



Progetto: Caratteristiche della cera d'api (fogli cerei) e possibili ricadute sull'allevamento delle api.
(CERAPI)

Sommario

Riferimenti normativi	2
1. Introduzione	2
2. Finalità dell'azione	4
3. Attività previste	4
3.1 Acquisizione di fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale	4
3.2 Campionamento e indagini di laboratorio da eseguire sui fogli cerei	5
3.3 Determinazione dei residui di pesticidi	5
3.4 Determinazione di paraffine	5
3.5 Determinazione di <i>Paenibacillus larvae</i>	6
3.6 Indagini in campo sui fogli cerei distribuiti	7
4. Risultati minimi attesi	7
4.1 Risultati	8
4.2 Associazioni apicoltori aderenti al progetto	8
4.3 Approvvigionamento dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale	8
4.4 Distribuzione dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale	9
4.5 Analisi di laboratorio	11
4.5.1 Residui di pesticidi	11
4.5.2 Presenza di paraffine	11
4.5.3 Presenza di <i>Paenibacillus larvae</i>	12
4.6 Risultati delle analisi eseguite sui lotti di fogli cerei da nido	13
5. Indagini in campo sui fogli cerei distribuiti	16
6. Conclusioni	26
7. Ringraziamenti	28

Riferimenti normativi

Accordo di collaborazione fra enti pubblici, Regione del Veneto e Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie (IZSVE):

L. 241/1990 art. 15

L.R. 23 aprile 1994 n. 23

DGR n. 281 del 13 marzo 2018

DDG n. 194 del 9 aprile 2018

1. Introduzione

Chimicamente, la cera d'api rappresenta una miscela organica complessa di oltre 300 composti, con predominanza di esteri di acidi grassi (circa 67%), idrocarburi (circa 14%) e acidi grassi liberi (circa 13%) (Tulloch, 1980).

La cera d'api viene ampiamente impiegata anche in diversi settori industriali come farmacia, cosmetica ed industrie alimentari (ad esempio come additivo E901).

La cera d'api svolge diversi e complessi ruoli all'interno dell'arnia, come ad esempio materiale da costruzione, conservazione degli alimenti, compartimento per la covata e mediazione nelle comunicazioni chimiche all'interno delle colonie.

Un aspetto importante dell'apicoltura è il riutilizzo dei favi per la fabbricazione dei fogli cerei che vengono successivamente utilizzati nelle pratiche apistiche.

Per foglio cereo s'intende una lamina di cera d'api su cui viene impresso, su entrambi i lati, lo stampo delle celle del favo. La cera d'api viene secreta sotto forma di scaglie che le api trasferiscono con le zampe anteriori alle loro mandibole, dove vengono masticate ed addizionate di secrezioni salivari, e quindi aggiunte al foglio che viene costruito. I principali vantaggi derivanti dall'utilizzo dei telaini con fogli cerei da parte dell'apicoltore sono, oltre ad una più rapida costruzione dei favi, una minore secrezione di cera da parte delle api e quindi un minore consumo di miele da parte delle stesse (per produrre 1 hg di cera le api consumano 1 kg di miele) e la costruzione regolare, senza punti di saldatura, del favo.

Dato il ruolo complesso e importante della cera nella colonia, è di fondamentale importanza che i fogli cerei siano genuini ed incontaminati. Le problematiche emergenti circa la qualità della cera d'api includono la contaminazione della stessa con residui di pesticidi derivanti dalle pratiche

apistiche (come acaricidi per la lotta alla *Varroa*) o, in misura minore, di origine ambientale (agrofarmaci) e la presenza di sostanze adulteranti (Schroeder e Wallner, 2003; Bernal *et al.*, 2005; Bogdanov, 2006; Chauzat e Faucon, 2007; Serra Bonvehí e Orantes Bermejo, 2010, 2012; Maia e Nunes, 2013; Ravoet *et al.*, 2015; Svečnjak *et al.*, 2015).

Per quanto riguarda la presenza di pesticidi, i dati sulla contaminazione della cera d'api da parte di sostanze farmacologicamente attive, sono molto rari rispetto agli studi sulla contaminazione del miele, e provengono per lo più da indagini a livello nazionale, semplicemente perché la cera d'api è generalmente considerata non edibile. La maggior parte dei pesticidi è liposolubile, non volatile e persistente e quindi può facilmente accumularsi nella cera d'api. Molte sostanze possono facilmente migrare nel miele, quindi i residui di pesticidi anche in tracce possono rappresentare un problema per la salute delle api ma anche dell'uomo. La cera d'api inoltre, non viene solo riciclata sotto forma di fogli cerei, ma viene anche lavorata per scopi farmaceutici o per l'industria alimentare e cosmetica.

Altro importante aspetto concernente la qualità della cera, è la sua adulterazione attraverso l'aggiunta di altri prodotti grassi, favorita dal costo relativamente elevato della cera d'api. Questo aspetto, oltre ad essere un potenziale rischio per la salute umana, è anche una delle principali preoccupazioni degli apicoltori a causa del rifiuto o della cattiva accettazione da parte delle api di alcuni lotti di fogli cerei (Jimenez *et al.*, 2006). I problemi legati alla presenza di queste sostanze possono avere un impatto rilevante in apicoltura a causa del commercio e del riciclo di favi contaminati, in quanto non vi sono regolamenti che impongano un controllo della qualità o dell'autenticità della cera in vendita per l'utilizzo in ambito apistico. Tuttavia, non esistono ancora metodi analitici standardizzati a livello internazionale per il controllo di autenticità della cera d'api. Ad oggi, più di 15 diverse cere naturali (cere derivate dal petrolio, minerali, animali e piante) e sintetiche vengono utilizzate come adulteranti della cera d'api in tutto il mondo (Bogdanov, 2004, 2016). Tra queste, la paraffina rappresenta il problema maggiore a causa della sua ampia disponibilità e del basso prezzo. Inoltre, le proprietà chimico-fisiche della paraffina (è una sostanza chimicamente inerte, quasi inodore e bianca o incolore) la rende una sostanza "ideale" per l'adulterazione. Altri adulteranti, come l'acido stearico, il sego, la cera microcristallina e altri, sono rilevati sporadicamente. La presenza di elevate quantità di paraffina (>60%) in fogli cerei commerciali è stata riportata in diversi studi recenti (Serra Bonvehí e Orantes Bermejo, 2012; Maia *et al.*, 2013; Svečnjak *et al.*, 2015, Svečnjak *et al.*, 2016). I risultati ottenuti in questi studi, suggeriscono l'urgente necessità di controlli di routine dell'autenticità della cera d'api.

Ultimo aspetto affrontato dal presente progetto verte sulla eventuale presenza di *Paenibacillus larvae*, batterio sporigeno responsabile di una malattia della covata, la peste americana, di particolare rilevanza in ambito apistico. La cera d'api è un importante prodotto delle api che ritorna parzialmente nell'alveare sotto forma di foglio cereo. I fogli cerei non sono mai stati ufficialmente collegati alla diffusione di alcuna malattia delle api; la cera riciclata, tuttavia, quando collocata in una colonia, rappresenta un rischio elevato per la trasmissione di malattie e, in una certa misura, di acari parassiti (Mutinelli, 2011). Di conseguenza, sono necessari metodi di indagine applicabili alla cera d'api per garantirne la sterilità o almeno l'assenza di agenti patogeni specifici. La peste americana è una devastante malattia della covata causata dal batterio *Paenibacillus larvae* (Hansen and Brodsgaard, 1999; de Graaf *et al.*, 2013) ed è una delle malattie delle api elencata dall'Organizzazione mondiale per la salute degli animali (OIE) e soggetta a denuncia nell'Unione Europea.

Protocolli di diagnosi riconosciuti a livello internazionale sono disponibili nel Manuale OIE per i test diagnostici e i vaccini per gli animali terrestri (OIE, 2016). I metodi per rilevare il *Paenibacillus larvae* nella cera d'api hanno implicazioni sia per la sterilità dei fogli cerei sia come valore prognostico.

2. Finalità dell'azione

La finalità del presente progetto riguardano la stesura di un quadro d'insieme sulle caratteristiche qualitative della cera d'api utilizzata nel territorio della regione Veneto, concentrando l'attenzione sugli aspetti sanitari connessi alla presenza di residui di farmaci veterinari e fitofarmaci, di adulteranti come le paraffine, nonché su quella di agenti batterici di particolare rilevanza e conseguente potenziale reazione dell'alveare a tali presenze.

3. Attività previste

3.1 Acquisizione di fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale

Il Servizio Approvvigionamento e Gestione di Beni e Servizi dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, facendo seguito alla richiesta del responsabile scientifico del progetto, attiverà la procedura per l'approvvigionamento della fornitura di fogli cerei.

3.2 Campionamento e indagini di laboratorio da eseguire sui fogli cerei

L'IZSVE ha acquisito nel tempo una specifica competenza nella esecuzione di analisi di laboratorio destinate alla valutazione delle caratteristiche chimico-fisiche della cera d'api e nel fornire un supporto tecnico-scientifico agli apicoltori al fine di migliorare la propria tecnica apistica. Anche per quanto riguarda la cera d'api, la disponibilità di una competenza tecnico-scientifica specifica come quella citata costituisce un fattore particolarmente rilevante considerato che la cera d'api è utilizzata per la costruzione dei favi dell'alveare che viene a contatto con le api, la covata, il polline (pane delle api) e il miele.

I fogli cerei, acquisiti sul mercato da diversi produttori nazionali e commercializzati anche nel territorio regionale, saranno campionati con criterio statistico tenendo conto della numerosità dei lotti acquisiti e sottoposti a controlli chimici e microbiologici per verificarne la qualità come di seguito descritto.

3.3 Determinazione dei residui di pesticidi

I campioni saranno analizzati per circa 140 sostanze chimiche appartenenti a classi tossicologiche diverse (erbicidi, insetticidi, acaricidi e fungicidi), con tecnica di cromatografia liquida (LC) e gas-cromatografia (GC) con detector spettrofotometro di massa a triplo quadrupolo (MS/MS). L'estrazione dei pesticidi si effettua con tecnica QuEChERS: 2 g di cera vengono polverizzati con mulino ad azoto liquido e addizionati con standard interno e 10 mL di acqua. Dopo aver agitato per 10 minuti vengono aggiunti 10 mL di acetonitrile con 0,1% di acido acetico. Si agita per altri 25 minuti e poi si raffredda in congelatore per 15 minuti. Successivamente vengono aggiunti i sali per l'estrazione (EN method) e si agita vigorosamente per 1 minuto. Dopo centrifugazione per 10 minuti a 3000 g a -20°C, vengono prelevati 7 mL di surnatante e posti in provette con resine per la purificazione di campioni grassi. Dopo ulteriore agitazione per 30 secondi e centrifugazione, vengono prelevati 4 mL e portati a secco a 40°C sotto vuoto.

L'essiccato viene ricostituito con 1 mL di una miscela 50:50 di ammonio formiato 5 mM in acqua con 0,1% di acido formico e ammonio formiato 5 mM in metanolo con 0,1% di acido formico (fasi mobili cromatografiche) per analisi con LC-MS/MS o con eptano per GC-MS/MS.

3.4 Determinazione di paraffine

A 5 g di cera d'api vengono aggiunti 25 ml di soluzione alcolica al 12% KOH (preparata fresca), e posti a riscaldare fino ad ottenere una consistenza pastosa. Successivamente vengono sciolti rapidamente

con 20 mL di glicerina calda e acqua distillata calda. In presenza di paraffina (o cerasina, una cera minerale) si produce un liquido lattiginoso o un precipitato. Con questa tecnica è possibile individuare campioni di cera adulterati con paraffina con una concentrazione superiore al 10%. I campioni risultati positivi o dubbi in seguito a questo test qualitativo, saranno sottoposti ad analisi di conferma mediante tecnica GCMS/MS. In questo caso 0,01 g di cera d'api vengono sciolti in 10 mL di cloroformio mediante agitazione per 2 minuti o fino a completa dissoluzione e viene aggiunto lo standard interno con una concentrazione (riferita alla massa di cera d'api) del 2%. L'analisi sarà effettuata confrontando i cromatogrammi degli idrocarburi in cera d'api pura e adulterata. Il metodo consente anche l'analisi quantitativa di n-alcani, determinando un grado di adulterazione della cera fino ad un 3% di concentrazione (Wa *et al.*, 2016).

L'adulterazione è evidenziata dalla presenza di idrocarburi con un numero di atomi di carbonio maggiore di 35, dal contenuto più elevato di singoli n-alcani (C₂₀H₄₂ - C₃₅H₇₂) e da un contenuto globalmente più elevato di questi composti, rispetto ai contenuti massimi riportati per la cera d'api (Wa *et al.*, 2014).

3.5 Determinazione di *Paenibacillus larvae*

Esame colturale. Ad 1 g di cera vengono aggiunti 8,5 mL di acqua distillata sterile e 0,5 mL di Tween 80 precedentemente riscaldato (30 minuti in bagnomaria a 70°C). Il tutto viene posto in bagnomaria a 70°C, agitando ogni 10 minuti per 30 minuti o fino a scioglimento completo della cera. Dopo aver raffreddato per 2-4 ore e ottenuto una evidente separazione liquido/solido, vengono prelevati 2-5 mL di liquido, posti in una provetta sterile e addizionati di un egual volume di acqua distillata sterile. Il tutto viene agitato per 5 minuti ed incubato in termostato a 90°C per 10 minuti. Dopo opportuno raffreddamento, 200 µL di tale sospensione vengono seminati con ansa sterile su piastra con terreno MYPGP – PN (brodo Mueller–Hinton, estratto di lievito, fosfato di potassio, glucosio, piruvato) e posti in incubatore a 37°C, in una giara con busta per microaerofilia CampyGen OXOID, per 5-8 giorni. Al termine verrà valutata la presenza di colonie riferibili a *Paenibacillus larvae* (colonie piccole, regolari, prevalentemente ruvide, piatte o rilevate e di colore da biancastro a beige).

Test di conferma. La morfologia delle colonie di per sé non è sufficiente e pertanto è necessario procedere con altri test. Test biochimico delle catalasi: una goccia di H₂O₂ al 3% viene posta su un vetrino portaoggetto; le colonie batteriche sospette vengono prelevate con ansa sterile e stemperate nella goccia di H₂O₂; *Paenibacillus larvae* è catalasi negativo, quindi non dovrebbe essere osservata la formazione di bollicine (O₂). Colorazione di GRAM: le colonie risultate catalasi

negative vengono sottoposte a colorazione di GRAM (una colonia viene stemperata con un una goccia di soluzione fisiologica su vetrino, fissata alla fiamma e poi coperta con cristal-violetto per 1 minuto; poi il tutto viene lavato con acqua e coperto con soluzione iodata per 1 minuto; successivamente si lava e fissa con etanolo per 30 secondi e poi si lava e copre con safranina per altri 10 secondi, lavando al termine), ed osservate al microscopico con obiettivo ad immersione 100x. *Paenibacillus larvae* è GRAM positivo (blu-viola), con morfologia bastoncellare, con bacilli lunghi (1,5 - 6 mm) e sottili (larghezza 0,5 - 0,6 mm), disposti a singola cellula, ma più spesso in lunghi filamenti diversa lunghezza.

3.6 Indagini in campo sui fogli cerei distribuiti

I fogli cerei acquisiti, suddivisi per lotto e produttore saranno distribuiti in forma anonima agli apicoltori delle forme associate in modo da assicurare il coinvolgimento di tutto il territorio regionale e far partecipare il maggior numero possibile di apicoltori al progetto.

Si ritiene che il numero di fogli cerei distribuiti potrà coinvolgere circa il 10-15% degli alveari presenti sul territorio regionale.

In corrispondenza di un appropriato momento dell'attività e secondo le indicazioni delle buone pratiche apistiche, detti fogli cerei saranno inseriti nell'alveare in sostituzione dei vecchi fogli, ed utilizzati per il naturale sviluppo della colonia.

In coincidenza con la distribuzione dei fogli cerei, sarà somministrato agli apicoltori un questionario, precedentemente strutturato in modo da poter raccogliere informazioni specifiche in merito alle modalità di utilizzo e di turnazione dei fogli cerei stessi da parte dei partecipanti al progetto.

Alla fine del periodo produttivo (ottobre), verrà somministrato agli stessi apicoltori un ulteriore questionario al fine di rilevare eventuali anomalie riscontrate, scarsa o alterata accettazione.

Al fine di dare significatività alla ricerca dovrà essere coinvolto il maggior numero di apicoltori nell'ambito della somministrazione dei diversi questionari.

Verrà quindi concentrata l'attenzione sugli aspetti sanitari connessi alla presenza di residui di farmaci veterinari e fitofarmaci nonché su quella di agenti batterici di particolare rilevanza.

4. Risultati minimi attesi

Tutti i dati rilevati, relativi alle analisi sui campioni dei lotti, sulle modalità di utilizzo e turnazione dei fogli e sulle eventuali anomalie riscontrate in campo verranno analizzati in modo integrato al fine di fornire un quadro sulle caratteristiche qualitative della cera d'api utilizzata nel territorio della

regione Veneto concentrando l'attenzione sugli aspetti sanitari connessi alla presenza di residui di fitofarmaci di paraffine, nonché su quella di agenti batterici di particolare rilevanza.

L'attività svolta nel corso del progetto ed i relativi risultati di laboratorio e di campo saranno presentati sotto forma di relazione al termine del progetto stesso.

4.1 Risultati

4.2 Associazioni apicoltori aderenti al progetto

Inizialmente hanno aderito al progetto 9 associazioni apicoltori della regione Veneto. Due associazioni (A.P.A.V.O. e A.P.A.V. Servizi) hanno dichiarato fin dall'inizio la loro intenzione di non aderire al progetto stesso.

Successivamente, ad attività iniziata e dopo l'avvenuta consegna dei fogli cerei, un'altra associazione (Apimarca) ha comunicato l'intenzione di ritirare l'adesione al progetto e contestualmente ha restituito i fogli cerei già consegnati.

Hanno quindi aderito e partecipato al progetto n. 8 associazioni apicoltori della regione Veneto.

4.3 Approvvigionamento dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale

Il Servizio Approvvigionamento e Gestione di Beni e Servizi dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie ha proceduto, a seguito della richiesta del responsabile scientifico del progetto, ad avviare la procedura per l'approvvigionamento della fornitura di fogli cerei.

Con determinazione del Dirigente del servizio Approvvigionamento e Gestione di Beni e Servizi n. 181 del 24 maggio 2018 sono stati acquisiti n. 12 lotti di fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale da n. 6 fornitori degli 8 contattati presenti sul mercato regionale e nazionale individuati anche sulla base delle indicazioni fornite dalle associazioni apicoltori della regione Veneto.

Alla luce delle risultanze dell'istruttoria, il RUP ha proposto di affidare la fornitura, ai sensi dell'art. 36, comma 2, lett. a) del D.Lgs. n. 50/2016 e dell'art. 11, comma 2, lett. c) e ss. del Regolamento, a:

- Apicoltura Marcon S.n.c. di B. e C. ha inviato la propria offerta in data 03/05/2018, acquisita con ns. prot. n. 7574 del 07/05/2018;
- Enolapi S.r.l. ha inviato la propria offerta in data 02/05/2018, acquisita a ns. prot. n. 7577 del 07/05/2018;

- Apicoltura Piccolo di Piccolo Renato ha inviato la propria offerta in data 03/05/2018, acquisita a ns. prot. n. 7576 del 07/05/2018;
- Lega S.r.l. Costruzioni Apistiche ha inviato la propria offerta in data 03/05/2018, acquisita a ns. prot. n. 7575 del 07/05/2018;
- Il Pungiglione S.c.s. ha inviato la propria offerta in data 08/05/2018, acquisita a ns. prot. 7766 del 10/05/2018;
- La Cereria del Nord di Angelo Sommaruga ha inviato la propria offerta in data 27/04/2018, acquisita a ns. prot. n. 7580 del 07/05/2018.

4.4 Distribuzione dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale

I lotti di fogli cerei sono stati consegnati all'IZSve, presso la sede centrale, da parte delle 6 ditte coinvolte fra il 23 maggio e il 7 giugno 2018. I fogli cerei sono stati recapitati presso i laboratori territoriali dell'Istituto in modo da facilitarne il ritiro da parte delle associazioni aderenti al progetto oppure sono stati ritirati direttamente presso la sede centrale se più conveniente. In un caso i fogli cerei sono stati recapitati dall'IZSve direttamente presso la sede di un'associazione.

Nella tabella seguente è indicata la ripartizione dei fogli cerei fra le associazioni apicoltori della regione Veneto. Detta ripartizione è avvenuta sulla base del numero di alveari dichiarati dalle associazioni (Dati 2016 forniti da Avepa).

Tabella 1. Ripartizione dei fogli cerei fra le Associazioni degli apicoltori della regione Veneto

ASSOCIAZIONE	N. SOCI ACCERTATI DA AVEPA	N. ALVEARI ACCERTATI DA AVEPA	FOGLI CEREI PRIMA DISTRIBUZIONE	FOGLI CEREI SECONDA DISTRIBUZIONE A SEGUITO RINUNCIA APIMARCA	TOTALE FOGLI CEREI DISTRIBUITI
APAT – Apicoltori in Veneto	819	17.844	6.437	588	7.025
Associazione Regionale Apicoltori del Veneto	979	15.919	5.742	524	6.266
APA Pad – Associazione Patavina Apicoltori in Padova	502	6.838	2.467	225	2.692
APIMARCA – Associazione Apicoltori Treviso	430	4.765	1.718	0	0
APIDOLOMITI Società Cooperativa Agricola a R.L.	313	3.718	1.341	122	1.463
APAV Servizi – Associazione Provinciale degli Apicoltori di Venezia	116		0	0	0
Associazione Provinciale Apicoltori Veronesi	219	3.217	1.160	106	1.266
APAVO – Associazione Produttori Apistici del Veneto Orientale	50		0	0	0
IL FAVO – Associazione Produttori Apistici Veneti (Cittadella)	99	908	328	30	358
A.P.A.V. - Associazione Provinciale Apicoltori di Vicenza	90	1.455	525	48	573
Associazione Apicoltori Astico al Brenta	131	2.279	822	75	897
Totale	3.748	56.943	20.540	1.718	20.540

4.5 Analisi di laboratorio

I fogli cerei, acquisiti sul mercato da diversi produttori nazionali e commercializzati nel territorio regionale, sono stati campionati con criterio statistico tenendo conto della numerosità dei lotti (12) acquisiti e sottoposti a controlli chimici e microbiologici per verificarne la qualità come di seguito descritto.

4.5.1 Residui di pesticidi

I campioni sono stati analizzati per 137 sostanze chimiche appartenenti a classi tossicologiche diverse (erbicidi, insetticidi, acaricidi e fungicidi), con tecnica di cromatografia liquida (LC) e gas-cromatografia (GC) con detector spettrofotometro di massa a triplo quadrupolo (MS/MS).

Il metodo utilizzato è quello attualmente sviluppato e validato dal Centro di Referenza Nazionale per l'Apicoltura.

L'estrazione dei pesticidi si effettua con tecnica QuEChERS: 2 g di cera vengono polverizzati con mulino ad azoto liquido e addizionati con standard interno e 10 mL di acqua. Dopo aver agitato per 10 minuti vengono aggiunti 10 mL di acetonitrile con 0,1% di acido acetico. Si agita per altri 25 minuti e poi si raffredda in congelatore per 15 minuti. Successivamente vengono aggiunti i sali per l'estrazione (EN method) e si agita vigorosamente per 1 minuto. Dopo centrifugazione per 10 minuti a 3000 g a -20°C, vengono prelevati 7 mL di surnatante e posti in provette con resine per la purificazione di campioni grassi. Dopo ulteriore agitazione per 30 secondi e centrifugazione, vengono prelevati 4 mL e portati a secco a 40°C sotto vuoto.

L'essiccato viene ricostituito con 1 mL di una miscela 50:50 di ammonio formiato 5 mM in acqua con 0,1% di acido formico e ammonio formiato 5 mM in metanolo con 0,1% di acido formico (fasi mobili cromatografiche) per analisi con LC-MS/MS o con eptano per GC-MS/MS.

4.5.2 Presenza di paraffine

Il metodo utilizzato è presente in diversi articoli scientifici internazionali che valutano le proprietà chimico fisiche della cera d'api (European Journal of Biophysics 2016; 4(5): 42-46; International Journal of Agricultural Science and Food Technology 2017; 3(3): 061-066; KENYA STANDARD CD /05-1279: 2013 ICS 67.120...).

A 1 g di cera d'api vengono aggiunti 10 ml di soluzione di potassa alcolica (0,5N). Il tutto viene fatto bollire sotto riflusso per un'ora. Al termine si inserisce nel liquido un termometro, mantenendo l'agitazione. Il materiale si può dire privo di paraffine se risponde alle seguenti condizioni:

1. il liquido non intorbidisce a temperature maggiori di 61°C, ma solo a temperature tra i 59°C e i 61°C
2. la precipitazione di fiocchi avviene a meno di 2°C dalla temperatura di intorbidimento.

Altrimenti la cera contiene quantità variabili di paraffine.

Una valutazione della quantità di tali sostanze può essere effettuata confrontando le temperature di intorbidimento e flocculazione del campione in esame con quelle di campioni bianchi fortificati con livelli crescenti di paraffine.

4.5.3 Presenza di *Paenibacillus larvae*

Il metodo si basa sulla possibilità di sottoporre ad esame colturale il materiale in esame previa eliminazione dei batteri non sporigeni, considerate le caratteristiche biologiche del *Paenibacillus larvae*. Ad 1 g di cera vengono aggiunti 8,5 mL di acqua distillata sterile e 0,5 mL di Tween 80 precedentemente riscaldato (30 minuti in bagnomaria a 70°C). Il tutto viene posto in bagnomaria a 70°C, agitando ogni 10 minuti per 30 minuti o fino a scioglimento completo della cera. Dopo aver raffreddato per 2-4 ore e ottenuto una evidente separazione liquido/solido, vengono prelevati 2-5 mL di liquido, posti in una provetta sterile e addizionati di un egual volume di acqua distillata sterile. Il tutto viene agitato per 5 minuti ed incubato in termostato a 90°C per 10 minuti. Dopo opportuno raffreddamento, 200 µL di tale sospensione vengono seminati con ansa sterile su piastra con terreno MYPGP – PN (brodo Mueller – Hinton, estratto di lievito, fosfato di potassio, glucosio, piruvato) e posti in incubatore a 37°C, in una giara con busta per microaerofilia CampyGen OXOID, per 5-8 giorni. Al termine verrà valutata la presenza di colonie riferibili a *Paenibacillus larvae* (colonie piccole, regolari, prevalentemente ruvide, piatte o rilevate e di colore da biancastro a beige).

Test di conferma. La morfologia delle colonie di per sé non è sufficiente e pertanto è necessario procedere con altri test. Test biochimico delle catalasi: una goccia di H₂O₂ al 3% viene posta su un vetrino portaoggetto; le colonie batteriche sospette vengono prelevate con ansa sterile e stemperate nella goccia di H₂O₂; *Paenibacillus larvae* è catalasi negativo, quindi non dovrebbe essere osservata la formazione di bollicine (O₂). Colorazione di GRAM: le colonie risultate catalasi negative vengono sottoposte a colorazione di GRAM (una colonia viene stemperata con una goccia di soluzione fisiologica su vetrino, fissata alla fiamma e poi coperta con cristal-violetto per 1 minuto; poi il tutto viene lavato con acqua e coperto con soluzione iodata per 1 minuto; successivamente si lava e fissa con etanolo per 30 secondi e poi si lava e copre con safranina per

altri 10 secondi, lavando al termine), ed osservate al microscopico con obiettivo ad immersione 100x. *Paenibacillus larvae* è GRAM positivo (blu-viola), con morfologia bastoncellare, con bacilli lunghi (1,5 - 6 mm) e sottili (larghezza 0,5 - 0,6 mm), disposti a singola cellula, ma più spesso in lunghi filamenti diversa lunghezza.

4.6 Risultati delle analisi eseguite sui lotti di fogli cerei da nido

Lotto 1

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorpyrifos-Methyl (0,053 mg/kg), Chlorfenvinphos (0,021 mg/kg), Tetramethrin (0,191 mg/kg), Permethrin (0,072 mg/kg), Coumaphos (0,248 mg/kg), Etofenprox (0,026 mg/kg), Fluvalinate (5,038 mg/kg), Tebufenpyrad (0,108 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,237 mg/kg), (E)-Fenpyroximate (0,027 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 2

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,016 mg/kg), Tebufenpyrad (0,084 mg/kg), Tetramethrin (0,082 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,404 mg/kg), Permethrin (0,073 mg/kg), (E)-Fenpyroximate (0,034 mg/kg), Coumaphos (0,328 mg/kg), Etofenprox (0,021 mg/kg), Fluvalinate (3,782 mg/kg), Bromopropylate (0,068 mg/kg).

L'analisi della paraffine ha evidenziato una presenza prossima al 5%.

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 3

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorpyrifos-Methyl (0,053 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,337 mg/kg), Chlorfenvinphos (0,085 mg/kg), (E)-Fenpyroximate (0,011 mg/kg), Tetramethrin (0,122 mg/kg), Permethrin (0,098 mg/kg), Coumaphos (0,677 mg/kg), Etofenprox (0,025 mg/kg), Fluvalinate (0,887 mg/kg), Bromopropylate (0,075 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 4

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,026 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,158 mg/kg), Permethrin (0,116 mg/kg), Coumaphos (0,224 mg/kg), Etofenprox (0,025 mg/kg), Fluvalinate (0,586 mg/kg), Bromopropylate (0,074 mg/kg), Chlorpyrifos-Methyl (0,053 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 5

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorpyrifos-Methyl (0,056 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,809 mg/kg), Chlorfenvinphos (0,084 mg/kg), Tetramethrin (0,204 mg/kg), Permethrin (0,347 mg/kg), Coumaphos (1,075 mg/kg), Etofenprox (0,032 mg/kg), Fluvalinate (1,482 mg/kg), Bromopropylate (0,079 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 6

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,076 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,197 mg/kg), Bromopropylate (0,070 mg/kg), (E)-Fenpyroximate (0,013 mg/kg), Permethrin (0,063 mg/kg), Coumaphos (0,459 mg/kg), Etofenprox (0,024 mg/kg), Fluvalinate (1,474 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 7

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Pendimethalin (0,034 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,108 mg/kg), Chlorfenvinphos (0,275 mg/kg), Tetramethrin (0,073 mg/kg),

Bromopropylate (0,088 mg/kg), Permethrin (0,064 mg/kg), Coumaphos (0,253 mg/kg), Etofenprox (0,028 mg/kg), Fluvalinate (0,864 mg/kg), Deltamethrin (0,038 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 8

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Pendimethalin (0,037 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,488 mg/kg), Chlorfenvinphos (0,265 mg/kg), Tetramethrin (0,181 mg/kg), Bromopropylate (0,079 mg/kg), Permethrin (0,098 mg/kg), Coumaphos (0,191 mg/kg), Cypermethrin (0,053 mg/kg), Etofenprox (0,026 mg/kg), Fluvalinate (0,231 mg/kg), Deltamethrin (0,037 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 9

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,062 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,011 mg/kg), Fluvalinate (0,069 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 10

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,021 mg/kg), Piperonyl-butoxide (0,016 mg/kg), Permethrin (0,041 mg/kg), Coumaphos (0,065 mg/kg), Cypermethrin (0,045 mg/kg), Etofenprox (0,019 mg/kg), Fluvalinate 0,268 mg/kg.

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 11

L'analisi residuale ha evidenziato la presenza delle seguenti sostanze: Chlorfenvinphos (0,018 mg/kg), Permethrin (0,113 mg/kg), Coumaphos (0,052 mg/kg), Deltamethrin (0,150 mg/kg).

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

Lotto 12

L'analisi residuale non ha evidenziato la presenza di sostanze attive nella cera testata.

L'analisi della paraffine non ne ha evidenziato la presenza (concentrazione < 5%).

Il test relativo all'eventuale presenza di spore di *Paenibacillus larvae* non ne ha evidenziato la presenza.

5. Indagini in campo sui fogli cerei distribuiti

Nella Tabella 2 sono riassunti i dati principali del progetto.

Nelle tabelle successive, dalla Q3 alla Q11, sono riassunte le informazioni raccolte attraverso le domande poste nei questionari distribuiti alle associazioni apicoltori e successivamente agli apicoltori che hanno aderito al progetto.

Tabella 2. Sintesi delle informazioni raccolte attraverso i questionari

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI CHE HANNO PARTECIPATO AL PROGETTO	TOTALE FOGLI CEREI DISTRIBUITI N.	TOTALE Fogli cerei inseriti nell'ambito del progetto (2018+2019) N.	FOGLI CEREI NON UTILIZZATI N.I
APA PAD	97	2.692	2.301	391
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	7.025	7.025	0
APAV VI	18	573	573	0
APAV VR	9	1.266	1.265	1
APIDOLOMITI	48	1.463	1.463	0
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29	897	897	0
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114	6.266	6.266	0
IL FAVO	24	358	322	36
Totale complessivo	550	20.540	20.112	428
			(97,9)	(2,1%)

Gli apicoltori aderenti al progetto sono stati 550 e sono stati distribuiti n. 20.540 fogli cerei da nido. Di questi, 20.112 (97,9%) sono stati effettivamente inseriti negli alveari, mentre 428 (2,1%) per diversi motivi non sono stati utilizzati nell'arco temporale previsto.

Q3 - TIPO DI PRODUZIONE PREVALENTE

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	MIELE	API REGINE	IMPOLLINAZIONE	MIELE E API REGINE	MIELE E IMPOLLINAZIONE	NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	93		2	1		1
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	201	2	1	3	4	
APAV VI	18	16				1	1
APAV VR	9	4		1		4	
APIDOLOMITI	48	47					1
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29	28			1		
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114	105		2		6	1
IL FAVO	24	24					
Totale complessivo	550	518	2	6	5	15	4
		(94,2%)	(0,4%)	(1,1%)	(0,9%)	(2,7%)	(0,7%)

Nella tabella Q3 si evidenziano le tipologie di produzione prevalenti nella regione Veneto. La produzione di miele è chiaramente quella che prevale con il 94,2%, decisamente più basso il servizio di impollinazione (1,1%) e la produzione di api regine (0,4%). 20 apicoltori hanno dichiarato di svolgere due attività che ammontano rispettivamente allo 0,9 e al 2,7%. Considerando nel complesso tutti gli apicoltori partecipanti al progetto che producono miele, come unica attività o associata ad altra, si raggiunge il 97,8%.

Q4 - N. FAVI SOSTITUITI ALL'ANNO PER ALVEARE

N. FAVI SOSTITUITI	N. APICOLTORI	%
0	2	0,4%
1	17	3,1%
2	181	32,9%
3	186	33,8%
4	20	3,6%
6	2	0,4%
1-2	5	0,9%
1-3	2	0,4%
2-3	85	15,5%
2-4	6	1,1%
3-4	29	5,3%
4-5	5	0,9%
4-6	1	0,2%
NON HA RISPOSTO	9	1,6%
Totale complessivo	550	

Nella tabella Q4 si evidenzia il numero di favi sostituiti all'anno per alveare dagli apicoltori aderenti al progetto. La sostituzione di 2-3 fogli cerei da nido rappresenta la pratica apistica maggiormente diffusa: 2 fogli 181 apicoltori (32,9%), 3 fogli 186 apicoltori (33,8%) e 2-3 fogli 85 apicoltori (15,5%).

Q5 e Q6 - ORIGINE FOGLI CEREI UTILIZZATI

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	FOGLI CEREI PROPRI	FOGLI CEREI ACQUISTATI	FOGLI CEREI CERTIFICATI	FOGLI CEREI PROPRI E ACQUISTATI	FOGLI CEREI PROPRI E CERTIFICATI	FOGLI CEREI ACQUISTATI E CERTIFICATI	NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	8	64	13	2	1	2	7
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	32	153	9	10		5	2
APAV VI	18	2	13	2	1			
APAV VR	9	1	7		1			
APIDOLOMITI	48	27	8	4	6	1	2	
ASSOCIAZIONE APICOLTORI								
ASTICO BRENTA	29	2	17	4	2	1	2	1
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114	4	82	1	23		4	
IL FAVO	24	6	13	2	2			1
Totale complessivo	550	82	357	35	47	3	15	11
		(14,9%)	(64,9%)	(6,4%)	(8,5)	(0,5%)	(2,7%)	(2,0%)

Dalla tabella Q5 relativa all'origine fogli cerei utilizzati dagli apicoltori emerge che i fogli cerei da nido utilizzati sono prevalentemente acquistati dagli apicoltori (n. 357, 66,9%) e solo in misura decisamente minore prodotti con la propria cera (n. 82, 14,9%). 47 (8,5%) apicoltori hanno dichiarato l'origine duplice dei fogli cerei utilizzati. In 18 (3,2%) casi è stata dichiarata la certificazione degli stessi.

Q7 - MESE IN CUI LE API HANNO INIZIATO A COSTRUIRE I NUOVI FOGLI CEREI

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	MESE-05-18	MESE-06-18	MESE-07-18	MESE-08-18	MESE-09-18	MESE 03-19	MESE 04-19	MESE 05-19	PRIMAVERA 2018	PRIMAVERA 2019	PRIMAVERA 2018 E 2019	NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	2	21	47	11		9	6	1	75	16		6
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	5	118	87	15		5	24	4	174	1	32	4
APAV VI	18		1	6	10	2	1	5		12	3	3	
APAV VR	9	2	3	2	1	1		3	1	6		3	
APIDOLOMITI	48		25	21	2			17		31	1	16	
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29		16	11	1			11	1	15	2	10	2
ASSOCIAZIONE REGIONALE IL FAVO	114		28	46	47		6			107	6		1
IL FAVO	24	1	14	10		1	3			21		3	
Totale complessivo	550	10	226	230	87	4	24	66	7	441	29	67	13
										(80,2%)	(5,3%)	(12,%)	(2,4%)

Alcuni questionari pervenuti nel 2019 si riferivano ad attività svolta nel 2018; alcuni apicoltori hanno inserito i fogli cerei sia nel 2018 sia nel 2019. Di conseguenza si è optato per riportare i dati di tutti i mesi da maggio 2018 a maggio 2019, distinguendo gli apicoltori che hanno inserito i fogli nella primavera 2018 (n. 441, 80,2%), nella primavera 2019 (n. 29, 5,3%) e quelli che li hanno inseriti sia nella primavera 2018 sia nella primavera 2019 (n. 67, 12,2%).

Con riferimento al mese in cui le api hanno iniziato a costruire sui nuovi fogli cerei, la tabella Q7 conferma la primavera, come già noto, compatibilmente anche con l'andamento stagionale (2019), il periodo di inizio di questa attività.

Q8 - COSTRUZIONE DI CELLE

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	2018-2019 COSTRUZIONE CELLE SI	2018-2019 COSTRUZIONE CELLE NO	2018-2019 COSTRUZIONE CELLE SI E NO	2018-2019 NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	54	25		18
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	163	20	14	14
APAV VI	18	13	3	2	
APAV VR	9	9			
APIDOLOMITI	48	29	11	8	
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO					
BRENTA	29	17	5	5	2
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114	99	14		1
IL FAVO	24	19	4	1	
Totale complessivo	550	403	82	30	35
		(73,3%)	(14,9%)	(5,5%)	(6,4%)

Alcuni questionari pervenuti nel 2019 si riferivano ad attività svolta nel 2018. Sono stati quindi riportati i dati sommando il 2018 e il 2019:

- “Costruzione celle si” n. 403 apicoltori (73,3%)
- “Costruzione celle no” n. 82 apicoltori (14,9%)
- Inoltre, sono stati distinti gli apicoltori che hanno inserito i fogli cerei sia nel 2018 sia nel 2019 e che hanno risposto alla domanda in modo diverso nel 2018 e nel 2019 (n. 30 apicoltori, 5,5%)

Q9 - GRADIMENTO DEL FOGLIO CEREO DA PARTE DELLE API

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	2018-2019 GRADIMENTO SI	2018-2019 GRADIMENTO NO	2018-2019 NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	53	11	20
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	201	10	4
APAV VI	18	15	1	1
APAV VR	9	9		
APIDOLOMITI	48	35	20	1
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29	26	3	1
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114	114		
IL FAVO	24	18	7	
Totale complessivo	550	471	52	27
		(85,6%)	(9,5%)	(4,9%)

La tabella Q9 riporta il livello di gradimento da parte delle api dei fogli cerei da nido inseriti nel 2018 e nel 2019 osservato dagli apicoltori in termini di costruzione dello stesso, evidenziando un gradimento pari all'85,6% (471 apicoltori) ed una risposta negativa invece per il 9,5% (52 apicoltori). 27 apicoltori (4,9%) non ha risposto alla domanda.

Q10 - COMPORTAMENTI ANOMALI OSSERVATI

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	2018-2019 Le api non hanno costruito il foglio cereo	2018-2019 Le api hanno costruzione solo parzialmente il foglio cereo	C 2018-2019 Foglio costruito in modo irregolare	2018-2019 Foglio costruito completamente a fine stagione	NON HA RISPOSTO
APA PAD	97	9	29	3	24	24
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211	8	52	10	144	33
APAV VI	18		4	4	4	9
APAV VR	9		1	1	2	5
APIDOLOMITI	48	8	25	15	2	17
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29	5	14	5	21	
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114		31	2	99	
IL FAVO	24	2	11	5	15	
Totale complessivo	550	32	167	45	311	88
		(5,0%)	(26,0%)	(7,0%)	(48,4%)	(13,7%)

La percentuale è stata calcolata sul totale delle risposte fornite nel 2018 e nel 2019.

Alcuni apicoltori hanno risposto segnalando nello stesso questionario comportamenti diversi, riferiti probabilmente a più apiari in cui si è osservato sia il foglio cereo costruito solo parzialmente, sia in modo irregolare, sia costruito completamente a fine stagione.

La tabella Q10 evidenzia tra i comportamenti anomali osservati, la parziale costruzione dei fogli cerei da nido (26%) in 167 casi. La irregolare o mancata costruzione del foglio cereo si sono attestate su valori più bassi pari al 7% e al 5% rispettivamente. Tuttavia, a fine stagione il foglio cereo è risultato completamente costruito nel 48,4% dei casi (311).

Q11 - MALATTIE RILEVATE

ASSOCIAZIONE	N. APICOLTORI	PESTE AMERICANA	PESTE EUROPEA	TARMA DELLA CERA	NON HA RISPOSTO
APA PAD	97			10	87
APAT - APICOLTORI IN VENETO	211			24	187
APAV VI	18			2	16
APAV VR	9			1	8
APIDOLOMITI	48				48
ASSOCIAZIONE APICOLTORI ASTICO BRENTA	29			6	23
ASSOCIAZIONE REGIONALE	114			1	113
IL FAVO	24			2	22
Totale complessivo	550			46	504
				(8,4%)	(91,6%)

L'8,4% degli apicoltori coinvolti ha evidenziato la presenza di tarma della cera alla domanda Q11 relativa alle malattie rilevate. Il 91,6% degli apicoltori non ha risposto a questa domanda, verosimilmente non avendo rilevato alcuna malattia.

6. Conclusioni

Dalla sintesi dei risultati delle analisi condotte sui 12 lotti di fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale presentati nella sezione 4.5 Risultati analitici della presente relazione, si evince che solo uno solo dei lotti analizzati risultava privo di qualsiasi possibile agente di disturbo contemplato dallo studio.

In tutti gli altri lotti risultavano presenti alcuni residui di sostanze attive in concentrazioni variabili. Un solo lotto ha evidenziato la presenza di modeste quantità di paraffine (~5%).

In nessun lotto è stata evidenziata la presenza di *Paenibacillus larvae*.

Relativamente alle sostanze attive e alle loro concentrazioni riscontrate nei vari lotti è possibile correlare la loro presenza a dati di tossicità presenti in letteratura (Tabella 12).

Tabella 12. Concentrazione delle diverse sostanze rilevate nei fogli cerei analizzati e corrispondente DL₅₀

<i>Sostanza rilevata</i>	<i>Concentrazioni (min-max)</i>	<i>DL₅₀*</i>
Bromopropilato	0,000 - 0,088 mg/kg	1830 mg/kg (C)
Clorfenvinfos	0,000 - 0,275 mg/kg	5,5 mg/kg
Cumafos	0,000 - 1,075 mg/kg	46 mg/kg
Tetrametrina	0,000 - 0,204 mg/kg	1,6 mg/kg (C)
Deltametrina	0,000 - 0,150 mg/kg	2,7 mg/kg
Fluvalinate	0,000 - 5,038 mg/kg	450 mg/kg
Cipermetrina	0,000 - 0,053 mg/kg	0,64 mg/kg
Permetrina	0,000 - 0,347 mg/kg	1,3 mg/kg
Pendimetalin	0,000 - 0,037 mg/kg	110 mg/kg
Clorpirifos metile	0,000 - 0,056 mg/kg	1,1 mg/kg
Fenpirossimato	0,000 - 0,034 mg/kg	1185 mg/kg
Tebufenpirad	0,000 - 0,108 mg/kg	18 mg/kg
Etofenprox	0,000 - 0,032 mg/kg	0,24 mg/kg
Piperonil butossido	0,000 - 0,809 mg/kg	170 mg/kg (C)

*DL₅₀: dose letale per il 50% della popolazione, normalmente riferita all'ingestione. Il simbolo (C) vicino al valore indica l'eventuale tossicità per contatto.

Dai confronti numerici si evince che nessuno dei principi attivi riscontrati, anche nei casi più rilevanti, era presente in quantità sufficienti a generare fenomeni di tossicità acuta. Nulla si può dire su possibili fenomeni di tossicità cronica in quanto non esistono sufficienti dati scientifici in letteratura atti a esprimere una valutazione di merito.

Gli apicoltori aderenti al progetto hanno restituito 550 questionari. Gli alveari coinvolti nel progetto sono stati 15.915 e sono stati distribuiti 20.540 fogli cerei convenzionali da nido. Di questi, 20.112 (97,9%) sono stati effettivamente inseriti negli alveari, nel periodo della progettualità 2018 - 2019. I 3.626 fogli cerei rimasti presso le associazioni assegnatarie nel 2018 sono stati utilizzati nella primavera 2019, come da richiesta di proroga del progetto (Prot. N. 17586/2018 del 17/12/2019). A chiusura del progetto, luglio 2019, sono rimasti ancora inutilizzati 428 fogli cerei (2,1% sui 20.540 distribuiti) per diversi motivi, tra cui indisponibilità degli apicoltori e inabilità permanente di un apicoltore.

Dal questionario emerge chiaramente che la tipologia di produzione prevalente nella regione Veneto è la produzione di miele con il 94,2% (518/550 apicoltori partecipanti). Se si considerano nel complesso tutti gli apicoltori partecipanti al progetto che producono miele, come unica attività o associata ad altra, si raggiunge il 97,8% (538/550).

Il numero di favi da nido sostituiti ogni anno per alveare con fogli cerei dagli apicoltori aderenti al progetto è pari a 2-3 in linea con le indicazioni della buona pratica apistica.

L'origine dei fogli cerei utilizzati dagli apicoltori è prevalentemente del commercio e, solo in misura decisamente minore, sono prodotti con la propria cera. Inoltre, in alcuni casi è stata dichiarata la certificazione degli stessi.

La maggiore attività di costruzione dei fogli cerei è stata osservata nei mesi di giugno e luglio. Una certa attività di costruzione è stata segnalata anche nel mese di agosto, mentre decisamente più bassa, come peraltro atteso, è stata l'attività registrata nei mesi di maggio e settembre.

La costruzione delle celle è stata riportata da quasi i 2/3 degli apicoltori coinvolti. Inoltre, l'85% degli apicoltori ha riportato il gradimento del foglio cereo da nido da parte delle api in termini di costruzione dello stesso, con una risposta negativa inferiore al 10%.

Fra i comportamenti anomali osservati, va citata la parziale costruzione dei fogli cerei da nido e, in misura minore, la irregolare o mancata costruzione degli stessi. Va ricordato a tal proposito che la distribuzione dei fogli cerei è avvenuta con un certo ritardo rispetto alla normale pratica apistica, condizione peraltro comunicata fin dall'inizio e condivisa dalle associazioni, a causa delle tempistiche connesse all'approvazione del progetto e all'acquisizione delle forniture di fogli cerei.

Tuttavia, a fine stagione il foglio cereo è risultato completamente costruito per 48% degli apicoltori coinvolti.

Relativamente alle malattie rilevate meno del 9% degli apicoltori coinvolti ha evidenziato la presenza di tarma della cera. Oltre il 90% degli apicoltori non ha risposto a questa domanda, verosimilmente non avendo rilevato alcuna malattia connessa alla sostituzione dei favi più vecchi con fogli cerei.

In conclusione si può affermare che la risposta da parte delle associazioni apicoltori della regione Veneto al progetto è stata buona, dimostrando interesse e attiva partecipazione, anche nella prosecuzione del progetto nell'anno successivo ai fini del completamento dell'attività programmata. Testimonianza ne è il ritorno dei questionari e il livello qualitativo della risposta ottenuta. Le caratteristiche dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale forniti dai sei produttori individuati si sono dimostrate in linea con quanto correntemente presente sul mercato sia pure con differenze fra i diversi lotti in termini di residui di pesticidi. Assenti ad eccezione di un lotto, ma comunque con livelli bassi, le paraffine. Assente in tutti i lotti, a conferma di una corretta procedura di lavorazione della cera, anche *Paenibacillus larvae*, agente della peste americana.

7. Ringraziamenti

Si ringraziano le Associazioni degli apicoltori della regione Veneto che hanno aderito e partecipato attivamente alla realizzazione del progetto con i loro Associati.

Allegato 1 Questionario



Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie
Centro regionale per l'apicoltura

Legge regionale 18 aprile 1994, n. 23 "Norme per la tutela, lo sviluppo e la valorizzazione dell'apicoltura"

DELIBERAZIONE DELLA GIUNTA REGIONALE n. 281 del 13 marzo 2018
(BUR n. 30 del 27/03/2018)

Progetto "Caratteristiche della cera d'api (fogli cerei) e possibili ricadute sull'allevamento delle api"

QUESTIONARIO

(Restituire all'Associazione di appartenenza entro il 15/09/2018)

Associazione _____
Cognome _____
Nome _____
Indirizzo _____
Città _____
Codice postale _____
Tel/Cell. _____
Mail _____
Sede dell'apiario _____
Codice aziendale _____

[1] Quanti apiari possiede?

[2] Numero totale di alveari

[3] Tipo di produzione prevalente

MIELE	
API REGINE	
IMPOLLINAZIONE	

[4] Quanti favi sostituisce all'anno per alveare?



[5] Origine fogli cerei utilizzati

PROPRI	
ACQUISTATI	
CERTIFICATI	

[6] Numero fogli cerei inseriti nell'ambito del Progetto (3 fogli per alveare)

N.

[7] Mese in cui le api hanno iniziato a costruire i nuovi fogli cerei

[8] Costruzione celle

SI	NO
----	----

[9] Gradimento del foglio cereo da parte delle api

SI	NO
----	----

[10] Comportamenti anomali osservati

Le api <u>non</u> hanno costruito il foglio cereo	
Le api hanno costruzione solo parzialmente il foglio cereo	
Foglio costruito in modo irregolare	
Foglio costruito completamente a fine stagione	

[11] Malattie rilevate

PESTE AMERICANA	
PESTE EUROPEA	
TARMA DELLA CERA	

INFORMATIVA

In riferimento al D.Lgs. n. 196 del 30.6.2003 e s.m.i. "Codice in materia di protezione dei dati personali", che reca disposizioni per la tutela delle persone e di altri soggetti rispetto al trattamento dei dati personali, questo Istituto ai sensi dell'art. 13 del sopra citato decreto informa che:

- i dati acquisiti saranno utilizzati dall'Istituto con finalità di ricerca per lo studio delle caratteristiche della cera d'api (fogli cerei) e possibili ricadute sull'allevamento delle api;
- le attività comportanti il trattamento dei dati conferiti sono svolte per conseguire finalità a carattere istituzionale;
- il trattamento dei dati è effettuato sia con strumenti informatici che cartacei da parte dei servizi dell'Istituto;
- il titolare del trattamento è l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie in persona del Direttore Generale con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10 e il Responsabile della SCS3 – Diagnostica Specialistica, Istopatologia e Parassitologia è il Dr. Franco Mutinelli;
- l'interessato potrà esercitare i diritti di cui all'art. 7 del D.Lgs. n. 196/2003 rivolgendosi all'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie con sede in Legnaro (PD) – Viale dell'Università, 10.