



# XXXII CONGRESSO NAZIONALE SICOB

► **Api e Colony Collapse Disorder :  
Implementazione di un sistema di  
monitoraggio per i casi di moria di api  
causati dalla presenza di pesticidi nel  
territorio siciliano**

RISULTATI DELLA RICERCA

**GIARDINI NAXOS 24 MAGGIO 2024**

## EFSA- Autorità europea per la sicurezza alimentare ( 2012 )

- Moria di api →→ "disturbo da collasso della colonia" o CCD (Colony Collapse Disorder)
- CCD : rapida perdita della popolazione di api operaie adulte provenienti da una colonia.
- Nel giugno 2012, l'unità Pesticidi dell'EFSA ha redatto una dichiarazione sulla base di riscontri scientifici che suggerivano un legame tra i neonicotinoidi e la sopravvivenza delle colonie di api.
- Dal 1950 riduzione del 50% del numero di api e della vita media ( contaminazione ambientale, cambiamenti climatici, maggiore circolazione di soggetti )





## Disposizioni EFSA

Mesi con maggior numero di casi di morte aprile, maggio e giugno ( fioriture primaverili ).

**In tali periodi è vietato effettuare trattamenti fitosanitari poiché le api svolgono un'intensa attività di bottinamento che le rende maggiormente vulnerabili alla presenza di inquinanti diffusi presenti nell'ambiente, in particolare i fitosanitari utilizzati nelle aree agricole.**

**Rispetto delle norme e raccomandazioni di uso riportate sui prodotti fitosanitari, seguire gli usi e la conoscenza locale .**

**Promozione di un'agricoltura sostenibile, che aiuta a diversificare il paesaggio agricolo e adotta processi ecologici come parte della produzione alimentare.**



ONU- Assemblea generale delle Nazioni Unite ( 2017 ) , ha istituito la Giornata mondiale delle api.

### Scopo della risoluzione

Riportare all'attenzione dei cittadini, dei media e dei decisori politici l'importanza delle api e in generale di tutti gli impollinatori (api, vespe, farfalle, coccinelle, ragni ):

- a. Circa il 70% delle 115 principali colture agrarie mondiali beneficia dell'impollinazione animale
- b. In Europa la produzione di circa l'80% delle 264 specie coltivate dipende dall'attività degli insetti impollinatori.
- c. La produzione agricola mondiale direttamente associata all'impollinazione animale rappresenta un valore economico stimato tra 235 e 577 miliardi di dollari
- d. La riproduzione dell'88% delle piante selvatiche da fiore del mondo (circa 308.000 specie) dipende, almeno in parte, dall'impollinazione animale per la riproduzione

**Ruolo degli insetti riguardo la sussistenza di centinaia di milioni di persone e per il funzionamento degli ecosistemi e la conservazione degli habitat.**

Impollinatori : specie del genere Apis ( oltre 20.000 in tutto il mondo ). La più popolare è l'ape domestica, ( Apis mellifera ), conosciuta nel mondo come ape italiana.

Tipo prodotto	Molecola rilevata	Tenore rilevato ( mg/kg )	LMR
<b>Melanzana</b>	Acetamiprid	0,024 ± 0,012	0,2
	Boscalid	0,006 ± 0,003	3
	Ciprodinil	0,009 ± 0,004	1,5
	Etoxazole	0,012 ± 0,006	0,07
	Hexithiazox	0,05 ± 0,025	0,5
	Piriproxifen	0,369 ± 0,184	1
	Piridaben	0,072 ± 0,036	0,2
<b>Kiwi</b>	<b>Fludioxonil</b>	<b>8,061 ± 4,030</b>	<b>15</b>
	2- Fenilfenolo	0,010 ± 0,005	118
<b>Albicocca</b>	Ciprodinil	0,005 ± 0,002	2
	Tebuconazolo	0,062 ± 0,031	0,6
	Lambda cialotrin	0,019 ± 0,008	0,2
	Etofenprox	0,781 ± 0,390	1
<b>Nespola</b>	Ometoato/dimetoato	0,185/0,389 ± 0,92/0,194	0,02
	Carbedazim	0,165 ± 0,082	0,2

Tipo prodotto	Molecola rilevata	Tenore rilevato ( mg/kg )	LMR
<b>Prezzemolo</b>	Azossistrobina	0,04 ± 0,020	70
	Difenoconazolo	0,028 ± 0,014	10
	Linuron	0,009 ± 0,004	1
	Clorpirifos	0,100 ± 0,050	0,05
	Clorprofam	0,008 ± 0,004	0,02
	3,4 clordanilina	0,006 ± 0,003	20
<b>Sedano</b>	Boscalid	0,012 ± 0,006	9
	Difenoconazolo	0,536 ± 0,268	5
	Metalaxil	0,107 ± 0,053	0,05
	Toclofos	0,019 ± 0,009	0,02
	3,4 dicloroallilina	0,009 ± 0,005	0,1
	DDE	0,008 ± 0,004	0,5
<b>Albicocca</b>	Fenbuconazolo	0,018 ± 0,009	1
	Etofenprox	0,646 ± 0,323	1
	Lambda cialotrin	0,041 ± 0,020	0,2
	Piperonil Butossido	0,033 ± 0,016	0,5
	Trans permetrin/cis permetrin	0,029 ± 0,014	0,05

Tipo prodotto	Molecola rilevata	Tenore rilevato ( mg/kg )	LMR
<b>Kiwi</b>	Fludioxonil	53,59 ± 28,094	15
<b>Limoni</b>	Fenexamide	0,006 ± 0,003	0,010
	Clorpirifos metile	0,005 ± 0,0025	0,3
<b>Pesca</b>	Ciprodinil	0,063 ± 0,031	2
	<b>Clorpirifos metile</b>	<b>0,181 ± 0,090</b>	<b>0,01</b>
	Deltametrina	0,021 ± 0,010	0,150
<b>Albicocca</b>	Acetamiprid	0,007 ± 0,0035	0,8
	Carbendazim	0,038 ± 0,019	0,2
	Imidacloprid	0,034 ± 0,017	0,5
	Tebuconazolo	0,007 ± 0,003	0,6
	Thiacloprid	0,049 ± 0,025	0,5
<b>Pomodoro</b>	Clorantraniprod	0,163 ± 0,081	0,6
	Lufenuron	0,246 ± 0,123	0,5
	Metossifenozone	0,508 ± 0,254	2
	Tetraconazolo	0,020 ± 0,010	0,1
	Piridaben	0,008 ± 0,004	0,3

Tipo prodotto	Molecola rilevata	Tenore rilevato ( mg/kg )	LMR
Pesca	Difeconazolo	0,026 ± 0,013	0,5
	Tebuconazolo	0,037 ± 0,019	0,6
	Imidacloprid	0,006 ± 0,003	0,5
	Cipermetrina	0,069 ± 0,034	2
	clorpirifos	0,010 ± 0,005	0,01
Pere	Tetraidroftalimide	0,576 ± 0,288	10
	Fosmet	0,030 ± 0,015	0,5
	Clorpirifos-metile	0,029 ± 0,015	0,5
	Difenilamina	0,015 ± 0,007	0,1
Pomodoro	Clorpirifos	0,018 ± 0,009	0,01
	Fenexamide	0,032 ± 0,016	2
	Lambda Cialotrin	0,082 ± 0,041	0,4
Pesca	Clorpirifos	0,019 ± 0,009	0,5
	<b>Clorpirifos</b>	<b>2,3 ± 1,2</b>	<b>0,02</b>
	Cipermetrina	0,285 ± 0,142	0,02
	Deltametrina	0,1766 ± 0,088	0,1
	Boscalid	1,01 ± ,0500	5
	<b>Dimetoato</b>	<b>0,114 ± 0,057</b>	<b>0,020</b>
	Tetraconazolo	0,026 ± 0,013	0,100
	Piraclostrobina	0,406 ± 0,203	0,3



## Obiettivi del progetto

- Validazione di metodi di chimica analitica robusti e riproducibili basati sull'utilizzo di strumentazioni d'avanguardia;
- Implementazione del sistema di sorveglianza
- Contribuire al miglioramento della gestione del rischio della CCD
- Ottenere dati significativi sull'inquinamento ambientale e possibili risvolti sulla salute



**Responsabile Scientifico dell'Unità operativa coordinatrice : Dr. Antonio Vella**

Periodo della ricerca : 2022-2024

### **Unità operativa 1 IMS Responsabile U.O.: Licia Pantano**

Collaborare con il Responsabile Scientifico per l'organizzazione e la gestione di tutte le UU.OO. Supervisione di tutte le attività che si svolgeranno nell'ambito del progetto di ricerca; Selezione dei siti di prelievo campioni; Accettazione, assegnazione e distribuzione dei campioni; Implementazione e validazione della metodica in LC-MS/MS per la ricerca di pesticidi nelle matrici oggetto di studio; Verifica e validazione dei dati ottenuti dalle analisi di laboratorio; Aggregazione dei dati per la successiva elaborazione dei risultati; Elaborazione Procedura Operativa Standard (POS); Collaborazione con le altre UU.OO. nell'organizzazione di eventi formativi e pubblicazione dei risultati ottenuti su riviste scientifiche.

### **Unità operativa 2 IMS Responsabile U.O.: Francesco La Russa**

Coordinare le attività di campionamento presso le produzioni oggetto di ricerca. Georeferenziazione e verifica delle coltivazioni presenti nei paraggi delle apicolture prese in considerazione al fine di individuare una possibile correlazione con la presenza di pesticidi e verifica di eventuali cause di mortalità differenti dalla intossicazione da pesticidi .

### **Unità operativa 3 Responsabile U.O.: Andrea Pulvirenti**

Supporto nella validazione della metodica LC-MS/MS attraverso studi sulla riproducibilità della metodica; Elaborazione statistica dei risultati ottenuti attraverso metodi analitici parametrici e non parametrici per evidenziare differenze significative tra i diversi periodi di campionamento ed i siti di prelievo.

### **Unità operativa 4 Responsabile U.O.: Nicola Cicero**

Supporto ed implementazione delle metodiche analitiche in LC-MS/MS nello studio di ripetibilità intra-laboratorio; Supporto nella validazione della metodica LC-MS/MS attraverso studi sul recupero ed ottimizzazione dell'estrazione tramite metodo QuEChERS;

Attività in mesi	1-6	6-20	20-24
<b>Fase I (Preparazione del sistema di monitoraggio)</b>			
1.1 Rassegna della letteratura scientifica e sviluppo del modello operativo			
1.2 Valutazione preliminare delle produzioni			
1.31 Messa a punto del piano di campionamento			
1.4 Formazione del personale			
<b>Fase II (Campionamento ed esecuzione prove di laboratorio)</b>			
2.1 Sopralluoghi e georeferenziazione delle aree da monitorare			
2.2 Registrazione schede di rilevamento			
2.3 Prelievo campioni			
2.4 Sviluppo metodiche di laboratorio per la ricerca			
2.5 Esecuzione prove di laboratorio			
<b>Terza fase (Elaborazione dati e conclusione del progetto)</b>			
3.1 Elaborazione, verifica e raccolta dei dati			
3.2 Elaborazione statistica dei dati			
3.3 Elaborazione della relazione conclusiva e divulgazione dei risultati			



# Fasi del progetto

- **Ricerca bibliografica sulle tematiche oggetto di studio**
- **Piano di campionamento**
- **Messa a punto di una metodica LC-MS/MS per la determinazione di pesticidi neonicotinoidi e altri pesticidi nelle api**
- **Esecuzione analisi**
- **Valutazione dei risultati**
- **Pubblicazione dei risultati**



# Ricerca bibliografica sulle tematiche oggetto di studio

- Cause di Colony Collapse Disorder
- Effetti dell'esposizione di organismi a contaminanti ambientali
- Metodiche in LC-MS/MS per la rilevazione di pesticidi e neonicotinoidi nelle api e nei prodotti dell'apicoltura.

- 
- Cause di Colony Collapse Disorder



# Piano di campionamento

- Messa a punto di un piano di campionamento per il prelievo di campioni di api da realtà produttive censite nel territorio regionale.
- Istituzione centraline soggette a campionamento
- Studio delle caratteristiche delle zone soggette ad indagine :
  - a. uso reale del territorio, dell'orografia, della composizione vegetale della presenza o meno di aree naturali, dell'impatto antropico, etc.
  - b. Studio delle mappe colturali ( dislocazione delle coltivazioni, tipologia delle essenze vegetali mellifere e studio del grado di attrattività specie botaniche presenti esercitano verso le api )
  - c. Stazione di monitoraggio, formata da due arnie munite di gabbia di raccolta delle api morte ( underbasket ), sotto il predellino di volo ( entrata delle api all'arnia )

**Campionamento effettuato ogni quindici giorni, controllo dello stato generale di salute dell'alveare, accertato e registrato su apposite schede, numero delle api morte nelle gabbie.**

**Prelievo effettuato attraverso materiale sterile, campioni prelevati stoccati e trasportati a +4°C e successivamente testati per la presenza di residui chimici**

ASP	Località (1)	n. Campionamenti per anno (2)
ASP CL	Gela	10
ASP CL	Butera	10
ASP CL	Niscemi	10
ASP SR	Priolo Gargallo	10
ASP CT	Biancavilla	10
ASP ME	Milazzo	10
ASP ME	Monforte S. Giorgio	10
ASP ME	Pace del Mela	5
ASP ME	San Pier Niceto	5
ASP ME	San Filippo del Mela	5
ASP RG	Modica	5
ASP RG	Ragusa	10
ASP PA	Partinico	5
ASP AG	Realmonte	5
ASP AG	Porto Empedocle	10
ASP CT	Catania	10
ASP ME	Messina	5
ASP PA	Palermo	10
ASP TP	Pantelleria	3
ASP TP	Favignana	3
ASP CT	Parco dell'Etna	4

## Piano di campionamento

Le aree di prelievo sono da intendersi entro il raggio di 30 Km dalle località indicate.

In giallo si riportano i SIN, in verde gli altri agglomerati industriali della Regione Siciliana, in blu i grandi centri urbani, in rosa le isole minori, in arancio i parchi naturali.

I campioni devono essere formati da 250 ml di miele, di circa 70 g di favo e qualora fossero presenti, di api morte.



**Modello di accompagnamento campioni Piano Monitoraggio Api - Anno \_\_\_\_\_**

Campione n°.....

Data prelievo.....

Prelevatori.....

Campione di.....

Miele quantità (ml)<sup>1</sup>       Favo quantità (g)<sup>2</sup>       Api morte quantità (g)

Prelevato presso:  apicoltura     alveare selvatico

Altro.....

Comune.....Coordinate .....

Note.....

**NB: Specificare se durante il campionamento sono state riscontrate api morte in prossimità dell'alveare e nel suo interno.**

Firma del Detentore

Firma del Campionatore

<sup>1</sup>QUANTITÀ MINIMA 250ml

<sup>2</sup> QUANTITÀ MINIMA 50g

# Messa a punto di una metodica LC-MS/MS per la determinazione di pesticidi neonicotinoidi e altri pesticidi nelle api

N° 35 campioni di api per la messa a punto e validazione di una metodica di cromatografia liquida ad alte prestazioni, rivelatore a spettrometria di massa a triplo quadrupolo (LC-MS/MS) con sorgente ESI in modalità positiva, per la determinazione qualitativa e quantitativa dei pesticidi

Valutazione e confronto due diverse procedure di preparazione del campione: liquido-liquido dispersivo microestrazione (DLLME) e tecnica QuEChERS (veloce, facile, economico, efficace, robusto e sicuro).

## Fasi della metodica

Estrazione dalla matrice nelle api

Purificazione dell'estratto mediante SPE dispersive.

Lettura dei risultati





## Esecuzione analisi e valutazione dei risultati

- Esecuzione analisi di laboratorio
- Analisi dei risultati ottenuti
- Valutazione dei risultati considerando un numero statisticamente significativo di campioni di api, divisi per sito e tipologia del sito di prelievo, tipologia produttiva circostante a punto di prelievo
- Valutazione del rischio tossicologico
- Raccolta dati utili per implementazione piano di tutela per la salvaguardia della popolazione di api da pratiche illecite di agricoltura e da contaminanti ambientali frutto di inconsapevoli processi produttivi.

# Publicazione dei risultati

Partecipazione a convegni nazionali

Publicazioni scientifiche su riviste internazionali

Volume 35, 2021 - Issue 21 Natural Product Research

**High hydroxycinnamic acids contents in fennel honey produced in Southern Italy**

Antonio Vella, Gaetano Cammilleri, Andrea Pulvirenti, Francesco Galluzzo, Barbara Randisi, Giuseppe Giangrosso

Journal of Food Composition and Analysis, 82, art. no. 103225

**Multivariate statistical analysis of the polyphenols content for the discrimination of honey produced in Sicily (Southern Italy)**

Lo Dico, G.M., Ulrici, A., Pulvirenti, A., Cammilleri, G., Macaluso, A., Vella, A., Giaccone, V., Lo Cascio, G., Graci, S., Scuto, M., Trovato Salinaro, A., Calabrese, V., Lo Dico, R., Ferrantelli, V.

## Conclusioni

**La maggiorparte di pesticidi possiedono un'alta capacità lipofila**

**I prodotti dell'apicoltura possono contenere pesticidi e metalli pesanti in relazione all'ambiente su cui insistono**

**Il miele testato oggetto della ricerca ha dimostrato possedere alti tenori di polifenoli utili al metabolismo e al benessere cellulare**

**Le api dimostrano di essere ottimi indicatori ambientali che possono essere impiegati per testare l'ambiente**

**La contaminazione ambientale mina fortemente la vitalità delle colonie e riduce la vita media e la resistenza agli insulti ambientali ( chimici, fisici e biologici )**

**Le azioni messe in campo dall'EFSA e dall'ONU risultano utili a preservare le api e l'intero ecosistema**

**La riduzione degli impollinatori nell'ambiente conduce alla riduzione delle produzioni agricole e di conseguenza zootecniche**

“

Grazie per  
l'attenzione!

