ATTI *Giornate Fitopatologiche*, 2006, I, 583-590

IMPIEGO DELLE API PER IL CONTROLLO DELL'USO DEGLI AGROFARMACI NELL'AGROECOSISTEMA. L'ESPERIENZA DELLA BASILICATA

C. PORRINI [(1)], F. SGOLASTRA [(1)], A.G. SABATINI [(2)], R. COLOMBO [(2)], M. CATALANO [(3)], A. CAPONERO [(3)], P. ZIENNA [(3)]
[(1)] Dip. di Scienze e Tecnologie Agroambientali, (DiSTA), Università di Bologna, Viale G. Fanin 42, 40127 Bologna cporrini@entom.agrsci.unibo.it
[(2)] Istituto Nazionale di Apicoltura, Via Di Saliceto 80, 40128 Bologna
[(3)] Agenzia Lucana di Sviluppo ed Innovazione in Agricoltura (ALSIA-Basilicata) Via Carlo Levi snc 75100 Matera

RIASSUNTO

Gli agrofarmaci riscontrati tramite il biomonitoraggio con le api, normalmente rispecchiano il tipo di gestione fitoiatrica dell'area indagata. Nell'indagine condotta nel corso del 2005 in diverse aree della regione Basilicata, si è potuto mettere in evidenza alcuni utilizzi non corretti di agrofarmaci e altri poco adeguati alle moderne tecniche di difesa fitosanitaria a ridotto impatto ambientale. Nel mese di aprile, ad esempio, nelle api morte è stata riscontrata la presenza di pyrazophos, il cui impiego è vietato dal 2001 su tutto il territorio nazionale. In diversi casi sono stati rinvenuti residui di vari prodotti fosforganici obsoleti. Queste informazioni sono molto utili ai Servizi di Sviluppo e di Assistenza in Agricoltura al fine di intraprendere azioni mirate presso gli agricoltori per migliorare l'utilizzo dei prodotti fitosanitari nel rispetto non solo delle norme ma soprattutto dell'ambiente e degli organismi utili.
Parole chiave: *Apis mellifera*, biomonitoraggio, mortalità, pesticidi, pyrazophos

SUMMARY

USE OF HONEY BEES FOR THE MONITORING OF AGROCHEMICALS APPLIED IN AGROECOSYSTEMS. BASILICATA REGION EXPERIENCE

The agrochemicals detected by means of bio-monitoring with bees, usually reflect the type of pest management in the surveyed area. In 2005, a monitoring study was conducted in several areas of Basilicata region. During this study an incorrect and inappropriate use of agrochemicals was evidenced. It was not sufficiently adequate to the modern techniques of environmentally low impact plant protection management. In April, for example, we found pyrazophos in the dead bees. Since 2001, the use of this active ingredient has been banned on the entire national territory. In several dead bee samples we found residuals of obsolete fosforganic agrochemicals. These information are very useful to the Development and Assistance Service for Agriculture to assist growers in improving the use of agrochemicals in observance of the law, the environment and of the beneficial organisms.
Keywords: *Apis mellifera*, biomonitoring, mortality, pesticide, pyrazophos

INTRODUZIONE

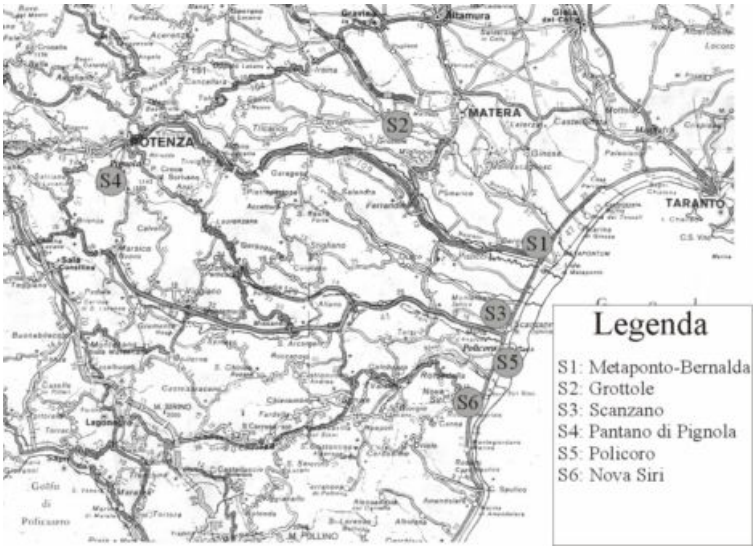
L'ape muore avvelenata dai prodotti fitosanitari quando questi vengono impiegati in maniera quantitativamente e qualitativamente errata, sbagliando cioè le dosi consigliate o senza rispettare le principali norme tecniche d'impiego, come ad esempio lo sfalcio delle eventuali fioriture di piante spontanee sottostanti e circostanti l'appezzamento da trattare oppure l'esecuzione degli interventi chimici in assenza di vento. Non sempre è però possibile per l'agricoltore rispettare le indicazioni d'uso, per cui è indispensabile utilizzare prodotti fitosanitari selettivi e rispettosi dell'ambiente (Sgolastra *et al*., 2005). In ogni caso le api

possono indicare, tramite la loro mortalità ed i residui riscontrabili nel proprio corpo, il tipo di gestione fitoiatrica condotta nell'area in studio (Porrini *et al*., 2003). Da molti anni l'ape viene impiegata come bioindicatore perché, oltre ai limitati costi di gestione, il controllo è effettuato in continuo e le informazioni conseguibili possono essere di notevole interesse: in diversi casi è possibile perfino individuare l'appezzamento dove è stato eseguito l'intervento chimico (Porrini *et al*., 2002). Nel corso degli ultimi anni questa strategia è stata applicata nell'area del Metapontino e in altre zone della regione Basilicata (Catalano, 2004)

MATERIALI E METODI

Ogni stazione era composta da due alveari omogenei fra loro, muniti di gabbie "underbasket" per la raccolta delle api morte. Il controllo sanitario e il conteggio delle api morte avveniva settimanalmente. Al superamento della soglia critica di mortalità (250 api/settimana/stazione), i campioni venivano raccolti e analizzati nei laboratori dell'Istituto Nazionale di Apicoltura per la ricerca di residui di prodotti fitosanitari e per identificare i pollini presenti sul corpo al fine di poter individuare con più precisione le aree trattate (Porrini, 1999; Porrini *et al*., 2003).

Figura 1 – Dislocazione delle stazioni di monitoraggio in Basilicata (2005)



Le stazioni sono state collocate nelle seguenti zone in provincia di Matera e Potenza: Metaponto-Bernalda, Scanzano, Poliporo, Nova Siri, Grottole e Pantano di Pignola. Le prime quattro postazioni sono situate nella zona pianeggiante e intensamente coltivata della litoranea Jonica (metapontino), Grottole si trova nella Murgia materana a circa 60 km dalla costa del mar Jonio mentre Pantano di Pignola è una Riserva naturale a 15 km a Sud-Ovest dalla città di Potenza (figura 1). In ogni area, per un raggio di 1,5 km dal punto dove erano installati gli alveari, sono stati effettuati dei rilievi vegetazionali per elaborata una mappa colturale.

Le principali colture presenti nelle diverse zone sono risultate le seguenti: Metaponto-Bernalda (S1): agrumi, ortive (rapa, fagiolino, insalata, pomodoro, fragola, melone, anguria), orzo, grano, erba medica, vite, albicocco, pesco, fragole, kiwi e olivo; Grottole (S2): grano,

foraggiere (pisello selvatico), olivo; Scanzano (S3): agrumi, albicocco, pesco, ortive, olivo, seminativo, vite e kiwi; Pantano di Pignola (S4): grano, orzo, avena, foraggere, pascolo; Policoro (S5): agrumi, ortive, albicocco e pesco; Nova Siri (S6): agrumi, fragola, vite, kiwi, albicocco, pesco, seminativo e olivo.

Le metodiche disponibili in laboratorio per la ricerca dei principi attivi erano GC-NPD; GC-MS; HPLC. L'estrazione è stata effettuata con una miscela di acetone su macinato di api. Dopo la filtrazione gli analiti venivano separati dai coestratti con una ripartizione liquido/liquido con diclorometano. L'estratto concentrato è stato analizzato, a seconda della classe di appartenenza, con rivelatori a cattura di elettroni (ECD) oppure rivelatori a fosforo-azoto (NPD). Un'eventuale positività si riconfermava con tecnica gascromatografia-spettrometria di massa munita di colonna capillare DB 35MS (Ambrus *et al*., 1981; Rossi *et al*., 2001).

Un'aliquota del campione di api morte era utilizzata per le analisi palinologiche. Per rimuovere il polline dal corpo delle api, è stato eseguito un lavaggio in provetta con acetone. Successivamente le provette si ponevano in centrifuga a 3000 giri per 15 minuti. Il sovranatante si eliminava mentre il sedimento (polline, spore ecc.) veniva prelevato per preparare un vetrino da osservare al microscopio (Louveaux *et al.*, 1978).

Con i dati ottenuti si è calcolato l'Indice di Pericolosità Ambientale (IPA), ottenuto intersecando la classe di mortalità di una stazione con l'Indice di Tossicità dei Pesticidi riscontrati nelle api morte. (Porrini *et al*., 1996; Porrini, 1999).

RISULTATI

I dati rilevati nelle varie postazioni, nel corso del 2005 possono essere commentati mensilmente.

Marzo: la situazione è risultata normale in tutte le aree di indagine. Solo a Scanzano si evidenzia una certa mortalità (figura 5) imputabile probabilmente ad un trattamento fitosanitario. Nelle api morte però non è stato rinvenuto nessun principio attivo che potrebbe però essersi velocemente degradato. I pollini riscontrati sul corpo delle api sono in prevalenza di *Cruciferae*, *Prunus*, *Rhamnaceae* e *Labiatae* (tabella 1) e indicano che la mortalità può essere attribuita ad interventi aficidi eseguiti su pesco in prefioritura (bottoni rosa). Il livello di contaminazione ambientale (IPA), in questo caso, è un po' più alto rispetto alle altre postazioni (tabella 2).

Aprile: rispetto al mese precedente, la situazione è peggiorata. A parte le stazioni di Metaponto-Bernalda, Grottole e Pantano di Pignola, in tutte le altre la mortalità media e i valori dell'IPA si sono innalzati a causa degli apicidi che si sono verificati verso la fine del mese (tabelle 1 e 2 e figure 5, 7 e 8). Dal confronto fra i pollini riscontrati sulle api morte di queste stazioni e le mappe colturali, si può evincere che le api sono state avvelenate mentre bottinavano nelle zone verso il litorale dove sono presenti molti appezzamenti di drupacee e ortive che, in questo periodo, possono essere stati trattati con chorpyrifos-methyl, per combattere *Cydia molesta*, con malathion e omethoate (o dimethoate) per la lotta ai tripidi (*Trips maior*, *T. tabaci*, *Taeniothrips meridionalis*, *Frankliniella occidentalis*) e agli afidi (*Myzus persicae*, *Aphis fabae, A. gossypii*, *A. craccivora*). L'uso dell'azinphos-methyl era, molto probabilmente, indirizzato nei piccoli campi di melo presenti nell'area, mentre l'antioidico sistemico pyrazophos, può essere stato impiegato negli appezzamenti di vite o di pesco che si trovano sparsi nelle aree di Scanzano e Nova Siri dove è stato rinvenuto. Il coumaphos, riscontrato nel campione di api morte di Nova Siri, è un prodotto impiegato negli alveari per la lotta al parassita delle api *Varroa destructor*.

Maggio: i livelli dell'IPA, rispetto ad aprile, sono rimasti invariati per quattro delle sei stazioni, mentre a Scanzano si è innalzato, a Policoro si è abbassato (tabella 2). Nonostante che nelle tre stazioni più esposte (Scanzano, Policoro e Nova Siri) la media di mortalità mensile sia diminuita, all'inizio del mese si sono verificati tre apicidi.

Le analisi palinologiche (tabella 1) indicano una possibile contaminazione nei pressi degli appezzamenti di ortive e di drupacee, presenti in vaste porzioni nelle tre aree, che sono stati irrorati con i principi attivi rinvenuti nei campioni di api morte del 4 maggio (tabella 1) e impiegati per combattere afidi e tripidi, *C. molesta* e *Anarsia lineatella*.

Figura 3 – Andamento settimanale del numero di api morte nella stazione S1 di Bernalda (MT)

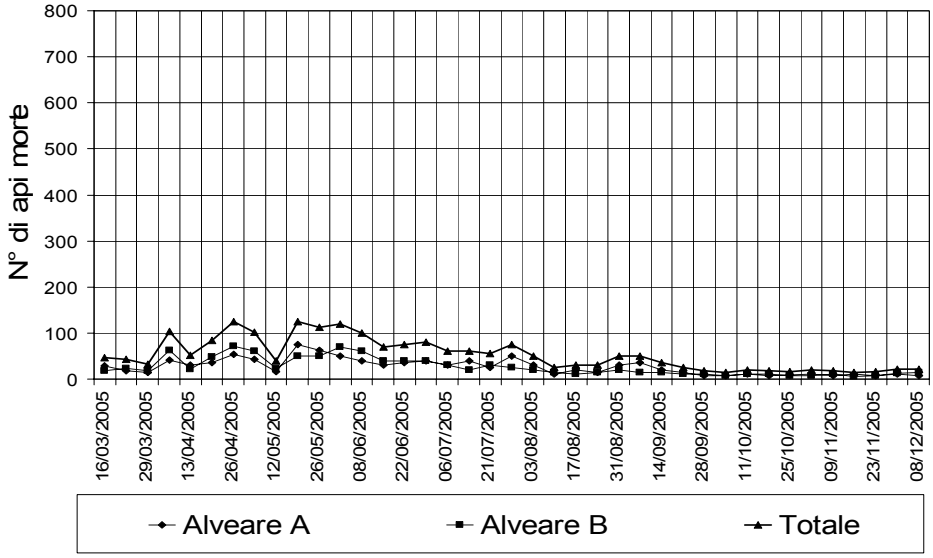


Figura 4 – Andamento settimanale del numero di api morte nella stazione S2 di Grottole (MT)

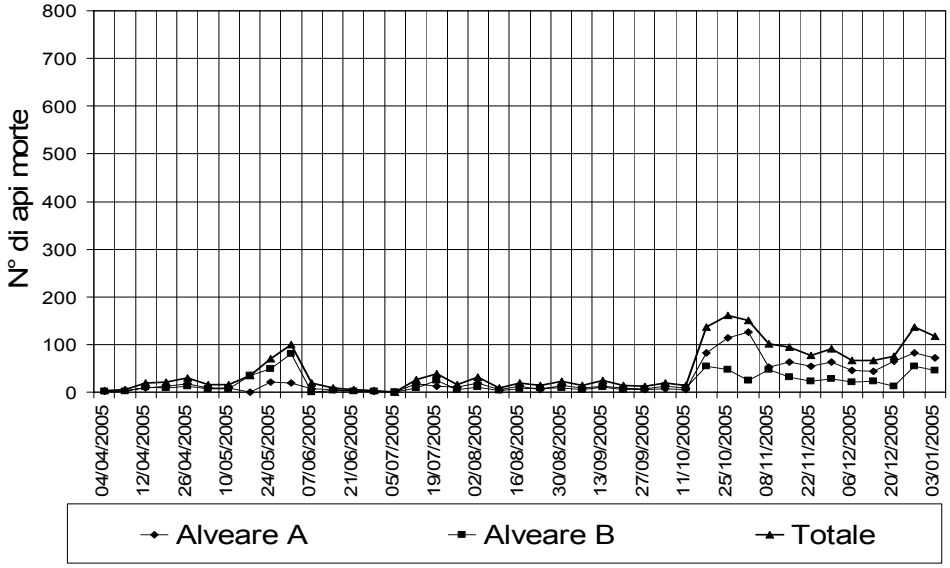


Figura 5 – Andamento settimanale del numero di api morte e residui di agrofarmaci nella stazione S3 di Scanzano (MT)

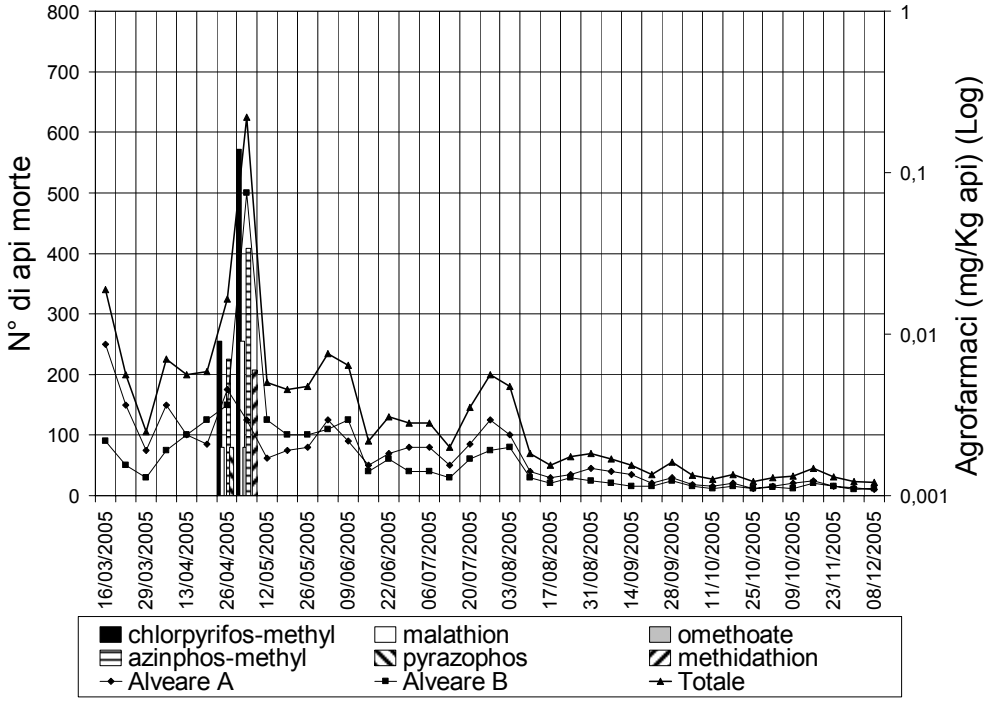


Figura 6 –Andamento settimanale del numero di api morte nella stazione S4 di Pantano di Pignola (PZ)

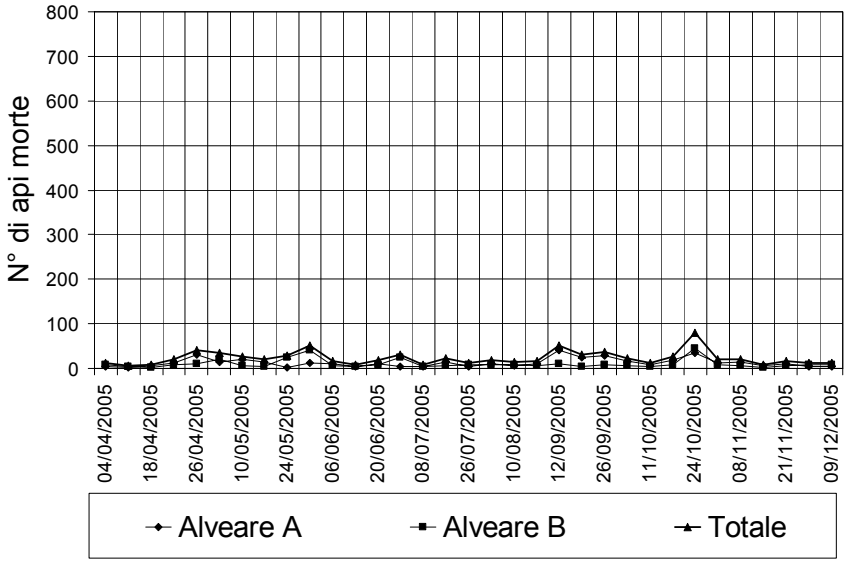


Figura 7 – Andamento settimanale del numero di api morte e residui di agrofarmaci nella stazione S5 di Policoro (MT)

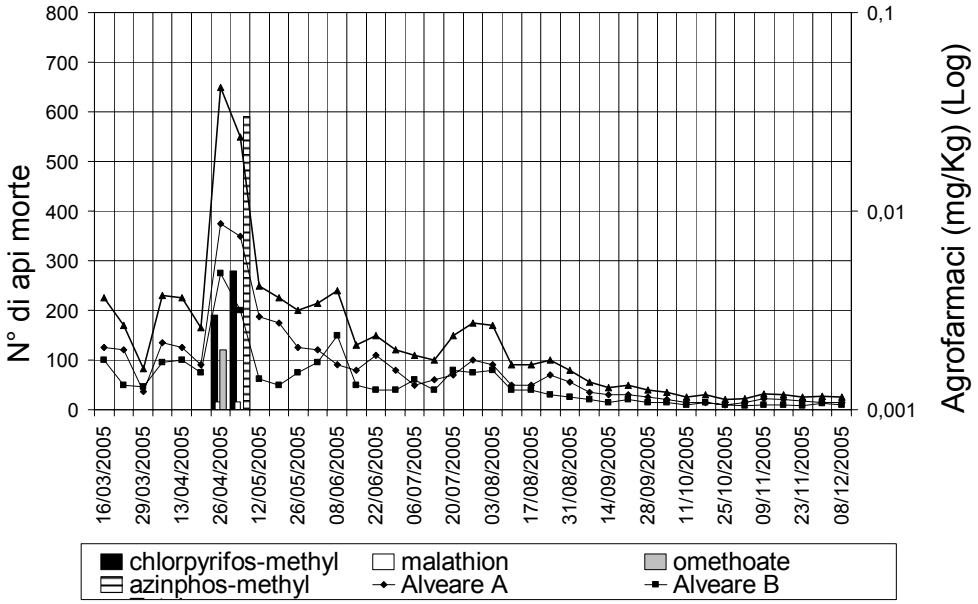


Figura 8 – Andamento settimanale del numero di api morte e residui di agrofarmaci nella stazione S6 di Nova Siri (MT)

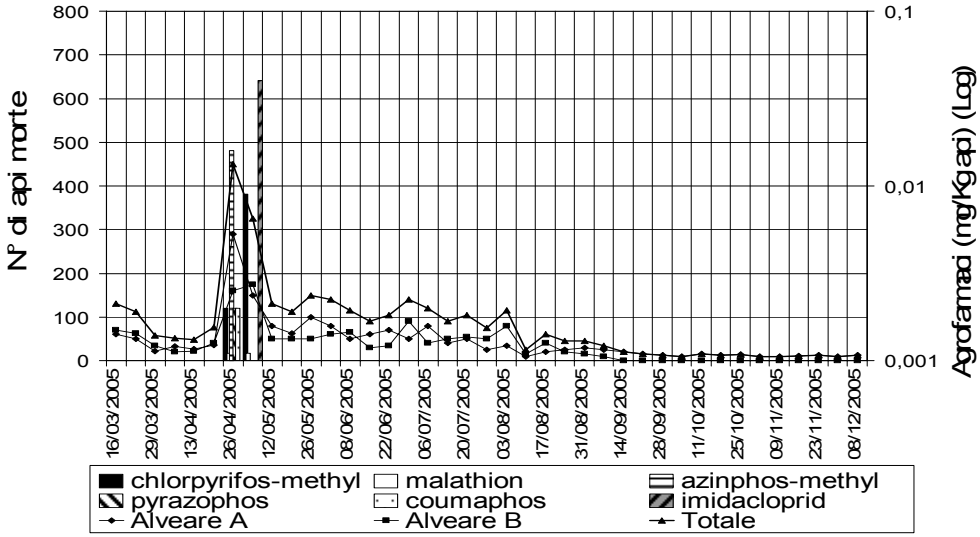


Tabella 1 – Residui di prodotti fitosanitari e principali pollini riscontrati nei campioni di api morte

Stazioni	Data apicidio	Analisi chimica	Analisi palinologica
Scanzano (S3)	16 marzo 2005	-	Cruciferae, *Prunus*, Rhamnaceae, Labiatae
Scanzano (S3)	26 aprile 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, azinphos-methyl, pyrazophos	*Salix*, Cruciferae, *Pistacia*, *Hedysarum*, *Quercus robur, Prunus, Fragaria*
Scanzano (S3)	4 maggio 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, azinphos-methyl, omethoate, methidathion	Cruciferae, *Papaver*, Labiatae, *Tamarix, Prunus, Pistacia*
Policoro (S5)	26 aprile 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, omethoate	Moraceae/Urticaceae, Cruciferae, Pinaceae, *Fragaria, Pyrus*
Policoro (S5)	4 maggio 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, azinphos-methyl	*Hedysarum*, *Echium*, Labiatae, Moraceae/Urticaceae, Cruciferae
Nova Siri (S6)	26 aprile 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, azinphos-methyl, pyrazophos, coumaphos	Pinaceae, Cruciferae, *Pistacia*, *Salix*, *Prunus*
Nova Siri (S6)	4 maggio 2005	chlorpyrifos-methyl, malathion, imidacloprid	*Prunus*, Labiatae, Cruciferae, *Hedysarum*, Rhamnaceae

Per l'imidacloprid un'altra modalità d'impiego plausibile, ma più improbabile, è quello dell'uso in miscela con l'acido giberellico sulle clementine per scongiurare un attacco di afidi.

Giugno: i trattamenti fitosanitari eseguiti in questo periodo non hanno provocato il superamento della soglia critica di mortalità. L'IPA è risultato al livello minimo in tutte le stazioni (tabella 2).

Tabella 2 – Valore dell'Indice di Pericolosità Ambientale (IPA) calcolato per l'anno 2005. (A_1=persistente, A_2=preoccupante, A_3=consistente, A_4=notevole, B_1=elevato, B_2=importante, B_3=diffuso, C_1=medio, C_2=medio-basso, C_3=moderato, D_1=basso, D_2=limitato, D_3=minimo, D_4=assente; n.p.=non pervenuto)

Stazioni	Mar	Apr	Mag	Giu	Lug	Ago	Set	Ott	Nov	Dic
Metaponto-Bernalda (S1)	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4
Grottole (S2)	n.p.	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4
Scanzano (S3)	D_2	C_2	C_1	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4
Pantano di Pignola (S4)	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4
Policoro (S5)	D_4	C_2	C_3	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4
Nova Siri (S6)	D_4	D_2	D_2	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4	D_4

Luglio - Settembre: in questo periodo la mortalità è ulteriormente diminuita (a parte Scanzano) rispetto al mese precedente. Ciò è da mettere in relazione alla diminuzione degli interventi fitosanitari in seguito alla riduzione degli attacchi parassitari. Vi è anche da considerare che nel periodo estivo aumenta la presenza di formiche, vespe e lucertole che si cibano delle api morte nelle underbasket. Il conteggio settimanale risulta così in difetto anche se, da stime eseguite, il fenomeno non dovrebbe creare grosse difficoltà. Inoltre nel periodo estivo vi è una notevole diminuzione della presenza di flora spontanea che influisce positivamente sul livello di mortalità.

Ottobre - Dicembre: il livello di mortalità delle api è rimasto nella norma in tutte le postazioni.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il dato più eclatante riscontrato in questa indagine è l'impiego del pyrazophos nelle zone di Scanzano e Nova Siri in aprile. Questo principio attivo infatti è vietato su tutto il territorio nazionale dal 31 marzo 2001 (D.M. del 13 giugno 2000 pubblicato sulla G. U. n. 218 del 18 settembre 2000). In tutti gli altri campioni di api morte, inoltre, sono stati rinvenuti residui di sostanze attive appartenenti alla classe degli esteri fosforici, ancora largamente usati nella zona nonostante la loro azione negativa sull'entomofauna utile e sull'ambiente in generale, come l'omethoate e il methidathion (Policoro in aprile e Scanzano in maggio). In un solo caso (Nova Siri in maggio), oltre a residui di esteri fosforici, è stata rilevata la presenza di un neonicotinoide (imidacloprid) che nel Metapontino trova largo impiego nei trattamenti preventivi contro gli afidi su drupacee e, in misura minore, su agrumi. Il ritrovamento dell'omethoate, il cui uso è stato revocato (D.M. del 17 gennaio 2003 pubblicato sulla G. U. n. 78 del 3 aprile 2003), con ogni probabilità, è imputabile all'uso di prodotti a base di dimethoate che *in planta* si converte in omethoate.

Nonostante il monitoraggio con api abbia evidenziato casi di uso non consentito o irrazionale di alcune sostanze attive, i contesti di contaminazione ambientale preoccupanti, riscontrabili in altre Regioni, sono ben lontani (Porrini *et al*, 2002). Infatti il livello massimo dell'IPA è stato C_1, inquinamento medio, raggiunto una sola volta a Scanzano in maggio (Tab. 2). Il dato appare confortante se si considera che l'area del Metapontino è quella più intensamente coltivata della regione Basilicata. La metodologia utilizzata è risultata molto utile perché, non solo ha permesso di mettere in luce aspetti non facilmente rilevabili con metodologie di controllo classiche (come ad esempio le analisi per la ricerca dei residui sul prodotto finale), ma anche perché le informazioni ottenute consentono ai Servizi di sviluppo ed assistenza tecnica dell'ALSIA di mettere in atto iniziative mirate sul territorio. La continuazione dell'esperienza nei prossimi anni potrà indicare se le azioni di verifica, controllo e assistenza verso le aziende agricole, che l'ALSIA ha intrapreso per ovviare ai problemi messi in luce, potranno essere efficaci.

LAVORI CITATI

Ambrus A., Lantos J., Visi E., Csatlos I., Sarvari L., 1981. General method for determination of pesticide residues in samples of plant origin, soil and water. I. Extraction and cleanup. *Journal Association of Official Analytical Chemists*, 64 (3), 733-769.

Catalano M., 2004. Le api per controllare l'uso dei pesticidi. *Agrifoglio*, 3, 19.

Louveaux J., Maurizio A., Vorwhol G., 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59 (4), 139-157.

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

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. *Atti del XX International Congress of Entomology*, Firenze, 25 - 31 agosto, 1996, 444.

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: Estimating the Environmental Impact of Chemicals (Devillers J., Pham – Delègue M.H. coord.). Taylor & Francis, London, 186-247.

Porrini C., Sabatini A. G., Girotti S., Fini F., Monaco L., Celli G., Bortolotti L., Ghini S., 2003. The death of honey bees and environmental pollution by pesticides: the honey bees as biological indicators. *Bulletin of Insectology*, 56 (1), 147-152

Rossi S., Dalpero A.P., Ghini S., Colombo R., Sabatini A.G., Girotti S., 2000. Multi residual method for Gas Chromathography analysis of pesticides in honeybees cleaned by gel permeation chromatography. *Journal of Chromatography A* 905 (1-2), 223-232.

Sgolastra F., Medrzycki P., Tesoriero D., Sabatini A.G., Porrini C., 2005. Relazione fra mortalità delle api e trattamenti fitosanitari in aree viticole dell'Emilia-Romagna. *Apoidea*, Vol. 2, 1, 31 - 38.