campionamenti secondo precise e accreditate metodiche chimiche di laboratorio.

Inoltre, qualora si dovessero verificare anomale e consistenti mortalità, sarà studiato il rapporto tra mortalità acuta di api e cause che le hanno indotte.

In questi casi l'ape rappresenta un valido strumento di campo per identificare tempi e modi di uso di sostanze a rischio di tossicità acuta ed evidenziare in tempo reale l'eventuale uso improprio di fitofarmaci oltre che la loro dispersione nell'ambiente fungendo da biorivelatore. Saranno predisposte, quando opportuno, mappe colturali e mensili di contaminazione con evidenziati gli indici di pericolosità ambientale.

Qualora si ravvisano eventuali effetti a medio/lungo termine da parte di nuovi agrofarmaci e/o nuove formulazioni (microincapsulati, regolatori di crescita, prodotti ad azione genotossica) che, pur senza causare episodi di mortalità acuta, provocano danni consistenti in termini di spopolamenti saranno effettuati studi specifici per mettere in luce le criticità.

Ogni decade, oltre a controllare lo stato generale di salute dell'alveare, viene accertato e registrato su apposite schede il numero delle api morte nelle gabbie. Al superamento della soglia critica (350 api morte per settimana per stazione) (Porrini, 1998), si procede al prelievo e s'invia il campione al laboratorio per l'analisi chimica e palinologica. Mentre con il primo tipo di indagine si individuano le eventuali molecole insetticide responsabili della moria, con l'analisi palinologica si tenta di stabilire, attraverso il riconoscimento dei pollini presenti sul corpo delle api, i luoghi di bottinamento delle stesse e quindi delle probabili colture irrorate con i prodotti fitosanitari che hanno provocato l'apicidio (Porrini *et al.*, 1998b).

Per il prelievo delle api nelle gabbie si deve utilizzare una pinzetta o guanti in lattice e un contenitore in vetro, preventivamente lavato con acetone e posto ad asciugare in stufa alla temperatura di 50°C e chiuso con tappi a vite con sottotappi in teflon.

Sul contenitore sono riportate tutte le indicazioni utili per la necessaria elaborazione dei dati, come la stazione di prelievo, la data, ecc.

I campioni vanno trasportati in contenitori refrigerati e stoccati in congelatore a -20°C.

Le fasi delle operazioni sono essenzialmente le seguenti:

- impianto della centralina di monitoraggio (alveari, famiglie di api, telaini di ricambio, trappole per la cattura delle api morte);
- gestione annuale della centralina comprendente controlli settimanali, analisi di laboratorio, stesura delle mappe colturali e delle mappe di pericolosità del territorio durante l'anno;
- rilievi quindicinali e/o mensili sulle relative matrici per ogni tipologia di analisi..

La tipologia di analisi, la relativa frequenza e la matrice campionata è descritta in dettaglio nell'allegato 1.

7. Installazione delle stazioni di monitoraggio

1. Postazione A: Area urbana di Termoli

Sarà predisposta una singola stazione di biomonitoraggio in un luogo strategico del centro urbano della città di Termoli (Villa comunale). Le analisi dei campioni di questa particolare stazione dovrebbero consentire di studiare le differenze ambientali tra la zona industriale ed il centro urbano.

2. Postazioni B, C: Nucleo industriale di Termoli, c.da Pantano Basso

Saranno predisposte n. 2 stazioni di monitoraggio all'interno della zona industriale di Termoli, sufficienti a coprire l'intero territorio dato che ogni stazione da sola riesce a coprire circa 7 km².

3. Postazione D: Area agricola adiacente la zona industriale di Termoli

Sarà predisposta una singola stazione di biomonitoraggio nell' area agricola adiacente la zona industriale di Termoli che abbia le medesime caratteristiche pedoclimatiche del nucleo industriale. Questa stazione, qualora ci fosse evidenza, dovrebbe mettere in particolare risalto l' incidenza che le attività agricole convogliano sull' ambiente.

4. **Postazione E:** Area notoriamente non inquinata, Oasi Lipu di Casacalenda.

Sarà predisposta una stazione di rilevamento nell'Oasi Lipu di Casacalenda che fungerà da *controllo* in quanto dalle analisi dei campioni prelevati periodicamente ci si attende una nulla o bassa presenza di composti inquinanti (metalli pesanti e IPA).

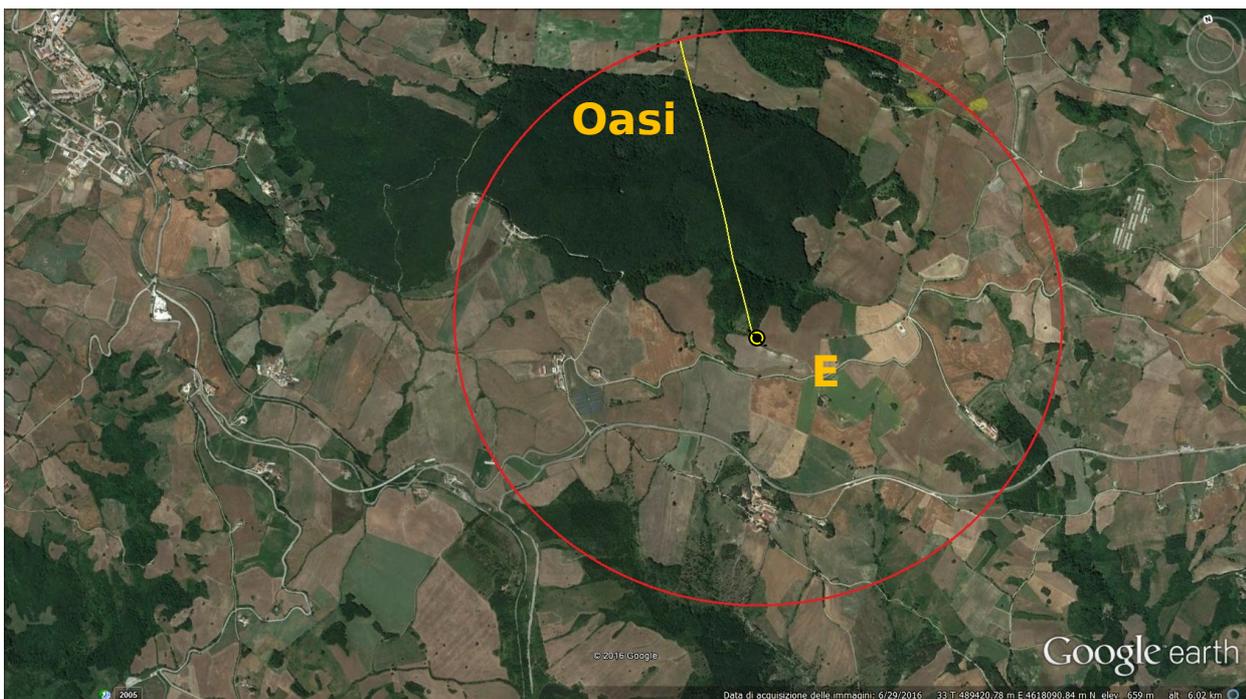
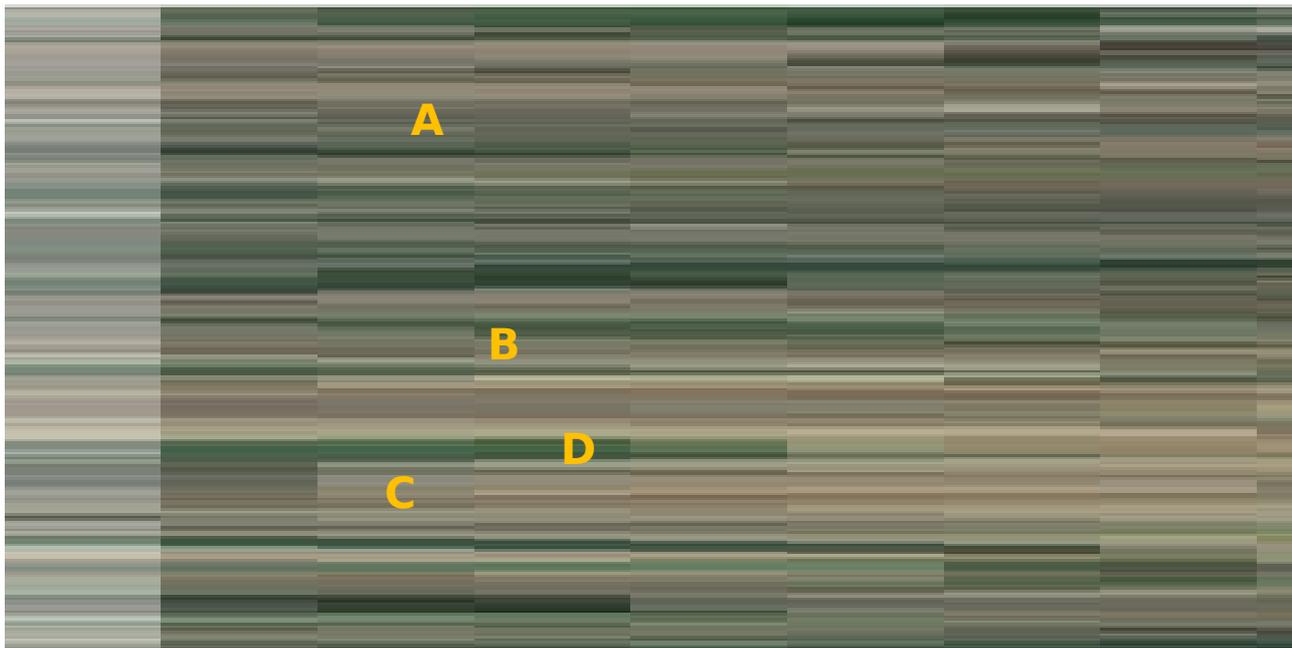


Foto aeree delle ubicazioni delle postazioni di biomonitoraggio (A, B, C ed E) e raggio di azione degli alveari.

8. Analisi di laboratorio

Le analisi di laboratorio sulle matrici api, miele e terreno per la ricerca di Metalli Pesanti, Idrocarburi Policiclici Aromatici, Agrofarmaci, Tab. 1, saranno effettuate nei laboratori del Dipartimento dell'ARPA Molise in C.da Selvapiana secondo le metodiche accreditate. Le analisi palinologiche e della ricerca degli agrofarmaci saranno effettuate presso laboratori terzi qualora si ravvisano tossicità acute che evidenziano un superamento di mortalità pari a 350 api morte a settimana raccolte nelle gabbie underbasket.

Tab. 1 Elenco dei Metalli pesanti, Idrocarburi Policiclici Aromatici e ioni da ricercare nelle diverse matrici

Metalli pesanti										
Arsenico	Cadmio	Cromo totale	Nichel	Piombo	Rame	Ferro	Alluminio	Titanio	Mercurio	Vanadio
Idrocarburi Policiclici Aromatici										
Es. Benzo(a)pirene										
Ioni										
Nitrati (ione nitrato)			Solfati (ione solfato)				Cloruri (ione Cloruro)			

9. Elaborazione dei dati e risultati attesi

L'attività di biomonitoraggio consentirà, il primo anno, di ottenere indicazioni preliminari, definite e rappresentative delle diverse sostanze inquinanti rilasciate dagli insediamenti del nucleo industriale sulla qualità dell'aria e relativa compromissione. Sulla base di ciò sarà possibile, l'anno successivo, progettare la definitiva "Rete permanente di biomonitoraggio" che terrà conto di eventuali problemi riscontrati.

I dati ottenuti comunque saranno subito utili, fruibili e confrontabili con i dati rilasciati dalle centraline fisse di monitoraggio di Arpa Molise, già attive in tale zona, attraverso la realizzazione di mappe tematiche (di contaminazione ambientale, colturali ecc.), tabelle e grafici sulla presenza e sull'andamento dei vari contaminanti misurati, grazie alle quali è possibile mettere in evidenza con chiarezza e buona immediatezza di comprensione le zone ed i periodi più a rischio per la contaminazione ambientale diffusa.

L'eventuale compromissione chimica del territorio dovuta all'uso di principi attivi (fitosanitari) impiegati nelle varie aree e nei diversi periodi, sarà delineata dalla stesura di particolareggiate mappe mensili definite da un indice a due vie che stabilisce in maniera più appropriata il grado di inquinamento da prodotti fitosanitari del territorio (Porrini *et al.*, 1996; Porrini *et al.*, 1998a).

L'Indice di Pericolosità Ambientale (IPA), è ottenuto intersecandola classe di mortalità (media mensile) di una stazione con l'Indice di Tossicità dei Prodotti fitosanitari (IPT) riscontrati, tramite l'analisi chimica, nelle api morte prelevate in quella stazione.

L'Indice di Tossicità del Prodotto fitosanitario (IPT) si calcola con la seguente formula:

$$(IPT) = f_{corr} \sum_{c=1}^N [(ct)_c (fp)_c] / N$$

in cui:

(IPT): Indice di Tossicità del Prodotto fitosanitario;

(ct)_c: classe di tossicità del principio attivo, nei confronti delle api, normalizzato al valore più elevato;

(fp)_c: fattore di persistenza del principio attivo, normalizzato al valore più elevato;

f_{corr} : fattore di correzione. Si utilizza solo quando, nello stesso mese, insieme ai campioni di api risultati positivi all'analisi chimica, ve ne sono anche di negativi. Il valore è dato dal rapporto fra la media del numero di api morte corrispondente ai campioni negativi e la media complessiva del periodo considerato. Si considerano solo i valori uguali o superiori a 1.

N: numero di campioni di api risultati positivi all'analisi;

N.B.: Quando in un solo campione di api morte vi sono più residui di prodotti fitosanitari, il fattore a numeratore, relativo a quel campione, è il risultato di una opportuna media.

Sarà

Bibliografia

- Accorti M., Guarcini R., Persano Oddo L. (1991a). L'ape: indicatore biologico e insetto test. Redia, Vol. LXXIV, tr.1(appendice):1-15.
- Accorti M., Luti F., Tarducci F. (1991b). Methods for collecting data on natural mortality in bee. Ethol. Ecol. Evol., Special Issue I : 123-126.
- Celli G. (1983). L'ape come insetto test della salute di un territorio. Atti XIII Congr. Naz. Ital. Ent., Sestriere Torino: 637-644.
- Celli G., Porrini C. (1987). Apicidi e residui di pesticidi nelle api e nell'alveare in Italia (1983 - 1986). Boll. Ist. Ent. "Guido Grandi" Univ. Bologna, vol. XLII, 1987: 75-86.
- Celli G., Porrini C. (1991). L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi. Le Scienze 274:42-54.
- Celli G., Porrini C., Baldi M., Ghini E. (1991). Pesticide in Ferrara province: two years monitoring with honey bees (1987 - 1988). Atti III Conv. A.I.S.A.S.P. Ferrara, 13-15 aprile 1989. In Ethol. Ecol. Evol., Special issue : 111-115.
- Celli G., Porrini C., Raboni F. (1988a). Monitoraggio con api della presenza dei Ditiocarbammati nell'ambiente (1983 - 1986). Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna, vol. XLIII: 195-205
- Celli G., Porrini C., Tiraferri S. (1984). Rapporti tra apicoltura e ambiente. L'ape come indicatore biologico dei pesticidi (con particolare riferimento alla provincia di Forlì) (Nota preventiva). Boll. Ist. Ent. "G. Grandi" Univ. Bologna, vol. XXXIX: 23r-24r.
- Celli G., Porrini C., Tiraferri S. (1988b). Il problema degli apicidi in rapporto ai principi attivi responsabili (1983-1986). Atti Giorn. Fitopat., vol. 2:257-268.
- Crane E. (1984). Bees, honey and pollen as indicators of metals in the environment. Bee World 55: 47-49.
- Pinzauti M., Frediani D., Biondi C., Belli R., Panizzi L., Cosimi C., Zummo V. (1991). Impiego delle api nel rilevamento dell'inquinamento ambientale. Analysis, 8:354-407.
- Porrini C. (1998). L'ape come indicatore biologico dei pesticidi: convalide Sperimentali. Tesi di laurea in Scienze Agrarie, Facoltà di Agraria, A.A. 1996-1997. Università di Bologna, 165 p.
- Porrini C., Celli G., Radeghieri P. (1998a). Monitoring of pesticides through the use of honeybees as bioindicators of the Emilia-Romagna coastline (1995-1996). Ann. Chim., 88 (3-4): 243-252.
- Porrini C., Celli G., Stefano M.A., Sabatini A.G. (1998b). Impiego del polline come marcatore nel monitoraggio dell'inquinamento da pesticidi tramite api. Atti XVII Congr. Naz. It. Ent., Maratea, 21-26 Giugno.
- Porrini C., Colombo V., Celli G. (1996). The honey bee (*Apis mellifera* L.) as pesticide bioindicator. Evaluation of the degree of pollution by means of environmental hazard indexes. Proceedings XX Int. Congr. of Entom., Firenze, Italy, August 25-31: 444.

10. Analisi dei costi

Il programma di monitoraggio sarà realizzato con personale tecnico appartenente all'Osservatorio per la qualità degli alimenti di origine vegetale e dell' UOC dei Servizi tecnici ed informatici e del Dipartimento di Campobasso di C.da Selva Piana per un totale di 4 tecnici.

I costi per la realizzazione del biomonitoraggio, descritti nell'allegato 3, saranno sostenuti dall'Agenzia e saranno a copertura dell'anno 2017.

11. Tempi di realizzazione

La rete permanente di biomonitoraggio mediante *A. mellifera* nel nucleo industriale di "Termoli-Guglionesi" opererà a pieno regime sin da subito a partire da marzo 2017 fino all'invernamento delle famiglie di api e sarà preceduta da una fase organizzativa di acquisto di tutte attrezzature

necessarie, di individuazione dei siti di monitoraggio, di installazione delle centraline (alveari) di biomonitoraggio. Pur essendo tutti i dati raccolti immediatamente utilizzabili, si rende necessario comunque un periodo di tempo di tre anni, per la messa a punto definitiva e per consentire in futuro di renderla “permanente” con l’obiettivo di ampliarla su altre zone critiche della regione Molise ed ampliando il raggio di indagine attraverso l’analisi di altri parametri ambientali di pari importanza quali Diossine, PCB, Radionuclidi, agrofarmaci, polveri sottili.

12. PROSPETTO delle necessità

Personale:	4 unità lavorative: ARPAMolise
Automezzo per prelievo campioni:	ARPAMolise
Colonie di api e attrezzature	ARPAMolise
Analisi chimiche delle diverse matrici:	ARPAMolise e/o Laboratorio terzo
Materiale di consumo:	ARPAMolise

Allegati:

1. Tipologia di analisi e relativa frequenza;
2. Crono programma annuale e compiti di ogni Unità Operativa;
3. Tipologia di Scheda campionamento

Allegato 1
Tipologia di analisi e relativa frequenza

Tipologia analisi	Matrice frequenza analisi (marzo-novembre)				
	<i>Terreno</i>	<i>Miele</i>	<i>Polline</i>	<i>Api vive</i>	<i>Api morte</i>
<i>Analisi melissopalinologica</i>	-	in caso di tossicità acuta*	in caso di tossicità acuta*	-	in caso di tossicità acuta*
<i>Agrofarmaci</i>	-	in caso di tossicità acuta*	in caso di tossicità acuta*	-	in caso di tossicità acuta*
<i>Ioni Cloruri, nitrati, solfati ecc.</i>	annuale	mensile	-		-
<i>Metalli pesanti</i>	annuale	mensile	-	mensile	-
<i>IPA</i>	-	15 giorni	-	15 giorni	-
*350 api morte/rilievo/postazione					
I campioni (api vive e miele) saranno prelevati separatamente da ogni alveare della postazione e successivamente saranno omogeneizzati tra loro per effettuare le analisi chimiche.					
Numero totale campioni da analizzare in media per anno: circa 250					

Allegato 2
Crono programma annuale e compiti di ogni Unità Operativa

	Anno 2017												Anno 2018	
Unità operativa	gen	feb	mar	apr	mag	giu	lug	ago	set	ott	nov	dic	gen	feb
U.O.C. ATI, Oss. Reg.Pr. Veg.	IC	IC	C	C	C	C	C	C	C	C	C	E	E	E
DIP. ARPA -	-	-	A	A	A	A	A	A	A	A	A	-	-	-
UNIMOL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	E	E	E

C= Controllo settimanale e Campionamento delle matrici miele, api vive o morte

A= Analisi chimiche

E=Elaborazione dati

IC= indagini preliminari di campo

PERSONALE COINVOLTO:

U.O.C. ATI , Osservatorio Reg. Pr. Veg	Dott. Luigi Iafigliola, Dott. Giovanni Sardella
Dip. ARPA - Campobasso	Dott. Bernardino Principi
Università del Molise	Prof. Antonio De Cristofaro

Allegato 3 Tipologia scheda di campionamento



SCHEDA CAMPIONAMENTO

STAZIONE		ALVEARE		DATA	
ULTIMA ALIMENTAZIONE FORNITA		MESE		ANNO	
ATTIVITÀ DI VOLO		BOTTINATRICE CON POLLINE			

REGINA
 PRESENTE ANNO NASCITA REGINA
 ASSENTE

STATO/ GESTIONE SANITARIA

DATA	AVVERSAITÀ	INTERV. EFFETTUATO	DOSE	MODALITÀ

AVVERSAITÀ: 1 Peste americana, 2 Peste europea, 3 Virus, 4 Acariosi, 5 Nosemiasi, 6 Varroasi, 7 Covata a sacco, 8 Covata calcificata

COMPORTAMENTO ANOMALO

RIGURTO DEL CONTENUTO DELLA BORSA MELARA	
INCAPACITÀ DI VOLO	
MAGGIORE AGGRESSIVITÀ	
MOVIMENTI SCORDINATI	
PARALISI ALLE API E/O AGLI ARI	
DISORIENTAMENTO	

TIPOLOGIA ANALISI

CAMPIONE	AGROFARMACI	IPA	METALLI PESANTI
API BOTTINATRICE VIVE			
API MORTE NELLA GABBIA			
POLLINE			
CERA			
PROPOLI			
MIELE			

TIPO	N°	API	COVATA	UOVA	MIELE OP	MIELE NOP	POLLINE	STATO FAVO
T	1							
T	2							
T	3							
T	4							
T	5							
T	6							
T	7							
T	8							
T	9							
T	10							

QUANTITÀ: 1 ASSENTE, 2 SCARSA, 3 MEDIA, 4 ABBONDANTE; TIPO: T (Telaino), M (Melario)

STATO FAVO: 1 DIAFRAMMA, 2 DANNEGGIATO, 3 SOSTITUITO, 4 ELIMINATO, 5 FOGLIO CERE, 6 ALIMENTATORE

CONDIZIONI AMBIENTALI

SOLEGGIATO	
PARZIALMENTE NUVOLOSO	
NUVOLOSO	
FREDDO	
CALDO	

NOTE:

Rilevatore:

Sigla campioni:

APV-Api vive, Pol-Polline, Agr-Agrofarmaci, MI-Miele, AM-Api morte nella gabbia, IPA-idrocarb. Polic. Arom, PR-propoli, CE-cera,

MP-metalli pesanti