

Progetto

“Caratteristiche dei fogli cerei utilizzati dalle Associazioni apicoltori della Regione del Veneto in apicoltura convenzionale e biologica e possibili ricadute sull’allevamento delle api (CERAPI2022)”

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

Riferimenti normativi: L.R. n. 23 del 18/04/1994; art. 15 della legge 241/1990.

Deliberazione della Giunta Regionale n. 249 del 15 marzo 2022 (BUR n. 40 del 25 marzo 2022).

Sommario

| | | |
|-----|---|----|
| 1. | Introduzione | 2 |
| 2. | Finalità dell’azione | 3 |
| 3. | Attività previste | 3 |
| 4. | Enti coinvolti..... | 5 |
| 5. | Risultati minimi attesi..... | 6 |
| 6. | Distribuzione dei fogli cerei e indagini in campo sui fogli cerei distribuiti | 6 |
| 7. | Risultati | 7 |
| 7.1 | Analisi chimica..... | 7 |
| 7.2 | Analisi microbiologica | 7 |
| 7.3 | Analisi dei questionari..... | 7 |
| 8. | Considerazioni | 11 |
| 9. | Divulgazione | 11 |
| 10. | Conclusioni | 12 |
| 11. | Ringraziamenti | 12 |

L'IZSVe, Centro regionale per l'apicoltura di cui alla L.R. 23/94, in accordo con la Regione del Veneto, ha proposto una progettualità concordata con le forme associate del settore apistico della Regione Veneto presenti in Consulta che riguardi il coinvolgimento di tutto il territorio regionale.

Facendo seguito alle ricerche condotte nel 2018 sulla qualità dei fogli cerei per apicoltura convenzionale e nel 2020 su quella dei fogli cerei per apicoltura convenzionale e biologica presenti nel mercato, il presente progetto denominato "Caratteristiche dei fogli cerei utilizzati dalle associazioni apicoltori della regione Veneto in apicoltura convenzionale e biologica e possibili ricadute sull'allevamento delle api (CERAPI2022)" si è proposto di verificare la qualità dei fogli cerei presenti sul mercato ed utilizzati dalle associazioni apicoltori nonché il grado della loro accettazione, rispetto anche alle ricerche realizzate nel 2018 e nel 2020. Questa esigenza è nata dalla scarsa produzione di cera avutasi nella scorsa annata a causa dell'andamento stagionale che ha determinato anche una ridotta produzione di miele e che ha comportato un consistente utilizzo di fogli cerei di provenienza extraziendale. Al fine di una maggior tutela degli apicoltori si è quindi ritenuto opportuno proporre una ricerca che si focalizzi sui fogli cerei sia per apicoltura convenzionale sia biologica.

1. Introduzione

La cera d'api svolge diversi e complessi ruoli all'interno dell'alveare, 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 in apicoltura è il riutilizzo della cera dei favi per la fabbricazione di fogli cerei che vengono successivamente utilizzati nella pratica apistica. La cera d'api viene ampiamente impiegata anche in diversi settori industriali come farmacia, cosmetica ed industrie alimentari (ad esempio come additivo E901). 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).

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 dalle ghiandole ceripare delle api sotto forma di scaglie che vengono trasferite con le zampe anteriori alle loro mandibole, dove vengono masticate ed addizionate di secrezioni salivari, e quindi aggiunte al foglio cereo su cui vengono costruite le celle. 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 100 g di cera le api consumano l'equivalente di 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 Bonvehi e Orantes Bermejo, 2010, 2012; Maia e Nunes, 2013; Ravoet et al., 2015; Svečnjak et al., 2015; Svečnjak et al., 2019; Svečnjak et al., 2021; El Agrebi et al., 2021).

Per quanto riguarda la presenza di pesticidi, i dati sulla contaminazione della cera d'api da parte di sostanze farmacologicamente attive sono limitati rispetto agli studi sulla contaminazione del miele, e provengono per lo più da indagini a livello nazionale; questo 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. Tali sostanze possono migrare più o meno facilmente nel miele di conseguenza 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 (derivate da minerali, animali e piante) e sintetiche (derivate dal petrolio) 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, bianca o incolore) la rende una sostanza "ideale" per l'adulterazione. Altri adulteranti, come l'acido stearico, il sego o la cera microcristallina, 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, Svečnjak *et al.*, 2019). I risultati ottenuti in questi studi, suggeriscono l'urgente necessità di controlli di routine dell'autenticità della cera d'api.

Altro aspetto affrontato dal progetto è l'eventuale presenza di *Paenibacillus larvae*, batterio sporigeno responsabile di una malattia della covata, la peste americana, di particolare rilevanza in ambito apistico, e di *Nosema* spp., fungo sporigeno responsabile di due diverse manifestazioni cliniche nell'ape adulta. 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. Tuttavia, la cera riciclata, 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 *P. 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 (WOAH) e dall'Unione Europea. Protocolli di diagnosi riconosciuti a livello internazionale sono disponibili nel Manuale WOAH per i test diagnostici e i vaccini per gli animali terrestri (WOAH, 2016b). I metodi per rilevare il *P. larvae* nella cera d'api hanno implicazioni sia per la sterilità dei fogli cerei sia come valore prognostico. I metodi diagnostici applicabili alla cera per la determinazione di *Nosema* spp. sono stati aggiornati da Svečnjak *et al.* (2019).

2. Finalità dell'azione

La finalità del progetto ha riguardato la stesura di un quadro d'insieme sulle caratteristiche qualitative della cera d'api utilizzata in apicoltura, sia convenzionale che biologica, nel territorio della Regione Veneto, focalizzandosi sugli aspetti sanitari connessi alla presenza di residui di farmaci veterinari e fitofarmaci, di adulteranti come le paraffine, nonché su quella di agenti batterici e funghi di particolare rilevanza.

Altro aspetto oggetto di osservazione è stato la verifica dell'accettabilità dei fogli cerei da parte delle famiglie di api.

Per la realizzazione di quest'ultima attività sono stati coinvolti gli apicoltori, tramite le loro associazioni, ai quali è stato chiesto di verificare e dare riscontro, tramite specifico questionario, relativamente all'utilizzo, all'accettazione e costruzione da parte delle api dei fogli cerei distribuiti, con questo progetto, nella stagione apistica 2022.

3. Attività previste

3.1 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, sono stati 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.

Le Associazioni apistiche aderendo al protocollo di ricerca del progetto, hanno provveduto a individuare, con modalità trasparente e aperta a tutti i soci, gli apicoltori interessati a partecipare al progetto. Le stesse hanno garantito l'effettiva realizzazione delle attività previste e dettagliate dall'IZSVe in merito all'utilizzo e alla sostituzione dei fogli cerei stessi, coordinando gli apicoltori partecipanti nello svolgimento delle attività di osservazione e verifica al fine della puntuale compilazione del questionario inerente la ricerca.

I fogli cerei sono stati consegnati presso le Associazioni aderenti al progetto secondo una tempistica concordata con l'IZSVe. L'IZSVe verificherà l'avvenuta consegna e procederà a ritirare i DDT ed i campioni necessari ad eseguire i controlli previsti.

I questionari compilati dagli apicoltori aderenti al progetto dovranno essere restituiti all'IZSVe per il tramite delle Associazioni.

- 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.

- Presenza 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 ceresina, 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 GC-MS/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 (Waś *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 (Waś *et al.*, 2014).

- Presenza di *Paenibacillus larvae*

La rilevazione della presenza di *Paenibacillus larvae* viene effettuata mediante 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 campione viene quindi posto in bagnomaria a +70°C, agitando ogni 10 minuti per 30 minuti o fino a scioglimento completo della cera. Dopo raffreddamento 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 campione 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 dell'incubazione viene valutata la presenza di colonie riferibili a *P. larvae* (colonie piccole, regolari, prevalentemente ruvide, piatte o rilevate e di colore da biancastro a beige).

La morfologia delle colonie di per sé non è conclusiva, ma serve per selezionare le colonie batteriche su cui effettuare ulteriori test di conferma.

Test biochimico delle catalasi: una goccia di una soluzione 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. Le colonie di *P. larvae* risultano catalasi negative (nessuna formazione di bollicine di O₂) o mostrano una debole reazione ritardata in funzione del genotipo del batterio.

Colorazione di GRAM: le colonie sospette vengono sottoposte a colorazione di GRAM (allestire un vetrino per microscopio fissando su fiamma una colonia batterica stemperata in una goccia di soluzione fisiologica; coprire il vetrino con la soluzione cristalvioletto e lasciar agire per 1 minuto; lavare con acqua; coprire il vetrino con soluzione iodata e lasciar agire per 1 minuto; lavare con acqua; aggiungere etanolo goccia a goccia per pochi secondi; lavare con acqua; coprire il vetrino con la soluzione di safranina e lasciar agire per 1 minuto; lavare con acqua e lasciare asciugare all'aria), ed osservate al microscopico con obiettivo ad immersione 100x. *P. larvae* è un batterio GRAM positivo (blu-viola), con morfologia bastoncellare, con bacilli lunghi (1,5 - 6 µm) e sottili (larghezza 0,5 - 0,6 µm), disposti a singola cellula, ma più spesso in lunghi filamenti di diversa lunghezza.

- Presenza di *Nosema* spp.

La presenza di spore di *Nosema* spp viene effettuata mediante esame microscopico.

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). Incubare in bagnomaria a +70°C, agitando ogni 10 minuti, per 30 minuti o fino a scioglimento completo della cera. Lasciar raffreddare a temperatura ambiente per 2-4 ore e ottenuta un'evidente separazione liquido/solido, prelevare 2-5 mL di liquido, porli in una provetta sterile e addizionarli di un egual volume di acqua distillata sterile. Agitare per 5 minuti ed incubare in termostato a +90°C per 10 minuti. Dopo opportuno raffreddamento a temperatura ambiente, il campione è stato sottoposto ad esame microscopico (microscopio ottico con ingrandimento 60x) per rilevare la presenza di spore di *Nosema* spp. L'ulteriore identificazione di specie, *Nosema apis* e *Nosema ceranae*, si esegue con protocollo di biologia molecolare.

I fogli cerei sia convenzionali sia biologici saranno sottoposti alla stessa tipologia di analisi.

3.2 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 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 trasmesso alle associazioni un questionario precedentemente strutturato, da distribuire agli apicoltori in modo da poter raccogliere informazioni specifiche in merito alle modalità di utilizzo e di sostituzione dei fogli cerei stessi da parte dei partecipanti al progetto, nonché per 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.

3.3 Diffusione dei risultati

L'attività di laboratorio e di campo sarà integrata con eventi informativi/formativi diretti alle forme associate al fine di migliorare le conoscenze degli apicoltori relativamente alla cera, ai fogli cerei e al loro utilizzo nella pratica apistica corrente.

4. Enti coinvolti

La Regione del Veneto e il Centro regionale per l'apicoltura presso l'IZS delle Venezie, Legnaro in qualità di realizzatori del programma coinvolgeranno i seguenti soggetti:

- Le forme associate degli apicoltori della regione Veneto, al fine della realizzazione delle attività paragrafo 3.2;
- Quanti possano essere utili al raggiungimento degli obiettivi prefissati.

Competenze

Regione del Veneto

In qualità di coordinatore regionale, ha partecipato in affiancamento all'IZSVe alla predisposizione della progettualità, al coordinamento delle attività svolte in collaborazione con le forme associate, per il raggiungimento delle finalità dell'azione.

Centro regionale per l'apicoltura

L'IZS delle Venezie si è occupato della predisposizione del piano e della realizzazione delle attività sopra indicate a supporto alle associazioni degli apicoltori.

5. 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, sono stati analizzati in modo integrato al fine di fornire un quadro sulle caratteristiche qualitative della cera d'api utilizzata nel territorio veneto sia in apicoltura convenzionale sia in quella biologica.

E' stata posta attenzione sugli aspetti sanitari connessi alla presenza di residui di farmaci veterinari, 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 sono esposti nella presente relazione.

6. Distribuzione dei fogli cerei e indagini in campo sui fogli cerei distribuiti

I fogli cerei per apicoltura convenzionale e biologica acquistati (tabella 1), suddivisi per produttore, sono stati consegnati alle forme associate in modo da assicurare il coinvolgimento di tutto il territorio regionale, con le modalità dettagliate nell'atto di impegno alla partecipazione al progetto che era stato sottoscritto dalle medesime associazioni.

I fogli cerei sono stati consegnati dalle ditte produttrici direttamente alle 11 Associazioni apicoltori della regione del Veneto aderenti al progetto fra il 26/05/2022 e il 15/07/2022.

Tabella 1 – Quantitativi di fogli cerei distribuiti per apicoltura convenzionale e biologica alle Associazioni di apicoltori aderenti al progetto.

| | FOGLI CEREI PER APICOLTURA CONVENZIONALE QUANTITÀ CONSEGNA (KG) | FOGLI CEREI PER APICOLTURA BIOLOGICA QUANTITÀ CONSEGNA (KG) |
|---------------|---|---|
| TOTALE | 2.230 | 200 |

La distribuzione e l'utilizzo dei fogli cerei ha coinvolto circa il 17% degli apicoltori iscritti alle Associazioni della regione del Veneto e aderenti al progetto (n. 6.700 soci delle associazioni e n. 1.186 soci partecipanti).

Assieme ai fogli cerei, è stato distribuito agli apicoltori un questionario che ha facilitato la raccolta delle informazioni specifiche non solo relative all'apicoltore, all'apiario in cui i fogli cerei sono stati utilizzati, alle modalità e tempi di utilizzo, ma anche relative alle osservazioni e valutazioni effettuate nel corso dello studio e su eventuali anomalie riscontrate.

7. Risultati

7.1 Analisi chimica

I risultati delle analisi chimiche eseguite sui campioni di fogli cerei consegnati a ciascuna associazione hanno fornito i risultati riportati nella tabella 10.

Per quanto riguarda gli eventuali residui di fitofarmaci si denota che la cera convenzionale contiene un numero di principi attivi e relative concentrazioni che variano molto da produttore a produttore. Si evidenzia tuttavia che i principi attivi e le concentrazioni rilevate sia pur con variazioni si mantengono abbastanza costanti negli anni e non si rilevano ad oggi segnali di un possibile impatto sullo sviluppo e forza delle famiglie. Inoltre, è utile sottolineare che ormai da tempo c'è una crescente attenzione verso la qualità della cera utilizzata per la produzione dei fogli cerei che si realizza attraverso la selezione dei fornitori. Relativamente alle forniture di cera biologica si può notare che anche in questa vi è la presenza, anche se in piccolissime quantità, di residui di principi attivi. Ciò conferma la difficoltà per chi vuole produrre in regime di apicoltura biologica di reperire sul mercato cere prive di sostanze attive residuali.

Dal punto di vista delle tipologie di residui, si sottolinea come vi sia una presenza di sostanze di sintesi riconducibili sia ai trattamenti realizzati per il controllo della infestazione da *Varroa destructor* sia a quelli destinati alla protezione delle colture. Tra i principi attivi rilevati, piretroidi ed esteri fosforici sono una costante in quasi tutti i fogli cerei per apicoltura convenzionale. Residui, anche se in misura minore per numero di principi attivi e concentrazione, sono riscontrati talvolta nei fogli cerei per apicoltura biologica.

L'analisi delle paraffine non ha evidenziato particolari presenze anomale in alcun campione.

7.2 Analisi microbiologica

Nei campioni analizzati non è mai stata rilevata la presenza né del batterio *Paenibacillus larvae*, responsabile della peste americana delle api, né del fungo *Nosema* spp., responsabile della nosemiasi.

7.3 Analisi dei questionari

L'analisi dei questionari distribuiti ai partecipanti al Progetto e successivamente restituiti compilati (Tabella 2) ha permesso la raccolta e valutazione di diverse informazioni relative alle pratiche apistiche adottate dagli apicoltori operanti nel territorio veneto. La percentuale di ritorno dei questionari è stata prossima al 98%.

Tabella 2 – Numero di questionari raccolti

| | N. APICOLTORI CHE HANNO PARTECIPATO AL PROGETTO | N. QUESTIONARI RESTITUITI |
|---------------------------|---|---------------------------|
| Totale complessivo | 1186 | 1161 |
| | Percentuale di restituzione | 97,9% |

Nella Tabella 3 sono elencate le principali attività produttive dell'apicoltura e la loro pratica presso gli apicoltori partecipanti al progetto. Come si può osservare, l'attività predominante rimane la produzione di miele, dichiarata dal 95,1% degli apicoltori che hanno partecipato al progetto.

Tabella 3 - Tipo di produzione prevalente

| | MIELE | API REGINE | IMPOLLINAZIONE | GELATINA REALE | MIELE E API REGINE | MIELE E IMPOLLINAZIONE | MIELE, API REGINE E IMPOLLINAZIONE | MIELE E GELATINA REALE | NON INDICATO |
|-------------------|--------------|-------------|----------------|----------------|--------------------|------------------------|------------------------------------|------------------------|--------------|
| Totale apicoltori | 1104 | 1 | 5 | | 12 | 22 | 2 | 2 | 13 |
| | 95,1% | 0,1% | 0,4% | 0,0% | 1,0% | 1,9% | 0,2% | 0,2% | 1,1% |

Le informazioni che si ricavano dalla Tabella 4 riguardano l'origine dei fogli cerei utilizzati: oltre il 70% dei partecipanti utilizza in parte o totalmente fogli cerei acquistati dal mercato, certificati e non. I restanti apicoltori preferiscono prepararsi in casa il foglio cereo da utilizzare.

L'utilizzo di fogli cerei certificati, cioè accompagnati da un certificato di analisi che ne attesti le caratteristiche, risulta poco frequente.

Tabella 4 - Origine dei fogli cerei utilizzati

| | FOGLI CEREI PROPRI | FOGLI CEREI ACQUISTATI | FOGLI CEREI CERTIFICATI | FOGLI CEREI PROPRIE ACQUISTATI | FOGLI CEREI PROPRIE CERTIFICATI | FOGLI CEREI ACQUISTATI E CERTIFICATI | NON INDICATO |
|-------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|--------------|
| Totale apicoltori | 169 | 831 | 32 | 50 | 12 | 11 | 56 |
| | 14,6% | 71,6% | 2,8% | 4,3% | 1,0% | 0,9% | 4,8% |

La Tabella 5 evidenzia il periodo di utilizzo dei fogli cerei da parte delle api inteso come inizio della costruzione delle celle. Questo dato risente dei tempi di distribuzione dei fogli cerei da parte delle associazioni degli apicoltori. Infatti, i fogli cerei sono stati consegnati dalle ditte produttrici alle associazioni di apicoltori fra 26/05/2022 e il 15/07/2022.

Tabella 5 – Mese in cui le api hanno iniziato a lavorare i nuovi fogli cerei

| | GIUGNO 2022 | GIUGNO/LUGLIO 2022 | LUGLIO 2022 | LUGLIO/AGOSTO 2022 | AGOSTO 2022 | AGOSTO/SETTEMBRE 2022 | SETTEMBRE 2022 | NON INDICATO |
|-------------------|-------------|--------------------|--------------|--------------------|--------------|-----------------------|----------------|--------------|
| Totale apicoltori | 45 | 8 | 326 | 30 | 469 | 30 | 35 | 218 |
| | 3,9% | 0,7% | 28,1% | 2,6% | 40,4% | 2,6% | 3,0% | 18,7% |

La Tabella 6 riporta i dati relativi alla costruzione o meno, da parte delle api, delle celle nei nuovi fogli cerei introdotti nell'alveare. La costruzione delle celle è stata registrata nel 37,4% dei casi, mentre la segnalazione della iniziale mancata costruzione di celle è stata indicata dal 52,5% dei partecipanti. Purtroppo nel 10,1% dei questionari questa informazione non è stata fornita.

Tabella 6 – Costruzione delle celle nei nuovi fogli cerei.

| | N. APICOLATORI | % |
|---------------------|----------------|--------------|
| CELLE COSTRUITE | 434 | 37,4% |
| CELLE NON COSTRUITE | 610 | 52,5% |
| NON INDICATO | 117 | 10,1% |

La Tabella 7 riassume se e come le api hanno costruito il foglio cereo in base a quanto osservato dagli apicoltori.

Tabella 7 - Modalità con cui le api hanno costruito il foglio

| | Le api hanno costruito il foglio cereo in modo regolare | Le api NON hanno costruito il foglio cereo | Le api hanno costruito solo parzialmente il foglio cereo | Le api hanno costruito in modo irregolare il foglio cereo | Le api hanno costruito completamente il foglio cereo a fine stagione | NON INDICATO |
|-------------------|---|--|--|---|--|--------------|
| Totale apicoltori | 875 | 48 | 174 | 19 | 32 | 13 |
| | 75,4% | 4,1% | 15,0% | 1,6% | 2,8% | 1,1% |

Nella Tabella 8 si evidenzia il numero di favi sostituiti ogni anno per alveare dagli apicoltori aderenti al progetto. La sostituzione di 3 fogli cerei da nido rappresenta la pratica apistica maggiormente diffusa: 3 fogli 486 apicoltori (41,9%), 2 fogli 332 apicoltori (28,6%) e 2-3 fogli 124 apicoltori (10,7%).

Tabella 8 – Numero favi sostituiti all'anno per alveare

| NUMERO FAVI SOSTITUITI ALL'ANNO PER ALVEARE | N. APICOLTORI | % |
|---|---------------|-------|
| 0 | 12 | 1,0% |
| 1 | 42 | 3,6% |
| 2 | 332 | 28,6% |
| 3 | 486 | 41,9% |
| 4 | 28 | 2,4% |
| 5 | 9 | 0,8% |
| 1-2 | 49 | 4,2% |
| 2-3 | 124 | 10,7% |
| 2-4 | 1 | 0,1% |
| 3-4 | 23 | 2,0% |
| 4-5 | 2 | 0,2% |
| 6-7 | 1 | 0,1% |
| NON INDICATO | 52 | 4,5% |

Il 2,5% degli apicoltori partecipanti ha evidenziato la presenza di tarma della cera alla domanda relativa alle malattie rilevate. Il 97,5% degli apicoltori non ha risposto a questa domanda, verosimilmente non avendo rilevato alcuna malattia (Tabella 9).

Tabella 9 – Malattie rilevate

| MALATTIE RILEVATE | N. APICOLTORI | % |
|-----------------------------|---------------|-------|
| PESTE AMERICANA | 0 | 0% |
| PESTE EUROPEA | 0 | 0% |
| TARMA DELLA CERA | 29 | 2,5% |
| NON INDICATO / NON RILEVATO | 1132 | 97,5% |

Tabella 10 – Risultati delle analisi chimiche eseguite sui fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale e biologica, sui diversi lotti acquistati.

| Lotti | Tipologia foglio cereo | Fitofarmaci | Paraffine |
|-------|------------------------|--|-----------|
| 1 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,044 mg/kg - Coumaphos 1,024 mg/kg - Bromoprophylate 0,026 mg/kg - Fluvalinate 1,146 mg/kg - Permethrin 0,038 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,020 mg/kg | < 5% |
| 2 | CONVENZIONALE | Coumaphos 2,652 mg/kg - Fluvalinate 1,944 mg/kg - Permethrin 0,043 mg/kg - Tetramethrin 0,057 mg/kg - Amitraz 0,032 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,243 mg/kg - Fenpyroximate 0,073 mg/kg | < 5% |
| 3 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,012 mg/kg - Bromopropylate 0,028 mg/kg - Coumaphos 0,965 mg/kg - Fluvalinate 0,878 mg/kg - Permethrin 0,047 mg/kg - Amitraz 0,028 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,049 mg/kg - Fenpyroximate 0,016 mg/kg | < 5% |
| 4 | BIOLOGICA | Negativo <0,010 mg/kg | < 5% |
| 5 | CONVENZIONALE | Coumaphos 0,235 mg/kg - Fluvalinate 0,196 mg/kg - Permethrin 0,045 mg/kg | < 5% |
| 6 | BIOLOGICA | Fluvalinate 0,026 mg/kg - Permethrin 0,041 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,019 mg/kg | < 5% |
| 7 | CONVENZIONALE | Fluvalinate 0,095 mg/kg - Coumaphos 0,050 mg/kg - Permethrin 0,015 mg/kg | < 5% |
| 8 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,154 mg/kg - Fluvalinate 0,135 mg/kg - Permethrin 0,020 mg/kg - Cipermethrin 0,026 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,015 mg/kg - Amitraz 0,034 mg/kg | < 5% |
| 9 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,030 mg/kg - Coumaphos 1,232 mg/kg - Fluvalinate 2,102 mg/kg - Permethrin 0,066 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,034 mg/kg - Fenpyroximate 0,016 mg/kg | < 5% |
| 10 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,028 mg/kg - Coumaphos 0,261 mg/kg - Fluvalinate 0,728 mg/kg - Permethrin 0,098 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,012 mg/kg | < 5% |
| 11 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,024 mg/kg - Coumaphos 0,355 mg/kg - Bromoprophylate 0,020 mg/kg - Fluvalinate 0,575 mg/kg - Permethrin 0,037 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,010 mg/kg - Amitraz 0,036 mg/kg | < 5% |
| 12 | BIOLOGICA | Chlorfenvinphos 0,012 mg/kg - Coumaphos 0,039 mg/kg - Fluvalinate 0,017 mg/kg | < 5% |
| 13 | CONVENZIONALE | Bromopropylate 0,012 mg/kg - Coumaphos 1,835 mg/kg - Fluvalinate 1,296 mg/kg - Permethrin 0,062 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,072 mg/kg - Fenpyroximate 0,036 mg/kg | < 5% |
| 14 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinphos 0,013 mg/kg - Permethrin 0,022 mg/kg | < 5% |
| 15 | BIOLOGICA | Fluvalinate 0,026 mg/kg - Permethrin 0,041 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,019 mg/kg | < 5% |
| 16 | CONVENZIONALE | Negativo <0,010 mg/kg | < 5% |
| 17 | CONVENZIONALE | Chlorfenvinfos 0,021 mg/kg - Permethrin 0,040 mg/kg - Fluvalinate 0,740 mg/kg - Coumaphos 0,265 mg/kg - Piperonyl-butoxide 0,016 mg/kg | < 5% |

8. Considerazioni

Nel corso della presentazione del progetto alle Associazioni apicoltori della regione del Veneto era stato concordato di ricorrere all'acquisto sul mercato di fogli cerei da nido destinati all'apicoltura convenzionale e biologica, sulla base delle specifiche indicazioni da parte di ciascuna associazione apistica in merito alle ditte produttrici a cui rivolgersi.

Le associazioni hanno indicato in totale n. 8 ditte produttrici a cui l'IZSVe si è rivolto procedendo all'acquisto dei fogli cerei per ciascuna associazione degli apicoltori secondo le indicazioni ricevute.

I fogli cerei sono stati consegnati a ciascuna associazione fra il 26 maggio e il 15 luglio 2022, direttamente dalle ditte produttrici alle associazioni apistiche, senza essere accompagnati dai risultati delle analisi, in funzione alle tempistiche del progetto.

L'effettuazione delle analisi, precedentemente alla consegna dei fogli cerei alle associazioni, che avrebbe richiesto 15 giorni lavorativi, avrebbe di fatto impedito la realizzazione del progetto in quanto ci si sarebbe trovati in piena stagione attiva per gli apicoltori e quindi nella impossibilità di inserire utilmente i fogli cerei negli alveari. Si sottolinea inoltre che le ditte fornitrici dei fogli cerei sono state indicate da ogni singola associazione e si tratta quindi di fornitori noti e ritenuti affidabili dalle associazioni stesse.

L'IZSVe, come anticipato nel corso della presentazione del progetto, ha eseguito le analisi previste dirette a valutare la presenza di fitofarmaci e antiparassitari, paraffine, di agenti patogeni quali *Paenibacillus larvae* (batterio responsabile della peste americana) e *Nosema spp.* (fungo responsabile della nosemiosi).

Il progetto prevedeva la comunicazione dei risultati analitici alle associazioni solo al termine dello stesso, salvo si fossero rilevate criticità anomale rispetto a quanto mediamente rilevato nei fogli cerei da nido destinati ad apicoltura convenzionale e biologica presenti in commercio.

È utile ricordare che attualmente non sono normati, né a livello nazionale né a livello di Unione Europea, i limiti per quanto riguarda la presenza di residui di fitofarmaci, antiparassitari o paraffine nella cera utilizzata per la produzione di fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale. Attualmente gli unici prodotti dell'apicoltura per i quali esistono limiti di legge per le sostanze fitoiatriche e gli antiparassitari sono il miele, il miele in favo, il polline e la pappa reale. Tali limiti sono descritti negli allegati del Regolamento (CE) N. 396/2005 e successive modifiche, concernenti i livelli massimi di residui di antiparassitari nei o sui prodotti alimentari e mangimi di origine vegetale e animale.

È possibile la consultazione di tali dati anche sul sito della Commissione Europea, nel database che raccoglie tutte le informazioni di questo regolamento (https://food.ec.europa.eu/plants/pesticides/eu-pesticides-database_en).

La cera come tale, oppure il veleno o le api stesse non sono contemplate dalla normativa in questione e giustamente, in quanto il regolamento (CE) N. 396/2005 è normativa di riferimento in materia di sicurezza di alimenti e mangimi.

Considerato che non sono state rilevate criticità particolari, che i fogli cerei non costituiscono un alimento come già detto in precedenza, non si rilevano ricadute sugli apicoltori e sulla conduzione degli alveari né sulla salute pubblica. Inoltre, nell'attività di monitoraggio del progetto, non sono state segnalate né rilevate risposte negative da parte delle associazioni e degli associati aderenti.

9. Divulgazione

In occasione dell'evento "I giorni del miele" tenutosi a Lazise del Garda (VR) il 30 settembre - 2 ottobre 2022, il personale (Dr.ssa Martinello, Dr.ssa Manzinello, Sig.ra Dainese, Sig.ra Giuliani) del Centro regionale per l'apicoltura/Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie ha svolto, presso lo stand messo a disposizione dall'amministrazione comunale di Lazise, attività di informazione e divulgazione per gli apicoltori della regione Veneto e le loro associazioni in merito al progetto CERAPI di cui alla presente relazione. Si è trattato di una buona opportunità per far conoscere le attività del Centro e in particolare le caratteristiche e i risultati del progetto CERAPI.

Sono poi stati partecipati vari incontri sul nel territorio regionale nonché convegni di settore (Apimondia) in relazione al presente progetto.

A conclusione delle attività, sono stati presentati i risultati del progetto alle Associazioni degli apicoltori del Veneto al fine di fornire riscontro delle attività svolte dagli apicoltori e fornire utili indicazioni derivanti dalla ricerca svolta.

10. Coinvolgimento del personale

Il presente progetto ha visto il coinvolgimento del personale della Regione, Direzione Agroalimentare, e dell'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie nella realizzazione delle attività, svolte in collaborazione con le forme associate, e nella diffusione dei risultati.

L'Amministrazione regionale ha partecipato finanziariamente con un importo pari ad euro 70.000,00

Inoltre l'Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie ha contribuito alla realizzazione del progetto "Caratteristiche dei fogli cerei utilizzati dalle associazioni apicoltori della Regione del Veneto in apicoltura convenzionale e biologica e possibili ricadute sull'allevamento delle api (CERAPI2022)" di cui alla DGR n° 249 del 15 marzo 2022, con il personale dipendente a tempo indeterminato per un costo pari a 7.900,00 euro.

11. Conclusioni

Gli apicoltori aderenti al progetto sono stati 1.186 e hanno restituito 1.161 questionari. Sono stati distribuiti 2.230 kg di fogli cerei convenzionali da nido e 200 kg di fogli cerei biologici da nido.

Dal questionario emerge chiaramente che fra gli apicoltori che hanno aderito al progetto la tipologia di produzione prevalente, nella regione Veneto, è quella di miele con il 95,1%. Questa percentuale raggiunge il 98,4%, se si considerano tutti gli apicoltori partecipanti al progetto che producono miele, come unica attività o associata ad altra.

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 delle celle sui nuovi fogli cerei (71,1%) è stata osservata fra luglio e agosto, in funzione dei tempi di fornitura dei fogli e dello sviluppo delle colonie.

Tuttavia, a fine stagione i fogli cerei sono risultati completamente costruiti nell'81,3% degli apicoltori che hanno risposto al questionario.

Per quanto riguarda le malattie, il 2,5% degli apicoltori coinvolti ha evidenziato la presenza di tarma della cera, mentre il 97,5% non ha risposto a questa domanda, verosimilmente non avendo rilevato alcuna malattia.

In conclusione si può affermare che la risposta da parte delle associazioni degli apicoltori della regione del Veneto al progetto è stata buona, dimostrando interesse e partecipazione, come dimostrato dal ritorno dei questionari e dalla qualità delle risposte ottenute.

Le caratteristiche dei fogli cerei da nido per apicoltura convenzionale e biologica, forniti dagli otto produttori individuati dalle associazioni, si sono dimostrate in linea con quanto correntemente presente sul mercato sia pure con differenze fra le diverse forniture in termini di residui di pesticidi. Facendo un confronto con quanto analizzato nel 2020, si denota come non vi siano significative differenze dal punto di vista residuale, sia in termini di tipologia di molecole sia della loro quantità, ad eccezione di coumaphos e fluvalinate che sono stati riscontrati in concentrazioni superiori a 1 mg/kg nel 30% dei fogli cerei convenzionali analizzati. Come nel progetto CERAPI 2020, è stata riscontrata la presenza di piretroidi che, nel presente progetto, interessa il 92% dei fogli cerei convenzionali analizzati in concentrazioni variabili da 0,020 a 0,098 mg/kg.

I fogli cerei per apicoltura biologica analizzati hanno presentato residui in concentrazioni inferiori a 0,050 mg/kg.

Le paraffine sono risultate assenti.

A conferma di una corretta procedura di lavorazione della cera, in tutti i campioni di fogli cerei non è stata rilevata la presenza di *Paenibacillus larvae* e di *Nosema* spp, agenti responsabili, rispettivamente, della peste americana e della nosemiasi.

12. Ringraziamenti

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

Il Direttore
Dr. Franco Mutinelli

*Documento sottoscritto digitalmente ai sensi
del D.Lgs. 82/2005 s.m.i. e norme collegate*