



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Territorio e Sistemi Agro-Forestali

CORSO DI LAUREA IN

Scienze e Tecnologie Viticole ed Enologiche

Le api nei vigneti: indagini preliminari

**Relatore
Prof. Carlo Duso**

**Laureanda
Malenza Giulia Vittoria**

Matricola n. 1164436

ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INDICE

RIASSUNTO.....	4
ABSTRACT	5
CAPITOLO 1 – I POSSIBILI RUOLI DELL’APE IN VIGNETO	6
1.1 L’APE COME INDICATORE AMBIENTALE.....	6
1.2 INFLUENZA DELL’IMPOLLINAZIONE ENTOMOFILA SULL’ALLEGAGIONE, SULLA RESA, SULLA SALUBRITÀ DELL’UVA	7
1.3 IMPORTANZA DEGLI INSETTI IMPOLLINATORI E LORO INTERAZIONI CON I COMPOSTI VOLATILI DELLE INFIORESCENZE NELLA VITE SELVATICA (<i>Vitis vinifera</i> <i>subsp. sylvestris</i>).....	10
1.4 EFFETTI POSITIVI DEI PRODOTTI DEL VIGNETO SUGLI IMPOLLINATORI: IL RESVERATROLO PUÒ ALLUNGARE LA VITA DELL’APE E UN LIEVITO NATURALMENTE PRESENTE NELL’UVA PUÒ MIGLIORARE QUALITATIVAMENTE IL MIELE FERMENTATO	12
CAPITOLO 2 - EFFETTI DEI PRODOTTI FITOSANITARI SUGLI IMPOLLINATORI	15
2.1 ESPOSIZIONE DELLE API AI PRODOTTI FITOSANITARI E LORO PERICOLOSITÀ	15
2.2 INSETTICIDI	17
2.2.1 INIBITORI DELL’ACETILCOLINESTERASI: ESTERI FOSFORICI E CARBAMMATI	17
2.2.2 I PIRETROIDI	18
2.2.3 I REGOLATORI DELLA CRESCITA (IGR).....	19
2.2.4 NEONICOTINOIDI E BUTENOLIDI	22
2.2.5 SPINOSINE, INIBITORI DELLA SINTESI DEI LIPIDI E DIAMMIDI: SPINOSAD, SPIROTETRAMAT E CLORANTRANILIPROLE	26
2.2.6 PRODOTTI DI ORIGINE VEGETALE: PIRETRINE E AVERMECTINE.....	27
2.3 FUNGICIDI ED ERBICIDI	28
CAPITOLO 3 – DECLINO DEGLI IMPOLLINATORI E LORO CONSERVAZIONE	31
3.1 FATTORI ASSOCIATI AL DECLINO DEGLI IMPOLLINATORI	31
3.2 LA LOTTA BIOLOGICA E L’APE.....	32
3.3 LOTTA INTEGRATA	35
3.4 VITICOLTURA BIOLOGICA, BIODINAMICA, CONSERVATIVA E DI PRECISIONE.....	37
3.5 MISURE AGRONOMICHE ATTUABILI PER IMPLEMENTARE LA BIODIVERSITÀ E LA PRESENZA DEGLI IMPOLLINATORI ALL’INTERNO DEL PAESAGGIO VITICOLO	41
4. CONCLUSIONI.....	43
BIBLIOGRAFIA	45

RIASSUNTO

Gli Apoidei svolgono un ruolo fondamentale negli ecosistemi naturali attraverso i processi di impollinazione e incidono significativamente sulla quantità e qualità della produzione agricola mondiale. Inoltre, la ricchezza e la diversità degli Apoidei e, in generale, dei pronubi sono un ottimo indicatore dello stato di salute dell'ambiente.

Negli ultimi anni è stato osservato un progressivo declino delle popolazioni di impollinatori per svariate cause, tra le quali sono importanti la gestione agricola intensiva e l'uso di prodotti fitosanitari, l'inquinamento ambientale, i cambiamenti climatici, le trasformazioni nell'uso del suolo e la semplificazione del paesaggio.

Per questa ragione, organizzazioni come la FAO hanno promosso iniziative per la conservazione dei pronubi negli agroecosistemi e a favore della diffusione di pratiche agricole sostenibili con l'obiettivo di salvaguardare la presenza e la biodiversità di questi insetti. Si persegue l'attuazione di misure quali l'uso sostenibile dei fitofarmaci, l'incentivazione dell'agricoltura biologica ed ecosostenibile, il mantenimento della biodiversità naturale e la riduzione dell'inquinamento ambientale.

In questo lavoro si analizzano le potenzialità e le criticità associate alla presenza degli impollinatori in vigneto, valutando i possibili ruoli dell'ape ma anche gli effetti legati all'impiego dei prodotti fitosanitari su questi insetti, soffermandosi anche sugli accorgimenti che si possono attuare per incrementarne e favorirne la presenza in questo determinato contesto.

ABSTRACT

Apoids play a fundamental role in natural ecosystems through pollination processes and significantly affect the quantity and quality of global agricultural production. In addition, the richness and diversity of apoids and pollinators are indicators of environmental health.

Recently, a progressive and abrupt decline in pollinator populations has been observed due to a variety of causes, the most important being intensive agricultural management and the use of plant protection products, environmental pollution, climate change, land-use transformations and simplification of the landscape.

For this reason, organizations such as the FAO have promoted projects for the preservation of pollination services in agro-ecosystems and in favor of the spread of sustainable agricultural practices with the aim of safeguarding the presence and biodiversity of these insects. Among these measures we can cite the sustainable use of plant protection products, the promotion of organic and eco-sustainable agriculture, the maintenance of natural biodiversity and the reduction of environmental pollution.

In this work we analyze the potential associated with the presence of pollinators in vineyards, evaluating the possible role of bees but also the effects associated to the use of plant protection products on these insects, also dwelling on the possible tools that can be implemented to increase and favor their presence in this specific context.

CAPITOLO 1 – I POSSIBILI RUOLI DELL’APE IN VIGNETO

1.1 L’APE COME INDICATORE AMBIENTALE

Negli ultimi anni, i cambiamenti climatici e le tecniche di utilizzo del suolo hanno portato a trasformazioni dei paesaggi agricoli e a ripercussioni sulla biodiversità.

Tra gli insetti utilizzati come indicatori dell’impatto delle attività antropiche sulla biodiversità vi sono gli impollinatori, come l’ape selvatica e i bombi (Talašová et al., 2018). Il crescente declino degli impollinatori è causato soprattutto dall’intensificazione dell’agricoltura, motivo per cui è fondamentale attuare tutta una serie di misure che permettano di salvaguardare la biodiversità, al fine di garantire il mantenimento dei servizi ecosistemici come l’impollinazione. A tale proposito, la presenza delle api selvatiche viene preservata sia dal mantenimento di habitat di qualità in prossimità delle aree coltivate, sia dall’impiego di metodi di allevamento che contrastano l’impatto della coltivazione intensiva e delle monocolture.

Per mantenere sotto controllo la presenza degli impollinatori, sono richiesti programmi di monitoraggio pluriennali. Confrontando l’impiego di vari metodi di campionamento all’interno di aree viticole, le *pan traps* e le *hand nets* si sono rivelati i sistemi più adatti per avere una maggiore accuratezza e precisione dei dati raccolti. Per un corretto monitoraggio, è molto importante che le trappole siano sufficientemente grandi ($\varnothing > 12$ cm) e che vengano collocate a livello dei fiori per un arco di tempo superiore ai due giorni. Particolare attenzione va anche al loro colore: giallo, bianco e blu vanno bene se utilizzati insieme, ma il giallo da solo è molto più efficiente ed è inoltre importante che questi colori riflettano i raggi UV (Krahner et al., 2021).

Oltre ad avere un ruolo fondamentale nella stima del grado di biodiversità di un determinato territorio, gli impollinatori sono anche degli ottimi bioindicatori dell’inquinamento ambientale. L’ape può essere considerata sia un indicatore biologico che un insetto-test, poiché rappresenta allo stesso tempo “un organismo che non comunica un'emergenza singola, ma una costellazione di emergenze” e “un rilevatore singolare” (Celli et al., 1991). Questo insetto è particolarmente sensibile ai pesticidi ed è in grado di segnalare il deterioramento dell’ambiente in cui vive attraverso un’elevata mortalità, associata prevalentemente all’impiego di insetticidi, o tramite i residui di agrofarmaci e di altri agenti inquinanti che si possono trovare nel miele, nel polline e nelle larve. Questi sono gli elementi chiave che permettono di effettuare una radiografia dell’ambiente che circonda l’alveare. Infatti, l’ape è attiva in tutto il territorio circostante all’alveare, coprendo un’area fino a 7 km² (Celli et al., 2003). Uscendo dall’alveare raccoglie nettare e polline dai fiori, propoli da varie specie

botaniche e allo stesso tempo assorbe casualmente particelle sospese nell'aria con i suoi peli corporei, fornendo ai ricercatori dei veri e propri campioni che permettono di valutare, attraverso delle analisi chimiche, la presenza di residui associati alle sostanze inquinanti utilizzate in ambito agricolo. Se l'ape viene direttamente colpita da un insetticida in campo, morirà in campo o durante il volo di ritorno nell'alveare, mentre se viene colpita solo marginalmente morirà nell'alveare; in questi casi l'ape funge da indicatore diretto dell'inquinamento ambientale. Se invece viene esposta a prodotti non particolarmente tossici, rappresenterà un indicatore indiretto (Porrini, 2009). È possibile così ottenere numerose informazioni riguardanti il livello di mortalità delle api e i principi attivi responsabili, i periodi e le zone ad alto rischio, le colture trattate e gli errori degli agricoltori nella gestione fitoiatrica. Si può anche valutare, con specifici indici, il grado di inquinamento ambientale.

1.2 INFLUENZA DELL'IMPOLLINAZIONE ENTOMOFILA SULL'ALLEGAGIONE, SULLA RESA, SULLA SALUBRITÀ DELL'UVA

Per allegagione si intende quella specifica e delicata fase fenologica in cui i fiori, normalmente impollinati, danno origine al frutto. L'infiorescenza della vite presenta centinaia di fiori ma durante il processo di allegagione solo una percentuale relativamente bassa di questi si trasforma in acino. Tutto ciò è supportato dal numero piuttosto basso di acini per grappolo rispetto al numero di fiori nell'infiorescenza. La percentuale di allegagione può essere influenzata da diversi fattori come la varietà, le condizioni climatiche durante la fioritura, lo stato nutrizionale della vite. Fioritura ed allegagione sono le fenofasi più importanti perché hanno una grande influenza sulla resa e sulla qualità dell'uva ed entrambe sono fortemente influenzate dal clima e dal successo dell'impollinazione. L'impollinazione della vite avviene normalmente per via anemofila, anche se in alcuni casi l'apporto dei pronubi può essere di fondamentale importanza.

Bisogna infatti specificare che la vite domestica europea (*Vitis vinifera subsp. sativa*) possiede fiori ermafroditi e quindi produce frutti per autofecondazione mentre la vite selvatica (*Vitis vinifera subsp. sylvestris*) porta fiori femminili e maschili in piante separate.

In linea generale, la vite rappresenta una coltura altamente produttiva che porta ad una grande quantità di frutti in seguito all'impollinazione ma negli ultimi decenni è stata osservata una riduzione sia dell'impollinazione che del tasso di allegagione in molte varietà (Dobrei et al., 2021). Le api mellifere possono contribuire direttamente all'accorciamento delle fasi di fioritura ed allegagione, fenomeno positivo per ottenere un alto tasso di impollinazione. In Romania sono stati condotti degli studi su alcune varietà di vite come Moscato d'Amburgo,

Victoria, Merlot e Feteasca Neagra con lo scopo di valutare gli effetti migliorativi dell'impollinazione entomofila, tramite l'ape, sulla velocità con cui avviene l'allegagione e sull'aumento della resa (Dobrei et al., 2021). Sono state confrontate per ognuna delle varietà prese in esame delle parcelle di vigneto definite "controllo", ovvero private dell'attività degli impollinatori, e parcelle sperimentali nelle quali sono state collocate più colonie di api mellifere. L'influenza positiva dell'impollinazione entomofila sull'aumento del tasso di allegagione si è dimostrata significativa per tutte le varietà oggetto di studio, con una maggiore incidenza sulle varietà da tavola rispetto a quelle da vino. La presenza delle api mellifere ha determinato anche un aumento del tasso di impollinazione con un accorciamento del ciclo riproduttivo e con la conseguente riduzione del rischio d'insorgenza di malattie e di attacchi da parte di parassiti. Le fasi di invaiatura e maturazione si sono allungate di alcuni giorni, permettendo l'aumento della resa in uva ma anche della qualità degli acini poiché nel complesso la maturazione è risultata anticipata. Nelle varietà di uva da tavola, il raggiungimento della maturazione con una decina di giorni di anticipo permette di avere una resa migliore e di vendere il prodotto ad un prezzo maggiore. Nelle varietà di uva da vino, le fasi di invaiatura e maturazione più lunghe permettono un maggiore accumulo di zuccheri, fondamentale per la produzione di vini di alta qualità.

In Brasile sono stati condotti degli studi per valutare le influenze positive legate alla presenza degli impollinatori sulla qualità e quantità delle uve di specifiche cultivar. In questo Paese la produzione di vino si è sviluppata a partire dal XIX secolo, quando gli immigrati italiani iniziarono a produrlo soprattutto negli Stati federali di Rio Grande do Sul e Santa Caterina. Da allora, i principali vitigni coltivati sono associati alle viti americane, in particolar modo *Vitis labrusca* L. e ai suoi ibridi. Questi ultimi stanno alla base della produzione di vino da tavola e succo d'uva, rappresentando più dell'85% del volume d'uva trasformato. Come già accennato, molte varietà di vite producono frutti anche senza la partecipazione di impollinatori, poiché molto spesso si tratta di piante autogame o poiché prediligono un'impollinazione anemofila. Sono stati quindi confrontati gli effetti di diverse tipologie di impollinazione sulla quantità e qualità dei frutti della varietà "Bordô" (*Vitis labrusca* L.) (Martignago et al., 2017). Nonostante sia stato osservato che la presenza di impollinatori non sia necessaria per la produzione di uva in questa cultivar, l'impollinazione mediante *A. mellifera* ha evidenziato una più sostanziosa produzione di frutta, un aumento della biomassa con riflesso diretto sul peso dei frutti mentre il contenuto dei solidi solubili è rimasto invariato rispetto alle altre strategie di impollinazione (autoimpollinazione spontanea e manuale, impollinazione incrociata manuale ed impollinazione naturale); è quindi evidente

che questi insetti influenzino significativamente alcuni parametri di qualità. A tale proposito, il collocamento di arnie in aree che presentano una carenza di insetti impollinatori può favorire un miglioramento sia della resa che della qualità delle uve.

Inoltre, le api sono in grado di sondare un ambiente distinguendo tra i vari fiori quelli più proficui per la maggior presenza di polline e nettare. Nel processo di autoimpollinazione, il polline risulta disponibile subito dopo la caduta della caliptra: una volta che l'infiorescenza si è aperta, esso si disperde rapidamente ad opera del vento per cui le api hanno sviluppato delle strategie al fine di aumentare il loro foraggiamento, visitando le infiorescenze appena schiuse e in particolar modo quelle caratterizzate da una quantità di fiori aperti superiore al 50%. Durante delle osservazioni in campo, realizzate in Australia, sul comportamento di foraggiamento di questi insetti è stato inoltre rilevato che le api rimuovono attivamente le caliptrite dalle infiorescenze della vite (Hogendoorn et al., 2016). La rimozione attiva delle caliptrite da parte degli impollinatori ha delle conseguenze sullo sviluppo e sulla salubrità dell'uva; se da un lato quasi tutto il polline che viene prelevato dalle api non contribuisce all'impollinazione, dall'altro il movimento delle api stesse tra i fiori impollinati per via anemofila permette di aumentare sia la distanza percorsa dai granuli pollinici sia la quantità di fiori impollinati, cosa che può essere utile in alcuni vitigni. Le caliptrite che restano attaccate alle infiorescenze offrono maggiori probabilità di colonizzazione da parte di agenti patogeni e in alcune varietà, come il Pinot Nero, la persistenza della caliptra può causare lo sviluppo di acini e grappoli malformati; in quest'ultimo contesto l'ape può essere impiegata per ridurre l'acinellatura. Rispetto alla caduta naturale della caliptra, le api raccolgono il 72% in più di polline rimuovendola direttamente dalle infiorescenze. Queste osservazioni sono state significativamente rilevanti in determinate varietà come Merlot e Cabernet Sauvignon, probabilmente perché presentano infiorescenze più attraenti per le api rispetto ad altre varietà, come lo Chardonnay. Le api riescono ad individuare le infiorescenze più ricche di polline grazie a particolari sostanze volatili rilasciate dalla vite, come gli essudati stigmatici, alcune sostanze prodotte dal polline e i sesquiterpeni rilasciati dai fiori privi di caliptra; il ruolo di queste sostanze nei confronti del riconoscimento dev'essere però ancora verificato (Hogendoorn et al., 2016). Inoltre, questi insetti potrebbero essere utilizzati per la somministrazione mirata di agenti di controllo biologico nei confronti della Botrite; questa malattia causata dal fungo *B. cinerea*, è responsabile di ingenti danni economici nei vigneti di tutto il Mondo. Il patogeno entra nel tessuto florale e rimane latente, riprendendo il suo sviluppo con la maturazione del frutto. A causa della crescente incidenza della resistenza contro i fungicidi sintetici e delle preoccupazioni per la salute ambientale, l'industria si sta

muovendo sempre più verso l'uso di agenti di controllo biologico. Le api, grazie alle loro preferenze di foraggiamento si collocherebbero nel luogo e nel momento giusto per fornire agenti di controllo biologico contro questo patogeno, anche se le prove per questa applicazione sono ancora in corso (Hogendoorn et al., 2016).

1.3 IMPORTANZA DEGLI INSETTI IMPOLLINATORI E LORO INTERAZIONI CON I COMPOSTI VOLATILI DELLE INFIORESCENZE NELLA VITE SELVATICA (*Vitis vinifera subsp. sylvestris*)

La vite selvatica (*Vitis vinifera subsp. sylvestris*) è la forma ancestrale dioica della vite, da cui sono derivate le cultivar addomesticate per lo più monoiche (*Vitis vinifera subsp. vinifera*). Solo il 6% delle piante da fiore sono dioiche e questa percentuale, nettamente inferiore rispetto a quella delle piante monoiche, è dovuta soprattutto alla loro completa dipendenza dagli agenti impollinatori come vento ed insetti. Sulla vite selvatica non si possiedono delle conoscenze approfondite per cui è risultato fondamentale eseguire degli studi allo scopo di contribuire alla comprensione delle sue dinamiche di impollinazione e per scongiurarne l'estinzione.

In un lavoro condotto presso la stazione sperimentale dell'Istituto di Bioscienze e BioRisorse di Collesano (Palermo, Italia), sono stati studiati gli insetti che visitano le infiorescenze della vite selvatica per avere più informazioni sulla sua biologia; infatti, la conoscenza di questi potenziali impollinatori può rappresentare un contributo importante per la conservazione di queste cultivar in habitat naturali (Zito et al., 2018). Durante le osservazioni in campo, sono stati catturati ed analizzati 280 insetti sulle infiorescenze di vite selvatica. I visitatori più frequenti sono stati i Coleotteri, costituenti il 55% degli esemplari catturati, seguiti dagli Imenotteri, per il restante 45%. I Coleotteri più presenti, ovvero quelli della famiglia *Oedemeridae*, sono ben noti come consumatori obbligati di polline e talvolta potrebbero agire come impollinatori delle infiorescenze della vite selvatica, soprattutto durante la notte. Tuttavia, l'apparato boccale masticatore che li contraddistingue lascia i ricercatori con dei dubbi su come possano combinare i ruoli contrastanti di mangiatori di fiori ed impollinatori. Gli Imenotteri che sono stati registrati appartenevano in misura maggiore alla famiglia *Halictidae* (56%) ma anche ad *Apidae* (33%) e *Andrenidae* (11%). Si suppone che, pur essendo stata rilevata una maggiore presenza di Coleotteri, le api siano gli impollinatori più efficienti della vite selvatica dato che visitano un numero maggiore di fiori rispetto ai Coleotteri, i quali impiegano molto più tempo sul singolo fiore nutrendosene, volano su entrambi i sessi delle piante e raccolgono i granuli pollinici dalle infiorescenze maschili. A

proposito di questo, nonostante tutti gli insetti siano stati catturati su piante di vite selvatica sia maschili che femminili, i dati hanno evidenziato un numero maggiore di visitatori sulle infiorescenze maschili. Questa preferenza potrebbe essere collegata al fatto che, a differenza dei fiori femminili che producono polline sterile, quelli maschili formano polline fertile e quindi una ricompensa qualitativamente superiore. Si può anche supporre che gli insetti visitatori possano essere attratti dai composti organici volatili (COV) rilasciati dalle infiorescenze della vite selvatica. Questi ultimi, sia in piante maschili che femminili, emettono anche all'olfatto umani profumi piuttosto forti. Dato che si possiedono poche informazioni anche in relazione ai composti odorosi dei fiori della vite selvatica, è risultato opportuno eseguire degli studi a riguardo. In un altro lavoro di ricerca realizzato sempre presso la stazione sperimentale dell'Istituto di Bioscienze e BioRisorse di Collesano (Palermo, Italia), sono stati raccolti ed analizzati i profumi provenienti dalle infiorescenze di individui sia maschili che femminili di vite selvatica. È stato così possibile identificare 17 composti appartenenti a quattro diverse classi chimiche: alcoli a catena ramificata C5, alcoli alifatici, alcoli aromatici e terpenoidi, con l'alcol benzilico più abbondante in entrambi i sessi. Otto dei composti sono risultati specifici per il sesso e le differenze più evidenti sono state quelle relative all'1,2-dimetossibenzene. Questo composto aromatico risulta essere uno dei principali costituenti dell'odore delle femmine (30%), ma è assente nei maschi.

È possibile così evidenziare che le piante dioiche, oltre a possedere un dimorfismo a livello sessuale, ne hanno uno specificatamente associato al profumo dei fiori; quest'ultimo ha mostrato delle grandi differenze a livello qualitativo e semi-quantitativo, tra infiorescenze di piante maschili e femminili, anche se ne sono state emesse quantità simili. Le piante che emettono odori specifici per il sesso possono ricevere un servizio di impollinazione migliore. Infatti, a primo impatto gli impollinatori dovrebbero preferire il profumo floreale maschile rispetto a quello femminile (Zito e al., 2016). Alcuni dei principali composti dei campioni di profumo ottenuti, come L'(E)-2-esenale e l'alcol benzilico, sono noti per essere rilevati dai Coleotteri o per attirare diverse specie di api, tra cui *A. mellifera*, tutti noti visitatori delle infiorescenze della vite selvatica. Non è chiaro invece se l'1,2-dimetossibenzene, specifico per le femmine, venga percepito dai visitatori delle infiorescenze della vite selvatica e se quindi sia potenzialmente coinvolto nell'attrazione degli insetti verso le infiorescenze femminili. Sono necessari ulteriori studi per comprendere meglio il ruolo dei COV nella biologia dell'impollinazione della vite selvatica.

Tutti questi dati forniscono delle informazioni rilevanti nella comprensione della comunicazione chimica tra la vite selvatica ed i suoi visitatori. Si conferma così l'importanza

degli insetti, principalmente dell'ape, come potenziali impollinatori della vite selvatica, non solo in condizioni naturali ma anche di vigneto. Nel primo caso le piante crescono distanti tra loro, nel secondo ravvicinate e quindi, anche se in vigneto l'azione del vento può essere importante per l'impollinazione, la presenza degli insetti risulta comunque fondamentale.

1.4 EFFETTI POSITIVI DEI PRODOTTI DEL VIGNETO SUGLI IMPOLLINATORI: IL RESVERATROLO PUÒ ALLUNGARE LA VITA DELL'APE E UN LIEVITO NATURALMENTE PRESENTE NELL'UVA PUÒ MIGLIORARE QUALITATIVAMENTE IL MIELE FERMENTATO

Il resveratrolo e gli stilbeni sono fitoalessine presenti nell'uva che vengono sintetizzati dalla vite a causa di stress biotici ed abiotici; la loro formazione è influenzata anche da altri fattori come la varietà, il portinnesto, le condizioni climatiche, il suolo e le pratiche colturali.

Il resveratrolo è noto per i suoi effetti benefici sulla salute umana, quando assunto tramite l'uva ed il vino. Con il susseguirsi di numerosi studi, è stato appurato che le proprietà salutistiche del resveratrolo sono molteplici e riguardano la capacità di ridurre il rischio di malattie cardiovascolari, l'attività chemio-preventiva nei confronti del cancro, l'attività contro il morbo di Alzheimer, il ruolo di regolatore delle risposte immunitarie e l'azione da fitoestrogeno. Visti quindi gli importanti e positivi effetti che questo composto può avere nei confronti dell'uomo, sono stati condotti dei lavori di ricerca per analizzare i possibili benefici riscontrabili anche nei confronti dell'ape mellifera. Finora, la maggior parte delle osservazioni che mostrano un'estensione della durata della vita in relazione al resveratrolo si basano su specie modello solitarie, come lieviti, vermi e moscerini della frutta; soltanto in tempi più recenti è stato preso in esame un gruppo di animali sociali, i topi, con risultati analoghi. Le complessità legate all'organizzazione sociale dell'ape spesso impediscono l'applicazione di molte e ben note teorie evolutive legate all'invecchiamento di questo insetto; ciononostante, per ottenere dei dati attendibili, grazie ad uno studio realizzato presso l'Arizona State University di Tempe (Arizona, USA), è stata combinata la somministrazione di resveratrolo con l'applicazione dello stress metabolico ed il paradigma neurobiologico del condizionamento olfattivo per valutare se il resveratrolo può allungare la durata della vita dell'ape mellifera, influenzarne le funzioni cerebrali e la percezione del cibo (il gusto) insieme al consumo (Rascon et al., 2012). I test sensoriali e gustativi sono stati condotti in condizioni di normale presenza di ossigeno, dopo aver lasciato le api per cinque giorni a contatto con il trattamento a base di resveratrolo a livello laboratoriale. I risultati hanno mostrato che le prestazioni di apprendimento di *A. mellifera* non sono state

influenzate dal trattamento con resveratrolo. La reattività gustativa ha invece evidenziato differenze significative tra gli individui alimentati con resveratrolo, in quantità di 30-130 μM , rispetto agli individui "controllo", privati del contatto con tale composto; contrariamente alle aspettative, le api da miele alimentate con resveratrolo hanno mostrato punteggi di reattività gustativa più bassi rispetto alle api controllo. La cosa più importante che è stata osservata è che il resveratrolo ha allungato significativamente la durata della vita delle api mellifere e ne ha anche influenzato il consumo di cibo. Infatti, il resveratrolo ha la capacità di attivare le sirtuine, in particolar modo SIRT1 nell'ape, che sono particolari proteine ad attività enzimatica che possono facilitare gli effetti legati alla restrizione calorica, influenzando e riducendo il consumo di cibo nell'ape. A tal proposito, si ritiene che il resveratrolo rallenti l'invecchiamento mediante meccanismi che possono essere correlati proprio alla restrizione calorica. È ampiamente noto che la restrizione calorica aumenta la durata della vita tra gli organismi, oltre a prevenire l'insorgenza di malattie associate alla vecchiaia.

Il miele è una nota ed importante sostanza zuccherina prodotta dalle api mellifere, elaborato dal nettare dei fiori o dalle secrezioni delle piante; nel primo caso prende il nome di miele di nettare mentre nel secondo di miele di melata. Esso è costituito prevalentemente da zuccheri (80%) ed acqua (18%), oltre a presentare anche una certa quantità di aminoacidi e tracce di minerali, lipidi e composti fenolici, risultando un alimento molto energetico. Il suo pH è tipicamente compreso tra 3,5 e 4,5 per cui si caratterizza da una certa acidità, la quale contribuisce sia al gusto acido che al conferimento di notevoli proprietà antimicrobiche. Inoltre, questo prodotto possiede eccellenti proprietà medicinali grazie alla presenza di molecole bioattive, come i probiotici.

L'idromele è una nota bevanda fermentata prodotta dalla fermentazione del miele, contenente tra il 4% e il 14% di alcol in volume. È considerato la prima bevanda fermentata della storia dell'uomo, con origine nel VII millennio a.C., e uno dei prodotti alcolici più diffusi nell'Impero Romano, nel Nord Europa e in Russia nel Medioevo. Attualmente, ha fatto un piccolo ritorno con un certo numero di fornitori, che offrono un'ampia varietà di idromele sul mercato. Trattandosi quindi di una bevanda fermentata, come il vino, il ruolo dei lieviti risulta di fondamentale importanza per arricchirne e caratterizzarne il profilo aromatico. In uno studio realizzato presso la King Mongkut's University of Technology Thonburi (Bangkok, Thailandia) è stato infatti analizzato come il ceppo GT-ROSE1 del lievito *T. delbrueckii* potesse influire sulle caratteristiche organolettiche dell'idromele ottenuto in seguito alla fermentazione del miele dell'ape *Tetragonula pagdeni* Schwarz. *T. delbrueckii* è un lievito *non-Saccharomyces* naturalmente presente nel mosto e sull'uva matura che sta

guadagnando una certa popolarità nel settore della microbiologia alimentare, in particolar modo nella produzione di bevande fermentate, data la sua capacità di produrre composti aromatici peculiari che rendono il profilo aromatico del prodotto più bilanciato ed apprezzato. Questa specie di lievito è anche associata al microbioma delle api e può fermentare il miele; nello specifico, il ceppo GT-ROSE1, il cui nome deriva proprio dal fatto che sviluppi uno spiccato sentore di rosa, è stato isolato ed ottenuto dall'ape mellifera *T. pagdeni Schwarz*. Quello che è stato possibile osservare è che questo ceppo osmofilo mostra delle ottime caratteristiche in termini di fermentabilità, tollerando bassi valori di pH ed elevate quantità di etanolo e zuccheri. Per quanto riguarda l'analisi del profilo organolettico dell'idromele ottenuto in seguito a fermentazione con GT-ROSE1, le concentrazioni di composti caratteristici sono risultate più elevate rispetto all'utilizzo di lieviti enologici commerciali. Infatti, sono stati identificati ben 24 composti volatili e gli elevati valori associati all'attività odorosa hanno sottolineato l'abbondante presenza dei due principali composti distintivi, ovvero il nonanolo e il 2-feniletanolo, che rispettivamente conferiscono marcati aromi fruttati (agrumati) e floreali (di rosa) al prodotto finale. Lo studio dimostra quindi che questo lievito, oltre ad avere delle ottime caratteristiche come fermentatore, potrebbe essere utilizzato per migliorare e contraddistinguere la composizione chimica e il valore sensoriale di prodotti alimentari locali, come l'idromele.

CAPITOLO 2 - EFFETTI DEI PRODOTTI FITOSANITARI SUGLI IMPOLLINATORI

2.1 ESPOSIZIONE DELLE API AI PRODOTTI FITOSANITARI E LORO PERICOLOSITÀ

Dalla fine della Seconda Guerra Mondiale, sfruttando il progresso dell'industria chimica, l'agricoltura si è indirizzata sempre più verso una lotta basata sull'impiego di prodotti chimici di sintesi, al fine di ottenere una maggiore produzione.

Nonostante questa scelta sia stata fatta soprattutto per contrastare gli effetti degli insetti dannosi, a rimetterci maggiormente sono stati gli insetti utili, come i pronubi. Così è diventato sempre più elevato il rischio per le api di bottinare su piante coltivate trattate con prodotti chimici, o contaminate per deriva, durante la fioritura. L'ape è quindi particolarmente esposta alla contaminazione da pesticidi utilizzati in agricoltura e le modalità con cui può essere avvelenata sono sostanzialmente tre: ingestione, contatto ed inalazione.

In linea generale, in seguito all'esecuzione di trattamenti in campo, le morie di questi insetti sono causate dalle prime due modalità. Inoltre, la contaminazione può avvenire a notevole distanza rispetto al campo trattato a causa dell'effetto deriva provocato da condizioni climatiche non ottimali per il trattamento (presenza di vento).

Alcune classi di agrofarmaci presenti sul mercato possono anche non provocare mortalità significative ma causare ugualmente spopolamenti di alveari o indurre nelle api comportamenti anomali o disorientamento.

Alcuni pesticidi, in particolare i neonicotinoidi, possono essere traslocati per via sistemica a tutti le parti della pianta trattata e questo implica un ulteriore pericolo per le api, che possono essere contaminate bottinando nettare, polline, melata e acqua di guttazione. Infatti, la contaminazione di polline e nettare rappresenta la via principale di esposizione ai principi attivi delle bottinatrici in campo.

È stato stimato che a concorrere alla pericolosità di un prodotto sono anche la morfologia florale, la distanza dal luogo di foraggiamento all'apiario, la persistenza nel suolo e la specifica formulazione del pesticida.

I prodotti fitosanitari polverulenti sono in grado di imbrattare il corpo dell'ape, esplicando la loro azione tossica per molto tempo, anche all'interno dell'alveare. Questa formulazione mostra quindi una maggiore pericolosità nei confronti dell'ape, la quale è già predisposta a raccogliere una sostanza di consistenza simile, il polline.

In commercio sono disponibili anche degli insetticidi "incapsulati", in cui il principio attivo viene collocato all'interno di microscopici granelli di plastica o gomma porosa, con dimensioni molto simili a quelle dei granuli pollinici (20-40 μm). Questi preparati liberano

nell'ambiente la sostanza insetticida di cui sono impregnati molto lentamente, dando la possibilità di limitare il numero di trattamenti. Tali insetticidi possono però indurre dei danni devastanti all'interno dell'alveare poiché l'ape raccoglie la microcapsula che possiede caratteristiche fisiche simili al granulo pollinico.

Formulati di questo tipo sono stati molto utilizzati in passato nei vigneti per i trattamenti contro lo *Scaphoideus titanus*, il vettore dell'agente causale della Flavescenza dorata della vite, provocando elevate mortalità delle api, poiché gli interventi eseguiti prima della fine della fioritura della vite promuovevano il trasporto del polline di vite insieme alle microcapsule all'interno degli alveari.

Anche gli IGR (*Insecticides Growth Regulators*) o "regolatori di crescita" sono prodotti utilizzati da diverso tempo in agricoltura. La loro azione si basa sul colpire processi fisiologici e strutture tipiche degli invertebrati, alterandone i processi di sviluppo e la metamorfosi. Sono più selettivi di altri insetticidi ma alcuni di questi prodotti sono stati indagati per l'induzione di alterazioni nella metamorfosi degli stadi giovanili dell'ape e per provocare malformazioni sugli adulti.

Negli anni, numerose sostanze chimiche sono state dichiarate innocue nei confronti degli insetti utili ma molto spesso è stato dimostrato il contrario. Infatti, quasi tutti i prodotti ad azione insetticida risultano essere tossici per le api, anche se in misura diversa. Ed è importante sottolineare che anche i fungicidi e gli erbicidi possono avere effetti dannosi nei loro confronti.

A tale proposito, dagli anni '70 in poi sono stati condotti numerosi studi volti a valutare l'impatto soprattutto di alcuni insetticidi sugli impollinatori. L'obiettivo era quello di ottenere una regolamentazione più severa sui prodotti fitosanitari che ne impedisse l'uso durante la fioritura e che costringesse le aziende ed i legislatori a redigere una classificazione della tossicità dei pesticidi più rispettosa nei confronti delle api.

Grazie quindi all'acquisizione di una maggiore sensibilità sul tema ed appurati gli effetti disastrosi di questi prodotti sugli impollinatori, con il tempo sono state adottate delle diverse strategie di gestione dei vigneti. Tra queste, la lotta integrata e la lotta biologica: la prima con l'obiettivo di limitare l'uso di fitofarmaci coniugandolo all'impiego di metodi alternativi, la seconda con lo scopo di eliminare completamente i composti di sintesi. Sono entrambi sistemi che hanno permesso agli impollinatori di registrare i primi benefici ecologici.

2.2 INSETTICIDI

2.2.1 INIBITORI DELL'ACETILCOLINESTERASI: ESTERI FOSFORICI E CARBAMMATI

Definiti in tutto il mondo come OP (*organophosphates*), gli esteri fosforici o fosfororganici comprendono insetticidi e acaricidi organici di sintesi a largo spettro di azione.

Rappresentano la storia della lotta chimica dato che, in passato, sono stati tra i primi insetticidi ad essere stati utilizzati.

Agiscono tutti per contatto ed ingestione, alcuni per inalazione; qualcuno è citotropico, ovvero ha la capacità di penetrare nel substrato vegetale di qualche millimetro, ed altri sono sistemici, cioè riescono ad entrare nel sistema circolatorio della pianta.

Sono molecole ad attività neurotossica indiretta che agiscono a livello delle sinapsi, legandosi all'enzima acetilcolinesterasi e inibendolo. Questo comporta un accumulo di acetilcolina, un neurotrasmettitore, che mantiene così aperti i canali a sodio nei neuroni determinando ipereccitazione e convulsioni, con la conseguente morte dell'insetto. Si tratta di insetticidi dotati di un'elevata tossicità e persistenza. Attualmente sono sempre meno quelli registrati in Italia su vite: i prodotti fitosanitari a base di clorpirifos e clorpirifos-metile sono stati revocati nel 2020, quelli a base di fosmet nel 2022 (Ministero della Salute, 2023). Alcuni di questi prodotti sono stati utilizzati contro la Cocciniglia farinosa della vite, *Planococcus ficus* (Signoret). Questo insetto, in seguito all'assunzione di linfa elaborata, produce melata, una secrezione zuccherina che si deposita su foglie e grappoli rendendoli dei substrati ideali allo sviluppo di fumaggini con la comparsa di danni estetici sia su uve da tavola che da vino e con conseguenti gravi perdite di produzione.

In uno studio condotto nel 2018 (Mansour et al., 2018), è stata posta l'attenzione sugli effetti collaterali di diversi insetticidi fosfororganici utilizzati contro *P. ficus* sugli insetti utili, in particolare sugli impollinatori.

Innanzitutto, gli esteri fosforici sono classificati come prodotti tossici nei confronti delle api per cui la loro applicazione viene fortemente limitata al fine di preservare la sicurezza di questi insetti. È stato osservato che il clorpirifos colpisce le api in modo acuto, soprattutto *Apis mellifera* L. ma anche altri impollinatori, e svolge un ruolo fondamentale nel declino di questi insetti. I bombi (*Bombus terrestris* L.) risultano addirittura dieci volte più sensibili delle api da miele all'azione tossica di questo principio attivo, il quale può essere prelevato da matrici di cera e polline ma anche dal miele in concentrazioni piuttosto elevate.

Il clorpirifos provoca anche un'elevata mortalità larvale dell'ape sociale neotropica (*Plebeia droryana*) e le larve che riescono a sopravvivere assumono il ruolo di operaie anche se destinate inizialmente a diventare regine. Inoltre, compromette fortemente la memoria

dell'ape mellifera, con un grande impatto sul suo comportamento di foraggiamento e sulla produzione di miele (Mansour et al., 2018).

Simili agli esteri fosforici anche se nati successivamente, i carbammati sono insetticidi organici di sintesi derivanti dall'acido carbammico, a largo spettro di azione e ad attività neurotossica indiretta. Agiscono sempre sull'enzima acetilcolinesterasi, provocando un accumulo di acetilcolina seguito da morte dell'insetto e si caratterizzano da una persistenza ridotta. Essi determinano effetti indesiderati associabili a quelli degli esteri fosforici, sugli impollinatori. Nel corso degli anni sono stati revocati moltissimi principi attivi associati a questa classe di insetticidi, è ancora autorizzato il pirimicarb (Ministero della Salute, 2023). Quest'ultimo, tuttavia, è causa di disturbi ed alterazioni del comportamento delle api e, sulla base del valore della DL₅₀ (quantità di una sostanza in grado di provocare la morte del 50% degli insetti sottoposti ad una sperimentazione), mostra una tossicità media nei confronti di *A. mellifera*, *B. terrestris* e *Osmia spp.* (Contessi, 2016).

2.2.2 I PIRETROIDI

I piretroidi sono insetticidi ed acaricidi di sintesi, analoghi delle piretrine naturali, che agiscono per contatto e in modo secondario per ingestione. Sono neurotossici, poiché mantengono aperti i canali a sodio, e sono liposolubili, anche se possiedono una scarsa tossicità. Sono tipici insetticidi "di copertura" che uniscono ad una corretta efficacia e ad una buona permanenza sui tessuti trattati, una ridotta selettività per gli insetti utili, in particolare per apoidei e acari predatori. Le molecole attualmente ammesse mostrano effetti meno drastici sugli impollinatori rispetto a quelle revocate. Molte di queste, come la cipermetrina, possono essere impiegate in viticoltura contro tignoletta, tignole, tetranichidi e larve di lepidotteri defogliatori. La diffusione di resistenze ai piretroidi rende il loro utilizzo abbastanza rischioso e per questa ragione è fondamentale alternarne l'impiego con altri principi attivi.

Il tau-fluvalinate viene largamente utilizzato in viticoltura, ad esempio contro afidi, tripidi e cicaline, in particolare *Scaphoideus titanus*. Importante è anche il suo impiego in apicoltura per il controllo degli acari, soprattutto *Varroa destructor*.

Gli apoidei riescono a metabolizzare tale composto molto rapidamente grazie agli enzimi della famiglia del citocromo P450. È proprio l'azione di quest'ultimo che permette loro di sviluppare maggiori resistenze nei confronti di alcuni piretroidi. Diversi fungicidi ed insetticidi di comune uso agricolo competono però per l'utilizzo del suddetto citocromo, aumentando la tossicità dei piretroidi stessi.

In realtà il tau-fluvalinate è responsabile di numerosi effetti dannosi nei confronti di *A. mellifera*. È stato osservato che le regine esposte ad alte dosi sono più piccole e sopravvivono per un arco di tempo più limitato; per questo motivo, nelle arnie trattate, vengono sostituite più frequentemente ed anche la sopravvivenza della covata risulta ridotta. Inoltre, a livello neurotossico provoca, oltre ad una riduzione della sopravvivenza, una modificazione nella risposta agli stimoli olfattivi, un deficit dell'apprendimento e di memoria. È stata riscontrata anche una correlazione tra il tau-fluvalinate e l'immunità delle api. A causa di un'interazione ancora sconosciuta con il sistema immunitario dell'ape, il principio attivo può causare l'aumento della circolazione del virus delle ali deformate (DWV) (Locke et al., 2012).

Secondo un lavoro di ricerca, alcuni alveari hanno mostrato una diffusa e persistente contaminazione da tau-fluvalinate, nonostante non fossero stati trattati con questo acaricida per ben quattro anni. Uno dei motivi può essere legato alla presenza di questi residui nel polline raccolto dalle api da piante coltivate trattate con questo principio attivo (Benito-Murcia et al., 2021).

I piretroidi possono quindi contaminare la cera d'api, il pane d'api ed il miele, con la possibilità di essere poi riscontrati tramite analisi laboratoriali.

Un altro studio (Ingram et al., 2015) ha evidenziato che l'esposizione degli impollinatori a dosi subletali di piretroidi influenza marcatamente il loro comportamento, per almeno 24 ore. Infatti, gli effetti neurotossici sono momentanei ma l'esposizione prolungata a queste sostanze a lento rilascio li mantiene nel tempo.

Le api sottoposte all'azione dei piretroidi hanno ridotto drasticamente i loro spostamenti, dal 30 al 70% in meno rispetto alle api controllo. Addirittura, alcune sostanze attive, come l'esfenvalerate, hanno limitato il tempo di interazione sociale di questi insetti (Ingram et al., 2015).

L'etofenprox è un piretroide che interferisce sulla fisiologia del sistema nervoso degli insetti, tramite l'inibizione del trasporto di sodio lungo le terminazioni nervose. Può avere effetti tossici nei confronti degli insetti utili, in particolare sia su *A. mellifera* che su *Megachile rotundata*, un altro imenottero apoideo (Piccolomini et al., 2018).

2.2.3 I REGOLATORI DELLA CRESCITA (IGR)

I regolatori di crescita, o "*Insect Growth Regulator*" (IGR), sono sostanze ad azione insetticida in grado di interagire ed alterare importanti processi fisiologici degli insetti, con

effetti letali. Si caratterizzano da una minore tossicità nei confronti dell'uomo e degli animali e sono attivi soprattutto sugli stadi giovanili di molti insetti.

Si dividono in due gruppi principali: analoghi degli ormoni (in cui rientrano iuvenoidi ed ecdisoidi) e chitino-inibitori.

Gli iuvenoidi sono analoghi sintetici dell'ormone giovanile che modificano le interazioni tra ormoni, con effetti sulla schiusura delle uova (ovicidi) e sul cambiamento di stadio (larvicidi). Quelli principalmente impiegati in viticoltura sono il pyriproxifen, molto persistente ed usato contro le larve, e il fenoxycarb, in passato impiegato contro i lepidotteri della vite, anche a bassi dosaggi. Quest'ultimo, nonostante abbia trovato largo impiego nei vigneti di tutta Europa, è stato revocato in Italia per effetti dannosi osservati sulle larve di *Bombix mori* (baco da seta).

Gli ecdisoidi, o "Moulting Accelerating Compounds" (MAC), sono analoghi sintetici dell'ormone della muta. Agiscono per ingestione e contatto, provocando una letale accelerazione dei processi di muta. La muta stessa avviene quando l'insetto non è ancora pronto all'evento e le conseguenze di ciò possono essere o la morte o lo sviluppo di deformità. Tebufenozide e metossifenozone, rispettivamente ad azione larvicida ed ovicida, vengono utilizzati in viticoltura contro i lepidotteri, soprattutto contro le tignole della vite.

I chitino-inibitori possiedono una forte affinità nei confronti dell'enzima chitino-sintetasi, il quale è responsabile della sintesi di chitina. Creano così un legame stabile con questo enzima e ne bloccano l'azione, inibendo la sintesi di chitina stessa a livello di esoscheletro degli insetti, con danni irreversibili a carico del tegumento. Agiscono prevalentemente per contatto.

Esistono pochi studi sull'impatto a lungo termine degli IGR sulle colonie di *A. mellifera*, dato che questi composti sono considerati poco tossici nei confronti delle api adulte. Di conseguenza, le api che si nutrono da colture trattate con IGR incorrono nel rischio certo di portare all'alveare polline e nettare contaminati, esponendo sistematicamente a tali sostanze altri membri della colonia, tra cui api nutrici, larve in via di sviluppo, regine e fuchi. Studiare gli effetti che i regolatori di crescita possono avere sugli impollinatori risulta essere di fondamentale importanza per garantirne un uso sicuro in campo agricolo e viticolo. È stato dimostrato che queste sostanze colpiscono principalmente la covata ma che possono avere anche effetti subletali sulle api adulte, per esempio sul loro comportamento (Thompson et al., 2007).

Uno studio (Fine J. D., 2020) ha evidenziato che il metossifenozone può influenzare la schiusura delle uova deposte dalla regina e provocare una certa mortalità delle larve,

innescandone la muta prematuramente. Oltre ad interferire sullo sviluppo degli insetti, può avere effetti negativi anche sul loro comportamento. Infatti, le api operaie sottoposte all'azione del metossifenozone sviluppano a due settimane d'età ghiandole ipofaringee nettamente più grandi rispetto alle api controllo, con un conseguente ritardo del normale processo di invecchiamento fisiologico.

A livello di colonia, l'esposizione a questa sostanza porta ad una riduzione delle popolazioni di impollinatori e ad una compromissione della termoregolazione.

Sebbene il metossifenozone possa non mostrare effetti tossici diretti sulle api adulte, può però influenzare la schiusura delle uova e la fisiologia delle operaie, contribuendo al declino della popolazione delle colonie nel tempo (Fine J. D., 2020).

Un lavoro di ricerca (Chen et al., 2016) ha analizzato gli effetti del pyriproxifen sullo sviluppo di *A. mellifera*. In particolare, trattamenti con dosi elevate di questo composto hanno determinato un'abbondante mortalità delle api in fase pupale e una schiusura anomala delle uova. Inoltre, ha ridotto notevolmente la resa in pappa reale anche se le api adulte sono risultate meno sensibili alla sua azione.

Il pyriproxifen ha quindi un impatto negativo sulle api allo stadio larvale, sulle api adulte e sulla produzione di pappa reale, soprattutto quando utilizzato ad alti dosaggi (Chen et al., 2016).

In ogni caso, si stima che sia il metossifenozone sia il pyriproxifen causino effetti negativi rilevanti sulla sopravvivenza delle bottinatrici, aumentandone in modo significativo la mortalità media (Fisher II et al., 2018).

Per quanto riguarda il fenoxycarb, è stato osservato che porta ad una diminuzione delle popolazioni delle colonie di *A. mellifera*, con le api stesse che avviano la stagione più lentamente. Influenza anche il numero di regine che si accoppiano e determina la riduzione della dimensione invernale della colonia, con effetti più marcati se utilizzato a giugno o ad agosto e con una diminuzione osservabile fino all'8% (Thompson et al., 2005).

Il buprofezin, messo in relazione ad altri IGR, evidenzia gli effetti meno dannosi nei confronti degli impollinatori, mostrando una riduzione percentuale piuttosto bassa delle popolazioni di *A. mellifera* (Dutta et al., 2016). Tuttavia, può essere rilevato come residuo nella propoli (Santana dos Santos et al., 2008).

Altri chitino-inibitori hanno invece effetti particolarmente dannosi nei confronti delle api da miele. In particolare, il diflubenzuron, sostanza non ammessa in viticoltura, è responsabile di conseguenze molto simili a quelle osservate per il fenoxycarb (Thompson et al., 2005).

2.2.4 NEONICOTINOIDI E BUTENOLIDI

Presenti sul mercato dagli anni '90, i neonicotinoidi sono insetticidi neurotossici che interagiscono con i recettori dei neuroni, come l'acetilcolina (ACh), alterando la trasmissione degli impulsi nervosi. Sono citotropici, sistemici e possono essere traslocati per via floematica.

Per anni sono stati considerati i pilastri dei programmi integrati di gestione dei parassiti e dello sviluppo di resistenze, grazie alla combinazione di caratteristiche come l'attività ad ampio spettro, i bassi tassi di applicazione, la ridotta tossicità per i mammiferi e le applicazioni piuttosto versatili (Fairbrother et al., 2014). In realtà, è stato scoperto che, anche a dosi piuttosto basse, possono provocare alterazioni nel sistema di comunicazione, nelle attività sociali, nelle capacità cognitive e nell'orientamento delle api. Dosi subletali influiscono negativamente sulla capacità di comunicare alle compagne la posizione delle fonti di cibo, attraverso la danza, ma anche sulla memoria visiva legata ai colori e sull'apprendimento spaziale, essenziali nell'orientamento di questi insetti per individuare le fonti di cibo e per ritrovare la via di ritorno all'alveare (Contessi, 2016).

I neonicotinoidi più famosi sono imidacloprid e thiamethoxam, entrambi revocati, ma anche acetamiprid, ammesso ed utilizzato in viticoltura (Ministero della Salute, 2023).

Le istruzioni riportate sull'etichettatura dei prodotti commerciali avvertono di non utilizzarli durante i periodi di fioritura dato che, una volta somministrati, la pianta è in grado di assorbirli all'interno dei propri tessuti e di trasferirli anche al polline, al nettare e all'acqua di guttazione, facendo sì che l'ape ne risulti esposta anche in modo indiretto (Fairbrother et al., 2014). Per tutta questa serie di ragioni, i neonicotinoidi rappresentano il gruppo di insetticidi più tossici per i pronubi (Pasqualini e Preti, 2019).

Dal punto di vista chimico, l'imidacloprid ed il thiamethoxam possiedono un gruppo eterociclico cloro-sostituito, unito ad un secondo anello eterociclico. Altri neonicotinoidi, per esempio l'acetamiprid, si caratterizzano dalla presenza di un gruppo aciclico al posto del secondo anello eterociclico. In generale, una frazione che sottrae elettroni, cioè un gruppo nitro o cianogeno, è essenziale per l'attività insetticida di queste molecole.

Uno studio (Iwasa et al., 2004) ha evidenziato che i neonicotinoidi ciano-sostituiti, come acetamiprid, hanno una tossicità, nei confronti delle api, inferiore rispetto a quelli nitro-sostituiti, come l'imidacloprid. Questa minore tossicità può essere associata ad un aumento dell'attività metabolica da parte del complesso enzimatico P450 e ad una ridotta tossicità dei metaboliti (IM-2-1, IM-O e IC-O) che compongono l'acetamiprid (Iwasa et al., 2004). Inoltre, i fungicidi inibitori della demetilazione (DMI), ampiamente utilizzati nella difesa delle

colture, bloccando la biosintesi dell'ergosterolo attraverso l'inibizione del citocromo P450, sinergizzano l'attività dei neonicotinoidi, aumentando notevolmente la tossicità dell'acetamiprid verso i pronubi (Iwasa *et al.*, 2004).

L'esposizione di *A. mellifera* all'acetamiprid influenza lo sviluppo e la sopravvivenza delle api operaie dallo stadio larvale fino all'età adulta, in condizioni reali di allevamento. Dosi di 5 mg/L interferiscono sullo sviluppo delle larve e, in seguito ad un'esposizione a lungo termine, l'espressione dei geni correlati all'immunità e alla disintossicazione da neonicotinoidi viene significativamente ridotta, con una vera e propria distruzione delle funzioni immunitarie e disintossicanti dell'ape. Inoltre, la durata della vita delle api trattate con acetamiprid a 25 mg/L è significativamente ridotta (Shi *et al.*, 2020).

È stato realizzato un esperimento (Shi *et al.*, 2019) somministrando alle api da miele, per contatto a livello di torace, tre dosi di acetamiprid (0,5, 1 e 2 µg/ape) diluito in acqua. Questo test ha evidenziato che le api poste a contatto con una dose superiore a 1 µg/ape hanno ridotto significativamente la loro sopravvivenza, mentre non è stata riscontrata alcuna differenza significativa con dosaggi inferiori a 0,5 µg/ape. Tutte le dosi di prodotto applicato hanno influenzato le caratteristiche legate alla memoria, ridotto il successo della risposta di estensione della proboscide (dall'inglese "*proboscis extension response*", PER), influenzato la capacità di "*homing*" (ovvero di tornare all'alveare anche a notevole distanza) e i livelli di espressione di due geni legati all'apprendimento e alla memoria, rispetto alle api controllo. Questi dati confermano che dosi sub-letali di acetamiprid influiscono in modo importante sulla sopravvivenza di *A. mellifera* (Shi *et al.*, 2019). Dosaggi pari a 2 µg/ape di acetamiprid hanno portato le api operaie ad avviare un'attività di foraggiamento anticipata e allo stesso tempo a ridurre il numero di voli ed il carico di lavoro per tutto l'arco della loro vita (Shi *et al.*, 2020).

Numerosi sono gli studi eseguiti anche su molecole ad oggi revocate, ovvero imidacloprid e thiamethoxam.

Per quanto riguarda l'imidacloprid, è stato dimostrato che bassi dosaggi di questo insetticida neonicotinoide possono avere effetti dannosi sul comportamento di *A. mellifera*.

Infatti, nello studiare il comportamento di foraggiamento delle api, è stato dimostrato che dosi sub-letali provocano dei ritardi e delle anomalie nel ritorno presso il sito di bottinamento e all'alveare (Yang *et al.*, 2008), con una riduzione della produttività delle api tra il 6 ed il 20% (Cresswell, 2011).

Lavori di ricerca realizzati sul thiamethoxam hanno dimostrato che tale sostanza è tossica nei confronti degli impollinatori a livelli di ng/ape e può compromettere la capacità di volo e

di foraggiamento delle api, elementi vitali per garantire la sopravvivenza della colonia e del servizio ecosistemico di impollinazione (Tosi et al., 2017).

Questo composto ha effetti letali anche nei confronti delle larve poiché, in seguito ad esposizione a dosi sub-letali, le analisi morfologiche ed immunocitochimiche del cervello hanno mostrato cellule condensate e morte cellulare precoce in prossimità dei lobi ottici. Viene particolarmente influenzato anche l'intero sviluppo larvale e questo potrebbe riversarsi sulla sopravvivenza della colonia (Tavares et al., 2015).

In passato, qualcuno sosteneva che le api potessero scegliere su quali fiori bottinare, evitando quelli con elevati residui di neonicotinoidi. A tale proposito, tramite un test sull'alimentazione (Kessler et al., 2015), è stato dimostrato che *A. mellifera* e *B. terrestris* non hanno la capacità di evitare i fiori dotati di nettare con elevate concentrazioni di neonicotinoidi per nutrirsi. Addirittura, i dati hanno evidenziato che entrambe le specie analizzate preferiscono alimentarsi da soluzioni di saccarosio addizionate con imidacloprid e thiamethoxam, rispetto a quelle costituite unicamente da saccarosio, anche se è stato appurato che le api non sono in grado di percepire la presenza dei neonicotinoidi ma allo stesso tempo non ne sono respinte. In ogni caso, la risposta a questa preferenza si è configurata in un rallentamento della capacità di bottinamento, causato dall'azione degli insetticidi stessi. Le api non possono controllare l'esposizione ai neonicotinoidi contenuti nella loro alimentazione e questo implica che il trattamento delle colture in fioritura con questi composti, considerato illegale, rappresenti un rischio considerevole per le api bottinatrici (Kessler et al., 2015).

I butenolidi sono molecole ad azione insetticida che agiscono sui recettori specifici dell'acetilcolina, ma con un meccanismo diverso dai neonicotinoidi. Il più importante è il flupyradifurone.

Nei test di tossicità acuta, il flupyradifurone ha dimostrato di essere molto meno tossico per *A. mellifera* rispetto ai neonicotinoidi. Le ragioni alla base di questa differenza di tossicità rimangono sconosciute, anche se si cerca di analizzarle.

In seguito all'applicazione di questa molecola per contatto, le api hanno rivelato un lento assorbimento, seguito da una buona degradazione della stessa. Ciò è dovuto al fatto che il flupyradifurone è costituito da pochi metaboliti, tutti non tossici per questi insetti (sia in bio-test orali che di contatto).

Gli studi di legame hanno evidenziato la mancanza di un legame ad alta affinità tra i metaboliti del flupyradifurone e i recettori nicotinici dell'acetilcolina ed è stato anche

osservato che ben tre enzimi (CYP6AQ1, CYP9Q2 e CYP9Q3) del citocromo P450 delle api sono coinvolti nella detossificazione di tale molecola.

I geni del citocromo P450 vengono espressi durante tutti gli stadi di vita di *A. mellifera*, con livelli di espressione maggiori nelle larve più sviluppate e negli adulti. Questo permette di capire che le api sono in grado di metabolizzare il flupyradifurone durante tutti gli stadi di vita.

Inoltre, alcuni fungicidi azolici sono risultati forti inibitori degli enzimi del citocromo P450, mostrando degli effetti sinergici se utilizzati in combinazione con questa molecola (Haas et al., 2021).

Flupyradifurone può provocare un aumento dello stress ossidativo e l'insorgenza della morte cellulare programmata (apoptosi) nelle api (Chakrabarti et al., 2020). Ciononostante, l'ape possiede numerosi enzimi antiossidanti insieme alla capacità di sviluppare tolleranze, al fine di mitigare i fattori di stress fisiologico e compensare questo stress ossidativo indotto dai pesticidi. La morte cellulare programmata si manifesta per tutte le tempistiche di trattamento prese in esame e viene valutata analizzando l'attività della proteina caspasi-3, importante indicatore di apoptosi. L'attività di quest'ultima nei confronti dell'insetticida risulta particolarmente elevata con il passare del tempo di trattamento, stando ad indicare la possibilità di effetti subletali a lungo termine sulle api.

In letteratura è riportato che flupyradifurone può ridurre la sopravvivenza e la longevità delle api adulte. Per questa ragione, oltre alle vie di esposizione orali ben note, anche le vie per contatto di questo insetticida rappresentano un'ulteriore fonte di tossicità acuta (Chakrabarti et al., 2020). Uno studio (Harwood et al., 2022) ha dimostrato che il flupyradifurone potrebbe interferire sull'immunità antivirale di *A. mellifera*. In particolare, influenzerebbe la capacità delle api operaie di combattere l'infezione legata al virus israeliano della paralisi acuta (IAPV), responsabile di una forte alterazione dell'espressione genica sia nelle api adulte che nella covata. In relazione a questo, in seguito all'esposizione di questi insetti a dosi realistiche di campo di flupyradifurone, con e senza la compresenza del virus, è stato osservato che questa molecola influenza l'attività del virus. Infatti, in presenza sia del pesticida che del virus, le api hanno evidenziato dei tassi di infezione maggiori rispetto a quelle esposte unicamente al virus (Harwood et al., 2022). Altre osservazioni hanno messo in evidenza che l'insetticida può ridurre significativamente la sopravvivenza delle api in estate, la termoregolazione post-volo in combinazione ad uno stress nutrizionale, il consumo di cibo e può alterare la capacità di volo, riducendone il successo ma aumentando la velocità (Thong et al., 2019).

In generale, un effetto correlato alla somministrazione di pesticidi è l'alterazione dell'alimentazione delle api, fenomeno riscontrabile anche per il flupyradifurone.

In realtà, solo dosi elevate di questo insetticida, a cui le api non verrebbero mai esposte, hanno mostrato conseguenze significative sulla diminuzione del gusto e dell'apprendimento di questi insetti, durante la ricerca di polline e nettare. Pertanto, l'uso appropriato di questo pesticida è considerato sicuro per i pronubi (Hasselbach e Scheiner, 2018).

Infatti, in condizioni realistiche di campo, con esposizioni sia acute che croniche, questo composto non altera in modo significativo la reattività al saccarosio (Bell et al., 2019).

Il flupyradifurone, secondo quanto descritto, potrebbe quindi avere degli impatti dannosi in termini di sopravvivenza, cognizione e comportamento anomalo nei confronti di *A. mellifera* (Chakrabarti et al., 2020).

2.2.5 SPINOSINE, INIBITORI DELLA SINTESI DEI LIPIDI E DIAMMIDI: SPINOSAD, SPIROTETRAMAT E CLORANTRANILIPROLE

Le spinosine agiscono in modo simile ai neonicotinoidi, legandosi ai recettori dell'acetilcolina e provocando iperattività dei muscoli involontari e paralisi.

Il capostipite di questi composti è lo spinosad, utilizzato contro vari fitofagi, tra cui tripidi, lepidotteri e tignole. Lo caratterizza il fatto di non essere particolarmente selettivo nei confronti degli entomofagi e degli impollinatori. In effetti, mostra una certa tossicità verso *A. mellifera*, inibendone fortemente l'attività dell'enzima ATPasi e acetilcolinesterasi, con effetti osservabili soprattutto a livello di torace. Porta a conseguenze negative anche su *B. terrestris*, *M. rotundata* e *Nomia melanderi*, ape nidificante a terra ed originaria dei deserti e dei bacini desertici semiaridi degli Stati Uniti occidentali (Rabea et al., 2010).

Gli inibitori della sintesi dei lipidi sono insetticidi e acaricidi che vanno ad alterare le vie metaboliche coinvolte nella sintesi degli acidi grassi, agendo specificatamente sull'enzima acetil-CoA carbossilasi. Non sono neurotossici ed il loro spettro d'azione dipende dalla sostanza attiva. Ad esempio, lo spirotetramat è efficace contro alcuni afidi e cocciniglie.

I risultati di uno studio hanno evidenziato, in seguito all'esposizione dell'ape solitaria (*O. cornuta*) in fase larvale a dosi realistiche di campo di spirotetramat ma in condizioni di laboratorio, una riduzione di questi apoidei pari al 18% per gli esemplari maschi e al 15% per le femmine (Sgolastra et al., 2015).

Le diammidi antraniliche rappresentano una classe recente di insetticidi che attivano i recettori della rianodina (RyR), i quali sono coinvolti nel rilascio del calcio. Tali principi attivi provocano l'emissione incontrollata di ioni calcio Ca^{2+} nel citosol, con conseguente arresto

delle contrazioni motorie, paralisi e morte, dopo 24-72 ore dall'assunzione. Appartiene a questa categoria di insetticidi il clorantraniliprole, di crescente impiego in vigneto contro vari lepidotteri.

Questa sostanza è considerata moderatamente o addirittura non tossica nei confronti delle api mellifere, dato che non mostra effetti particolarmente dannosi né sulla loro sopravvivenza né sull'attività locomotoria. Infatti, solo in seguito ad un'esposizione acuta di 72 ore, è stata osservata una mortalità del 20% e una riduzione della distanza percorsa dalle api, mentre con tempi inferiori non è stato riscontrato alcun effetto letale (Williams et al., 2020). Uno studio ha dimostrato che gli enzimi CYP9Q, facenti parte del citocromo P450 di questi insetti, sono coinvolti in meccanismi metabolici di detossificazione del clorantraniliprole (Haas et al., 2021).

Un altro lavoro di ricerca, condotto a livello laboratoriale, ha sancito che sia le operaie che i fuchi di *B. terrestris*, in seguito ad esposizione cronica per via orale al "Coragen", prodotto commerciale a base di clorantraniliprole, evidenziavano un comportamento letargico. Sempre un'esposizione orale a tale sostanza ha determinato sia una tossicità acuta che cronica, rispettivamente dopo 72 ore e 4 settimane, con gravi effetti subletali anche a livello di riproduzione. Invece, le operaie di *B. terrestris*, esposte a tale sostanza per contatto, non hanno subito alcun effetto sulla sopravvivenza (Smagghe et al., 2013).

2.2.6 PRODOTTI DI ORIGINE VEGETALE: PIRETRINE E AVERMECTINE

Le piretrine sono insetticidi naturali che si estraggono dai fiori di crisantemo (*Chrysanthemum*), configurandosi chimicamente come esteri dell'acido crisantemico, e dotati di una tossicità inferiore ai piretroidi. Hanno un'attività neurotossica assonica, che comporta paralisi e morte, e agiscono per contatto su insetti come afidi, omotteri e lepidotteri. Molte piretrine sono poco persistenti, poiché si degradano facilmente sia in presenza di forte illuminazione che di alte temperature (sono fotolabili e termolabili). Anche per questo motivo i trattamenti con tali principi attivi vengono effettuati di notte e con temperature più basse. Inoltre, per cercare di ridurre la loro veloce degradazione e per aumentarne la persistenza, in molti formulati commerciali il piretro, capostipite delle piretrine, veniva miscelato con dei sinergizzanti, come il piperonil butossido (PPBO).

Il piretro è ammesso in viticoltura biologica per la lotta contro *S. titanus* e si contraddistingue per avere una scarsa selettività, risultando particolarmente dannoso nei confronti degli insetti utili. Se colpisce direttamente gli impollinatori, il suo effetto può essere letale ma la

sua ridotta persistenza, unita alle buone pratiche agronomiche, riducono l'impatto che può avere su di essi (Soni V. e Anjekar A., 2014).

Le avermectine, estratte dal micelio di un fungo del suolo (*S. avermitilis*), sono insetticidi-acaricidi che agiscono prevalentemente per ingestione, provocando scompensi e paralisi negli organismi suscettibili. Hanno un'azione neurotossica, stimolando il rilascio dell'acido gamma amino butirrico (GABA), un neurotrasmettitore inibitorio. Quest'ultimo, legandosi a specifici recettori, altera la trasmissione del segnale tra le giunzioni neuro-muscolari. Un'avermectina utilizzata in vigneto contro le larve di lepidotteri è l'emamectina-benzoato. Questo composto è meno tossico nei confronti degli artropodi benefici, come api da miele, parassitoidi e predatori, soprattutto quando l'esposizione avviene dopo un giorno dall'applicazione. I suoi residui sono leggermente tossici, mostrando una mortalità inferiore al 20%, entro un giorno dall'applicazione. Infatti, possiede un'emivita breve sul fogliame (Jansson et al., 1997).

A conferma di ciò, su una coltivazione di erba medica trattata con emamectina-benzoato è stata osservata una mortalità delle api da miele pari quasi al 100% dopo 3 ore dal trattamento, del 46% dopo 8 ore e del 3% dopo 24 ore. Inoltre, tutte le api sopravvissute hanno mostrato un aspetto normale (Chukwudebe *et al.*, 1997).

2.3 FUNGICIDI ED ERBICIDI

I fungicidi, o anticrittogamici, e gli erbicidi sono sostanze che possiedono una tossicità relativamente contenuta, rispetto agli insetticidi e agli acaricidi, nei confronti delle api. Infatti, quasi tutte le prove realizzate con questi due gruppi di prodotti, alle dosi consigliate, hanno mostrato effetti limitati sia in campo che in laboratorio.

I fungicidi vengono ampiamente rilevati nelle colonie di *A. mellifera* e qualche effetto dannoso può essere osservato a livello di covata, piuttosto che negli esemplari adulti. Il chlorothalonil, principio attivo utilizzato fino al 2019 anche contro la peronospora della vite, è stato riscontrato a livelli particolarmente elevati sia nel polline che nella cera d'api e le larve sottoposte ad una dieta contenente una concentrazione di 34 mg/L hanno subito una mortalità pari al 60%. Altri fungicidi, come lo ziram e il captan, attualmente autorizzati ma non impiegati su vite, sono risultati lievemente tossici sia per ingestione che per contatto, causando un'elevata mortalità larvale quando incorporati nella dieta alle dosi ammesse in campo (Johnson, 2015). Anche lo zineb, ditiocarbammato considerato non pericoloso e ampiamente usato fino al 2001 soprattutto contro *Plasmopara viticola*, ha mostrato una certa mortalità sulle api, anche se contenuta.

Oltre ad avere una modesta azione tossica diretta, i fungicidi possono agire anche sulla fecondità delle regine, inibendola. Questo comporta, soprattutto a seguito di trattamenti effettuati in piena fioritura, un lento e progressivo spopolamento degli alveari senza un aumento della mortalità.

Inoltre, gli anticrittogamici possono interferire sul sistema sociale e fisiologico delle api o agire in combinazione con altri fattori di stress. Recentemente è stato osservato che nelle aree a coltivazione intensiva i fungicidi rappresentano un fattore di stress per le api.

Di conseguenza, questi insetti impollinatori sviluppano maggiori probabilità di essere attaccati da agenti patogeni, se nutriti con polline contaminato da fungicidi, evidenziando un indebolimento nella resistenza contro gli attacchi da parte dei parassiti.

Similmente ai fungicidi, ad oggi i diserbanti sono considerati poco tossici nei confronti delle api. Essi causano soprattutto danni indiretti agli impollinatori, privandoli delle erbe spontanee e di alcune piante da fiore che producono nettare e polline.

Particolare attenzione va data al glifosate, un erbicida fosfororganico sistemico che ricopre una notevole importanza per il suo grande utilizzo nella gestione delle infestanti in tutto il mondo. Tramite alcune indagini, sono stati rinvenuti dei residui di questa sostanza nel miele prodotto dalle api e questo ha suscitato delle perplessità dato che, trattandosi di un diserbante, non dovrebbe trovarsi sulle piante visitate dalle api. Questo ha permesso di capire che non si tratta di una molecola facilmente degradabile ma bensì di un inquinante largamente diffuso nell'ambiente (Contessi, 2016).

Anche se possiede una tossicità medio-bassa per ingestione nei confronti delle api, una loro esposizione a questo principio attivo, alle quantità riscontrabili nell'ambiente, ne può compromettere le capacità cognitive necessarie per la navigazione spaziale nei voli di bottinamento e per il ritorno all'alveare.

Il glifosate, una volta penetrato nei tessuti, inibisce la produzione dell'enzima EPSP sintetasi, che a sua volta impedisce alla pianta di produrre gli aminoacidi aromatici essenziali per la sua crescita ed il suo sviluppo. In seguito al trattamento, la pianta gradualmente ingiallisce ed appassisce, per poi morire e decomporsi.

Tale composto dovrebbe quindi essere innocuo nei confronti degli animali, api comprese, poiché l'enzima EPSP sintetasi, su cui agisce, è tipico delle piante e dei microorganismi.

Le api fanno però affidamento su un microbiota intestinale specializzato, che ne favorisce la crescita e la difesa contro i patogeni. La maggior parte dei batteri intestinali delle api contiene proprio l'enzima preso di mira da questo principio attivo. Infatti, è stato dimostrato che l'esposizione di questi insetti al glifosate può alterarne la comunità microbica intestinale,

aumentando la sensibilità alle infezioni da parte di patogeni, in particolar modo batterici, con l'aumento del rischio di morte (Motta et al., 2018).

Questa sostanza influisce anche sullo sviluppo larvale di *A. mellifera* poiché è stato stimato che il cibo contenente tracce di glifosate promuove dei cambiamenti nella proporzione di covata con alterazioni dello sviluppo. Infatti, in seguito all'alimentazione tramite cibo contaminato, le covate incorrono in una muta ritardata, o nella morte, ed hanno un peso ridotto (Vázquez et al., 2018).

Questi studi sono stati condotti in vitro per cui possono fornire dei dati importanti per determinare gli effetti indesiderati del glifosate sulle api anche se l'ottimale sarebbe integrare queste analisi con il monitoraggio in campo al fine di fornire una migliore comprensione dell'impatto di questo prodotto sugli alveari esposti a condizioni ambientali realistiche.

CAPITOLO 3 – DECLINO DEGLI IMPOLLINATORI E LORO CONSERVAZIONE

3.1 FATTORI ASSOCIATI AL DECLINO DEGLI IMPOLLINATORI

I fattori alla base del declino mondiale degli impollinatori sono molteplici e tutti strettamente legati all'attività umana: il cambiamento nell'uso del suolo, la gestione agricola intensiva e l'impiego di pesticidi, l'inquinamento ambientale, la comparsa di specie esotiche invasive, le malattie causate da agenti patogeni e i cambiamenti climatici. Molto spesso questi fattori agiscono in combinazione, determinando effetti sinergici che esercitano una forte pressione sugli impollinatori.

L'affermarsi dell'agricoltura intensiva, con lo scopo di aumentare significativamente le rese di svariate colture agrarie, ha provocato delle ripercussioni estremamente negative sull'ambiente, come la compattazione e la degradazione dei suoli, l'aumento delle emissioni di gas serra che stanno alla base dei cambiamenti climatici, l'inquinamento delle acque, nonché la perdita di biodiversità. L'utilizzo massiccio di insetticidi, fungicidi ed erbicidi di sintesi rappresenta una delle cause più importanti del declino dei pronubi. Come già riportato, l'esposizione a questi composti rende gli impollinatori molto vulnerabili, con conseguenze dannose non solo di tipo acuto ma anche cronico (effetti sull'apprendimento, sulla memoria e sull'orientamento).

Il disorientamento delle api e dei bombi è un fenomeno molto grave che può compromettere la sopravvivenza di interi alveari o nidi ma anche l'impollinazione delle specie coltivate e spontanee e la produzione di miele.

Anche i cambiamenti climatici hanno un forte impatto sugli impollinatori, dal momento che ne influenzano diversità ed abbondanza, causando anche un anticipo del loro periodo di attività. Ad oggi non è ancora possibile capire a fondo gli impatti di questi mutamenti sugli impollinatori. È molto probabile che un aumento delle temperature di 3,2 °C comporterà la riduzione del 50% del numero attuale di insetti entro il 2100.

Negli ultimi anni il declino della presenza di api in Italia è risultato fino a mille volte superiore, rispetto al passato. A favorire ciò è stata anche la maggiore suscettibilità di questi insetti ai patogeni, i quali si caratterizzano per una virulenza più marcata, insieme alla comparsa di specie alloctone, o aliene, che provocano problemi rilevanti sugli equilibri naturali.

Il servizio ecosistemico di impollinazione dipende dalla disponibilità di habitat di nidificazione e di risorse floreali ma anche dalla distanza di foraggiamento delle api. Di conseguenza, la semplificazione e la frammentazione dei paesaggi agricoli e naturali, unitamente ai

cambiamenti nell'uso del suolo, influiscono direttamente sull'abbondanza di piante e pronubi, alterando il processo stesso di impollinazione (Bellucci et al., 2020).

Strettamente associato alla riduzione di questi insetti è il fenomeno, ancora poco conosciuto, definito "sindrome dello spopolamento degli alveari" o "*Colony Collapse Disorder*" (CCD). Questa sindrome è stata riscontrata per la prima volta nell'annata 2006-2007 in Nord America e si è poi diffusa in Europa: essa comporta una forte moria delle colonie di *A. mellifera*. Il sintomo principale è associato ad una riduzione di api adulte all'interno dell'alveare, senza la presenza di cadaveri o segni legati all'insorgenza di malattie parassitarie. Per questa ragione, è un fenomeno alquanto misterioso, anche se si presuppone che sia determinato da una concomitanza di cause, tra cui la morte improvvisa e precoce sul campo di un gran numero di operaie adulte, la comparsa di malattie, la presenza di residui di pesticidi nell'alveare, stress ambientali, l'affermazione di colture geneticamente modificate e i cambiamenti nell'esecuzione di varie pratiche colturali. Tale sindrome è attualmente molto studiata per approfondirne ed accertarne le diverse origini (Oldroyd, 2007).

Il Ministero italiano dell'agricoltura nel 2009 ha finanziato un ampio progetto di ricerca, "Apenet: monitoraggio e ricerca in agricoltura", con l'obiettivo di studiare il complesso fenomeno della mortalità delle api e dello spopolamento degli alveari attraverso programmi di monitoraggio e ricerca mirata. Faceva capo a questo progetto un gruppo di lavoro dotato delle migliori e maggiori competenze nei vari settori della ricerca apistica; Questo rappresentava il vero e proprio punto di forza del progetto, che analizzava soprattutto le interazioni tra i diversi fattori di rischio, fornendo strumenti scientifici ed operativi per salvaguardare la presenza di questi importantissimi insetti (Bortolotti et al., 2009). Attualmente, con le stesse prerogative, il programma viene portato avanti dal progetto "BeeNet: api e biodiversità nel monitoraggio dell'ambiente", che utilizza ben due reti di monitoraggio, ovvero una sulle api mellifere e l'altra sulle api selvatiche (BeeNet, 2023).

3.2 LA LOTTA BIOLOGICA E L'APE

L'Unione Europea si caratterizza da un sistema di normative, raggruppate nel Regolamento (CE) 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio dell'Unione Europea, tra i più restrittivi al mondo per quanto riguarda l'autorizzazione e l'immissione di pesticidi sul mercato. Per poter essere approvata, tra le altre caratteristiche, una sostanza attiva non deve avere alcun effetto inaccettabile sull'ambiente, considerando la sua distribuzione nell'ambiente stesso, il suo impatto sulle specie non bersaglio e sul loro comportamento,

nonché il suo effetto sulla biodiversità e sull'ecosistema (Regolamento (CE) 1107/2009, Art. 4).

A tale proposito, in tempi piuttosto recenti l'UE ha revocato alcuni principi attivi associati alla famiglia dei neonicotinoidi, come thiamethoxam ed imidacloprid, proprio perché hanno evidenziato un'elevata pericolosità sia per le api da miele che per quelle selvatiche.

Sono molteplici gli studi che mettono in evidenza gli effetti dannosi di varie categorie di prodotti fitosanitari su questi insetti e, analizzando i residui riscontrati su un certo numero di api morte, quelli più presenti sono insetticidi, soprattutto piretroidi, esteri fosforici e neonicotinoidi.

Quindi, per limitare l'impatto drammatico che i prodotti fitosanitari hanno nei confronti degli impollinatori, risulta fondamentale dirigersi verso un'agricoltura più sostenibile che si basi sul minor impiego di prodotti chimici di sintesi, quindi su sistemi di lotta biologica ed integrata. Ci sono anche molte altre misure che permettono di limitare l'uso e l'impatto di questi prodotti come l'agricoltura biologica e l'agricoltura di precisione, ma anche l'insieme di una serie di buone pratiche agronomiche, come la rotazione colturale, la lavorazione leggera del terreno, la creazione di aree di rifugio per gli organismi utili, il controllo conservativo delle infestanti e l'uso di fertilizzanti organici.

L'attuazione di queste strategie permette di salvaguardare la biodiversità e la fertilità del suolo, parametri indispensabili per garantire una buona nutrizione delle piante, riducendo l'inquinamento ambientale e garantendo la sicurezza alimentare (Bellucci et al., 2020).

In entomologia applicata, per lotta biologica s'intende l'utilizzo di artropodi, definiti entomofagi, allo scopo di contrastare la proliferazione di altri artropodi dannosi nei confronti delle colture agrarie. Gli entomofagi si suddividono in predatori e parassitoidi. I primi attaccano e si cibano di numerose vittime senza stabilire alcun tipo di rapporto con esse, mentre i secondi si nutrono di un'unica vittima, instaurando stretti rapporti anatomico-fisiologici e svolgendo l'attività parassitaria solo in forma giovanile.

La lotta biologica ha origini piuttosto antiche, anche se diversi fatti storici le hanno attribuito una rinnovata importanza nel XIX secolo. Quello più importante è relativo all'introduzione, in California, di un coleottero entomofago per contrastare i danni causati dalla cocciniglia australiana *Icerya purchasi*, con l'ottenimento di un successo eclatante. Con il passare degli anni, la migliore comprensione dei meccanismi che regolano i rapporti tra i diversi livelli trofici e l'evolversi delle tecniche e delle tecnologie di utilizzo dei nemici naturali ne hanno permesso un impiego sempre più efficace ed efficiente.

Il controllo biologico offre innumerevoli vantaggi dal punto di vista tossicologico, ecologico ed economico. È assolutamente innocuo per l'uomo ed i vertebrati e non crea danni nei confronti dell'ambiente, se attuato correttamente. Gli entomofagi possono diffondersi nell'area in cui è stato realizzato il lancio e sono generalmente selettivi, avendo come bersaglio determinate specie, al contrario degli insetticidi. In aggiunta, il loro utilizzo risulta molto meno dispendioso rispetto all'impiego di prodotti chimici. Infatti, pur prevedendo un rilevante costo di partenza, permettono un controllo permanente della specie dannosa a medio-lungo termine, con una riduzione dei costi fino allo zero dato che gli effetti si mantengono nel tempo.

Di contro, i mezzi biologici non possono controllare tutte le avversità e necessitano di conoscenze approfondite inerenti alla biologia e alla biosistemica. In questo contesto, il metodo di lotta biologica più adeguato è quello conservativo, o protettivo. Esso prevede l'uso oculato dei prodotti fitosanitari, evitando l'esecuzione di trattamenti prima e dopo il lancio degli entomofagi per non impattare negativamente su di essi. I prodotti fitosanitari prescelti devono essere quanto più selettivi e le pratiche colturali devono essere opportune. Questo metodo prevede anche una gestione attenta dell'ecosistema, con l'introduzione o il mantenimento di aree a vegetazione spontanea, colture forestali e siepi, semina di piante nettariifere e pollinifere negli interfilari del vigneto in cui si effettuano i lanci al fine di salvaguardare sia gli entomofagi che gli altri insetti utili, impollinatori compresi (Lucchi, 2017).

Negli anni sono nate anche molte altre strategie per contrastare gli insetti dannosi, limitando l'impiego delle sostanze chimiche, come la lotta microbiologica e genetica. Inoltre, l'introduzione di una definizione più recente ed ampia di lotta biologica, che vi fa rientrare anche i semiochimici, le sostanze fagostimolanti e repellenti, gli ormoni ed altre molecole, ha permesso l'affermazione della lotta biologica moderna, nella quale risulta centrale l'utilizzo di svariate tipologie di trappole, tra cui quelle a feromoni. Esse vengono utilizzate per scopi differenti, in particolare rappresentano degli ottimi mezzi di monitoraggio ma anche uno strumento fondamentale in molti piani di lotta integrata.

A tale proposito, i feromoni possono essere utilizzati per la soppressione del maggior numero possibile di insetti dannosi attraverso quella che viene definita "confusione sessuale", che si attua propriamente mediante la collocazione in campo di diffusori. I meccanismi con cui viene realizzata sono tre: disorientamento sessuale, "*attract and kill*" ed autoconfusione. Nel primo caso vengono rilasciate quantità di feromoni tali da risultare delle false tracce, disorientando gli insetti maschi nella localizzazione delle femmine. Nel

secondo, il feromone viene utilizzato insieme ad un insetticida, determinando la morte dell'insetto nel momento del suo avvicinamento. Nel terzo caso, si utilizza una sorta di trappola, intrisa di feromone, che permette all'insetto di uscire attirando così altri maschi e creando una situazione di confusione (Lucchi, 2017).

I feromoni utilizzati nella confusione sessuale sono sostanze a cui gli insetti sono naturalmente esposti, poiché già presenti nell'ambiente. Inoltre, agiscono solo su una determinata specie, ovvero il parassita bersaglio che si deve tenere sotto controllo. Di conseguenza, questa pratica risulta estremamente rispettosa nei confronti della salute umana ma anche dell'entomofauna utile. Con l'attuazione della confusione sessuale i pronubi possono svolgere indisturbati la loro azione; le api possono bottinare sui fiori sia delle piante da frutto, ma anche dai bordi e dalle fasce inerbite all'interno degli appezzamenti. A livello economico, i diffusori a feromone possono risultare anche abbastanza vantaggiosi, nonostante possiedano degli ingenti costi iniziali, poiché la loro capacità è piuttosto elevata e la loro azione prolungata nel tempo. Invece, gli svantaggi possono essere legati alle caratteristiche dell'ambiente in cui bisogna apporre i diffusori, alla densità di popolazione del fitofago dannoso, alla selettività del feromone verso un'unica specie bersaglio, qualora ce ne sia più di una, e al fatto che questo sistema non possa essere utilizzato verso tutti i fitofagi (Maini, 2007).

3.3 LOTTA INTEGRATA

È possibile mitigare gli effetti collaterali dei pesticidi sfruttando anche i principi della lotta integrata (*Integrated Pest Management* - IPM).

Infatti, la protezione integrata ha lo scopo di sostituire progressivamente gli insetticidi di sintesi con mezzi alternativi e rappresenta una strategia di controllo dei fitofagi, che cerca di mantenere le popolazioni di questi insetti dannosi al di sotto di densità che provocano danni economici, utilizzando tutti i fattori e le tecniche disponibili nel rispetto dei principi ecologici, economici e tossicologici.

Alla base della lotta integrata risiedono la lotta guidata ed i suoi principi, ovvero limitare l'impiego di insetticidi qualora non siano state superate determinate densità di fitofagi, stimando le soglie economiche di danno e d'intervento, eseguire campionamenti ed utilizzare prodotti poco tossici nei confronti di entomofagi ed insetti utili, in generale. A partire dagli anni '80, l'attuazione di queste misure ha permesso una rilevante riduzione del numero di trattamenti insetticidi, anche in viticoltura, ed ha incentivato l'erogazione di finanziamenti per un'agricoltura ecocompatibile in cui la lotta guidata stessa ha svolto un ruolo cruciale.

La lotta integrata, perseguendo le regole di quella guidata, procede a step. Una volta presa la decisione di agire contro un fitofago dannoso, tramite la stima e valutazione delle soglie, per prima cosa si cerca di contrastarlo con un mezzo biologico. Se questo non è efficace o disponibile allora si ricorre all'impiego di mezzi biotecnici ed infine, solo se entrambe le soluzioni non assolvono allo scopo di limitare i danni legati a quel determinato insetto, allora si procede con i mezzi chimici.

L'applicazione della lotta integrata richiede delle conoscenze approfondite relative a piante ospite, fitofagi ed entomofagi, tecniche colturali e prodotti fitosanitari (Pennacchio, 2014).

La Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio dell'Unione Europea rappresenta un'importante possibilità per l'attuazione della lotta integrata in Italia. Essa sancisce che "gli Stati membri adottino tutte le necessarie misure appropriate per incentivare una difesa fitosanitaria a basso apporto di pesticidi, privilegiando ogniqualvolta possibile i metodi non chimici, questo affinché gli utilizzatori professionali di pesticidi adottino le pratiche o i prodotti che presentano il minor rischio per la salute umana e l'ambiente tra tutti quelli disponibili per lo stesso scopo. La difesa fitosanitaria a basso apporto di pesticidi include sia la difesa integrata sia l'agricoltura biologica a norma del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio, del 28 giugno 2007, relativo al metodo di produzione biologico di prodotti agricoli" (Direttiva 2009/128/CE, Art. 14). Inoltre, sono previsti anche degli incentivi per tutti gli operatori che si apprestino ad attuare, su base volontaria, gli orientamenti di protezione integrata su specifiche colture, con monitoraggio e verifica della realizzazione di queste misure nei tempi successivi.

Nell'allegato III della Direttiva 128 vengono specificati i principi generali di difesa integrata e le tecniche da preferire nella prevenzione e nella soppressione degli organismi nocivi. Tra i principi di lotta integrata va sottolineato quello inerente "alla protezione e all'accrescimento di popolazioni di importanti organismi utili, per esempio attraverso adeguate misure fitosanitarie o l'utilizzo di infrastrutture ecologiche all'interno e all'esterno dei siti di produzione" (Direttiva 2009/128/CE, Allegato III). In Italia, la Direttiva 128 viene recepita attraverso Decreto Legislativo n. 150 del 14 agosto 2012. Essa prevede che gli obiettivi siano perseguiti anche attraverso la predisposizione di un Piano d'Azione Nazionale. Attraverso il Decreto Interministeriale del 22 gennaio 2014, l'Italia adotta il Piano di Azione Nazionale (PAN) per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari.

Diversi studi dimostrano che i pesticidi, di norma estremamente dannosi sia su insetti bersaglio che utili, se utilizzati in un contesto di gestione integrata, garantiscono il controllo dei parassiti e non impattano eccessivamente sugli impollinatori (Biddinger e Rajotte, 2015).

Concepito dal MiPAAF nel 2014 ma operativo da gennaio 2016, il Sistema di Qualità Nazionale di Produzione Integrata (SQNPI) è uno schema di certificazione che interessa la produzione agroalimentare e si applica a tutte le aziende del territorio nazionale italiano che utilizzano tecniche di produzione agricola integrata. È riconosciuto a livello nazionale e comunitario dal Regolamento CE 1974/2006 e si pone l'obiettivo di valorizzare ed identificare le produzioni vegetali, ottenute in conformità ai disciplinari regionali di produzione agricola integrata, aggiungendo valore al prodotto nei confronti della Grande Distribuzione Organizzata (GDO) e del consumatore per quanto riguarda sicurezza, qualità e processi di coltivazione rispettosi dell'ambiente e della salute dell'uomo, ovvero Qualità Sostenibile (CREA, 2023).

3.4 VITICOLTURA BIOLOGICA, BIODINAMICA, CONSERVATIVA E DI PRECISIONE

Dal 2022 l'agricoltura biologica è disciplinata a livello europeo dal nuovo Regolamento (UE) 2018/848 che abroga e sostituisce il Regolamento (CE) 834/2007, insieme alle sue modalità applicative riportate nel Regolamento (CE) 889/2008, apportando alcune modifiche.

Queste normative definiscono l'agricoltura biologica come un sistema globale di gestione dell'azienda agricola e di produzione agroalimentare basato sull'interazione tra le migliori pratiche ambientali, un alto livello di biodiversità, la salvaguardia delle risorse naturali e l'applicazione di criteri rigorosi in materia di benessere degli animali.

Per quanto riguarda la conduzione agronomica dell'azienda biologica, in particolare nel settore vitivinicolo, è fondamentale mantenere e potenziare la fertilità del suolo, prevenendo i fenomeni di compattazione ed erosione e nutrendo le piante sfruttando gli organismi presenti nel terreno. Inoltre, è importante ridurre al minimo l'impiego di risorse non rinnovabili e i fattori di produzione di origine esterna, riciclare i rifiuti ed i sottoprodotti di origine vegetale ed animale, sfruttandoli come fattori di produzione per le colture e l'allevamento, e tutelare la salute delle piante attraverso misure di profilassi (coltivazione di specie appropriate e di varietà resistenti ai parassiti e alle malattie, utilizzo di pratiche colturali idonee e protezione dei nemici naturali dei parassiti).

L'agricoltura biologica limita rigorosamente l'uso di qualsiasi sostanza chimica di sintesi, sia che si tratti di pesticidi che di fertilizzanti, promuovendo l'uso di prodotti di origine vegetale ed animale, di microorganismi associati alla lotta biologica e molecole da essi prodotte, di feromoni ed altre sostanze. Infatti, tra i prodotti tradizionalmente utilizzati, si trovano due principi attivi di natura organica fondamentali nella difesa di un vigneto biologico: lo zolfo ed il rame (Mazzilli e Braccini, 2010).

In alcuni vigneti biologici è stato osservato che, rispetto al diserbo chimico, operazioni come gli sfalci tardivi o l'inerbimento dell'interfila permettono di arricchire le specie di piante, con un conseguente incremento di risorse per tutti gli impollinatori.

L'attuazione di pratiche più sostenibili di gestione di un vigneto permette di incrementare la biodiversità ed i servizi ecosistemici, garantendo anche una migliore qualità del terreno e la presenza di superfici vegetate permanenti, di cui possono beneficiare soprattutto gli impollinatori nidificanti al suolo. Anche le api selvatiche possono trarre vantaggio da misure più sostenibili, a maggior ragione nel caso in cui venga lasciato sul terreno del materiale vegetale e legnoso vecchio o morto (Bianco et al., 2021).

Quanto appena detto fa capire che la gestione biologica di un vigneto contribuisce all'abbondanza delle api, solo se associata alle pratiche agronomiche di gestione dell'habitat. Anche la presenza di aree boschive o siepi nelle vicinanze permette di incrementare maggiormente i siti di nidificazione di questi insetti (Uzman et al., 2020). Inoltre, agricoltura biologica e pratiche sostenibili determinano anche un incremento della diversità delle specie di impollinatori (Kehinde e Samways, 2014).

Uno studio ha evidenziato che il numero medio di interazioni tra insetti e fiori risulta più elevato nei vigneti biologici rispetto ai vigneti convenzionali e ai siti naturali. Questa differenza può essere spiegata da un'elevata ricchezza di specie di piante da fiore e da un'abbondante densità di fiori, entrambe favorite dalle tecniche agronomiche tipiche della gestione biologica. Quindi, ecosistemi viticoli ben gestiti promuovono la conservazione delle interazioni tra insetti impollinatori e fiori, importanti dal punto di vista ecologico (Kehinde e Samways, 2014).

Un dato contrastante viene fornito da un lavoro di ricerca che afferma che l'agricoltura biologica può avere effetti negativi sugli impollinatori, portando ad una loro riduzione di quasi il 12%, a causa però di un'elevata quantità di rame nel suolo e di un'intensa lavorazione del terreno, che ha limitato fortemente la disponibilità di fiori e di biomassa vegetale. È quindi fondamentale, anche in un contesto di questo tipo, ponderare accuratamente l'esecuzione di pratiche agricole e l'impiego di prodotti fitosanitari, anche se meno impattanti di quelli di sintesi (Ostandie et al., 2021).

Tra gli svantaggi associati all'agricoltura biologica vanno annoverate le rese più basse rispetto alla gestione convenzionale, quindi la necessità di avere più superficie per equiparare i rendimenti. Questo può tradursi in una perdita di biodiversità. Da questo punto di vista, l'agricoltura convenzionale può essere più sostenibile e rispettosa dell'ambiente

rispetto all'agricoltura biologica. Infatti, solo l'agricoltura biologica a basso rendimento incentiva positivamente la sostenibilità ambientale (Trewavas, 2001).

A partire dal 2012, con l'entrata in vigore del Regolamento (UE) 203/2012, è stato possibile normare la trasformazione delle uve biologiche a vino biologico, grazie alla creazione di regole precise sulle tecniche di vinificazione biologica.

L'agricoltura biodinamica è stata concepita dal filosofo austriaco Rudolf Steiner (1861-1925) ed unisce nozioni spirituali, nello specifico legate alle fasi lunari, all'attuazione di pratiche agronomiche dotate di base scientifica.

Si tratta di un'agricoltura ecologica, che non utilizza sostanze di sintesi. Prevede l'assetto agro-ecologico aziendale tramite il ciclo chiuso, almeno il 10% della superficie agricola utilizzata (SAU) destinata alla biodiversità, il solo diserbo meccanico e il rispetto del rapporto concimazioni-rotazioni, con l'obbligo della presenza animale per l'approvvigionamento delle sostanze concimanti, che vanno compostate in situ. I preparati biodinamici, come il cornoletame o preparato 500, sono compresi nella lista dei corroboranti dell'agricoltura biologica (Terra e Vita, 2023).

Le pratiche biodinamiche sono prive di fondamento scientifico; da alcune ricerche sperimentali effettuate si desume che, se paragonata all'agricoltura biologica tradizionale, l'agricoltura biodinamica non presenta alcun vantaggio misurabile (Chalker-Scott, 2013).

Ciononostante, poiché l'agricoltura biodinamica, come quella biologica, si basa sulla sostenibilità dei processi produttivi, essa favorisce la biodiversità e la naturale capacità di resilienza degli agroecosistemi, privilegiando l'applicazione di mezzi tecnici a ridotto impatto sull'ambiente. Dev'essere considerata tra i modelli di produzione agricola e viticola che possono incrementare la presenza degli impollinatori nel territorio.

Esistono altre forme di gestione agricola e viticola che cercano di salvaguardare le risorse ambientali e la biodiversità. Ad esempio, l'agricoltura conservativa rappresenta un sistema integrato di gestione dell'agro-ecosistema che promuove la produzione agricola riuscendo a diminuire i processi di degradazione del terreno attraverso la gestione integrata del suolo, ad aumentare la capacità di conservazione dell'acqua e delle risorse biologiche esistenti e a contenere i costi di produzione.

I pilastri fondamentali dell'agricoltura conservativa sono tre e riguardano in primo luogo la minima o non lavorazione del terreno, evitando in ogni caso l'aratura, per preservarne la struttura, la pedofauna e la sostanza organica, in secondo luogo la copertura permanente del suolo con colture di copertura, residui e coltri protettive ed infine la rotazione delle colture con diversi livelli di diversificazione, in grado di garantire numerosi vantaggi agronomici

come l'aumento dei microrganismi del suolo ed il controllo delle infestanti e dei parassiti delle piante (FAO, 2023).

Prove realizzate sulla gestione conservativa in vigneto hanno evidenziato un miglioramento delle caratteristiche del suolo e, in generale, hanno consentito una valutazione positiva di questa strategia di gestione (Mulè et al., 2014).

Inoltre, i modelli di agricoltura conservativa e biologica rendono possibile il raggiungimento di buone rese produttive, riducendo allo stesso tempo i danni sull'ambiente e sugli impollinatori (Bianco et al., 2021).

Per quanto riguarda la viticoltura di precisione, essa rappresenta un sistema di gestione informatizzato del più elevato numero di informazioni possibili riguardanti non solo un intero appezzamento ma soprattutto le singole porzioni dello stesso. Queste ultime possono essere anche molto piccole, a seconda delle necessità, e possono arrivare alla singola vite. Ad oggi, la viticoltura di precisione permette agli operatori di avere a disposizione dati molto importanti, quali lo stato di salute, il vigore e le necessità fisiologiche della singola pianta grazie a degli efficientissimi sistemi informatici che sono così in grado di supportare in modo automatizzato la gestione di un grande numero di arbusti (Dosso e Spezia, 2006).

I sistemi di monitoraggio utilizzati devono essere non-distruttivi, economicamente poco onerosi e allo stesso tempo devono garantire una certa tempestività e precisione nell'acquisizione dei dati, mostrando anche una buona ripetibilità. Per questa ragione, ultimamente l'attenzione si è concentrata sull'utilizzo di sensori di vario genere, in grado di fornire informazioni molto dettagliate sulle condizioni della coltura e sulla base delle quali operare un'ottimizzazione dei fattori produttivi e delle pratiche agronomiche.

La viticoltura di precisione permette quindi, secondo quanto appena descritto, di realizzare irrigazioni e concimazioni sito-specifiche, modulando e riducendo le quantità di prodotto utilizzato in base alle reali esigenze della pianta ed evitando sprechi e sovradosaggi, e vendemmie sito-specifiche.

Importanti sono anche le ripercussioni sui trattamenti fitosanitari, i quali vengono effettuati non in relazione alla superficie da trattare, bensì sulla base dei volumi di biomassa effettivamente presenti. Questo obiettivo è stato raggiunto recentemente grazie alla realizzazione di atomizzatori che sfruttano sensori di diversa tipologia. Essi vengono direttamente montati sulla macchina operatrice e sono in grado di individuare i volumi e le conformazioni delle chiome e, in tempo reale, variare la dose di prodotti da distribuire ed il numero di ugelli attivi, in base alla loro posizione sulla barra. Questo modo di operare

permette risparmi nell'uso di agrofarmaci fino al 40%, con importanti risvolti ambientali ed economici.

La viticoltura di precisione si identifica quindi come un mezzo di organizzazione aziendale che permette l'ottimizzazione di tutti i fattori produttivi, grazie a miglioramenti quantitativi. Essa si coniuga perfettamente con il concetto di sostenibilità, nelle sue differenti implicazioni (Carnevali et al., 2012).

3.5 MISURE AGRONOMICHE ATTUABILI PER IMPLEMENTARE LA BIODIVERSITÀ E LA PRESENZA DEGLI IMPOLLINATORI ALL'INTERNO DEL PAESAGGIO VITICOLO

Tutte le forme di viticoltura possono avere un buon impatto sulla biodiversità, e quindi anche sugli insetti utili, se associate ad adeguate pratiche agronomiche.

La vite comune (*Vitis vinifera* L.) è una coltura che si contraddistingue da un tasso elevato di autoimpollinazione e da una contenuta incidenza dell'attività degli insetti sulla produttività. Infatti, è piuttosto raro osservare delle api nutrirsi dai fiori delle piante di vite, anche se una gestione conservativa dell'interfila, ovvero della fascia di terreno che separa due filari, può sicuramente favorire la presenza all'interno dei vigneti di habitat di foraggiamento aggiuntivi (Bianco et al., 2021). A tale proposito, uno studio ha dimostrato che la promozione di fiori selvatici tramite la semina o rigenerazione naturale della copertura erbosa nello spazio interfilare in vigneto, alla riduzione del ritmo di sfalcio e a un aumento della fertilizzazione organica (Billaud et al., 2021) può aumentare la biodiversità, ed in particolare la presenza di varie specie di apoidei, tra cui bombi, api solitarie, api mellifere e parassitoidi, con servizi di impollinazione più resilienti (Griffiths-Lee et al., 2023). Inoltre, anche la corretta gestione dei filari, insieme al mantenimento delle siepi, delle aree boschive, delle pozze d'acqua e dei prati ai margini delle colture agrarie rappresentano delle misure che permettono di aumentare l'eterogeneità del paesaggio e l'abbondanza dei pronubi (Bellucci et al., 2020). Oltre a garantire l'aumento delle risorse floreali, la gestione agronomica del vigneto deve focalizzarsi anche sull'incremento delle risorse di nidificazione, soprattutto per le api selvatiche. Per quelle nidificanti al suolo è opportuno aumentare la presenza di macchie esposte di terreno nudo mentre per quelle che nidificano in superficie sono importanti le siepi e gli elementi legnosi (Wersebeckmann et al., 2023). Anche la rotazione delle colture con trifoglio o altre leguminose può incrementare l'abbondanza e la diversità dei bombi (ISPRA, 2023).

In relazione a quanto appena affermato, l'abbondanza e la ricchezza delle varie specie di ape selvatica che si possono trovare negli spazi interfilare aumentano con una più elevata

disponibilità di fiori e con un'oculata gestione sostenibile della vegetazione, soprattutto quella spontanea. A godere maggiormente di tutto questo sono le api selvatiche eusociali, poiché sono molto più sensibili delle specie solitarie. Quindi, una rilevante presenza di api selvatiche è indicatrice di un'ottima qualità di gestione di un vigneto (Bianco et al., 2021).

L'eterogeneità del paesaggio, che contrasta totalmente con i principi dall'agricoltura intensiva, è fondamentale per garantire l'abbondanza di diverse specie di impollinatori. Da questo punto di vista, l'Italia possiede di per sé un grande potenziale, dal momento che si caratterizza da un'ampia diversità di paesaggi agricoli, i quali a loro volta si differenziano per classificazione e utilizzo del suolo, forma e dimensione degli appezzamenti e tipologia di habitat naturali e semi-naturali. L'insieme di tutti questi fattori contribuisce alla formazione di numerose nicchie ecologiche, potenzialmente disponibili agli impollinatori selvatici.

Si può affermare che la salvaguardia ed il ripristino degli habitat naturali, la riacquisizione di pratiche agricole tradizionali e una decisa riduzione dell'impiego dei prodotti di sintesi rappresentano nell'insieme una possibile soluzione ai problemi legati al calo degli impollinatori, soprattutto nelle zone caratterizzate da una forte agricoltura intensiva (Bellucci et al., 2020).

4. CONCLUSIONI

Ad oggi, circa il 40% degli insetti impollinatori è a rischio d'estinzione. Le api domestiche e selvatiche sono responsabili del 70% dell'impollinazione di tutte le specie vegetali viventi sul pianeta e garantiscono circa il 35% della produzione globale di cibo.

La maggior parte delle piante di interesse agricolo necessita degli insetti pronubi per l'impollinazione. A causa però di determinate scelte perseguite dall'agricoltura come l'utilizzo elevato di fitofarmaci, l'eliminazione di aree naturali in prossimità degli appezzamenti, con conseguenti alterazioni e frammentazioni del paesaggio, l'ambiente è divenuto inospitale per la maggior parte degli apoidei.

La situazione non può rimanere tale ed è fondamentale agire tempestivamente per ridurre i danni causati dall'agricoltura nei confronti di questi insetti.

Esistono diversi sistemi di gestione agricola che, insieme all'attuazione di determinate pratiche agronomiche, possono ottenere effetti positivi immediatamente riscontrabili sull'entomofauna utile, con particolare riferimento agli impollinatori.

Tutti si focalizzano sul concetto di sostenibilità ambientale e, tra questi, spicca l'agricoltura biologica. Essa limita rigorosamente l'impiego di sostanze di sintesi, perseguendo l'obiettivo di salvaguardare la biodiversità all'interno e all'esterno dell'azienda agricola, rappresentando un sistema di gestione efficace e minimamente impattante nei confronti dell'ambiente.

A rappresentare uno dei principali e drammatici motivi della perdita di biodiversità ma soprattutto del declino degli impollinatori è l'uso diffuso di prodotti fitosanitari di sintesi. Allo stesso tempo però, se questi ultimi non esistessero, sarebbe impensabile produrre quello che si produce oggi.

Sulla base di questo, il sistema attualmente più adatto a permettere di compiere i primi passi verso una maggiore sostenibilità dei processi di produzione agricola, garantendo rese più elevate rispetto al sistema biologico, è sicuramente la gestione integrata.

Essa non vieta l'impiego di prodotti di sintesi ma fa in modo che vengano primariamente scelti tutti gli altri strumenti di lotta, ovvero quelli biologici e biotecnici, offrendo una vera e propria possibilità di convivenza tra l'uso, comunque contenuto e ponderato, di prodotti fitosanitari chimici e il mantenimento delle popolazioni di impollinatori.

Tutti questi modi innovativi di fare agricoltura richiedono una formazione dell'agricoltore, il quale non si troverà più a seguire un piano di lotta a calendario, ma a gestire la sua attività, considerando molteplici variabili, attuando scelte ragionate e perseguendo principi più ecologici e sostenibili.



Immagine 1: ape su acino d'uva. Immagine da Vinrà!

BIBLIOGRAFIA

Bavaresco L., De Rosso M., Panighel A. e Flamini R., (2014). L'utilizzo della metabolomica per studiare il resveratrolo ed altri stilbeni nell'uva. *L'Enologo*. 1/2: pp. 77-81

Bavaresco L., Gatti M. e Gonçalves M. I., (2008). Fattori viticoli e resveratrolo nell'uva e nel vino. *Infowine – Internet Journal of Viticulture and Enology*. 2/1: pp. 1-12

BeeNet (2023). Il Progetto BeeNet: il benessere delle api è il benessere dell'ambiente. [online: <https://beenet.crea.gov.it/il-progetto-beenet/>]. Consultato il 17.05.2023

Bell E. C., Benavides J. E., Montgomery C. N., Evershed Navratil J. R. e Nieh J. C., (2019). The novel butenolide pesticide flupyradifurone does not alter responsiveness to sucrose at either acute or chronic short-term field-realistic doses in the honey bee, *Apis mellifera*. *Pest Management Science*. 76 (1): pp. 111-117

Bellucci V., Ciccarese L., Silli V., Campanelli F., Cascone C., Daffina R., D'Antoni S., De Taddeo D., Giacanelli V., Rastelli V., Sannino R. e Ocone R., (2020). Il declino delle api e degli impollinatori. Le risposte alle domande più frequenti. *Quaderni Natura e Biodiversità*. ISPRA. 12: pp. 1-43

Benito-Murcia M., Bartolomé C., Maside X., Bernal J., Bernal J. L., del Nozal M. J., Meana A., Botías C., Martín-Hernández R. e Higes M., (2021). Residual Tau-Fluvalinate in Honey Bee Colonies Is Coupled with Evidence for Selection for *Varroa destructor* Resistance to Pyrethroids. *Insects*. 12 (8), 731: pp. 1-12

Bianco P. M., Bellucci V., Sannino R. e Silli V., (2021). Gli apoidei e l'agricoltura sostenibile. *Quaderni Natura e Biodiversità*. ISPRA. 16: pp. 1-86

Biddinger D. J. e Rajotte E. G., (2015). Integrated pest and pollinator management — adding a new dimension to an accepted paradigm. *Current Opinion in Insect Science*. 10: pp. 204-209

Billaud O., Vermeersch R-L. e Porcher E., (2021). Citizen science involving farmers as a means to document temporal trends in farmland biodiversity and relate them to agricultural practices. *Journal of Applied Ecology*. 58: pp. 261-273

Bortolotti L., Porrini C., Mutinelli F., Pochi D., Marinelli E., Balconi C., Nazzi F., Lodesani M. e Sabatini A. G., (2009). Salute delle api: analisi dei fattori di rischio. Il progetto Apenet. *APOidea*. 6: pp. 1-22

Carnevali P., Cricco J., Toninato L. e Brancadoro L., (2013). Viticoltura di precisione: obiettivi e applicazioni sito-specifiche. *VigneVini*. 1/2: pp. 47-53

Celli G. e Maccagnani B., (2003). Honey bees as bioindicators of environmental pollution. *Bulletin of Insectology*. 56 (1): pp. 137-139

Celli G. e Porrini C., (1991). L'ape, un efficace bioindicatore dei pesticidi. *Le Scienze*. 274: pp. 42-54

Chakrabarti P., Carlson E. A., Lucas H. M., Melathopoulos A. P. e Sagili R. R., (2020). Field rates of Sivanto™ (flupyradifurone) and Transform® (sulfoxaflor) increase oxidative stress and induce apoptosis in honey bees (*Apis mellifera* L.). PLoS ONE. 15 (5): pp. 1-15

Chalker-Scott L., (2013). The Science Behind Biodynamic Preparations: A Literature Review. HortTechnology. 23 (6): pp. 814-819

Chen Y., Wu P., Yang E., Nai Y. e Huang Z. Y., (2016). The impact of pyriproxyfen on the development of honey bee (*Apis mellifera* L.) colony in field. Journal of Asia-Pacific Entomology. 19: pp. 589-594

Chukwudebe A. C., Cox D. L., Palmer S. J., Morneweck L. A., Payne L. D., Dunbar D. M. e Wislocki P. G., (1997). Toxicity of Emamectin Benzoate Foliar Dislodgeable Residues to Two Beneficial Insects. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: pp. 3689-3693

Commissione europea (2023). Finalità del logo biologico. [online: https://agriculture.ec.europa.eu/farming/organic-farming/organic-logo_it]. Consultato il 16.05.2023

Contessi A., (2016). Le Api: biologia, allevamento, prodotti. Bologna: Edagricole

CREA – Consiglio per la ricerca in agricoltura e l'analisi dell'economia agraria (2023). Sistema di qualità nazionale di produzione integrata – SQNPI. [online: <https://www.crea.gov.it/web/ingegneria-e-trasformazioni-agroalimentari-/rappresentanti-del-sistema-di-qualità-nazionale-di-produzione-integrata-sqnpi-sede-di-milano-?inheritRedirect=true&redirect=%2Fweb%2Fingegneria-e-trasformazioni-agroalimentari%2Fsearch%3Fq%3Dsqnpi>]. Consultato il 15.05.2023

Cresswell J. E., (2011). A meta-analysis of experiments testing the effects of a neonicotinoid insecticide (imidacloprid) on honey bees. Ecotoxicology. 20: pp. 149-157

Decreto Interministeriale 22 gennaio 2014. Adozione del Piano di Azione Nazionale per l'uso sostenibile dei prodotti fitosanitari, ai sensi dell'articolo 6 del decreto legislativo 14 agosto 2012, n. 150 recante "Attuazione della direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi". Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, serie generale n. 35, 12.02.2014.

Decreto Legislativo 14 agosto 2012, n. 150. Attuazione della Direttiva 2009/128/CE che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. Supplemento ordinario n. 177/L alla Gazzetta Ufficiale, 30.08.2012.

Demeter Associazione Italia (2023). Demeter international. [online: <https://demeter.it/demeter-international/>]. Consultato il 16.05.2023

Demeter Associazione Italia (2023). Il marchio Demeter. [online: <https://demeter.it/il-marchio-demeter/>]. Consultato il 16.05.2023

Direttiva 2009/128/CE del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 che istituisce un quadro per l'azione comunitaria ai fini dell'utilizzo sostenibile dei pesticidi. Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea L 309/71, 24.11.2009

Dobrei A. I., Nan Al., Nistor E., Dobromir D. e Dobrei A. G., (2021). Research on honeybee pollination influence in increasing the fruit set rate and improving yield components in several grapevine varieties. *Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology*. 25 (2): pp. 88-95

Dosso P. e Spezia G., (2006). Viticoltura di precisione grande risorsa per il futuro. *L'Informatore Agrario*. 24: pp. 58-63

Dutta N. K., Alam S. N., Mahmudunnabi M., Khatun M. F. e Kwon Y. J., (2016). Efficacy of some new generation insecticides and a botanical against mustard aphid and their toxicity to coccinellid predators and foraging honeybees. *Bangladesh Journal of Agricultural Research*. 41 (4): pp. 725-734

Fairbrother A., Purdy J., Anderson T. e Fell R., (2014). Risks of Neonicotinoid Insecticides to Honeybees. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 33 (4): pp. 719-731

FAO (2023). Conservation Agriculture. [online: <https://www.fao.org/conservation-agriculture/en/>]. Consultato il 16.05.2023

Fine J. D., (2020). Evaluation and comparison of the effects of three insect growth regulators on honey bee queen oviposition and egg eclosion. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 205 (111142): pp. 1-8

Fisher II A., Colman C., Hoffmann C., Fritz B. e Rangel J., (2018). The Effects of the Insect Growth Regulators Methoxyfenozide and Pyriproxyfen and the Acaricide Bifenazate on Honey Bee (Hymenoptera: Apidae) Forager Survival. *Journal of Economic Entomology*. 111 (2): pp. 510-516

Fregoni M. e Scienza A., (1978). La fertilità nella vite. *Rivista di ortoflorofrutticoltura italiana*. 62 (5): pp. 451-460

Grando M. S., Lorenzi S., Marrano A., Moreno-Sanz P., Grzeskowiak L. e Emanuelli F., (2013). L'origine della viticoltura. *Economia Trentina*. 62 (3/4): pp. 69-74

Griffiths-Lee J., Davenport B., Foster B., Nicholls E. e Goulson D., (2023). Sown wildflowers between vines increase beneficial insect abundance and richness in a British vineyard. *Agricultural and Forest Entomology*. 25 (1): pp. 139-151

Haas J., Glaubitz J., Koenig U. e Nauen R., (2021). A mechanism-based approach unveils metabolic routes potentially mediating chlorantraniliprole synergism in honey bees, *Apis mellifera* L., by azole fungicides. *Pest Management Science*. 78 (3): pp. 965-973

Haas J., Zaworra M., Glaubitz J., Hertlein G., Kohler M., Lagojda A., Lueke B., Maus C., Almanza M., Davies G. E., Bass C. e Nauen R., (2021). A toxicogenomics approach reveals characteristics supporting the honey bee (*Apis mellifera* L.) safety profile of the butanolide insecticide flupyradifurone. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 217: pp. 1-12

Harwood G. P., Prayugo V. e Dolezal A. G., (2022). Butenolide Insecticide Flupyradifurone Affects Honey Bee Worker Antiviral Immunity and Survival. *Frontiers in Insect Science*. 2: pp. 1-9

Hesselbach H. e Scheiner R., (2018). Effects of the novel pesticide flupyradifurone (Sivanto) on honeybee taste and cognition. *Scientific Reports*. 8: pp. 1-8

Hogendoorn K., Anantanawat K. e Collins C., (2016). Cap removal by honey bees leads to higher pollen rewards from grapevine flowers. *Apidologie*. 47: pp. 671-678

Ingram E. M., Augustin J., Ellis M. D. e Siegfried B. D., (2015). Evaluating sub-lethal effects of orchard-applied pyrethroids using video-tracking software to quantify honey bee behaviors. *Chemosphere*. 135: pp. 272-277

ISPRA (2023). Il ruolo delle Api per l'uomo e l'ambiente. [online: <https://www.isprambiente.gov.it/it/attivita/biodiversita/notizie/il-ruolo-delle-api-per-12019uomo-e-12019ambiente#:~:text=Le%20api%20domestiche%20e%20selvatiche,della%20produzion e%20globale%20di%20cibo>]. Consultato il 17.05.2023

Iwasa T., Motoyama N., Ambrose J. T. e Roe R. M., (2004). Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*. 23: pp. 371-378

Jansson R. K., Brown, R., Cartwright B., Cox D., Dunbar D. M., Dybas R. A., Eckel C., Lasota J. A., Mookerjee P. K., Norton J. A., Peterson R. F., Starner V. R. e White S., (1997). Emamectin benzoate: a novel avermectin derivative for control of lepidopterous pests. In *Proceedings of the 3rd International Workshop on Management of Diamondback Moth and Other Crucifer Pests*. MARDI, Kuala Lumpur, Malaysia (pp. 1-7). *Vegetable Pest Management*.

Johnson R. M., (2015). Honey Bee Toxicology. *Annual Review of Entomology*. 60: pp. 415-434

Krahner, A., Schmidt, J., Maixner, M., Porten, M. e Schmitt, T., (2021). Evaluation of four different methods for assessing bee diversity as ecological indicators of agro-ecosystems. *Ecological Indicators*. 125: pp 1-11

Kehinde T. e Samways M. J., (2014). Insect–flower interactions: network structure in organic versus conventional vineyards. *Animal Conservation*. 17: pp. 401-409

Kehinde T. e Samways M. J., (2014). Management defines species turnover of bees and flowering plants in vineyards. *Agricultural and Forest Entomology*. 16: pp. 95-101

Kessler S. C., Tiedeken E. J., Simcock K. L., Derveau S., Mitchell J., Softley S., Radcliffe A., Stout J. C. e Wright G. A., (2015). Bees prefer foods containing neonicotinoid pesticides. *Nature*. 521: pp. 74-76

- Locke B., Forsgren E., Fries I. e de Miranda J. R., (2012). Acaricide Treatment Affects Viral Dynamics in Varroa Destructor-Infested Honey Bee Colonies via Both Host Physiology and Mite Control. *Applied and Environmental Microbiology*. 78 (1): 227–35.
- Lucchi A., (2017). *Note di Entomologia Viticola*. Pisa: Pisa University Press s.r.l.
- Maini S., (2007). Nuove applicazioni dei feromoni per la lotta integrata nei fruttiferi. *Frutticoltura*. 2: pp. 48-57
- Mansour R., Belzunces L. P., Suma P., Zappalà L., Mazzeo G., Grissa-Lebdi K., Russo A. e Biondi A., (2018). Vine and citrus mealybug pest control based on synthetic chemicals. A review. *Agronomy for Sustainable Development*. 38 (37): pp. 1-20
- Martignago M., Martins R. e Harter-Marques B., (2017). Honey bee contribution to 'Bordô' grapevine fruit production in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 39 (3): pp. 1-6
- Mazzilli R. e Braccini P., (2010). *Manuale di viticoltura biologica*. Firenze: Arsia
- Microbiologia Italia (2022). *Torulaspota delbrueckii*. [online: <https://www.microbiologiaitalia.it/micologia/torulaspota-delbrueckii/>]. Consultato il 20.04.2023
- Ministero della Salute (2023). Banca dati dei prodotti fitosanitari. [online: http://www.fitosanitari.salute.gov.it/fitosanitariws_new/FitosanitariServlet]. Consultato il 28.04.2023
- Ministero della Salute (2023). Revoca dei prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva chlorpyrifos-methyl. [online: https://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=nuovo&id=4053]. Consultato il 27.04.2023
- Ministero della Salute (2023). Revoca delle autorizzazioni di prodotti fitosanitari contenenti la sostanza attiva phosmet. [online: https://www.salute.gov.it/portale/news/p3_2_1_1_1.jsp?lingua=italiano&menu=notizie&p=detail&id=5861]. Consultato il 27.04.2023
- Motta Erick V. S., Raymann K. E Moran N. A., (2018). Glyphosate perturbs the gut microbiota of honey bees. *PNAS*. 115 (41): pp. 10305-10310
- Mulè P., Piras F., Mamei M. G., Puddu R., Fanni S. e Zurru R., (2014). La gestione conservativa in vigneto: risultati preliminari riguardo alla componente suolo. In *Atti Workshop World Soil Day*, 1. Alghero, 5-6 dicembre. AGRIS Sardegna
- Oldroyd B. P., (2007). What's Killing American Honey Bees?. *PLoS Biology*. 5 (6): pp. 1195-1199
- Ostandie N., Giffard B., Bonnard O., Joubard B., Richart-Cervera S., Thiéry D. e Rush A., (2021). Multi-community effects of organic and conventional farming practices in vineyards. *Scientific Reports*. 11 (11979): pp. 1-10

Pasqualini E. e Preti M., (2019). Insetticidi, evoluzione storica e prospettive future. *L'Informatore Agrario*. 10: pp. 3-5

Pennacchio F., (2014). *Gli insetti e il loro controllo*. Napoli: Liguori Editore

Piccolomini A. M., Whiten S. R., Flenniken M. L., O'Neill K. M. e Peterson R. K. D., (2018). Acute Toxicity of Permethrin, Deltamethrin, and Etofenprox to the Alfalfa Leafcutting Bee. *Journal of Economic Entomology*. 111 (3): pp. 1001-1005

Porrini C., Felicioli A., Mutinelli F., Bellucci V., Lucci S., Di Giammarino G., Formato G., Giacomelli A. e Perugini M., (2009). Il monitoraggio ambientale con le api. In *Atti del seminario Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e Toscana*, ed. N. R. Brizioli e R. Campanelli, pp. 1-11, Roma, 4 maggio

Porrini C., Sabatini A. G., Girotti S., Ghini S., Medrzycki P., Grillenzoni F., Bortolotti L., Gattavecchia E. e Celli G., (2003). Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. *Apiacta*. 38: pp. 63-70

Rabea E. I., Nasr H. M. e Badawy M. E. I., (2010). Toxic Effect and Biochemical Study of Chlorfluazuron, Oxymatrine, and Spinosad on Honey Bees (*Apis mellifera*). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. 58: pp. 722-732

Rascon B., Hubbard B., Sinclair D. A. e Amdam G. V., (2012). The lifespan extension effects of resveratrol are conserved in the honey bee and may be driven by a mechanism related to caloric restriction. *Aging*. 4 (7): pp. 499-508

Regolamento (CE) 889/2008 della Commissione del 5 settembre 2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici, per quanto riguarda la produzione biologica, l'etichettatura e i controlli. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 250, 18.09.2008

Regolamento (CE) 1974/2006 della Commissione del 15 dicembre 2006 recante disposizioni di applicazione del regolamento (CE) n. 1698/2005 del Consiglio sul sostegno allo sviluppo rurale da parte del Fondo europeo agricolo per lo sviluppo rurale (FEASR). *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 368/15, 23.12.2006

Regolamento (CE) 834/2007 del Consiglio del 28 giugno 2007 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CEE) n. 2092/91. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione Europea* L 189, 20.07.2007

Regolamento (CE) 1107/2009 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 21 ottobre 2009 relativo all'immissione sul mercato dei prodotti fitosanitari e che abroga le direttive del Consiglio 79/117/CEE e 91/414/CEE. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 309/1, 24.11.2009

Regolamento di esecuzione (UE) 203/2012 della Commissione dell'8 marzo 2012 che modifica il regolamento (CE) n. 889/2008 recante modalità di applicazione del regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio in ordine alle modalità di applicazione relative al vino biologico. *Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea* L 71/42, 09.03.2012

Regolamento (UE) 2018/848 del Parlamento europeo e del Consiglio del 30 maggio 2018 relativo alla produzione biologica e all'etichettatura dei prodotti biologici e che abroga il regolamento (CE) n. 834/2007 del Consiglio. Gazzetta Ufficiale dell'Unione europea L 150/1, 14.06.2018

Santana dos Santos T. F., Aquino A., Silveira Dórea H. e Navickiene S., (2008). MSPD procedure for determining buprofezin, tetradifon, vinclozolin, and bifenthrin residues in propolis by gas chromatography–mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 390: pp. 1425-1430

Sgolastra F., Tosi S., Medrzycki P., Porrini C. e Burgio G., (2015). Toxicity of spirotetramat on solitary bee larvae, *Osmia cornuta* (Hymenoptera: Megachilidae), in laboratory conditions. *Journal of Apicultural Science*. 59 (2): pp. 73-83

Shi J., Liao C., Wang Z. Zeng Z. e Wu X., (2019). Effects of sublethal acetamiprid doses on the lifespan and memory-related characteristics of honey bee (*Apis mellifera*) workers. *Apidologie*. 50: pp. 553-563

Shi J., Yang H., Yu L., Liao C., Liu Y., Jin M., Yan W. e Wu X B., (2020). Sublethal acetamiprid doses negatively affect the lifespans and foraging behaviors of honey bee (*Apis mellifera* L.) workers. *Science of the Total Environment*. 738: pp. 1-7

Shi J., Zhang R., Pei Y., Liao C. e Wu X., (2020). Exposure to acetamiprid influences the development and survival ability of worker bees (*Apis mellifera* L.) from larvae to adults. *Environmental Pollution*. 266 (2): pp. 1-9

Smaghe G., Deknopper J., Meeus I. e Mommaerts V., (2013). Dietary chlorantraniliprole suppresses reproduction in worker bumblebees. *Pest Management Science*. 69 (7): pp. 787-791

Soni V. e Anjkar A., (2014). Use of Pyrethrin/ Pyrethrum and its Effect on Environment and Human: A Review. *PharmaTutor*. 2 (6): pp. 52-60

Sooklim C., Samakkarn W., Thongmee A., Duangphakdee O. e Soontorngun N., (2022). Enhanced aroma and flavour profile of fermented *Tetragonula pagdeni* Schwarz honey by a novel yeast *T. delbrueckii* GT-ROSE1 with superior fermentability. *Food Bioscience*. 50: pp. 1-12

Talašová, A., Straka, J., Hadrava, J., Benda, D., Kocourek, F. e Kazda, J., (2018). High degree of philopatry is required for mobile insects used as local indicators in biodiversity studies. *Ecological Indicators*. 94: pp. 99–103

Tavares D. A., Roat T. C., Carvalho S. M., Silva-Zacarin E. C. M. e Malaspina O., (2015). In vitro effects of thiamethoxam on larvae of Africanized honey bee *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Chemosphere*. 135: pp. 370-378

Terra e Vita (2023). Biodinamica e “preparati” sono riconosciuti dalla legge. [online: <https://terraevita.edagricole.it/biologico/biodinamica-e-preparati-sono-riconosciuti-dalla-legge/#:~:text=Ue%20in%20materia%20di%20bioagricoltura,biodinamica%20insieme%20all%27agricoltura%20biologica.>]. Consultato il 16.05.2023

Thompson H. M., Wilkins S., Battersby A., Waite R. J. e Wilkinson D., (2007). Modelling long-term effects of IGRs on honey bee colonies. *Pest Management Science*. 63: pp. 1081-1084

Thompson H. M., Wilkins S., Battersby A. H., Waite R. J. e Wilkinson D., (2005). The Effects of Four Insect Growth-Regulating (IGR) Insecticides on Honeybee (*Apis mellifera* L.) Colony Development, Queen Rearing and Drone Sperm Production. *Ecotoxicology*. 14: pp. 757-769

Tong L., Nieh J. C. e Tosi S., (2019). Combined nutritional stress and a new systemic pesticide (flupyradifurone, Sivanto®) reduce bee survival, food consumption, flight success, and thermoregulation. *Chemosphere*. 237: pp. 1-9

Tosi S., Burgio G. e Nieh J. C., (2017). A common neonicotinoid pesticide, thiamethoxam, impairs honey bee flight ability. *Scientific Reports*. 7: pp. 1-8

Treccani (2023). Mièle. [online: <https://www.treccani.it/vocabolario/miele/>]. Consultato il 20.04.2023

Trewavas A., (2001). Urban myths of organic farming. *Nature*. 410: pp. 409-410

Unione Nazionale Associazioni Apicoltori Italiani (2023). Lotta alla Varroa: tau-fluvalinate. [online: <https://unaapi.it/sanita-dell-alveare/varroatosi/varroa-lotta-tau-fluvalinate-3959/>]. Consultato il 02.05.2023

University of Georgia (2012). Fruit set – what it is, and what can affect it. [online: <https://site.extension.uga.edu/viticulture/2017/05/fruit-set-what-it-is-and-what-can-affect-it/>]. Consultato il 13.04.2023

Uzman D., Reineke A., Entling M. H. e Leyer I., (2020). Habitat area and connectivity support cavity-nesting bees in vineyards more than organic management. *Biological Conservation*. 242 (108419): pp. 1-11

Vázquez D. E., Iliina N., Pagano E. A., Zavala J. A. e Farina W. M., (2018). Glyphosate affects the larval development of honey bees depending on the susceptibility of colonies. *PLoS ONE*. 13 (10): pp. 1-19

Vinrà! (2023). Api in vigneto: le operaie amiche dell'ambiente e del vino. [online: <https://vinra.it/api-in-vigneto-le-operaie-amiche-dellambiente-e-del-vino/>]. Consultato il 18.05.2023

Wersebeckmann V., Warzecha D., Entling M. H. e Leyer I. (2023). Contrasting effects of vineyard type, soil and landscape factors on ground- versus above-ground-nesting bees. *Journal of Applied Ecology*. 60 (4): pp. 601-613

Williams J. R., Swale D. R. e Anderson T. D., (2020). Comparative effects of technical-grade and formulated chlorantraniliprole to the survivorship and locomotor activity of the honey bee, *Apis mellifera* (L.). *Pest Management Science*. 76 (8): pp. 2582-2588

Yang E. C., Chuang Y. C., Chen Y. L. e Chang L. H., (2008). Abnormal Foraging Behavior Induced by Sublethal Dosage of Imidacloprid in the Honey Bee (Hymenoptera: Apidae). *Journal of Economic Entomology*. 101 (6): pp. 1743-1748

Zito P., Scrima A., Sajeve M., Carimi F. e Dötterl S., (2016). Dimorphism in inflorescence scent of dioecious wild grapevine. *Biochemical Systematics and Ecology*. 66: pp. 58-62

Zito P., Serraino F., Carimi F., Tavella F. e Sajeve M., (2018). Inflorescence-visiting insects of a functionally dioecious wild grapevine (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris*). *Genetic Resources and Crop Evolution*. 65: pp. 1329-1335