

## SINTESI

### **Patogeni emergenti in apicoltura: *Lotmaria passim* e *Crithidia mellificae* - Studio sulla diffusione nel territorio italiano e valutazione dell'impatto sulla mortalità degli alveari.**

Parole chiave: *Lotmaria passim*, *Crithidia mellificae*, tripanosomatidi, prevalenza, mortalità alveari

#### **Introduzione**

Negli ultimi anni si è assistito in tutto il mondo ad una riduzione generale delle colonie di api. Questo fenomeno si è configurato negli Stati Uniti come “colony collapse disorder- CCD”, sindrome caratterizzata dall'improvvisa scomparsa dagli alveari, senza alcuna causa apparente, della maggior parte delle api operaie in presenza della regina e di covata immatura nell'alveare. In Europa, sebbene non sia stato segnalato il CCD, le colonie hanno subito un progressivo decremento.

Recentemente l'attenzione del mondo scientifico si è focalizzata su nuovi patogeni emergenti - i tripanosomatidi – quali ulteriore possibile causa di mortalità negli alveari. Fino al 2015 l'unico tripanosomatide di *Apis mellifera* conosciuto era *C. mellificae*; in quell'anno Schwarz et al. hanno caratterizzato una nuova specie, *Lotmaria passim*, che oggi sembra essere il tripanosomatide prevalente in tutto il mondo. In Italia non ci sono dati disponibili relativi alla diffusione di questi parassiti e il loro impatto sulla salute degli alveari è ad oggi sconosciuto. Lo scopo di questo progetto di ricerca è stimare la presenza e la diffusione di *C. mellificae* e *L. passim* nelle api in Italia e valutare la correlazione di questi ultimi con i fenomeni di mortalità degli alveari, anche in possibile concomitanza con l'azione di altri patogeni. Gli obiettivi che ci si prefigge sono:

1. valutare la presenza e la diffusione dei tripanosomatidi di interesse apistico in Italia;
2. genotipizzare i ceppi di *L. passim* e *C. mellificae* circolanti in Italia;
3. valutare la correlazione con i fenomeni di mortalità degli alveari.

#### **Materiali e metodi**

È stato svolto uno studio retrospettivo su DNA d'archivio di *A. mellifera* provenienti da apiari situati in regioni italiane rappresentative della penisola in senso latitudinale, per valutare la presenza e diffusione dei tripanosomatidi di interesse apistico. I campioni di DNA d'archivio, corredati da informazioni anamnestiche e gestionali, sono stati inseriti in un database. I DNA sono stati testati con un protocollo PCR avente come target un frammento del citocromo b di *L. passim* e *C. mellificae*. Sono stati selezionati alcuni alveari positivi per tripanosomatidi per tentare l'isolamento in coltura di ceppi di campo e genotipizzarli mediante by Whole-genome sequencing (WGS).

#### **Risultati**

La prevalenza aziendale di *L. passim* è risultata essere 74,0% il primo anno e 41,4% il secondo anno. La prevalenza aziendale di *C. mellificae* è risultata 6,5%. Per quanto riguarda la prevalenza intra -aziendale cioè il livello di diffusione di *L. passim* nelle singole aziende, i valori risultano si aggirano dal 30% al 60% e risultando abbastanza omogenei nelle regioni indagate. La prevalenza intra -aziendale di *C. mellificae* nelle poche aziende positive rilevate in Trentino, Veneto e Sicilia è risultata da un minimo del 25% ad un massimo del 100% con una media del 50%. I risultati relativi alla prevalenza e alla presenza dei tripanosomatidi nei diversi apiari sono in corso di analisi per valutare associazioni statisticamente significative con fenomeni di mortalità/spopolamento o la presenza di altri patogeni. I campioni i campioni risultati positivi per *L. passim* in PCR in questo studio sono risultati 99-100% identici a *L. passim* Acc. No. MG494247 isolato nel 2018 in USA. I campioni positivi per *C. mellificae* sono in corso di conferma mediante sequenziamento.

In 2 apiari positivi in PCR della regione Lazio sono stati isolati 2 ceppi di campo di tripanosomatidi ma i risultati dell'analisi bioinformatica non ne permettono l'identificazione poiché non è stato possibile trovare una corrispondenza con i database utilizzati.

**Discussione** Pagina 5 di 27

Il presente progetto di ricerca costituisce il primo studio condotto su scala nazionale sulla diffusione dei tripanosomatidi nelle api allevate in Italia. I risultati ottenuti evidenziano la presenza dei tripanosomatidi di interesse apistico in Italia e confermano, in linea con quanto osservato in altri studi condotti in altri stati europei, che il parassita prevalente risulta essere *L. passim*. *C. mellifica* sembra essere sporadicamente presente nel campione di apiari testati.

Per quanto riguarda la caratterizzazione dei ceppi di *L. passim* e *C. mellifica* circolanti in Italia, altro obiettivo di questo progetto, gli isolati di campo ottenuti non hanno avuto riscontro con le specie presenti nelle banche dati a disposizione. Nel prossimo futuro si propone pertanto l'applicazione di protocolli di amplicon sequencing per l'identificazione di *L. passim* e *C. mellifica* tramite il sequenziamento di target specifici quali ITS, *citB* o target alternativi che possano essere più discriminanti. L'applicazione dell'amplicon sequencing utilizzando tecnologia di HTS, permetterebbe di poter analizzare il gran numero di campioni positivi già ottenuti e conservati presso la scrivente UOSD.

