



# **MONITORAGGIO DELLA STATO DI SALUTE DEGLI ALVEARI DEL PARCO: LE PRINCIPALI MALATTIE DELLE API CHE INTERVENGONO NEI FENOMENI DI SPOPOLAMENTO**

**Antonella Cersini\*, Alessia Amaddeo\*\***

**Silvia Puccica\*, Valeria Antognetti\***

**\*U.S. Biotecnologie Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Regioni Lazio e  
Toscana (Sede di Roma)**

**\* \*Università degli Studi di Teramo**

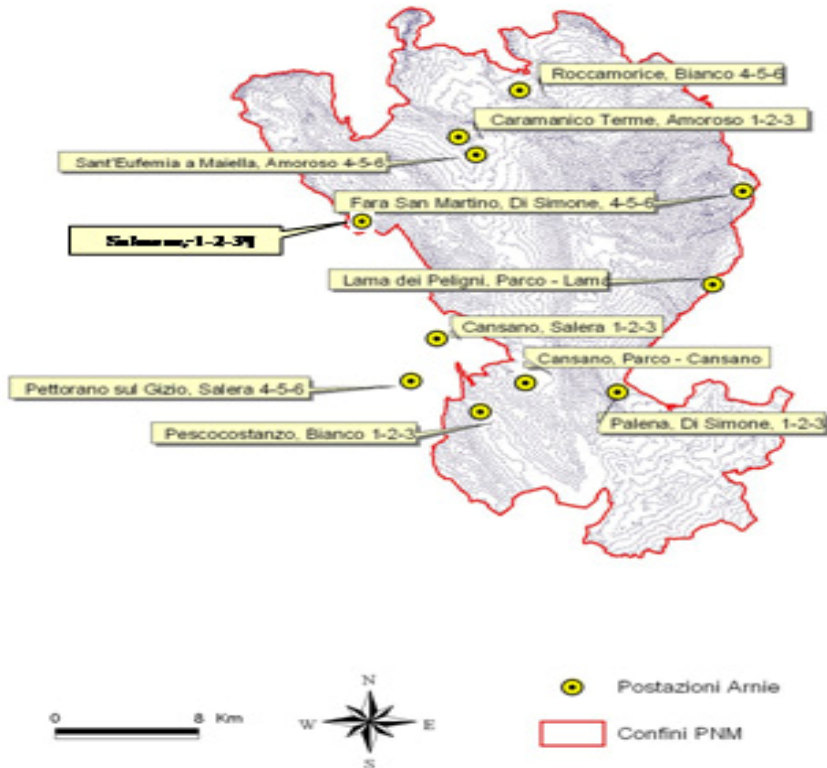
# Gli obiettivi del progetto di monitoraggio ambientale con le api nel territorio del «Parco Nazionale della Majella»

1. Valutare il livello di inquinamento ambientale utilizzando le api come «bioaccumulatori» dei contaminanti ambientali (IPA, metalli pesanti, radionuclidi  $\gamma$ -emittenti)
2. Caratterizzare i mieli del Parco e la flora per elaborare una «Carta delle potenzialità mellifere del territorio del Parco»
3. Monitorare lo stato di salute degli alveari del Parco per quanto riguarda le virosi e noseмиasi



# Monitoraggio dello stato di salute degli alveari del Parco: le postazioni

## Biomonitoraggio Parco Nazionale della Majella



Le 10 postazioni da monitorare sono state scelte dall'Ente Parco cercando di rappresentare le principali aree impiegate dagli apicoltori per la produzione di miele.

Le postazioni sono:

- Cansano-località «Le Piscine»
- Pettorano sul Gizio
- Caramanico
- Santa Eufemia a Majella
- Pescocostanzo
- Roccamorice
- Palena
- Fara San Martino
- Sulmona
- Lama dei Peligni



# Monitoraggio dello stato di salute degli alveari del Parco: selezione e requisiti degli alveari

Nelle 10 postazioni sono stati selezionati 3 alveari le cui famiglie dovevano presentare i seguenti requisiti:

1. Assenza di patologie evidenti fatta eccezione per le varroatosi
2. Forza simile tra le famiglie
3. Allevate in arnie Dadant Blatt da 10 favi e dotate di fondo mobile antivarroa



Monesi (Cuneo). Arnie Italo-Dadant-Blatt a 10 favi con avancorpo utilizzate per l'esercizio dell'apicoltura nomade.

Lotta alla *Varroa*: le famiglie esaminate sono state trattate come tutte le altre famiglie possedute dall'apicoltore, annotando i principi attivi impiegati e il periodo di trattamento



# Monitoraggio dello stato di salute degli alveari del parco: i campionamenti per la ricerca di virosi e nosemiosi (fine giugno 2011 – metà ottobre 2011)

1. Da ciascun alveare selezionato sono state prelevate almeno 80-100 api bottinatrici in entrata convogliandole all'interno di una busta presto-chiusa: totale 81 campioni di api bottinatrici
2. Su ogni busta presto-chiusa è stato riportato l'identificativo dell'alveare campionato e la data di campionamento. Mantenuti i campioni refrigerati fino alla consegna ai laboratori di analisi
3. Da ciascun campione di api bottinatrici sono stati asportati sia i fuchi che il polline presente nelle cestelle delle api bottinatrici



# Monitoraggio dello stato di salute degli alveari del Parco: i patogeni delle api ricercati

Picorna-like virus,  
Famiglia *Dicistroviridae*  
Genere *Cripavirus*:

- *Acute Bee Paralysis Virus* (ABPV)
- *Black Queen Cell Virus* (BQCV)
- *Israeli Acute Paralysis Virus* (IAPV)
- *Kashmir Bee Virus* (KBV)

Picorna-like virus,  
Famiglia non assegnata,  
Genere *Flavivirus*:

- *Deformed Wing Virus* (DWV)
- *Sacbrood Bee Virus* (SBV)

Virus non classificato  
(caratteristiche intermedie tra i  
*Nodaviridae* e i *Tombusviridae*):

- *Chronic Bee Paralysis Virus* (CBPV)

Funghi unicellulari,  
Classe *Microsporidi*,  
Famiglia *Nosematidi*  
Genere *Nosema*:

- *Nosema ceranae*
- *Nosema apis*





# Diagnosi molecolare delle virosi delle api: fasi sperimentali di lavorazione (1)

1. Preparazione dell'estratto virale dalle api (~15 api)
2. Estrazione dell'RNA totale mediante kit commerciale (QIAamp Viral RNA Mini kit)
3. Sintesi del DNA copia (cDNA)
4. Amplificazione (PCR) con i primers specifici per le virosi esaminate
5. Elettroforesi in gel di agarosio dei prodotti di PCR



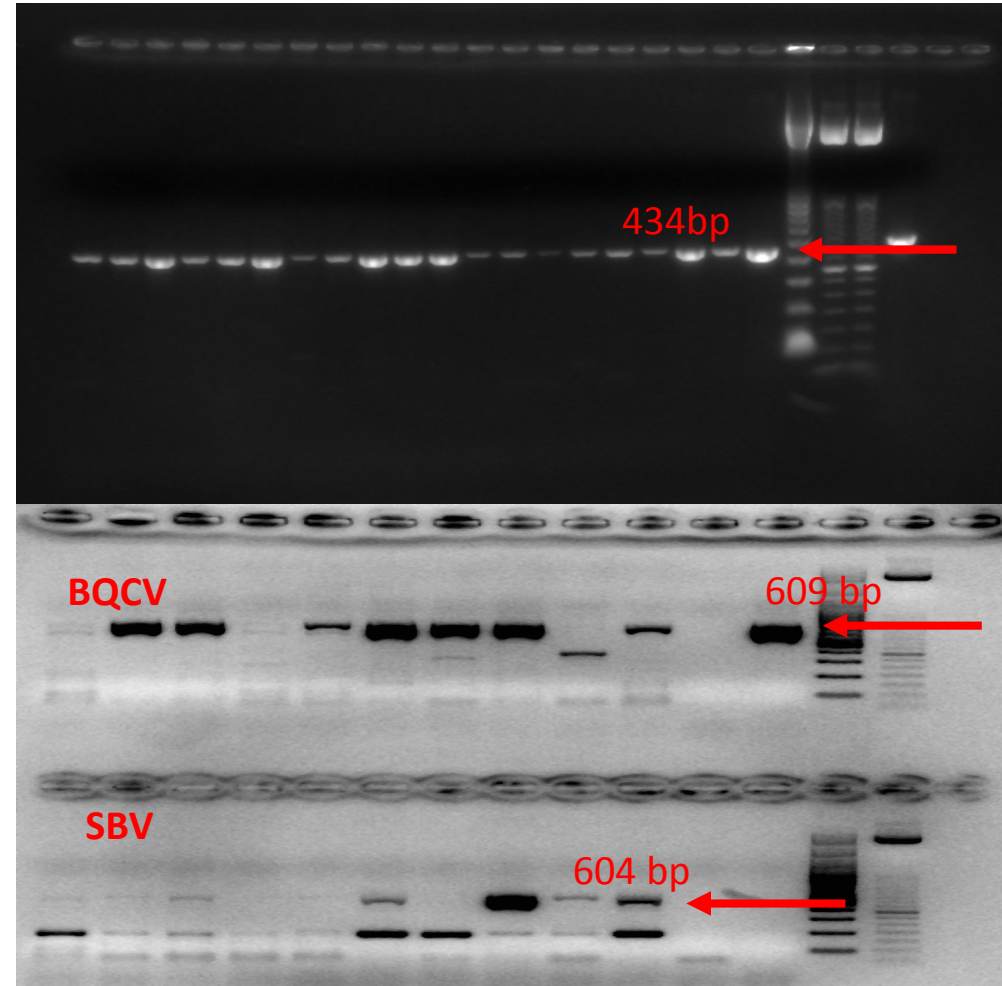
# Diagnosi molecolare delle virosi delle api: elettroforesi in gel di agarosio dei prodotti di PC...

## (2)



L'elettroforesi è un metodo molto semplice e rapido per separare e identificare i frammenti di DNA in base al loro peso molecolare

La localizzazione del DNA nel gel è determinata mediante l'aggiunta, nel gel stesso, di un colorante (Gel Red™ 10.000X, Biotium Inc.) che si intercala nelle molecole di DNA producendo una fluorescenza rosso-arancio quando viene illuminato da radiazioni ultraviolette (260-360 nm)

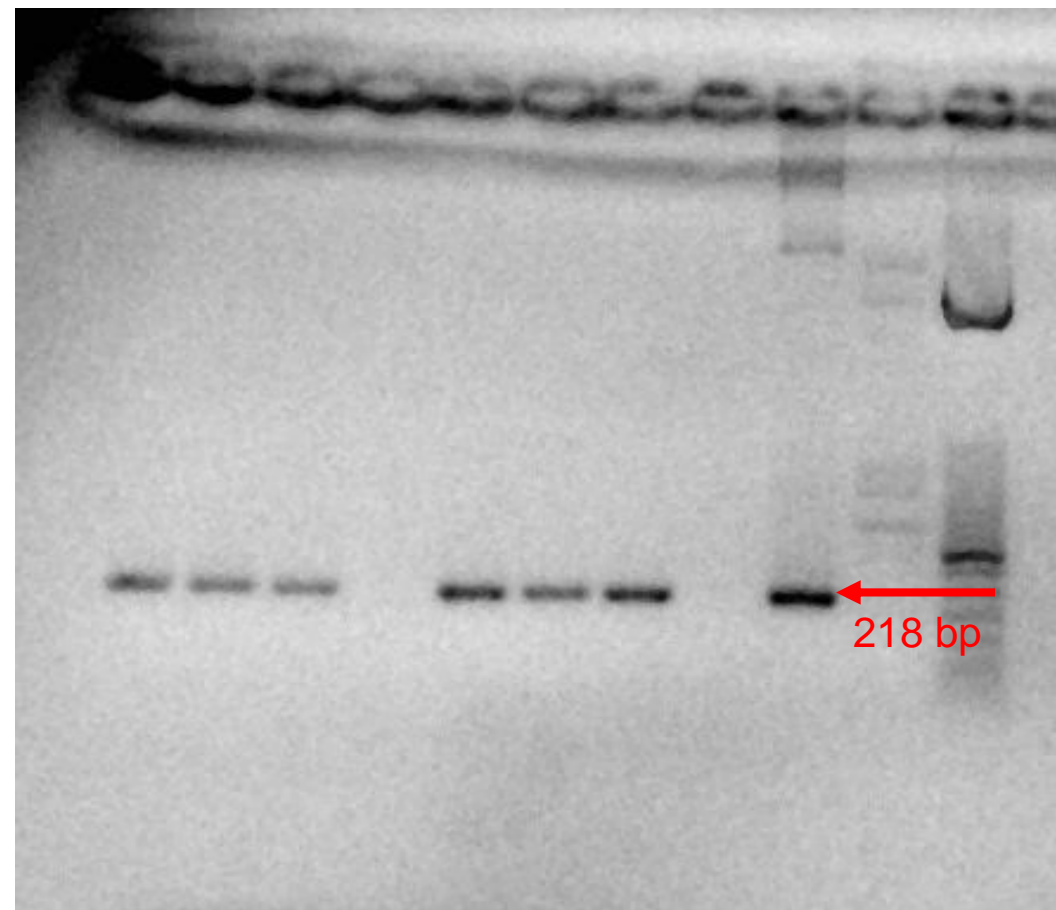




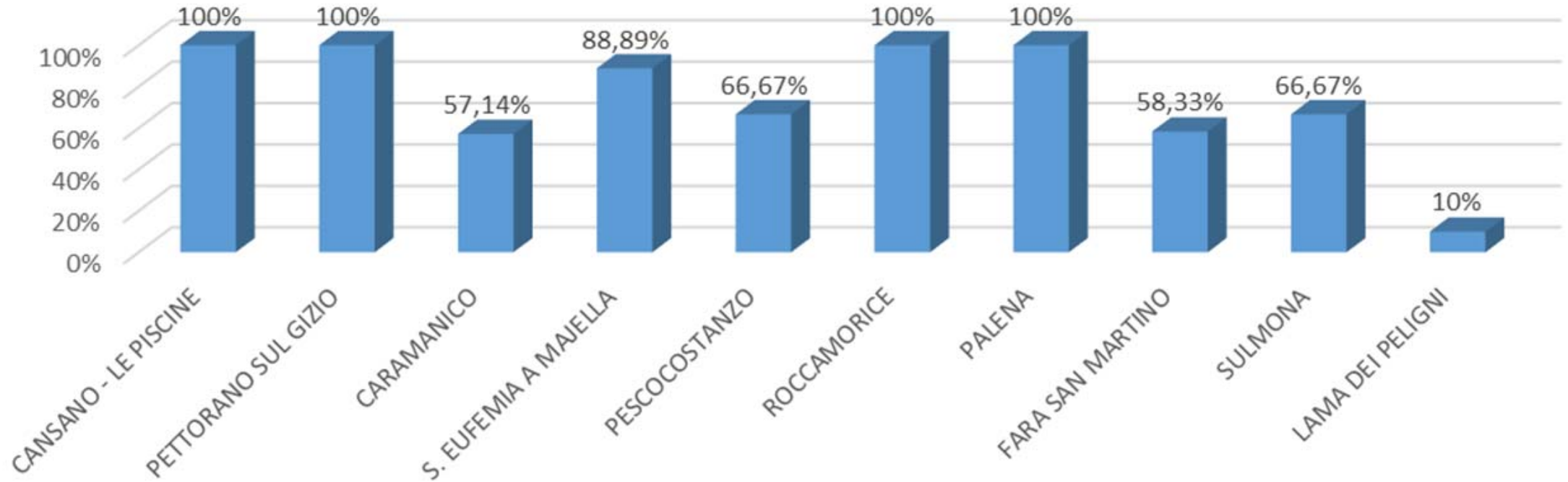
# Diagnosi molecolare di nosemiasi delle api: fasi sperimentali di lavorazione



1. Preparazione dell'estratto di spore omogenando le api (~15 api)
2. Germinazione delle spore mediante incubazione dello stesso estratto nel Buffer di germinazione
3. Rottura della parete cellulare del *Nosema* mediante incubazione con LISOZIMA e con PROTEINASI K
4. Estrazione del DNA totale mediante kit commerciale (QIAamp DNA Blood Mini kit)
5. Amplificazione (PCR) di determinate porzioni dei genomi di *N. apis* e di *N. ceranae* con i primers specifici per ciascuna specie di microsporidio considerata (RNA ribosomiale mitocondriale)
6. Elettroforesi in gel di agarosio dei prodotti di PCR



## PREVALENZA ABPV

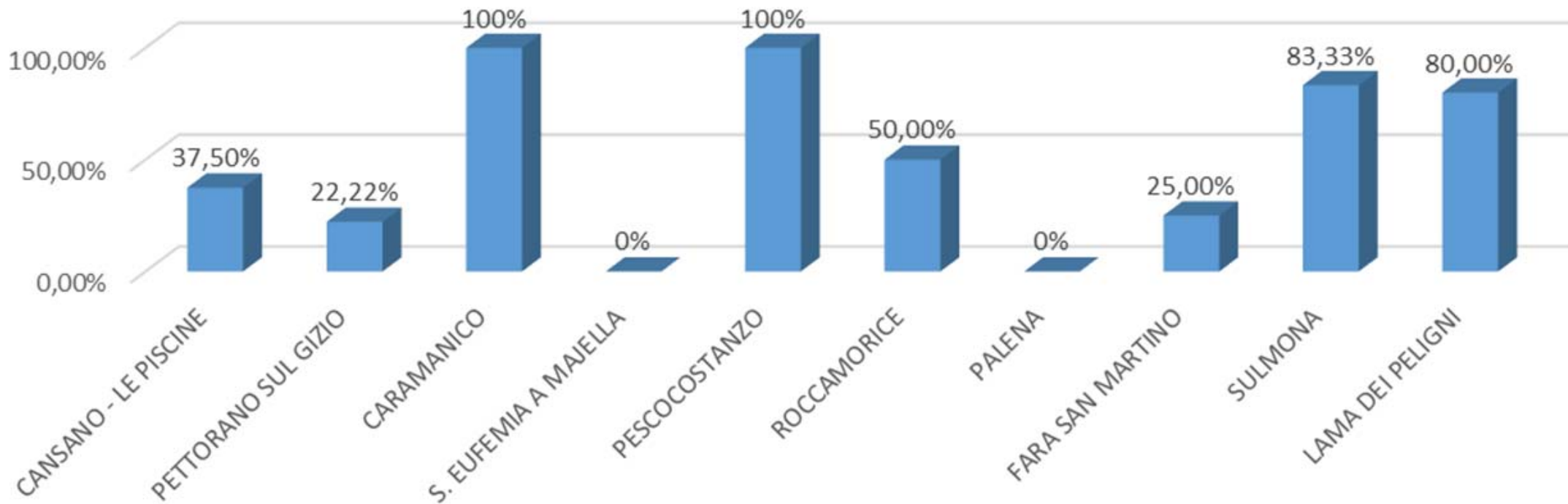


La prevalenza del virus ***Acute Bee Paralysis Virus*** (ABPV) è in linea con quella registrata negli apiari del centro Italia

Sintomi: paralisi, alterazione del comportamento con carente accudimento della covata e colore nerastro dell'addome e del torace a causa della perdita di peli. Determina la mortalità invernale delle famiglie.



## PREVALENZA CBPV

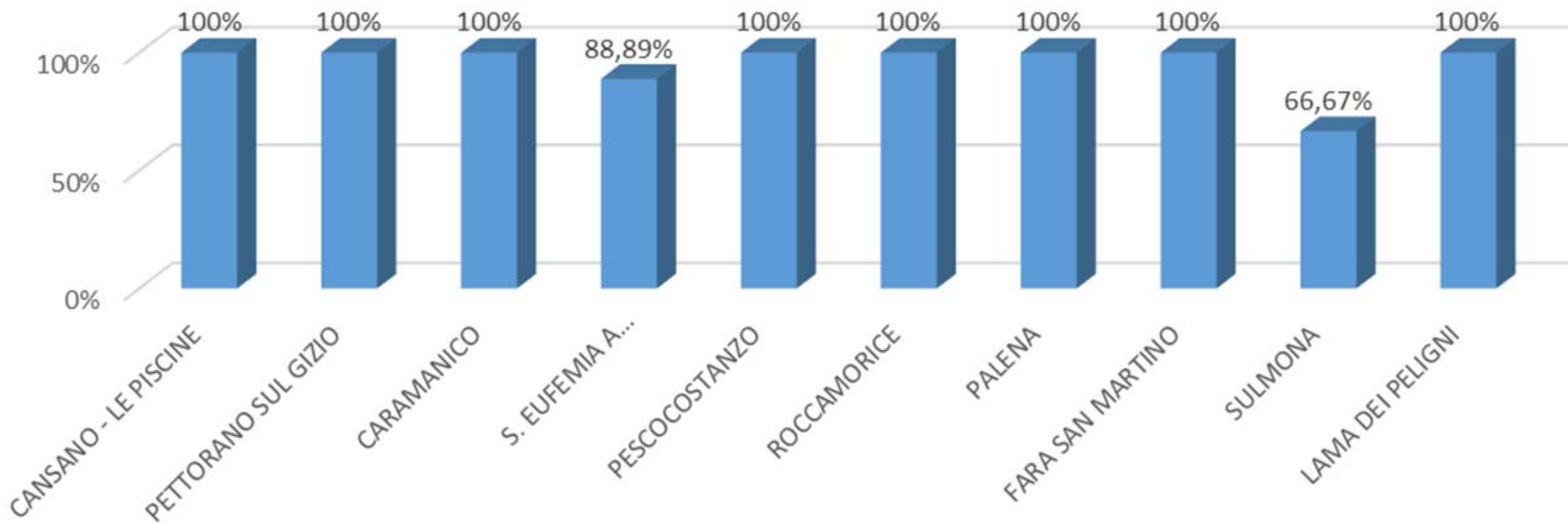


La prevalenza del virus **Chronic Bee Paralysis Virus** (CBPV) è in linea con quella registrata negli apiari del centro Italia

Sintomi: api nere a causa della perdita di peli, piccole dimensioni, rapidamente subentrano tremori, paralisi e morte. Concorre, insieme al virus ABPV, a determinare la mortalità invernale.



## PREVALENZA DWV

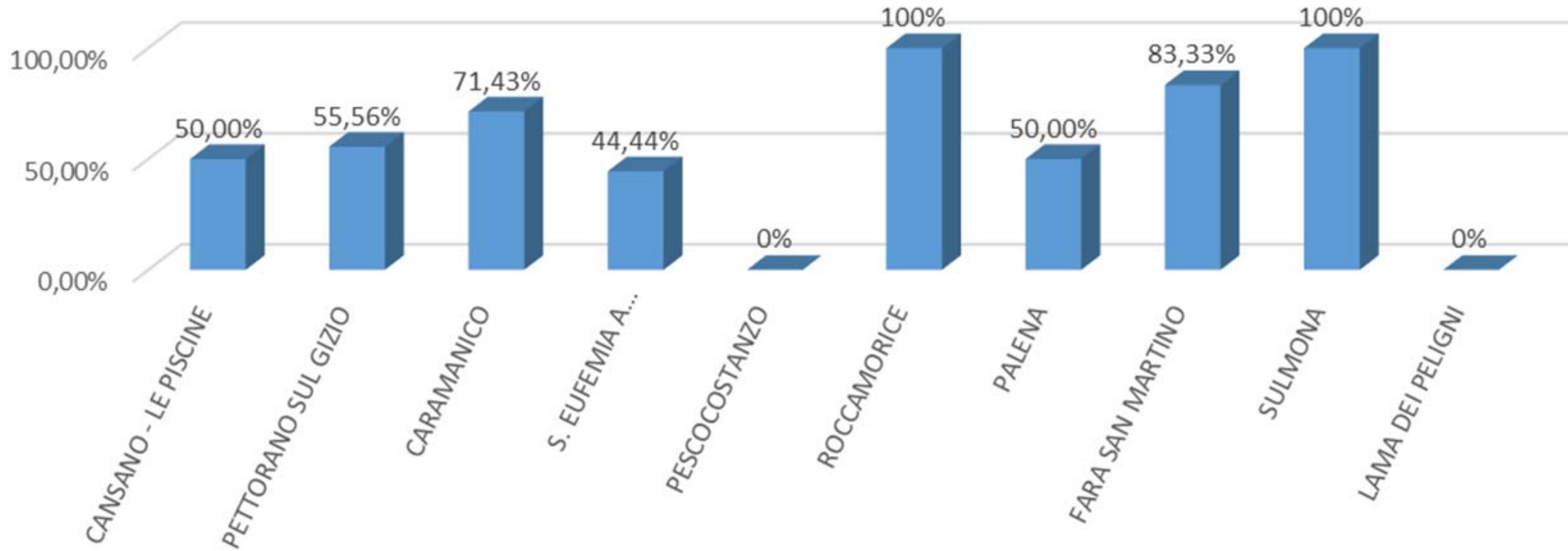


La prevalenza del virus ***Deformed Wing Virus*** (DWV) è in linea con quella registrata negli apiari del centro Italia

Sintomi: gravi deformazioni a carico delle ali, ridotte dimensioni del corpo, aspettativa di vita molto breve.



## PREVALENZA SBV

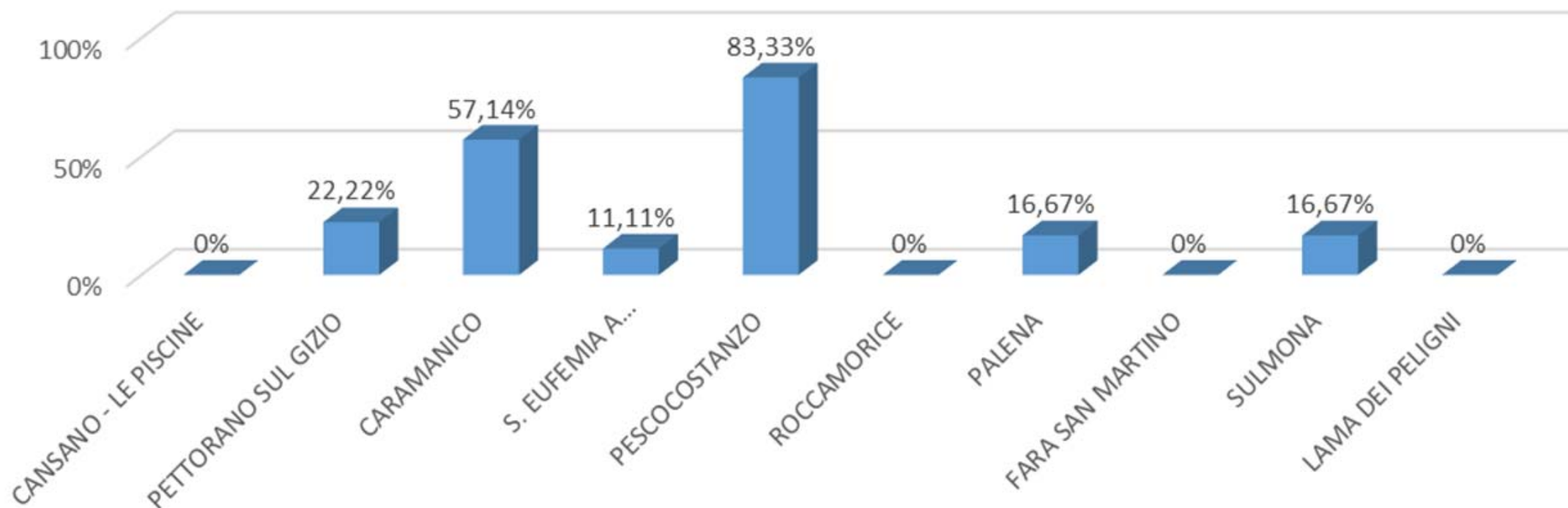


La prevalenza del virus **Sacbrood Virus** (SBV) è in linea con quella registrata negli apiari del centro Italia

sacciforme (dovuto alla fluidificazione del corpo mentre il tegumento rimane integro).



## PREVALENZA BQCV



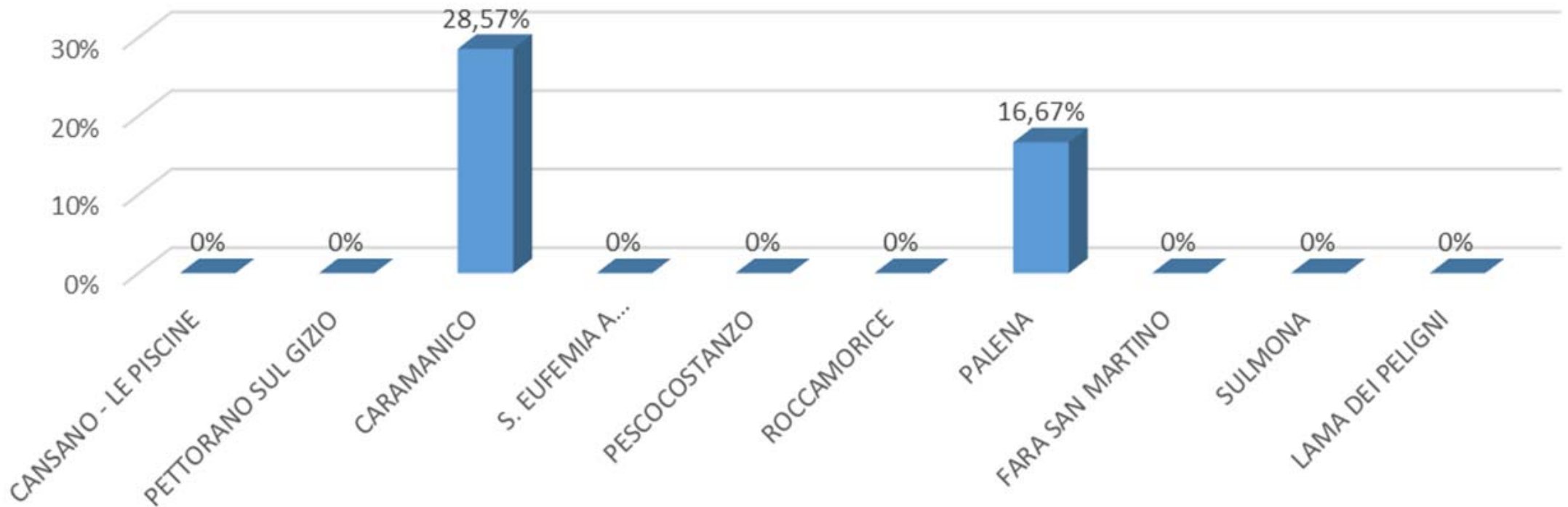
La prevalenza del virus **Black Queen Cell Virus** (BQCV) è **ridotta** rispetto agli apiari del centro Italia

l'annerimento sia delle forme larvali che delle pareti delle celle reali con  
conseguente morte





## PREVALENZA IAPV

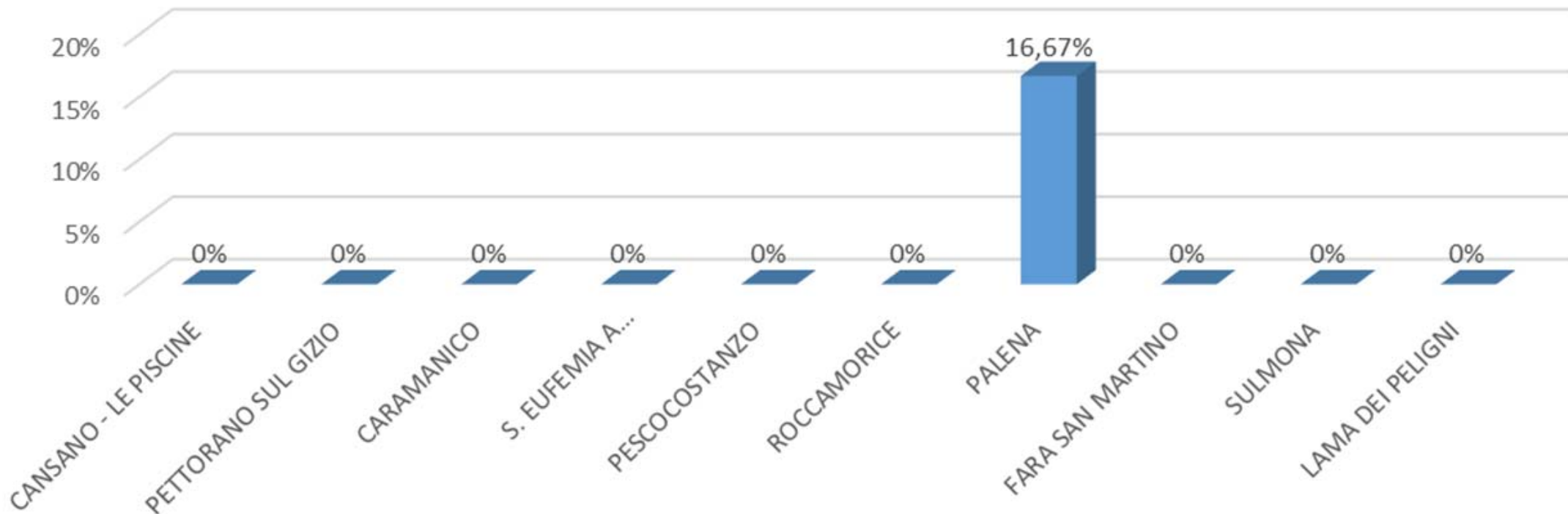


Primo isolamento di ***Israeli Acute Paralysis Virus*** (IAPV) in Abruzzo (Caramanico e Palena)

Sintomi: annerimento dell'addome e del torace, movimento circolare, atassia, scarsa attitudine al volo e a nutrirsi, paralisi, spasmi e morte (marcatore della Sindrome dello Spopolamento degli Alveari – *Colony collapse Disorder* CCD)



## PREVALENZA KBV

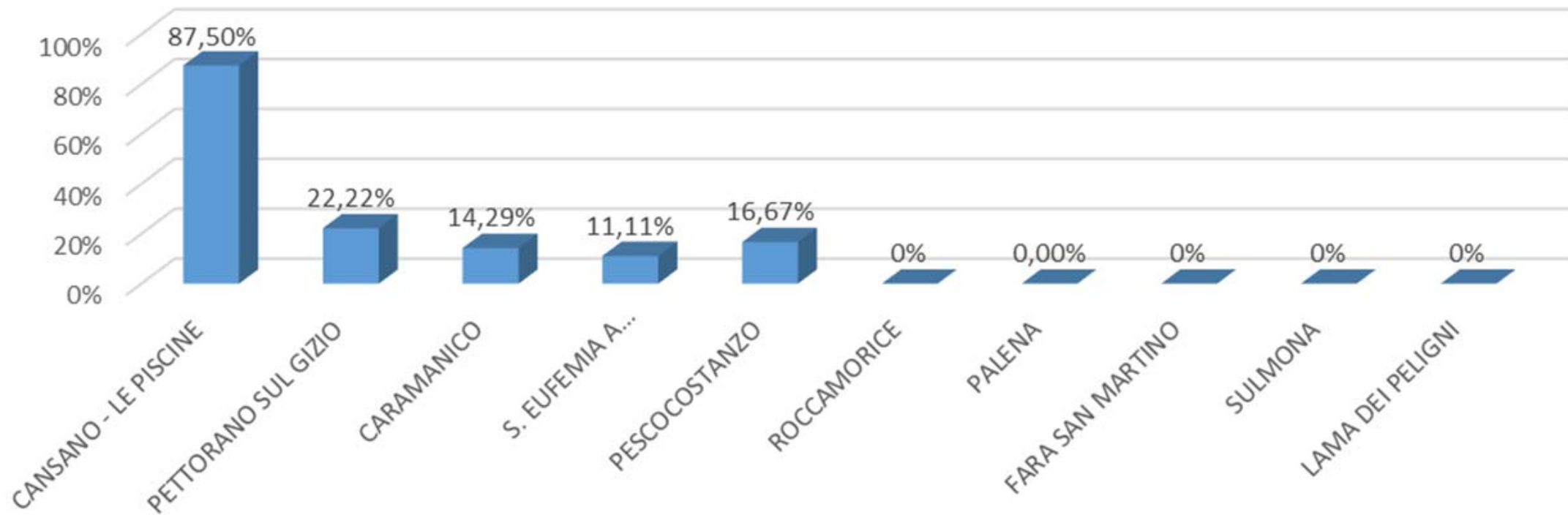


Primo isolamento di ***Kashmir Bee Virus*** (KBV) in Abruzzo (Palena)

Sintomi: tremori che progrediscono in paralisi, incapacità a volare e nutrirsi, colore nerastro dell'addome e del torace a causa della perdita dei peli (marcatore della Sindrome dello Spolamento degli Alveari – *Colony collapse Disorder* CCD)



## PREVALENZA *NOSEMA CERANAE*

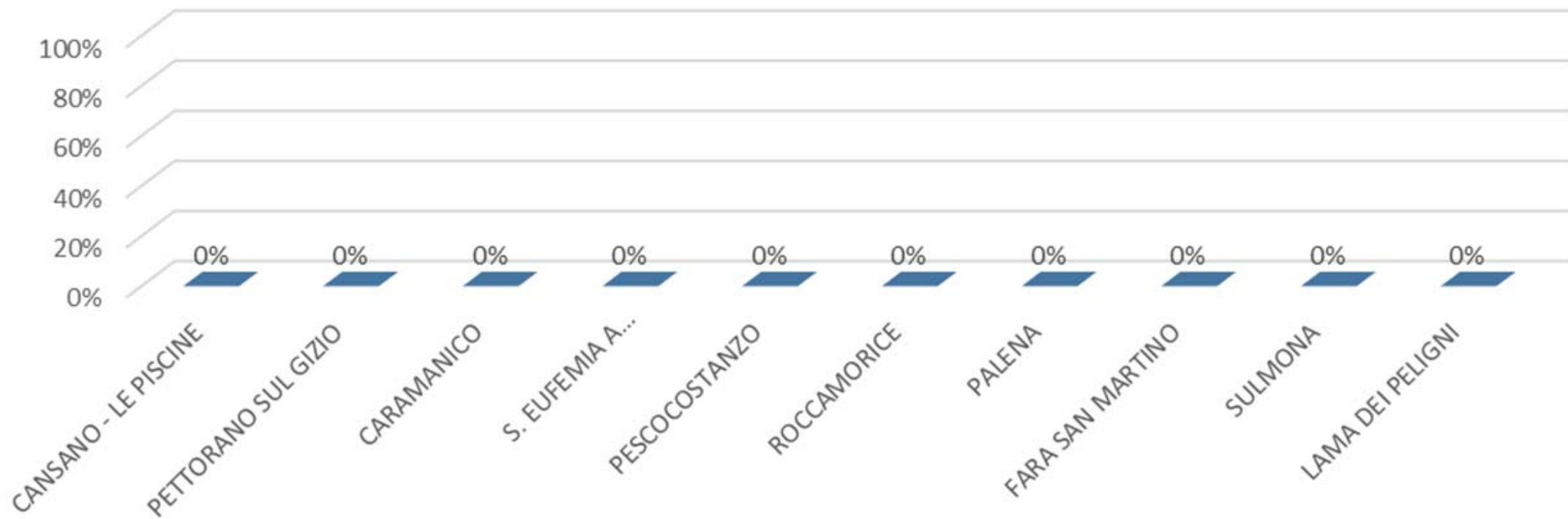


La prevalenza di ***Nosema ceranae*** è estremamente bassa rispetto agli apiari del centro Italia

Sintomi: indebolimento delle api dovuto al cattivo assorbimento dei nutrienti a livello della mucosa intestinale (assenza di diarrea)



## PREVALENZA *NOSEMA APIS*

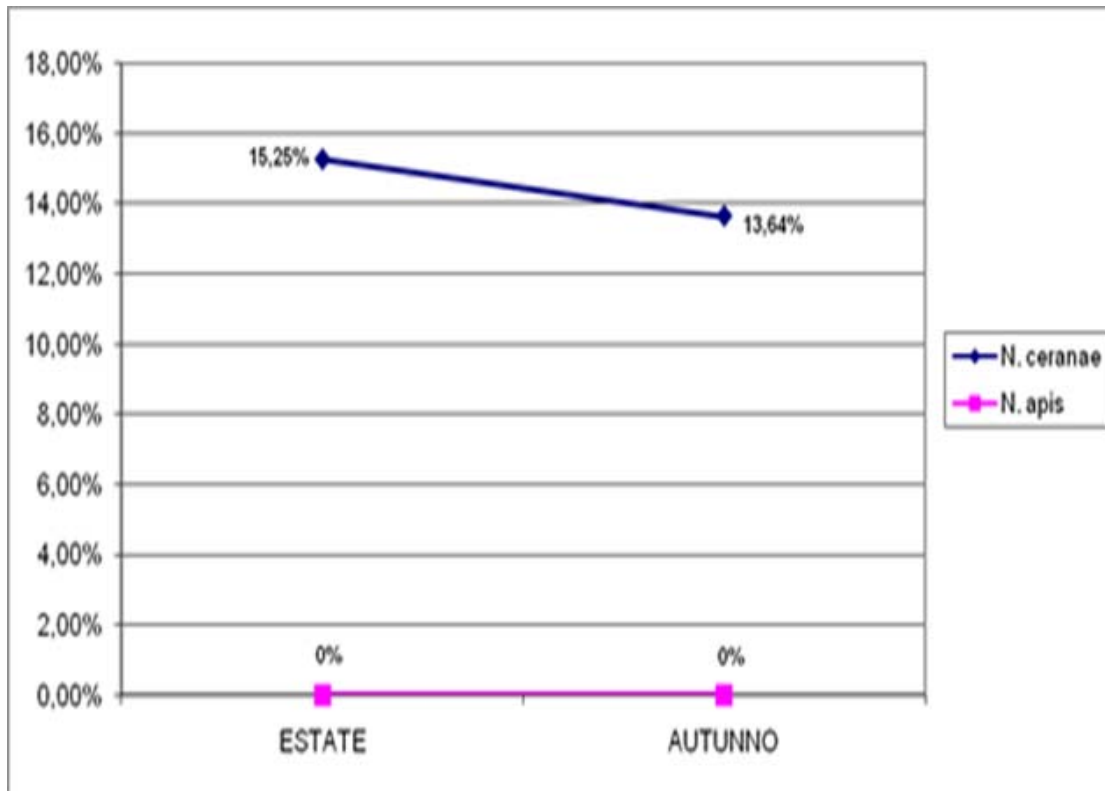
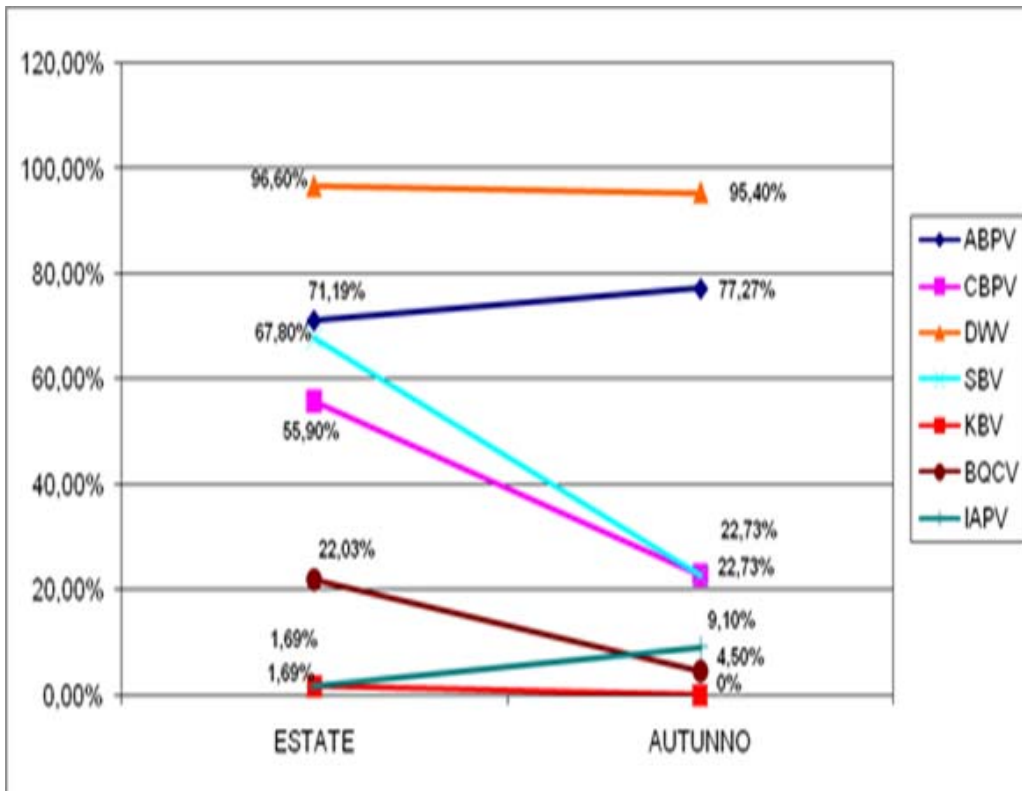


Non è stato ritrovato il ***Nosema apis*** negli alveari analizzati

Sintomi: le api infette presentano diarrea, le bottinatrici riducono la loro attività e le api nutriche diventano incapaci di secernere la pappa reale



# Stagionalità per virosi e nosemiassi



Per quanto riguarda la stagionalità, la gran parte delle positività alle virosi è stata riscontrata in tarda estate (giugno-settembre), quando il tasso di infestazione da *Varroa* negli alveari raggiunge il suo massimo livello. Anche il *N. ceranae* mostra la gran parte delle positività nel periodo giugno-settembre.



**Si ringrazia:  
Ente Parco Nazionale della Majella  
e  
Apicoltura Istituto Zooprofilattico  
Sperimentale delle Regioni Lazio e  
Toscana (sede di Roma)**

