

## LE API COME BIOINDICATORI DELL'INQUINAMENTO AMBIENTALE

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

### Introduzione

Le api sono degli ottimi indicatori biologici perché segnalano il danno chimico dell'ambiente in cui vivono, attraverso due segnali: l'alta mortalità nel caso dei pesticidi e attraverso i residui che si possono riscontrare nei loro corpi, o nei prodotti dell'alveare, nel caso degli antiparassitari e di altri agenti inquinanti come i metalli pesanti e i radionuclidi, rilevati tramite analisi di laboratorio (Celli, 1994). 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 relativamente 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 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. Da circa venti anni il nostro gruppo di ricerca presso l'Università di Bologna, studia l'uso delle api come bioindicatori degli antiparassitari, dei metalli pesanti e dei radionuclidi in molte Regioni d'Italia. Recentemente abbiamo esteso la nostra ricerca anche agli IPA (Idrocarburi Policiclici Aromatici) ed ai microrganismi fitopatogeni (batteri) (Porrini *et al.*, 2002).

Tabella 1 – Protocollo di monitoraggio impiegato per i diversi contaminanti

	<b>Pesticidi</b>	<b>Metalli pesanti</b>	<b>Radionuclidi</b>
<b>Alveari per stazione</b>	due	due	due
<b>matrici usate</b>	Api morte	Api bottinatrici Miele "fresco"	Api morte
<b>Metodo di campionamento</b>	Gabbia "underbasket"	Cattura (api); prelievo (miele)	Gabbia "underbasket"
<b>frequenza di campionamento</b>	settimanale	Api bottinatrici ogni 15 giorni; Miele "fresco" ogni mese	settimanale
<b>Soglia critica di mortalità</b>	250 api morte/ settimana/stazione	-	-
<b>Tipo di analisi</b>	Chimiche e palinologiche	Chimiche e palinologiche	Radiochimiche e palinologiche
<b>Altri strumenti</b>	Mappe colturali	Mappe colturali	Mappe colturali

### Monitoraggio dei pesticidi

Come detto precedentemente, le api sono estremamente sensibili agli antiparassitari. Il numero di api morte davanti l'alveare è quindi la variabile più importante da considerare per questi agenti inquinanti (Celli *et al.*, 1996) e varia secondo un certo numero di fattori: la tossicità (per le api) del principio attivo usato ( $LD_{50}$ ) (Atkins *et al.*, 1981), la presenza e l'estensione delle fioriture delle piante coltivate o spontanee, la presenza delle api 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, morirà 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 pericolosi, l'insetto funge da indicatore indiretto, cioè non sensibile ma esposto e ci fornirà le informazioni sotto forma di residui. Con questa strategia è possibile ottenere parecchi dati: il livello di mortalità settimanale, i principi attivi responsabili dell'apicidio, 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 (Porrini, 1999). Alcune classi di agrofarmaci, di recente immissione sul mercato, non inducono mortalità osservabili ma possono ugualmente essere causa di spopolamenti e danni all'alveare. Questi principi attivi sono inoltre difficili da rilevare con l'analisi chimica e quindi tramite il controllo della mortalità e dei residui non sempre è possibile rivelarli. In un prossimo futuro, rispetto a questi nuovi fenomeni, sarà necessario introdurre nuove strategie di controllo.

In Italia i risultati ottenuti utilizzando l'ape come bioindicatore dei pesticidi nell'agroecosistema sono numerosi. Dal 1980 ad oggi questo tipo di indagine è stata applicata in circa 40 province, o comprensori

comunali o intercomunali, in gran parte nel Nord Italia. 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 nel Nord Italia. Negli anni successivi al 1986 sono state condotte ricerche più mirate e più circostanziate in diversi comprensori, come la provincia di Forlì, la provincia di Ferrara, il territorio della Comunità Montana dell'Alto Tevere Umbro, la provincia di Pesaro, il Comune di Venezia, il territorio di competenza dell'USL di Salò (corrispondente alla sponda bresciana del Lago di Garda), i comuni di Medole (MN), Correggio (RE), S. Martino in Rio (RE), Guastalla (RE), Castenaso (BO) e la Costa Emiliano-Romagnola. In particolare dalle ricerche condotte nella 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, a conferma dell'efficacia dell'ape come bioindicatore dei pesticidi. Nella provincia di Forlì, area intensamente coltivata a frutteto, l'indagine si è protratta ininterrottamente dal 1982 al 1993, grazie all'interessamento dell'Amministrazione Provinciale, e ha permesso di mettere in evidenza una tendenza nettamente positiva per quanto riguarda la contaminazione dei pesticidi nell'agroecosistema forlivese. Ciò testimonia una nuova presa di coscienza, da parte degli agricoltori, sul corretto impiego sulla scelta oculata dei presidi sanitari, al fine di preservare l'ambiente e, più in particolare, di risparmiare l'entomofauna utile.

### **Monitoraggio dei metalli pesanti**

Una delle caratteristiche fondamentali che differenziano i metalli pesanti da altri contaminanti come i pesticidi, è il tipo di immissione nel territorio e il loro destino ambientale. I fitofarmaci 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 come il miele, in tal senso sono parecchie, come ad esempio gli eventi meteorologici (la pioggia e il vento sono in grado di ripulire l'atmosfera o di trasferire i metalli pesanti in altri comparti ambientali), la stagionalità (il flusso nettario, di solito maggiore in primavera che in estate-autunno, potrebbe, a parità di emissione, diluire o meno il contaminante) e l'origine botanica del miele (la melata degli afidi, come il nettare dei fiori a morfologia aperta, è molto più esposta ai contaminanti rispetto al nettare dei fiori a morfologia chiusa).

In una nostra ricerca sono stati presi in considerazione 178 campioni di api bottinatrici provenienti da una zona urbana, una industrializzata e la terza naturale. Le api sono state prima "lavate" e poi "disgregate" al fine di capire come i vari contaminanti vengono captati. Il piombo risulta presente in quantità più elevate nel "disgregato" rispetto al "lavato" nelle prime due aree mentre in quella naturale il rapporto si inverte. In quest'ultima zona anche il nichel e il cromo sono maggiormente presenti nel "lavato". Si può intuire che la maggior contaminazione dell'area urbana e di quella industriale favorisca l'ingestione degli inquinanti (almeno per il piombo) nel corpo delle api rispetto all'area naturale. Si è anche verificato che il miele è più affidabile delle api in quanto i dati risultano più ripetibili (Porrini *et al.*, 2000).

Le sperimentazioni riguardanti il monitoraggio dei metalli pesanti sono state condotte in molteplici località italiane (Firenze, Arezzo, Pisa, Modena, Reggio Emilia, Bologna, Appennino bolognese, Conca ternana, territorio dell'USSL di Salò - BS, Forlì, Costiera emiliano-romagnola, Ravenna, Rimini, Gravellona Toce e Cesena).

### **Monitoraggio dei radionuclidi**

Il controllo della contaminazione radioattiva, effettuata in collaborazione con le associazioni degli apicoltori, 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 campioni di miele, cera, larve, favo e api prelevati non hanno mai registrato alcuna attività. 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. Numerosissime sono state, e continuano ad essere, le sperimentazioni condotte da molti autori con le api dopo Chernobyl, sia per quanto riguarda la valutazione degli elementi radioattivi contenuti nei prodotti dell'alveare e la loro dinamica di trasferimento, sia per l'impiego della colonia di api come indicatore biologico. In una ricerca svolta dal nostro gruppo, sempre nell'ambito di Chernobyl, si è potuto mettere in evidenza, analizzando numerosi campioni di miele, api, cera e polline, come quest'ultima matrice risulti la migliore per indicare la contaminazione atmosferica da radionuclidi in quanto riflette fedelmente quella dell'aria (Tonelli *et al.*, 1990). Anche le api possono essere impiegate proficuamente a questo scopo, mentre per il miele ci sono molte perplessità. Nel maggio 1998, ad esempio, nei campioni di api prelevati dalle stazioni di monitoraggio ambientale dislocate nella provincia di Bologna (Comuni di

Castenaso, Granarolo e Ozzano) abbiamo rilevato la presenza anomala di Cesio 137. Questo radionuclide artificiale usato per applicazioni cliniche, industriali e di ricerca, 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 vengono prodotti durante la fissione. Il fatto è stato invece messo in relazione con l'incidente accaduto, verso la fine di aprile 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 trascurabili, di molte volte inferiori a qualsiasi soglia minima di attenzione, ma la matrice api ha prontamente evidenziato la presenza seppure minima di Cs-137 nell'ambiente, con una efficienza superiore alle tradizionali tecniche di monitoraggio.

### **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 il pero, melo e ornamentali. Nella regione Emilia-Romagna, EA è stata segnalata per la prima volta nel 1994. E' risaputo che l'ape è un potenziale vettore di EA e gli spostamenti degli alveari, per la produzione di miele e il servizio di impollinazione, sono stati conseguentemente limitati dalla legge. Tuttavia è stato recentemente dimostrato che le api possono essere utilizzate per il monitoraggio 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 che veniva successivamente esaminato per determinare la presenza del batterio e, tramite le analisi palinologiche, per identificare le specie botaniche visitate dalle api. Per l'individuazione di EA nelle matrici apistiche è stata sviluppata una nuova tecnica molecolare basata sulla determinazione immunoenzimatica-chemiluminescente 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 (Ghini *et al.*, 2002 ; Sabatini *et al.*, 2002).

### **Bibliografia**

- ATKINS E.L., KELLUM D. and ATKINS K.W. (1981) Reducing pesticide hazards to honey bees: Mortality prediction techniques and integrated management strategies, Univ. Calif., Div. Agric. Sci. Leaf. 2883, 1-23
- CELLI G. (1994) L'ape come indicatore biologico dei pesticidi in: Atti del convegno: "L'ape come insetto test dell'inquinamento agricolo" P.F "Lotta biologica e integrata per la difesa delle colture agrarie e delle piante forestali" March 28, 1992, Florence, Italy. (D'Ambrosio, M.T. and Accorti, M., Eds.) Ministero Agricoltura e Foreste, Rome, Italy, pp. 15-20
- CELLI G., PORRINI C., RADEGHIERI P., SABATINI A.G., MARCAZZAN G.L., COLOMBO R., BARBATTINI R., GREATTI M. and D'AGARO M. (1996) Honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators for the presence of pesticide in the agroecosystem. Field test, *Ins. Soc. Life* 1, 207 – 212
- GHINI S., GIROTTI S., CALZOLARI A., SABATINI A. G., ALESSANDRINI A., ZERI L., PORRINI C., 2002 - Use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as indicators of the presence of the phytopathogenic bacteria *Erwinia amylovora*. Atti Convegno AISASP, Parma Giugno 2001. *Ins. Soc. Life* 4: 69-77
- PORRINI C. (1999) Metodologia impiegata nei programmi di monitoraggio dei pesticidi con api in: Proceedings of the Workshop "Biomonitoraggio della qualità dell'aria sul territorio nazionale", November 26-27, 1998, Rome, Italy (Piccini, C. and Salvati, S., Eds.), ANPA, Rome, Italy, Series 2/1999, pp. 311-317
- PORRINI C., CELLI G., RADEGHIERI P., MARINI S. and MACCAGNANI B. (2000) Studies on the use of honeybees (*Apis mellifera* L.) as bioindicators of metals in the environment, *Ins. Soc. Life* 3, 153-159
- PORRINI C., GHINI S., GIROTTI S., SABATINI A.G., GATTAVECCHIA E., CELLI G. (2002) Use of honey bees as bioindicators of environmental pollution in Italy in: Honey bees: The Environmental Impact of Chemicals (Devillers J. and Pham - Delègue M.H. Eds) Taylor & Francis, London, pp. 186-247
- SABATINI A. G., PORRINI C., CARPANA E., ALEXANDROVA M., MEDRZYCKI P., MONACO L., BAZZI C., GHINI S., GIROTTI S., 2002 – Rapporti tra *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. e api (*Apis mellifera* L.). Atti del Convegno finale del P.F. AMA "Il Ruolo della Ricerca in Apicoltura", (a cura di Sabatini A.G., Bolchi Serini G., Frilli F., Porrini C.) Bologna 14-16 marzo 2002: 473-486.
- TONELLI D., GATTAVECCHIA E., GHINI S., PORRINI C., CELLI G. and MERCURI A. M. (1990) Honey bees and their products as indicators of environmental radioactive pollution, *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, Articles 141(2), 427 – 436