

Elaborazioni matematiche dimostrano che la prematura morte delle bottinatrici è la causa che avvia l'alveare al declino spiegando anche la scomparsa delle api con scorte di miele che permangono nell'alveare. Per Khoury (2013), disponibilità di risorse e durata di vita delle bottinatrici sono determinanti per lo sviluppo della famiglia. Con bassa mortalità di bottinatrici (come sarebbe senza avversità), una scarsa disponibilità di cibo nell'ambiente limita sia la quantità di cibo accumulato nell'alveare (scorte di miele nei favi e di proteine nei corpi delle api) sia la quantità di popolazione della stessa. Se però la quantità di risorse nell'ambiente aumenta, la quantità di cibo immagazzinata e la popolazione dell'alveare aumentano. La popolazione della famiglia si può così stabilizzare ad un determinato numero di api in funzione della mortalità delle bottinatrici e non è più condizionata da un ulteriore aumento della disponibilità di risorse mentre lo stoccaggio di miele continua a crescere. In caso invece di aumento di mortalità delle bottinatrici da un basso livello ad un livello moderato si ha che si riduce la popolazione dell'alveare (e che questa vive con un più basso livello di scorte nell'emolinf. E' più magra!). Le famiglie possono ancora accumulare un surplus di miele, ma la quantità accumulata è estremamente ridotta nelle famiglie più piccole. A maggiori livelli di mortalità delle bottinatrici la colonia può mantenere una popolazione stabile, ma piccola e incapace di accumulare surplus di miele. La popolazione dell'alveare si avvia verso zero se il tasso di mortalità supera la soglia a cui la famiglia può sostenere il ricambio, ma le scorte di cibo rimangono come conseguenza del fatto che la famiglia perisce prima di averle completamente consumate. Per ciò differenti tassi di mortalità delle bottinatrici (che è lo stesso che dire loro aspettativa di vita) danno come risultato differenze del benessere dell'alveare con una popolazione stabile e eccesso di produzione di miele a bassa mortalità delle bottinatrici mentre, aumentando la loro mortalità, si ha una popolazione stabile ma con scorte limitate [si noti che quando non si fa produzione si dava sempre colpa alla "stagione", ma qui è dimostrato che aspetti sanitari, ovvero mortalità anticipata di bottinatrici possono avere colpa più consistente] oppure zero popolazione con residui di scorte stoccate per alta mortalità delle bottinatrici. Dunque lo spopolamento con la permanenza di scorte è previsto in alveari che soffrono una alta mortalità di bottinatrici. Le condizioni ideali per la massima produttività sono: bassa mortalità di bottinatrici combinata ad alta disponibilità di risorse. Ovviamente scarsa disponibilità di risorse peggiora le cose. Gli alveari non sono in grado di rendere se la mortalità di bottinatrici è alta neppure facendo nomadismo. Ma da cosa dipende il tasso di mortalità quotidiano delle stesse? Nosema ceranae e virus sono i maggiori fattori interni all'alveare, che possono interagire fra loro e con problematiche presenti all'esterno. Un'ape che parte da casa con salute precaria può avere solo aggravamenti da ciò che l'ambiente le proporrà e le odierne infezioni da nosema e virus sono assolutamente anomale rispetto al passato e questo crea consistenti disagi. Questi patogeni non ci devono essere a fin che la vita della bottinatrice sia massima! Finora si sono considerate molto poco le infezioni virali silenti, viste come una curiosità lasciando esse l'ape viva. Anche il Nosema ceranae è preso poco sul serio, ma invece le prospettive che apre Khoury sono inquietanti. Sia la presenza virale che il ceranae hanno effetti consistenti su capacità lavorativa e aspettativa di vita, e diversi fitofarmaci presenti nell'ambiente, a contatto con la bottinatrice fanno scatenare replicazione virale e di ceranae fino ad effetti letali (Di Prisco 2013-Vidau 2011). La bottinatrice di oggi, in conseguenza del carico di patogeni che la accompagnano nel corso della sua vita è destinata ad una vita più breve rispetto a 40 anni fa, e perciò a parità di numero di api e di risorse, le alte produzioni del passato non sono più realizzabili e aumentando di anno in anno la presenza media di virus e nosema negli alveari, questi nei migliori dei casi produrranno sempre meno. Moriranno laddove vi siano limiti di disponibilità di risorse. Si può persino arrivare a dire a titolo esplicativo: ogni spora di Nosema / virus presente nell'alveare = 1 microgrammo di miele in meno prodotto dallo stesso. Il lavoro di Khoury descrive la sindrome CCD, nella quale interagiscono patogeni e fattori di stress (nosema, virus, fitofarmaci, carenze alimentari) e in cui varroa-virus può avere un ruolo più o meno consistente (Varroa può trasmettere virus patogeni, associati al collasso dell'alveare e determinare una sindrome di immuno depressione nell'ape ospite). In particolare, l'associazione di varroa con il virus delle ali deformate (DWV) è particolarmente ossessiva e pericolosa. La presenza di DWV nelle api aumenta nel corso della stagione e in Settembre avvicina il 100% di presenza (ovvero in pratica in tutte le api vi è un certo livello di presenza virale). In autunno, la presenza virale risulta tanto più alta quanto più è stata alta la presenza di varroa nel corso della stagione (ma la presenza virale a fine stagione non dipende solo dalla varroa) e il significativo aumento di mortalità di api osservabile è dovuto all'alto carico virale che supera i 10 milioni di miliardi di virus per ape nelle famiglie con maggior presenza di varroa (dove vi è minor presenza virale le api muoiono di meno, ma sono molto lontane dall'essere in forma).

Il punto sulla situazione sanitaria delle api. La conoscenza del sistema immunitario dell'ape è oggi buona e si sa come funziona contro i vari patogeni, come li contiene e anche per quali motivi a volte non vi riesce. Quello dell'ape è un sistema immunitario composto da diversi reparti che a seguito dell'identificazione di un patogeno arrivato per via orale dentro il corpo dell'ape sono gestiti da un "direttore operativo" che provvede a dare le consegne a diversi corpi d'armata specializzati. Scientificamente avviene che i geni TOLL e IMD attivano il fattore di trascrizione NF-kB che determina la produzione dei peptidi antimicrobici apidecina, abecina, imenoptecina, defensina 1 e defensina 2 (immunità umorale). Vi è poi una risposta di tipo cellulare di nodulazione, incapsulazione etc e l'attivazione della cascata della fenolossidasi che da luogo a melanizzazione col risultato che le api diventano scure, in diversi casi nere. L'esempio più tipico di questa risposta avviene relativamente al virus CBPV che da questo fatto fu chiamato mal nero, ma allora non si sapeva che il fatto che le api diventassero nere era dovuto alla loro risposta immunitaria. Il tipo delle risposte immunitarie prodotte è identico in tutte le api ma la quantità di difese allertate in risposta ai patogeni deriva dalle caratteristiche

genetiche dell'ape e dalla disponibilità di risorse a questa disponibili, ma dividendo le api dell'alveare tutto quanto, sarebbe meglio dire dalle disponibilità di risorse all'alveare. Per verità le differenze genetiche tendono anche a produrre piccole differenze nelle strutture di questi peptidi antibiotici con probabili differenze di efficacia. Essendo l'alveare un insieme di circa 16 sottofamiglie vi saranno perciò diversi gradi di risposta delle stesse con alcune api più resistenti (o tolleranti) ai patogeni e altre più sensibili. Sia che si tratti di larve che di api adulte sono sempre queste ultime che permettono il progredire dell'infezione nell'alveare (Fries). L'ape si trova ad avere difese che riescono a reggere l'assalto di patogeni storici poiché nel tempo vi è stato con essi adattamento. Trova difficoltà consistenti invece con quelli di recente introduzione (come il nosema ceranae) e che in certi casi aggirano addirittura le prime linee di difesa come avviene quando virus (che dovrebbero invadere per via orale o per via cuticolare) del tipo IAPV, che è una recentissima mutazione, si trovano ad essere iniettati direttamente nel circolo dell'emolinfa, nel suo sangue, dall'azione della varroa. In questo caso sembra non resti che far ricorso all'RNA interferenza. Dal lavoro di Nazzi e colleghi è noto che il virus DWV riesce "a distrarre il Direttore", il fattore di trascrizione NF-kB, dai suoi compiti (sotto regolazione) col risultato di una minor produzione di peptidi antibiotici (e altro). Da questo, consegue che un'ape infettata da DWV ha minori difese per opporsi, oltre che al DWV stesso, anche a tutti gli altri patogeni che potrà incontrare nella sua vita anche nelle migliori delle situazioni ipotizzabili. La varroa ha col DWV una sorta di simbiosi e per quando difficile da capire e da accettare è questo il primo problemone che essa crea, tanto più quanto più è presente, diffondendo nell'alveare un agente che riduce le difese immunitarie delle api. Il secondo problemone si presenta quando alla varroa viene ad essere associato il virus IAPV. Questo virus riesce a moltiplicarsi nella varroa e quando da essa è iniettato nell'ape questa muore in tre giorni dall'infezione (Li 2013). Anche nei confronti del Nosema ceranae la risposta immunitaria consiste essenzialmente nella produzione in sequenza dei 5 peptidi antimicrobici sopra descritti (Schwarz e Evans 2013), ma non sembra essere del tutto efficace. Dopo 9 giorni è ancora attiva a tutto spiano, ma 9 giorni sono un quarto dell'intera vita massima dell'ape e la metà di quella massima da bottinatrice. E' un tempo di attivazione immunitaria enorme che sfinisce l'ape provocandone una diminuzione dell'aspettativa di vita. A maggior ragione se il direttore, il fattore NF-kB è "imbambolato" dall'infezione da virus DWV. Si avrà più scarsa presenza di peptidi a contrastare il nosema con l'aggiunta che questa forte richiesta di peptidi può rendere impossibile il controllo del DWV la cui moltiplicazione diviene esplosiva (Nazzi e colleghi). Insomma gestirne due per l'ape è problematico. Vi sono buone conoscenze anche relativamente a tutte le manovre di disinfezione che le api dell'alveare operano e che fanno parte dell'immunità detta sociale, dal momento che è decisamente evidente che è sicuro interesse dell'alveare fare in maniera che alle api che consumano i cibi prodotti giunga il carico minimo possibile di patogeni. E' anche noto come le infezioni prodotte dai patogeni possano ridurre la qualità di queste manovre. Queste azioni di disinfezione derivano dalle api più vecchie (che spesso sono anche le più malate e che per questa ragione non riescono a fare il lavoro con la qualità che sarebbe necessaria) per quel che riguarda il miele mentre le nutrici si occupano di inserire nella pappa diverse sostanze antibiotiche (Defensina 1 e Jelleine) sempre che la disponibilità di polline lo permetta. Poi ci sarebbero le pulizie e disinfezioni dei favi. Possiamo brevemente pensare alla ecletticità dell'uso di defensina 1 per la disinfezione dei favi e nel contempo inserita nel miele dalle api più vecchie (Klaudiny) e presente anche nella pappa (che le bottinatrici ricevono dalle nutrici) e la cui produzione deriva dal polline oppure pensare alla cascata della glucosio ossidasi, anche questa derivante dal polline "via pappa", che produce prima acido gluconico e da questo acqua ossigenata (entrambe le sostanze hanno potenti capacità microbicide). E' curioso che nei testi che parlano di miele si possa leggere relativamente alla sua acidità che questa deriva principalmente dalla presenza di acido gluconico. Ora ci si dovrebbe anche scrivere che lo stesso è lì presente per svolgere azione microbicide dato che spesso si parla delle capacità anti microbiche del miele, ma questa capacità è fondamentale prima di tutto per le api. Si può far notare che vi sono poi sostanze sempre di derivazione pollinica che non hanno effetti diretti sulla disinfezione ma li hanno sulla produzione. Si pensi ad esempio ad un aspetto su cui poco si riflette. Come fa l'ape a fare il miele? Ciò le è possibile grazie all'enzima alfa glucosidasi (e agli altri della stessa famiglia) che è quello che la bottinatrice produce nelle ghiandole ipofaringee modificate allo scopo (Ohashi) per convertire, semplificando, il nettare in miele. Ancora. La bottinatrice (di polline o di polline e nettare) torna a casa con due belle masserelle di polline attaccate alle cestelle, ma come ha fatto a fare diventare due masserelle coese una infinità di granuli del diametro di circa 150 micron? Ha usato un "adesivo fatto in casa"... Però se una bottinatrice è malata, se da nove giorni almeno è soggetta ad un'attivazione immunitaria strepitosa per contrastare le infezioni da nosema e da virus e in aggiunta non ha sufficiente nutrizione proteica dalle consorelle come fa a produrre gli "strumenti" biochimici necessari per il suo lavoro? Il risultato sarà che non riesce a trasformare il nettare in miele né a mantenere uniti i granuli di polline perdendoli per strada con la conseguenza che l'alveare si impoverirà sempre di più perché quello che è di sicuro evidente dalla letteratura è che sia la competenza immunitaria della singola ape, come viene chiamata, che l'efficienza dell'immunità sociale dipendono in maniera drammatica da quello che l'ape mangia ovvero che l'alveare raccoglie. Se l'alveare si indebolisce e raccoglie poco [che è lo stesso che dire raccoglie poco e si indebolisce] le sue difese immunitarie ne risentono fortemente in conseguenza della bassa disponibilità di proteine di stoccaggio, principalmente vitellogenina, nell'emolinfa delle api da trasformare sia in strumenti di lavoro che in difese dai patogeni. Già nel 2011, Di Prisco ha mostrato come gli alveari deboli presentino invariabilmente un basso livello di vitellogenina nelle singole api e che in queste siano possibili esplosioni di replicazioni virali persino in completa assenza di varroa e a maggior ragione in presenza di questa. Dunque la sanità dell'alveare non ha a che fare solo con la sua sopravvivenza, ma molto prima con le sue produzioni. Bisognerebbe evitare di credere che dal momento che un alveare è vivo possa comunque produrre a prescindere. Dunque l'ambiente, per quel che offre da portare a casa, è fortemente

condizionante le difese delle api (Di Pasquale 2013) al punto che si può ormai considerare dimostrata l'incidenza geografica o ambientale delle patologie (Di Pasquale 2013). A limitare la capacità di raccolta dell'alveare (che determina cosa può trasformare in difese) non sono solo le disponibilità ambientali e le patologie stesse, ma a volte è in prima persona l'apicoltore che spacca e blocca togliendo troppe api o riducendone gli stimoli feromonalmente e con ciò riducendo anche i presupposti per poter raccogliere quanto necessita, limitando la capacità di lavoro della famiglia la quale poi si troverà a penare. Allo stesso modo sono buone le conoscenze anche sui patogeni che l'attaccano. L'ape riuscirebbe ad avere una vita di circa 40 giorni se fattori di diverso tipo non gliela accorciassero. Se campa solo 30 o 20 l'alveare non raccoglie e non produce e se non produce si estingue come mostrato dal modello di Khoury. Nella situazione attuale i patogeni hanno un ruolo consistente nella riduzione della vita dell'ape di famiglie non sintomatiche e apparentemente sane. Tanto più quanto l'ambiente è ostile (Di Pasquale 2013). E la riduzione di vita dell'ape riduce le performances dell'alveare e delle altre api. Bisognerebbe per ciò capire bene l'effetto diretto dei patogeni sull'ape (dato che la stessa può tranquillamente subire infezioni multiple da virus e ne sono trovati fino a 5 contemporaneamente presenti + nosema +varie) e l'effetto che la malattia che colpisce la singola ape va a provocare indirettamente sulla complessiva situazione dell'alveare. In questo si possono presentare infezioni dagli effetti acuti (ovvero morte dell'ape in pochi giorni) da virus IAPV (correlato a Varroa, la quale è un TIR anche se spesso non lo si considera) o ABPV (correlato ad altissima presenza di varroa). Questi sono virus tutto sommato relativamente rari e sarebbe bene continuassero ad esserlo. Si possono manifestare riduzioni della aspettativa di vita della singola ape che possono derivare da infezioni definibili croniche tipo nosema ceranae associato a BQCV e DWV [che approfittano molto delle carenze nutrizionali determinate dall'ambiente (Di Pasquale 2013) o dai patogeni stessi]. E' soprattutto dalla concatenazione delle diverse infezioni, particolarmente in situazioni di scarsità di qualità di polline (Di Pasquale 2013) che l'alveare si trova a mal partito. Esattamente come una famiglia monoreddito che debba pagare 800 euro di affitto per la casa e con 600 euro riuscire a fare tutto il resto. L'ape prima (a livello di competenza immunitaria del singolo) e l'alveare poi, vengono a trovarsi nella stessa identica situazione. L'impovertimento proteico, la scarsità di risorse alimentari provocato dal ceranae o da altro, può portare alla moltiplicazione esplosiva di DWV, ad una maggior densità di varroa, che si sviluppa di più se l'alveare fa fatica a riscaldare e da qui ad una maggior presenza virale e maggior suscettibilità ai fitofarmaci (Medrzycki) e via via in un bel girotondo in cui si può considerare che la diffusione di un patogeno facilita anche quella di altri (Genersch). Secondo Ravoet (2013) anche Crithidia mellificae ha un ruolo nel collasso degli alveari in sinergia con N. Ceranae. Tutti gli altri patogeni "minori" possono aggravare la situazione determinando ulteriori perdite di api.

CBPV può diventare fonte di perdite di api adulte in primavera.

Altre patologie possono far perdere api prima che arrivino all'età adulta :Calcificata (relazionata alla quantità di varroa presente e al nosema) ---Europea (in verosimile aumento in conseguenza della diminuzione di disinfezione dell'alveare) ----SBV ovvero virus della covata a sacco. La peste americana può portare a perdere l'intero alveare.

L'azione meccanica e diretta della varroa (le larve infestate non possono certo essere definibili dotate di un futuro da lavoratori integri) fa le sue vittime.

Il quadro è poi peggiorato dagli stress ambientali: diversi tipi di fitofarmaci possono aumentare la sensibilità ai patogeni e far esplodere infezioni silenti. In parallelo i patogeni aumentano la sensibilità ai fitofarmaci (Vidau). L'apicoltore deve essere molto accorto nell'uso dei varroacidi, che dovrebbero essere impiegati con presenza molto bassa di virus vari e nosema per evitare la loro moltiplicazione in conseguenza dello stress che l'ape deve sostenere per sopportare i varroacidi e disintossicarsi da essi. In altre parole lo sforzo per disinnescare le tossine che costituiscono il principio attivo utilizzando gli adeguati strumenti biochimici. I neonicotinoidi amplificano la sensibilità al nosema (che può far esplodere DWV) e direttamente fanno esplodere replicazione del virus DWV (Di Prisco). Imidacloprid associato a Ceranae riduce la produzione di glucosio ossidasi ovvero la capacità di disinfezione del miele (Aloux) con quel che ne consegue. Neonicotinoidi, molti altri fitofarmaci (e bagnanti) di differenti classi avrebbero sull'ape sana tossicità bassa (Aloux 2009) o relativa. Il problema è che sempre più spesso la bottinatrice che va a contatto col fitofarmaco non è sana e questo causa notevole aumento della tossicità dei fitofarmaci in genere (Vidau 2011). Lo stesso si può dire relativamente alla presenza di residui di fitofarmaci nell'alveare. Nosema ceranae è il principale co-fattore che entrando in sinergia coi fitofarmaci produce effetti di tossicità tremendi (Aloux 2009-Vidau 2011). In altre parole la bottinatrice infettata da ceranae risulta molto più sensibile a neonicotinoidi e molti altri fitofarmaci (se non forse tutti), con effetti molto pesanti. Si noti che la capacità di detossificazione dei fitofarmaci da parte dell'ape dipende dal polline che mangia (Mao 2011) e perciò quando l'alveare si indebolisce, raccogliendo meno risulta anche più sensibile ai fitofarmaci con effetto domino. In aggiunta, il secondo co-fattore che può aumentare la sensibilità ai fitofarmaci è la temperatura di allevamento della covata (Medrzyky 2009) che nelle famiglie indebolite può risultare più bassa del dovuto, ciò dando luogo alla nascita di api sempre più sensibili ai fitofarmaci e di conseguenza ad un effetto domino di ulteriore indebolimento con aumento di sensibilità ai virus (Di Prisco 2012) e va perciò considerato fra gli effetti di stress che fanno partire l'effetto domino che per come è strutturato l'alveare crea problematiche pesantissime. Per converso la presenza di fitofarmaci facilita la riproduzione del Nosema ceranae. I cosiddetti bagnanti (sostanze utilizzate per migliorare la dispersione del principio attivo dei fitofarmaci) sono molto più tossici del principio attivo stesso secondo una quantità di letteratura (Mullin su

tutti) con particolare accento su Organosilossani. I fungicidi, poco noti e ignorati sono forse quelli che all'alveare producono i problemi maggiori secondo una quantità di letteratura. I patogeni considerati, sommati a fitofarmaci e a scarsa presenza quali-quantitativa del polline, portano le api a progressivo indebolimento, con sempre crescente difficoltà di approvvigionamento del polline e sempre crescente difficoltà a rinnovare la popolazione, fino, nei casi più sensibili all'estinzione. Porta anche (Yanez 2011) a manifestazioni di calcificata che indeboliscono ulteriormente. Nella situazione attuale i fitofarmaci presenti nell'ambiente più che un effetto di tossicità acuta richiedono all'ape uno sforzo di detossificazione che distoglie energie preziose dal contenimento del consistente carico di patogeni che l'affligge. La ristrettezza di disponibilità alimentare (intesa soprattutto come qualità) è l'ulteriore oggettiva complicazione (Di Pasquale 2013) dato che è la base sia per l'espressione delle difese immunitarie che per il ricambio della popolazione. Il risultato è la riduzione della durata di vita e della capacità lavorativa dei singoli che si trasforma in sfacelo della famiglia. L'ape ha bisogno di avere meno patogeni e di mangiare meglio. Ricompenserà abbondantemente come ha sempre fatto.

Polline-essendo il polline l'elemento da cui si ricavano le proteine necessarie a costruire i corpi (e quant'altro, compreso il "sistema immunitario") delle giovani api nascenti è assolutamente indispensabile sia come quantità che come qualità. De Grandi ha determinato che la proliferazione virale è tanto maggiore quanto è minore la disponibilità di polline. Di Pasquale ha determinato lo stesso per il *Nosema ceranae*. La famiglia non può compensare le perdite naturali di api in condizione di ristrettezza pollinica, men che mai in presenza di patogeni. Essendo il polline alla base anche della produzione di difese immunitarie sociali (Alaux 2009) e individuali, la sua scarsità porta a scarsità delle difese immunitarie sociali (disinfezione dell'alveare) rendendo lo stesso maggiormente vulnerabile anche alle altre patologie della covata e individuali.

L'alimentazione sintetica delle api - Berenbaum e al (2013) ha dimostrato che il miele produce attivazione del sistema immunitario dell'ape mentre i vari tipi di alimento sintetico non lo fanno. Api che mangiano cose diverse dal miele si ritrovano difese immunitarie "spente". La dieta sintetica delle api dovrà perciò essere molto migliorata, ma fino ad allora sarà bene limitarne l'uso il più possibile.

La sindrome delle api: un sovraccarico di patogeni -la ricerca ha messo a fuoco tre grandi fattori generali incidenti sulla salute degli alveari: (1)contaminanti ambientali[fitofarmaci agricoli] (2) carenze nutrizionali (3) nuovi e vecchi patogeni spesso in associazione. Due dicistrovirus, Israeli acute paralysis virus (IAPV) e Kashmir bee virus (KBV) possono da soli far traboccare il vaso,come in situazioni di carenze proteiche lo può fare *Nosema*. Le famiglie colpite da sindrome CCD presentano invariabilmente una maggior quantità di specie di patogeni presenti rispetto a quanto avviene nelle famiglie definibili sane e risulta anche evidente che questa condizione è contagiosa. I dati raccolti suggeriscono che molteplici fattori sono alla base della sindrome CCD e che alcuni di questi sono intercambiabili o non essenziali, ma in grado di interagire in sinergia causando il collasso. Il tutto senza che particolari patogeni possano sempre essere identificati per il loro ruolo prominente. Le famiglie soggette a CCD mostrano una maggiore prevalenza, co-varianza e abbondanza di patogeni. In marcato contrasto è possibile rinvenire colonie deboli, ma che non hanno un aumento di quantità e qualità di patogeni rispetto alle famiglie forti ovvero le famiglie non colpite dalla sindrome in generale mostrano minor co-varianza della presenza di patogeni. E' per ora poco noto se questa associazione statistica riflette una sinergia tra patogeni e se vi sono altre variabili. I dati raccolti supportano l'opinione che l'interazione fra patogeni contribuisca allo sviluppo della sindrome indicando anche che vi sono molte strade che portano allo stesso risultato di collasso delle famiglie. Per meglio spiegare, nelle famiglie affette da CCD è comune rinvenire non meno di 11 fra loro variamente correlati dei 36 patogeni cercati con predominanza dei virus ABPV, BQCV, DWV e KBV. Ovviamente la co-varianza di abbondanza di patogeni è osservabile anche a livello di singola ape. Anche specie che dovrebbero essere in diretta competizione, come *N. ceranae* e *N. apis*,sono risultate positivamente correlate operando in sinergia. Sembra che l'interazione tra diverse infezioni sub-cliniche possa portare al rapido spopolamento che caratterizza la sindrome CCD. Se i risultati rivelano un aumento nel carico di patogeni e una estesa varianza degli stessi nelle famiglie colpite da sindrome assolutamente non presenti in famiglie normalmente definibili deboli e nessun singolo patogeno risulta uniformemente associato alla sindrome CCD, alcune correlazioni tra *N. ceranae* e altri patogeni sono state osservate sia a livelli di individui (singole api) che di colonia. Nelle famiglie colpite da CCD, il carico di *N. ceranae* risulta significativamente correlato coi carichi, ovvero le quantità, dei virus DWV e KBV (e questo è ragionevole dato che NF-kB contiene lo sviluppo di entrambi). Le singole api delle famiglie infestate da *Nosema* mostrano correlazione tra il livello di *N. ceranae* che portano e il livello dei co-infettanti DWV, SBV, CBPV, BQCV, e *N. apis*, dimostrando ciò che queste interazioni possono avvenire indipendentemente dallo stato di sindrome. I dati ribadiscono il fatto che l'infezione da *Nosema* (e secondo Ravoet da *C. Mellificae* -2013) porti ad aumento della suscettibilità ad altri patogeni (sottraendo risorse immunitarie necessarie per il contenimento dei virus). Ravoet riesce a presentarne una esemplificazione precisa mostrando come la famiglia va in crisi in conseguenza di una quantità di patogeni superiore a tre. Con presenza di sei patogeni la mortalità diviene massima. Trova anche una correlazione fra mortalità invernale e quantità di presenza di *varroa* in luglio, chiaramente a seguito della moltiplicazione virale da essa supportata nei mesi tardo estivi. Se l'aumento di presenza virale nella famiglia è da una parte dipendente dalla quantità di presenza di *varroa* nei mesi estivi,dall'altra sembra anche esservi aumento di presenza virale di diversi tipi in conseguenza dell'azione di indebolimento provocata dal *Nosema* (in possibile sinergia con *Crithidia*) particolarmente in situazioni di carenze proteiche (Di Pasquale 2013). Sembra che nel corpo dell'ape vi sia una autentica

corsa alla riproduzione da parte dei patogeni che prende il via quando per qualsiasi causa di stress vi è una diminuzione della competenza immunitaria. Chiunque vinca questa corsa, che vede diverse possibili alleanze fra patogeni, l'unica che perde è l'ape, la cui carenza di salute provoca effetto domino sull'alveare che per mantenersi necessita della piena capacità dei singoli. Un'altra parte notevole della questione riguarda la flora batterica simbiotica che vive nello stomaco delle api e che ha una notevole importanza nella difesa dai patogeni e nella nutrizione. Cornman ha potuto mostrare un cambiamento in quella che ne può essere considerata la composizione tipica con declino dei generi Bifidobacterium e alpha-proteobacteria. Maggi trova (2013) che gli acidi prodotti dai lattobatteri riescono a contenere lo sviluppo del Nosema. Da Aloux è mostrato che l'attivazione del sistema immunitario della singola ape, senza riduzione dell'aspettativa di vita della stessa, può comunque dar luogo a cambiamenti nei comportamenti sociali (si consideri che se avviene su un gran numero di api può dar luogo ad aberrazioni nel sistema di regolazione del lavoro).

La diminuzione delle difese immunitarie del singolo e della auto disinfezione della colonia (immunità sociale) Sia varroa che virus che nosema ceranae indeboliscono il sistema immunitario dell'ape, la quale diventa così sempre più sensibile prima di tutto ai virus (trascurando per semplificare batteri e funghi) i quali riescono a moltiplicarsi in misura maggiore e continuano ad essere sempre più presenti e in quantità sempre maggiori sia nelle api, che nelle regine, che sui favi, miele, polline e materiale tutto. L'ape indebolita nel sistema immunitario e proveniente da famiglie indebolite (con scarsa cura termica della covata), presenta in aggiunta sempre minori possibilità di detossificazione dei fitofarmaci. Ne diviene perciò ancora più colpita. Le api producono e inseriscono nel miele diverse sostanze naturali antimicrobiche per la sua disinfezione. Questo comportamento di disinfezione degli alimenti che prende il nome di immunità sociale è un modo che l'alveare utilizza per difendersi dai patogeni. L'alveare indebolito nel suo insieme diviene in grado di produrre solo minor quantità di sostanze disinfettanti e diviene via via sempre più contaminato. A quel punto è il sistema immunitario della singola ape che deve fronteggiare i problemi, ma non è molto adatto e consuma moltissima energia.

Mantenere la competenza immunitaria nell'alveare -Si deve ritenere sulla base della letteratura che una migliore competenza immunitaria dell'ape e dell'alveare sia la conseguenza di una buona fitness in generale, condizione di cui la proteina vitellogenina sembra la larga misura responsabile data la varietà di funzioni biologiche cui è deputata. L'ape intesa come singola ha capacità immunitarie, di gran lunga inferiori a quelle degli insetti individuali. Per questo motivo confida molto sulle strategie difensive della sua comunità, l'alveare, e vi è uno strettissimo e indissolubile legame fra la fitness della singola ape e quello dell'alveare. La salute e la durata di vita della singola ape dipendono dall'alveare e il benessere dell'alveare dipende dalla salute della singola ape in un intreccio molto complesso che deriva dalla socialità. L'ape ha come patogeni batteri, funghi e virus di diversi tipi. Di questi tempi il problema è che tendono a insidiare l'alveare facendo lega. Secondo Gatschemberger, per quel che riguarda le infezioni da batteri, la risposta immunitaria della singola ape è adattata ai differenti stadi di vita e ai relativi rischi ambientali. La risposta immunitaria a infezioni batteriche è costituita da peptidi antimicrobici (AMPs) e inizia dopo sei ore dall'infezione con riduzione significativa dopo circa 72 ore sia in larve che adulte. Le pupe invece, che vivono sigillate nella celletta, non hanno nessuna risposta immunitaria ai batteri. Per tanto si può ipotizzare che la competenza immunitaria sia adattata ai differenti stadi di vita e ai relativi rischi ambientali anche per funghi e virus almeno fino a che questi rimangono in un ambito di virulenza e di presenza quanti/qualitativa relativa all'adattamento fra ospite e patogeno. Nuovi patogeni (Nosema ceranae, Varroa/IAPV-DWV "selezionato da Varroa" [Martin 2013]) tendono a poter prevalere con maggiore facilità sulla competenza immunitaria dell'alveare, in diversi casi sollecitata contemporaneamente da più patogeni (e in questo sta il problema). Non è inverosimile infezione da ceranae su api recanti infezioni silenziose da diversi virus contratte in gioventù. Infezioni multiple devono essere considerate frequenti nelle condizioni di campo odierne anche in api apparentemente sane. L'ape adulta risponde anche alle infezioni da Nosema ceranae con produzione nei corpi grassi e dalle pareti dello stomaco (Schwarz; Jefferson 2013) di un repertorio di peptidi antimicrobici (AMPs) che risultano secondo Schwarz (2013) unica risposta a seguito infezione da Nosema ceranae. La produzione di AMPs a seguito infezione orale da ceranae è pressoché immediata e, nello studio, dopo 9 giorni (un quarto della vita massima dell'ape) ancora massicciamente presente (Schwarz 2013) evidentemente non sempre risultando risolutiva. Verosimilmente a seguito dell'infezione l'ape mantiene un tentativo di risposta immunitaria, forse dipendente dal tipo di alimentazione disponibile, fino alla morte. Per quanto riguarda i virus la questione sembra più complessa. Secondo Jefferson i detti AMPs sono funzionali anche al contenimento delle infezioni virali per via orale. Jefferson trova espressione di AMPs dalle pareti dello stomaco a seguito infezione da DWV per via orale mentre Azzami non trova altra risposta se non RNA interferenza a seguito di iniezione di ABPV nella cavità toracica. Va anche considerato che l'ape può risultare infettata da virus da varie vie in rapida successione, dato che questi possono entrare nel corpo dell'ape anche attraverso piccole ferite nella cuticola. Per l'ape adulta è difficile dire se la prima in assoluto sia la via orale o la via cutanea e successivamente, prima o poi, per iniezione da varroa. La modalità di attivazione immunitaria potrà per ciò essere relativa all'ordine in cui le infezioni avvengono. In genere la tossicità (virulenza) dei virus per infezione cutanea è superiore a quella per via orale. L'iniezione da varroa è la più pericolosa in assoluto. Come dimostrato da Nazzi e colleghi la risposta immunitaria dell'ape viene in gran parte orchestrata dal fattore di trascrizione NF-kB che provvede (insieme al gene Relish-Evans 2006) alla produzione dei peptidi antimicrobici AMPs. I sistemi a valenza immunitaria che "pilotati" da NF-kB producono AMPs

condividono l'uso di diversi amminoacidi. In particolare modo Serina, (che risulta ben presente nella proteina di stoccaggio Vitellogenina che è il TIR che trasporta le proteine nel sangue dell'ape), è quantitativamente indispensabile per l'attivazione di NF-kB e nella produzione diretta di AMPs. L'espressione immunitaria dell'ape è perciò fortemente dipendente dalle sue riserve corporee di proteine e in seconda battuta dalla possibilità di rinnovo di queste attraverso l'attività di bottinamento delle consorelle. In conseguenza dell'incidenza di patogeni quali virus e Nosema sulla capacità di lavoro delle bottinatrici (Khoury 2013) e della qualità del pascolo (Di Pasquale 2013), tali risorse possono venire a risultare disponibili in quantità insufficiente all'espressione di difese immunitarie efficaci e Di Prisco (2011) trova che gli alveari deboli sono molto più vulnerabili alle infezioni virali e le loro api possiedono bassa presenza di vitellogenina nel sangue. Che le difese immunitarie siano proporzionali a quel che si mangia è concetto comune con gli esseri umani. Molto tempo fa ai malati si praticavano salassi di sangue per estrarre dal corpo gli effluvi malvagi. Poi si è capito che era meglio non farli. Anche per le api si parla nei vecchi testi di salassi, che è forse il caso di effettuare a ragion veduta. Dal momento che il controllo delle infezioni virali (Nazzi e altri 2012) trova successo quanto maggiore è "la presenza" di NK-FB ne consegue che in regime di ristrettezza di risorse sia del singolo che dell'alveare può avvenire che vi sia difficoltà di sintesi in quantità di tutti i peptidi occorrenti e maggior sensibilità ai patogeni come appunto dimostrato da Di Prisco e colleghi (2011). Per quanto descritto da Evans pare che il Nosema ceranae, in conseguenza della riduzione di aspettativa di vita e capacità lavorativa prodotta alle bottinatrici, costringendo le api ad un regime alimentare ristretto e con ciò riducendo la produzione di vitellogenina (e altre proteine di stoccaggio), diminuisca la possibilità di trascrizione di NF-kB e con ciò faciliti la replicazione del DWV la cui presenza è anche relazionata alla presenza numerica di Varroa. Da ciò si può ipotizzare che l'indebolimento prodotto dal ceranae porti alla possibile replicazione del DWV in conseguenza di carenza alimentare. Nei fatti Mac Donnell (2013) trova una maggior presenza del virus DWV nel cervello di api infette da Nosema ceranae e Cornman una correlazione fra ceranae e DWV in alveari colpiti da CCD. Per converso pare anche che in api in tutti i mesi dell'anno parassitizzate da Varroa e DWV nelle quali a seguito della presenza di questi patogeni viene a verificarsi una riduzione della trascrizione di NF-kB (Nazzi 2012) si avrà come conseguenza anche una ridotta competenza immunitaria nei confronti del Nosema ceranae, risultando questa costituita esclusivamente dai peptidi immunitari (AMPs) Apidecina, Abecina, Imenoptecina, Defensina 1 e Defensina 2 (Schwarz 2013) che sono espressi in parte da NF-kB (Evans 2006) e in parte da Relish (Schluns 2007). Si può perciò arrivare a concludere che la parassitizzazione dell'ape da Varroa e DWV è sinergica all'insorgenza del Nosema ceranae con esplosione in caso di carenza qualitativa di polline. Una maggior disponibilità di amminoacidi funzionali alla produzione di peptidi antimicrobici AMPs oltre che alla proteina di trasporto vitellogenina (VG) al massimo della possibilità di ciascuna ape determinata dalla sua genetica e maggiore possibilità di attivazione di NK-FB consente in teoria un miglioramento nel controllo delle diverse patologie anche in casi di infezioni multi specie. In aggiunta può essere verosimile una minor sensibilità ai virus da parte dei fuchi (infettanti le regine per via venerea) non che delle regine stesse la cui infezione da virus si paga un prezzo altissimo sulla salute dell'alveare deponendo queste una certa percentuale di uova infette che costituiscono l'innesco dell'esplosione di virosi nell'alveare. La scienza ha capito quali sono gli strumenti immunitari utilizzati dall'ape e dal punto di vista biochimico come sono fatti ovvero da cosa sono composti. Siccome in chimica nulla si crea e nulla si distrugge (Lavoisier) bisognerà chiedersi cosa deve mangiare l'ape per produrre queste difese, ovvero dal momento che non va tutti i giorni a mangiare in trattoria che cosa l'alveare le deve fornire, ovvero cosa le devono fornire le bottinatrici. A lavorare nell'alveare ci sono grossolanamente due caste di api. Le più giovani, che fanno le nutrici dai 3 ai 10 giorni di età molto all'incirca e quelle che passati i circa dieci giorni di età vanno ad occuparsi della produzione del miele insieme alle bottinatrici fino a quando non le sostituiranno. Queste api, sono delle vere fabbriche biochimiche specializzate dato che trasformano un prodotto in un altro. Le nutrici partendo dal polline producono pappa. Le più vecchie ricevono nettare e producono miele. Le nutrici sono ovviamente le più capaci di digerire polline ed elaborarlo. Le api più vecchie riescono a farlo fino ad una certa età, poi tendono a perdere questa capacità a favore di quella di elaborazione del nettare. Questo tende ad avere un peso sulla competenza immunitaria. Nel fare il lavoro nell'ambito del contesto sociale in cui sono inserite, devono cercare di renderlo il più funzionale possibile alle esigenze sanitarie loro e dell'alveare il che significa mettere negli alimenti che producono quello che serve per la espressione delle difese immunitarie e in aggiunta infilarvi anche sostanze che provvedano a mantenerli sterili da possibili contaminazioni da patogeni, il tutto mentre magari l'ape (e l'alveare) sta lottando contro qualche tipo di infezione. È noto che se si sente proprio male lascia perdere e va a tentare di fare la bottinatrice (le consorelle tendono a incentivarla in questo), ma se rimane a fare il suo dovere può essere che l'attivazione immunitaria cui è costretta dalle infezioni non le lasci il modo di operare la migliore disinfezione e produzione di cibo di qualità con diminuzione dell'immunità sociale e relativi effetti.

Trasferimento degli amminoacidi alla pappa proteica- La quantità di polline che le bottinatrici riescono a portare all'alveare è a disposizione delle nutrici per essere trasformata in pappa. Lo smontaggio delle proteine del polline e il trasferimento dei vari amminoacidi precursori delle proteine della pappa prodotta pare importante per assicurare che questa abbia innanzi tutto le necessarie capacità disinfettanti e possa poi assicurare la buona competenza immunitaria alla larve e alle api di età più vecchia che in conseguenza della loro specializzazione nella lavorazione del nettare (glucidi) non hanno più capacità di digestione del polline (Crailsheim) e ricevono il cibo proteico dalle nutrici appunto attraverso la pappa. Per cui le api più giovani delle nutrici e quelle più vecchie traggono la possibilità di espressione delle difese immunitarie dal cibo proteico fornito loro dalle nutrici (oltre che da riserve proteiche accumulate nel corpo). Le proteine

della pappa sono caratterizzate come Apalbumine (sono cinque con Defensina 1 dotata di consistenti proprietà antimicrobiche) e Gelleine, proteine di piccole dimensioni anche queste attive come antimicrobici. Scarselli (2005) trova la presenza di Apalbumina 1 e 2 nel pane d'api che risulta dunque un cibo presso che pronto all'uso. Defensina 1 risulta ampiamente presente anche nel miele oltre che nella pappa con una evidente funzione di disinfezione volta a ottimizzare l'immunità sociale. Dunque il cibo proteico dell'alveare è antisettico e contiene in sé le premesse per la produzione delle difese immunitarie. Anche il cibo glucidico (miele) è antisettico e contiene sostanze utili all'attivazione del sistema immunitario (fenoli) e qualcuna di natura proteica utile alla competenza immunitaria (Defensina). Si può quindi prevedere che una ridondanza alimentare sia la base di buone difese immunitarie dell'alveare e che vi sia scarsa competenza immunitaria in alveari con api "magre" (Di Pasquale 2013) dato che le api si fanno, quanto più possibile, delle riserve nel loro corpo sotto forma di proteine di stoccaggio, vitellogenina su tutte, e il loro lavoro inteso come trasferimento di proteine alla pappa e loro propria competenza immunitaria, funziona tanto meglio quanto maggiori sono le scorte proteiche nel loro corpo. Sono queste scorte che permettono (fin che ce ne è) di allevare la prima covata quando l'apicoltore fa uno sciame artificiale dotato di poche bottinatrici e sono sempre queste scorte che permettono l'allevamento di covata durante l'inverno quando le api non hanno la possibilità di bottinare. Le scorte di vitellogenina determinano l'aspettativa di vita dell'ape (Amdam) e le consentono una maggiore resistenza ai fitofarmaci (Seehuus 2005) e agli stress ossidativi (Amdam). Da ciò si arriva a dire che la competenza immunitaria dell'alveare deriva ed è proporzionata alla quantità di scorte di proteine di riserva nel corpo delle api. La quale deriva dalla capacità di raccolto delle bottinatrici. Per cui si ha che scarsa o nulla capacità di raccolto di polline dalle bottinatrici si trasforma presto in riduzione della competenza immunitaria delle api e dell'alveare. Ora si è sempre sentito dire che quando vengono a meno le bottinatrici nell'alveare, ad esempio con una delle classiche tecniche di produzione di sciami illustrata nei vecchi manuali che prevede lo spostamento dell'arnia, le api più giovani sopperiscono. E' vero, ma non senza costi per l'alveare (dato che niente è senza costi in questo mondo). Queste manovre, come tutte quelle che riducono la popolazione di api dell'alveare, costringono ad utilizzare delle riserve, che possono essere più o meno consistenti o persino non esserci. Dopo di che si entra in crisi. Se supponiamo sia 100 il massimo livello possibile di proteine di riserva nell'emolinfa delle api questo produrrà una competenza immunitaria (trascurando per semplicità di esposizione i fattori genetici) di 100. A seguito di situazioni o di manovre che portano all'utilizzo delle riserve portiamo le riserve di proteine nel corpo delle api a 30 si avrà una competenza immunitaria di 30, ovvero il rischio che qualche patogeno riesca ad avere la cosiddetta prevalenza (e ha preso questo nome proprio dal fatto che riesce a prevalere sulle difese immunitarie) è aumentato del 200% e più. Di nuovo ricordiamo come il lavoro di Di Prisco e colleghi (2011) ben descrive come negli alveari deboli vi sia poca vitellogenina in circolo nel corpo delle api e complessivamente nell'alveare e come questi alveari deboli siano più facilmente preda dei virus e di quant'altro. La competenza immunitaria dell'alveare deriva dall'abbondanza di risorse nell'alveare e l'abbondanza deriva dalla capacità di raccolta. E' interesse dell'apicoltore tenerne conto.

Relazione tra circolazione del cibo nell'alveare e circolazione dei patogeni -collegamenti fra aumento di presenza di varroa e circolazione dei patogeni (virus, nosema) in relazione allo sviluppo dell'alveare. La pappa "da operaie" è prodotta a partire dal polline nelle ghiandole ipofaringee delle nutrici, api giovani di età circa da 3 a 10 giorni. Dal 1992 è noto dalle ricerche del professor Creilsheim che la pappa "da operaie" non è destinata solamente all'alimentazione delle larve, ma che una buona metà di quella che viene prodotta è consumata dalle api più vecchie, le bottinatrici, che essendosi adattate a fabbrica biologica di elaborazione del nettare non sono più in grado di digerire il polline e dipendono dalle loro consorelle più giovani, le nutrici, per quel che riguarda la loro alimentazione proteica, la quale deriva appunto unicamente dal consumo di pappa. Nelle api più vecchie, addette alla elaborazione del nettare e alla sua trasformazione in miele, la pappa (cibo proteico) ha una doppia funzione. Da un lato serve a sostenere le esigenze fisiologiche del corpo dell'ape "vecchia", le poche difese immunitarie residue comprese. Dall'altra, una certa parte di questo cibo proteico finisce, direttamente o previa elaborazione, nel miele e serve a renderlo un alimento dotato di consistenti capacità di disinfezione. Il miele, se prodotto come Dio comanda, è in grado di accoppiare parecchi patogeni che vi finiscono dentro. Se viene prodotto in scarsità di pappa (ovvero in scarsità di raccolto pollinico) non disinfetta un bel niente. E' dimostrato che sostanze come l'acido gluconico sono alla base della capacità disinfettante del miele, così come le defensine, proteine proprie del sistema immunitario dell'ape che sembrano avere una valenza disinfettante nel miele e che poi possono far comodo all'ape nel momento in cui consuma il miele. Vi è una bella differenza di efficacia di disinfezione da miele a miele, a seconda delle condizioni in cui è prodotto e delle condizioni di chi lo produce e di conseguenza vi è una bella differenza, in funzione di quello che il miele non è riuscito ad eliminare, nel carico di patogeni che da questo viene restituito alle api delle diverse età. Questo fatto può avere un peso consistente relativamente alla diffusione di Nosema (di entrambi i tipi), di peste (di entrambi i tipi) e di virus. Dunque la pappa (cibo proteico) è il pilastro dello sviluppo dell'alveare e del mantenimento delle sue difese, ovvero immunità individuale e sociale (che deriva dalla disponibilità di polline). Può però diventare un cavallo di Troia.

La trasmissione dei virus attraverso miele e pappa -I virus trovano il loro sito di riproduzione preferenziale nello stomaco dell'ape, raggiunto insieme ai cibi. Da questo possono trasferirsi ad altri siti, nei quali, anche se non è ancora del tutto certo, riescono a riprodursi in maniera egualmente efficace. Nelle ghiandole ipofaringee, sito di produzione della pappa, sono stati rinvenuti virus di diversi tipi e di conseguenza questi sono stati rinvenuti nella pappa. Le nutrici infette da virus

producono pappa reale infettata da virus che sarà distribuita sia alle api vecchie che alle larve. Questa è trasmissione detta di tipo orizzontale e può risultare decisamente problematica. I virus trasmessi alle api vecchie possono ridurre l'aspettativa di vita con riduzione della capacità di approvvigionamento di risorse da parte della famiglia etc.

L'infezione virale nella bottinatrice da dove viene? In conseguenza dell'infezione alla regina o ai fuchi che l'anno fecondata l'ape può nascere da un uovo infetto da virus. Si pensi perciò al peso dell'infezione virale nei fuchi sul risultato produttivo degli alveari e sulla loro sopravvivenza. Come larva può mangiare pappa infetta (non parliamo poi dei casi in cui è parassitata da varroa). Nasce così come ape adulta con una certa presenza virale latente. Dalla trofallassi della pappa, dal lavoro e dai contatti può ricevere altri virus. Gli stress da adulta possono determinare replicazione virale. Alla fine della sua carriera come ape di casa si avvia a fare la bottinatrice con un carico virale potenzialmente esplosivo. A questo punto della sua vita c'è anche il *Nosema ceranae* in grado di far sì che sia molto più vulnerabile ai fitofarmaci e ai virus, ma anche in loro assenza è penalizzata dalla malattia relativamente a capacità lavorativa e aspettativa di vita. I virus come eredità dai genitori - Il virus DWV è un virus delle api che è riuscito ad adattarsi molto bene sulla varroa e che da essa ha tratto spunto per "prosperare". Questo virus (come gli altri delle api) viene trasmesso dai genitori alle uova deposte, ovvero dalla regina e dai fuchi che l'hanno fecondata all'uovo. La larva e poi l'ape che da esso si sviluppa ha una infezione latente (silente) che potrà esplodere a seconda dello "stile di vita" che l'ape deve sostenere. Nel corso della sua esistenza potrà in diversi modi essere infettata da ulteriori cariche virali.

Poi arriva la varroa- Una singola larva, su cui possiamo ragionare a titolo di esempio, può avere un certo livello di presenza virale nel suo corpo. A questa si può sommare quella ingerita con alimentazione con eventuale pappa infetta. Questa infezione virale può rimanere silente (e non mostrare sintomi pur producendo danni), e può esplodere in conseguenza di indebolimenti immunitari della larva o nel caso di presenza di varroa, che non ha sempre tutta la colpa. Desai (2012) ha dimostrato che è possibile che le larve arrivino a presentare le classiche deformità alle ali e all'addome provocate dal virus DWV con il virus veicolato solo per via orale attraverso il cibo e in assoluta assenza di varroa. Sembra essere solo questione di quantità di virus e di difese immunitarie. Nel caso questa larva pesantemente infetta da virus sopravviva e nasca come adulta, la moltiplicazione virale proseguirà nel suo corpo, e risulterà (Alaux 2012) tanto più alta quanto più è consistente la sua dieta proteica (pollinica). In altre parole, le larve infettate da varroa già nei primi cicli di riproduzione primaverili dell'acaro, divengono da adulte delle fabbriche di virus, i quali vengono trasferiti per via orizzontale alle altre api sia nell'attività di trofallassi che con la produzione di pappa e attività da nutrice che nelle attività di grooming o di pulizia (virus che finiscono sui favi). Anche le varroe in fase foretica potranno prelevare virus insieme alla loro emolinfa e ridistribuirli alle altre api su cui vanno a nutrirsi. Anche i fuchi possono essere considerati delle fabbriche di virus che andranno a infettare le regine, anche quando non mostrano sintomi evidenti (Da Cruz 2012). Al contrario del *Nosema* (e del virus BQCV a esso associato), che vede il suo picco di produzione di spore nelle bottinatrici e che da esse sono veicolate nel cuore dell'alveare, i virus, particolarmente quelli correlati a varroa, tendono ad essere riprodotti nel cuore dell'alveare, nella covata e dalle api più giovani, per essere veicolati verso l'esterno dell'alveare. Sullo sviluppo esplosivo dei virus hanno effetto due fattori: stress a cui l'ape risulta sottoposta e la presenza, ciclo di covata dopo ciclo di covata, della varroa. La presenza della varroa da marzo ad agosto è un problema quanto la presenza da agosto a dicembre o meglio, è la preparazione del collasso autunnale/invernale. Cioè, da una parte, nell'alveare vi è una presenza virale (correlata a Varroa) che tende a scomparire in primavera a seguito della massiccia produzione di api da parte dell'alveare, ma che tende poi pian piano a ricomparire prima di tutto sulle api parassitizzate da varroa. Dall'altra parte della barricata vi è il sistema immunitario dell'ape che per funzionare ha bisogno di rifornimenti di proteine e che per ciò non ha lo stesso livello di efficacia in tutti i mesi dell'anno in relazione alle disponibilità ambientali di polline [autori vari]. Da metà agosto vi è un cambiamento mostruoso nella rilevabilità dei virus nell'alveare. Su quasi il 100% delle api si possono trovare virus (Nazzi e al 2012; Di Prisco e al 2011) e la questione diviene unicamente la loro quantità. Sarà la quantità di virus presenti a determinare l'aspettativa di vita delle api di fine agosto e di settembre/ottobre, ma la quantità di virus andrà anche a determinare la quantità trasmessa alla covata allevata che comincia ad essere costituita da api che dovranno passare l'inverno e che troveranno nell'infezione virale il maggior elemento di riduzione di aspettativa di vita con ovvia difficoltà dell'alveare a tempo regolare nel periodo invernale. Per di più in settembre e ottobre può esserci ancora cospicua presenza di varroa che continua ad agire in qualità di diffusore e di attivatore della replicazione virale. Il problema inizia con una regina infetta da virus e dei fuchi infetti da virus ed è complicata da varroa che va ad attivare quello che potrebbe rimanere "dormiente".

L'immunità sociale delle api-comportamento igienico delle adulte nei confronti delle altre api adulte malate. Le api sono in grado di identificare le consorelle infette dal virus delle api deformate e scacciarle dall'alveare subito dopo la loro nascita come adulte e questo comportamento può variare a seconda dello stato di salute della famiglia (Baracchi e al). La diminuzione di presenza di api infette all'interno dell'alveare può essere dovuta all'effetto combinato del "comportamento igienico" di espulsione e della tendenza delle api malate ad uscire dall'alveare tentando di fare da bottinatrici, comportamento questo di auto sacrificio molto ben compreso [autori vari]. La salute generale della colonia influenza la risposta nei confronti delle api infette, suggerendo che lo sviluppo di difese immunitarie (immunità sociale a livello di famiglia) possa dipendere dalle condizioni dell'alveare. Le famiglie con uno stato di salute compromesso risultano nei fatti meno efficienti nel difendersi e da questo deriva un aumento del rischio di epidemie. E' anche possibile

che nelle famiglie con stato di salute compromesso il numero di api malate possa sorpassare quello delle api sane igieniche impegnate nell'espulsione delle consorelle infette. Si può anche ipotizzare che quando un alveare cade malato il suo sistema immunitario sociale non che i suoi componenti (api igieniche) diminuiscano in quantità e qualità.

Che fare ? La gestione sanitaria è volta a minimizzare nei tempi giusti la presenza dei patogeni per ottenere la massima aspettativa di vita delle bottinatrici e da ciò le massime produzioni e la massima sopravvivenza degli alveari. E' necessaria una strategia complessiva di lotta ai patogeni dell'alveare, non il considerarli singolarmente ed avulsi uno dall'altro. Si ha oggi dimostrazione di aver a che fare con problematiche sanitarie che si concatenano con effetti devastanti. Cercando di fare il possibile per minimizzare l'esposizione delle api ai fitofarmaci è necessario contenere il più possibile già dalla primavera il carico di patogeni e curare il mantenimento di adeguate difese immunitarie derivanti da adeguata alimentazione. Il "semplice" indebolimento delle famiglie deprime i sistemi immunitari e aumenta la suscettibilità a patologie primarie, secondarie e a fitofarmaci. Le famiglie dovrebbero essere mantenute forti e con forte capacità di raccolta di polline, il quale dovrebbe essere ben disponibile a livello multiflorale. La carenza quali-quantitativa di proteine può essere l'elemento di partenza della debacle della famiglia se va ad essere associata ad un carico di patogeni consistente. La proliferazione virale nelle api delle famiglie deboli avviene anche in ASSENZA DI VARROA (Di Prisco) ad un livello quasi doppio di quella che è la proliferazione virale in famiglie forti con elevato carico di varroa. Questo significa che, se avviene indebolimento della famiglia (con relativa diminuzione delle difese immunitarie) in presenza di virus (infezione silente) questi riescono a moltiplicarsi in maniera del tutto autonoma fino a divenire sintomatici e problematici al di là di quale che sia il livello di presenza della varroa, la quale d'altra parte non farà che far aumentare la replicazione virale. Oggi 2 virus riescono a moltiplicarsi sulla varroa stessa (DWV e IAPV), la quale veicola i virus anche nella fase foretica alle api adulte. Un altro virus (BQCV) è associato a *Nosema ceranae* il quale può produrre anche aumento di presenza del DWV nell'ape (McDonnell 2013). La presenza virale negli alveari è oggi massiccia e a tali livelli la trasmissione virale derivante dalle normali attività dell'alveare non è trascurabile anche in assenza di varroa. La strategia di lotta progettata all'avvento della varroa non teneva in alcun considerazione il discorso virus e ovviamente meno l'aggravante oggi costituita da *Nosema ceranae* e dall'indebolimento cronico del sistema immunitario dell'ape che da esso deriva. Nei fatti la metodica del trattamento tardo estivo e poi invernale lascia la varroa rimasta per troppo tempo libera di fare il comodo suo nella stagione produttiva. In conseguenza del fatto che oggi è lei stessa a moltiplicare 2 virus, la sua libera circolazione per otto mesi, da gennaio a settembre circa non è più sopportabile. Specialmente pensando che i primi fuchi primaverili, e via via i successivi, saranno infestati e quindi infettati da virus in maniera consistente e che da ciò si avrà infezione delle regine mano a mano che si fecondano, ritrovandosi poi a fine estate nelle condizioni più indesiderate dal punto di vista della presenza virale, la quale potrà produrre considerevoli mortalità invernali. Da questi elementi scientifici sembra necessario, come consigliato da diversi ricercatori, utilizzare il più possibile la primavera per ripulirsi al meglio da Varroa fino all'allevamento dei fuchi e alla posa nei melari, cercando nel contempo di mantenere al minimo possibile la presenza virale e di nosema, che sono la vera causa di parecchie problematiche degli alveari. I virus non si riducono di numero immediatamente dopo i trattamenti varroacidi, che anzi tendono ad aumentarne la presenza, dato che l'esposizione agli effetti sub letali delle tossine utilizzate per i trattamenti varroacidi tende a indebolire l'ape dando luogo a replicazione virale e a volte anche di nosema. In altre parole, indebolendo l'ape allo scopo di eliminare la varroa, i virus presenti in ciascuna ape si fanno sentire maggiormente. L'aspettativa di vita risulterà correlata al livello di infezione della singola ape che risulta estremamente variabile da un soggetto all'altro. Diversi ricercatori suggeriscono per ciò trattamenti di inizio stagione per prevenire l'amplificazione dei virus DWV e IAPV e gli effetti avversi che provocano. Insomma, bisognerebbe che dalla primavera, le varroe non trasmettessero virus ai fuchi così i fuchi non infetterebbero con virus le regine che non deporrebbero uova infette. Ma quando cominciano ad essere allevati in primavera una gran parte delle varroe si getta di preferenza su di loro (una volta si diceva che facevano da parafulmine e permettevano alla famiglia di sopportare l'acaro, ma ora il discorso virus cambia tutto). Per far sì che i fuchi non siano infettati bisogna che ci sia pochissima varroa in primavera. Così saranno pochissime le api operaie, infestate, in cui vi sarà moltiplicazione virale. Ridurre la presenza di queste api fabbrica di virus, che cominciano a diffonderli nell'alveare, sui favi appena cominciano a fare da spazzine e poi alle altre api ad ogni contatto di trofallassi sembra una buona idea per ridurre la dinamica virale.

Lotta primaverile- partendo dall'uscita dell'inverno freddo le varroe superstiti che ancora possiamo trovare nell'alveare, e che fino allora hanno trasmesso virus alle api su cui si sono nutrite, all'inizio della primavera hanno alle spalle tutta una vita nell'alveare e diversi cicli di riproduzione effettuati, ovvero molti contatti con le api e hanno mediamente un significativo carico virale. Per contro, in primavera, con ricambio di api e consistente sviluppo di popolazione, l'alveare tende ad alleggerire di molto il suo carico virale. Si può pensare per ciò che la varroa svolga anche un'azione di conservazione della matrice virale nell'alveare. In uno scenario più caldo, con presenza di polline che consente l'allevamento di covata durante tutto l'inverno o quasi, la varroa ha una maggior continuità di riproduzione, ma ugualmente contribuisce al mantenimento della matrice virale. Si noti che la possibilità di riproduzione di varroa non è per niente costante e, al contrario, dipende più dalla quantità di nutrisci presenti che dalla quantità di covata (è a queste che deve la possibilità di essere portata sulla covata di giusta età nei meandri dell'alveare) e perciò se la passa male in tutte le situazioni in cui di nutrisci ce ne sono poche o non hanno l'età giusta (e perciò il giusto odore-le riconosce a naso) ovvero a seguito di forti diminuzioni della disponibilità di polline ovvero dopo periodi di scarso allevamento di covata. In queste situazioni ha una fase foretica più lunga ed è perciò più vulnerabile agli attacchi con varroacidi. E' dunque la primavera il

periodo in cui è massima la necessità di ridurre la presenza di varroa e degli altri patogeni. Una loro minima presenza nel corso della stagione produttiva, oltre a consentire migliori raccolti, ridurrà di molto le problematiche e le perdite autunnali e invernali.

Gli aspetti adattativi dei virus: i virus sono in continua mutazione. E' facile capire che più virus e più varroe ci sono nell'alveare e più stanno fra di loro a contatto tanto più sarà facile la creazione di virus più cattivi e di grado di raggiungere quantità più alta di presenza. Condizioni di stress e presenza di varroa oltre che la presenza di altri patogeni tipo *N. apis*, o *ceranae* o diminuzione di disponibilità alimentare possono portare ad un aumento della replicazione virale. Il calo delle difese immunitarie in conseguenza di indebolimento delle famiglie sembra avere un peso enorme sulla riproduzione virale negli alveari. Di Prisco e al. mostra che l'infestazione da varroa deprime il sistema immunitario dell'ape e aumenta la suscettibilità a patologie secondarie, e anche che il "semplice" indebolimento delle famiglie deprime il sistema immunitario e aumenta la suscettibilità a patologie secondarie e a fitofarmaci. Le famiglie dovrebbero essere mantenute forti e con forte capacità di raccolta di polline, il quale dovrebbe essere ben disponibile a livello multiflorale. La carenza qualitativa di proteine è l'elemento di partenza della debacle della famiglia. La proliferazione di alcuni virus (BQCV ad esempio) non dipende dalla presenza di varroa, ma dal nosema. Quella di ABPV (e IAPV a maggior ragione) e DWV è invece largamente correlata alla presenza di varroa. E' stato ad esempio osservato (Di Prisco) che DWV è rinvenibile su meno del 10% delle api fino a ferragosto. Da settembre in avanti è invece rinvenibile sul 97% delle api. A tutto ottobre il virus DWV è rinvenibile su quasi il 100% delle api. Ovviamente in caso di ritardo del trattamento di riduzione numerica della varroa o in sua assenza la carica virale nelle api è ancora più grande, ma anche trattando a ferragosto, il 97% delle api sopporta la presenza del virus DWV. Questo fatto produrrà la diminuzione di aspettativa di vita delle api invernali. Le famiglie soffriranno molto durante l'inverno col risultato di consistenti mortalità o alla meglio la sopravvivenza di un piccolo pugno di api. Secondo Di Prisco "Il maggiore aumento del titolo virale in api esposte ad un più alto carico parassitario di varroa determina un incremento della mortalità". L'infezione da DWV è "stimolata" dall'infestazione da Varroa, particolarmente nelle famiglie deboli. In quelle forti, la proliferazione virale è decisamente più contenuta anche con elevati carichi di varroa. Si nota che la proliferazione virale nelle api delle famiglie deboli avviene anche in ASSENZA DI VARROA ad un livello quasi doppio di quella che è la proliferazione virale in famiglie forti con elevato carico di varroa. Questo significa che, se avviene indebolimento della famiglia (con relativa diminuzione delle difese immunitarie) in presenza di virus (infezione silente) questi riescono a moltiplicarsi in maniera del tutto autonoma fino a divenire sintomatici e problematici al di là di quale che sia il livello di presenza della varroa, la quale d'altra parte non farà che far aumentare la replicazione virale. Tuttavia bisogna sottolineare il fatto che in famiglie deboli la proliferazione virale da una parte in condizione di assenza di varroa e dall'altra con infestazione da varroa del 30% è veramente poco dissimile (Di Prisco). Da ciò si capisce che quando la famiglia è debole in presenza di infezione virale la riduzione del numero di varroe non porta giovamento. Sarebbe invece necessario ridurre la carica virale ed ripristinare le difese immunitarie attraverso una corretta alimentazione eventualmente anche sintetica. A livello di conduzione degli alveari si può dire che le famiglie deboli dovrebbero essere riunite entro la fine di luglio (almeno in nord/centro Italia). Le famiglie forti hanno invece il sistema immunitario relativamente integro e ciò permette una relativamente buona resistenza alla proliferazione virale. Nelle famiglie forti, l'effetto della varroa si può definire minore, se così si può dire, tenendo conto che la diffusione del DWV raggiunge il 97% delle api a settembre mentre invece dovrebbe essere assente. Tuttavia, citando Di Prisco "La quantità assoluta di DWV aumenta solo nelle colonie deboli". Anche l'infezione da IAPV è stimolata dall'infestazione da Varroa. IAPV (virus israeliano della paralisi acuta) ha effetti molto più rapidi sulle api rispetto a quanto produce il DWV. Può portare a morte l'ape infetta in pochi giorni e da ciò al collasso della famiglia in poche settimane. La sua proliferazione è enormemente più alta nelle famiglie deboli ed in queste estremamente correlata alla presenza di varroa dal momento che su di essa riesce a moltiplicarsi. Quando esplose non lascia scampo. Da tutto ciò si capisce che l'indebolimento delle famiglie in presenza di virus risulta autonomamente problematico e sicuramente aggravato dalla presenza della varroa. Non è neppure da sottovalutare l'effetto di accumulazione virale nelle famiglie forti che ad esempio in conseguenza di un pesante inverno possono arrivare deboli in primavera, e da lì avere solo problemi. Lodesani e al. hanno valutato lo sviluppo delle famiglie in condizioni di differente disponibilità di polline mettendo in evidenza come la differenza qualitativa-quantitativa condizioni lo sviluppo della famiglia nel pre invernamento. In relazione a questo, anche la media di spore di nosema per ape è risultata statisticamente significativa. VI È MOLTO MENO NOSEMA DOVE IL POLLINE È OTTIMO E VI È MOLTO PIU' NOSEMA DOVE IL POLLINE È PESSIMO. Sembra poi esservi una corsa alla riproduzione fra *ceranae* e DWV comunque deleteria per l'ape. A dire che in presenza di entrambi si viene a creare un effetto che facilita la riproduzione di entrambi i patogeni.

Il Nosema ceranae- può essere letale per la singola ape, ma la famiglia nel suo insieme può riuscire a sopportare la perdita. Il problema è che ad un certo punto della stagione l'alveare non riesce più a sopportare le perdite e collassa. Si ritiene una perdita di popolazione di circa 1 favo di api di media ogni milione di spore nello stomaco delle api (Villa 2013). L'infezione varia molto da regione a regione in funzione del clima (a *ceranae* piace il caldo) e delle risorse alimentari, che sono in grado di rallentarne la propagazione (DiPasquale 2013). E' dimostrata la trasmissione agli alveari vicini. Non produce alcuna sintomatologia, colpisce l'intestino (delle bottinatrici inizialmente) e nella sua riproduzione provoca lesioni che impediscono l'assunzione dei nutrienti. L'ape muore essenzialmente di fame, ma (Kralj) perdendo parecchie delle sue capacità di orientamento e ciò spiega il mancato ritorno di buona parte delle bottinatrici infette.

Hedtke (2011) afferma che possono essere osservate esplosioni di covata calcificata a seguito presenza non letale di *Nosema ceranae*. Anche la presenza di residui di fitofarmaci nell'alveare facilita la proliferazione del *Nosema* (Wu e al 2012) e ciò porta a supporre la necessità di maggior ricambio della cera. I virus si moltiplicano molto di più nelle famiglie indebolite dal *Nosema*. La moltiplicazione del *Nosema ceranae* avviene nel corso di tutto l'anno senza interruzione alcuna (anche se con differenze quantitative a seconda del periodo, *Nosema* teme il freddo. È stato dimostrato che le api giovani quando si sentono affette da patologia affrettano l'uscita dall'alveare tentando di rendersi utili come bottinatrici. Questo è il secondo tipo di comportamento che spiega il repentino spopolamento dell'alveare al progredire dell'infezione. La riduzione del bottinamento è la premessa del tracollo. Per di più si manifesta anche atrofia della ghiandola ipofaringea e riduzione delle sostanze da essa prodotte essenziali sia per la produzione di pappa, che di enzimi digestivi e sostanze a funzione immunitaria. In aggiunta, la diminuzione di competenza del sistema immunitario favorisce oltre che la proliferazione del *N. ceranae*, anche la replicazione dei virus presenti allo stato latente. Dal momento che anche *Varroa* produce soppressione immunitaria (Gregory et al. 2005; Yang and Cox-Foster 2005), la simultanea presenza di entrambi i patogeni risulta devastante per le api. Bourgeois e al. hanno dimostrato una grande variabilità della presenza del patogeno tra alveari dello stesso apiario e tra apiari diversi (in ragione delle differenze genetiche e delle fonti bottinate che possono condizionare l'immunità sociale e individuale). Perciò ogni famiglia che mostra difficoltà può essere particolarmente colpita dal patogeno anche se tutto il resto dell'apiario sembra funzionare al meglio. Pernal e al e Eischen e al hanno studiato l'importanza della riduzione della presenza di spore sui favi, sui quali sono osservabili quantità non indifferenti di spore (e questo costituisce un fattore consistente di diffusione del patogeno), dimostrando che la disinfezione (fattibile con *Oxygen* efficace anche sui virus) degli stessi rallenta sensibilmente la dinamica di proliferazione del patogeno. Si deve però anche considerare che pur essendo rilevante il rischio costituito dalle spore presenti sulle api, sui favi e nel materiale, la quantità maggiore di spore si trova nello stomaco e nell'apparato boccale delle bottinatrici, nelle quali il patogeno trova le migliori condizioni di proliferazione. La distribuzione del patogeno tra le api dell'alveare sembra avvenire attraverso la trofalassi. È stato dimostrato che l'incidenza del *Nosema ceranae* sul comportamento sociale delle api diminuisce l'efficacia dei trattamenti antivarroa in strisce. Sulla base di questi dati sono tre le direttrici teoriche di lotta al patogeno:

1. riduzione della quantità di spore presenti sulle api e sui favi mediante applicazione topica di adeguate sostanze, ad esempio acido peracetico (*Oxygen*) -utilizzabile per aspersione ad ogni visita)
2. riduzione della quantità di spore presenti a livello di stomaco e apparato boccale delle api a mezzo somministrazione di fungistatico (utilizzabile a calendario in primavera ed estate oppure all'esigenza)
3. Aumento della capacità di allevamento di covata, della nutrizione e delle difese immunitarie delle api mediante dieta con polline artificiale

Secondo Oliver lo spostamento delle famiglie aperte in pieno giorno, lasciando le bottinatrici contaminate sul posto, può costituire un veloce mezzo di riduzione dell'infezione.

Savorelli Gianni --- prodotti per apicoltura

Via Longo 109 -

47522 Cesena (FC)

Tel 0547602018

Cell 339 6634688

Fax 0547603070

Email gsavore@tin.it

Un approfondito studio epidemiologico rivela il ruolo di *Crithidia mellificae* nella mortalità invernale degli alveari

Titolo originale

Comprehensive Bee Pathogen Screening in Belgium
Reveals *Crithidia mellificae* as a New Contributory Factor
to Winter Mortality

Ravoet, Maharramov, Meeus, De Smet, Wenseleers, Smagghe, de Graaf

Da Plos One agosto 2013

Introduzione

Fino ad ora solo tre virus sono stati messi in relazione con le perdite di alveari: DWV virus delle ali deformate, ABPV virus della paralisi acuta e IAPV virus israeliano della paralisi acuta.

In Europa, ABPV è stato collegato a perdite di alveari in Belgio [25], Germania [10] e Svizzera [26]. DWV è stato collegato a mortalità di alveari invernale in Germania [10] e Svizzera [26].

Il ruolo del fungo *Nosema ceranae*, nel causare collasso delle colonie è ancora controverso (molto meno alla pubblicazione del lavoro di Ravoet a cui sono contemporaneamente apparsi alcuni lavori dell'INRA ndt) . Recentemente è stata rivelata nelle api la consistente presenza di un patogeno finora poco considerato *Crithidia mellificae*, in aziende professionali degli USA. In contemporanea altri “nuovi “ virus si affacciano alla ribalta :Aphid Lethal Paralysis Virus (ALPV) strain Brookings, Big Sioux River Virus (BSRV), Lake Sinai Virus (LSV) 1 e 2) [33]. *C. mellificae* è stata poco studiata dalla sua prima descrizione del 1967 [36], nonostante il suo omologo dei bombi, *Crithidia bombi* produca noti e seri effetti sul suo ospite, particolarmente in condizioni di scarsità alimentare[37,38]. La prevalenza di questi e altri nuovi patogeni e la loro potenziale correlazione con le perdite invernali di alveari in Europa erano al momento sconosciuti. Nel 2011 si è realizzato uno studio epidemiologico dei più comuni virus delle api in Belgio [39]. Basandosi su quei campioni è ora stato possibile produrre le evidenze molecolari della presenza nelle api campionate in Belgio di parassiti del tipo phorid flies ,*Spiroplasma* spp., *Apicystis bombi*, ALPV strain Brookings, *C. mellificae*, differenti stirpi del virus LSV e del virus della varroa denominato *Varroa destructor* Macula-like Virus(VdMLV) . In aggiunta si è esaminato se la presenza di questi patogeni in estate può essere utilizzata per prevedere la morte durante l' inverno degli alveari . Si è inoltre studiata la possibile associazione nella prevalenza di questi patogeni .

Risultati

Tipi di patogeni

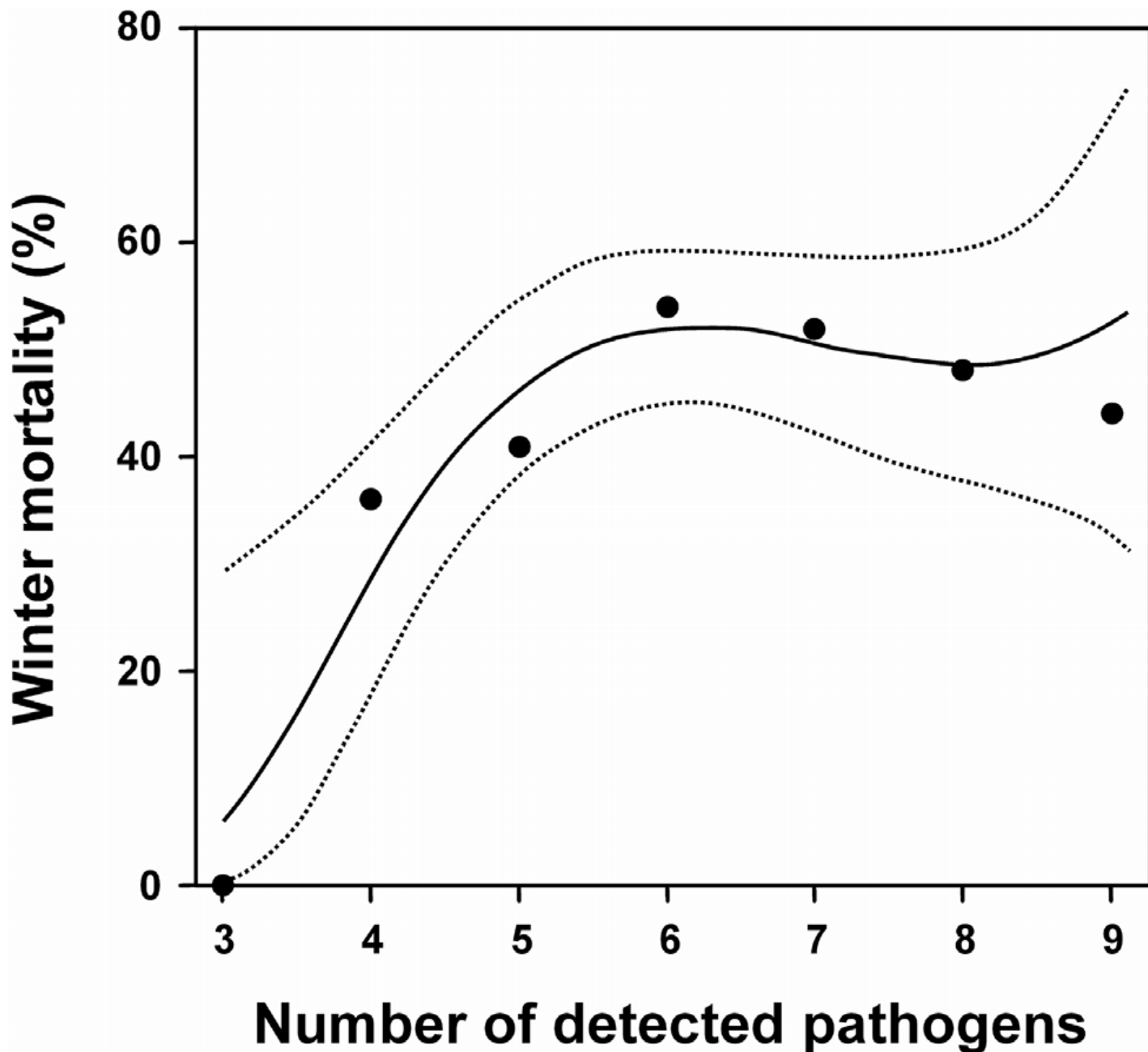


Figure 2. Effetto del numero di patogeni rinvenuti sulla mortalità invernale ottenuto basandosi su un modello probit binomiale. L'alveare sembra soffrire in modo particolare quando il numero di patogeni rinvenibili passa da 3 a 6 mentre un aumento ulteriore del numero di patogeni presenti non produce un ulteriore aumento di mortalità di alveari

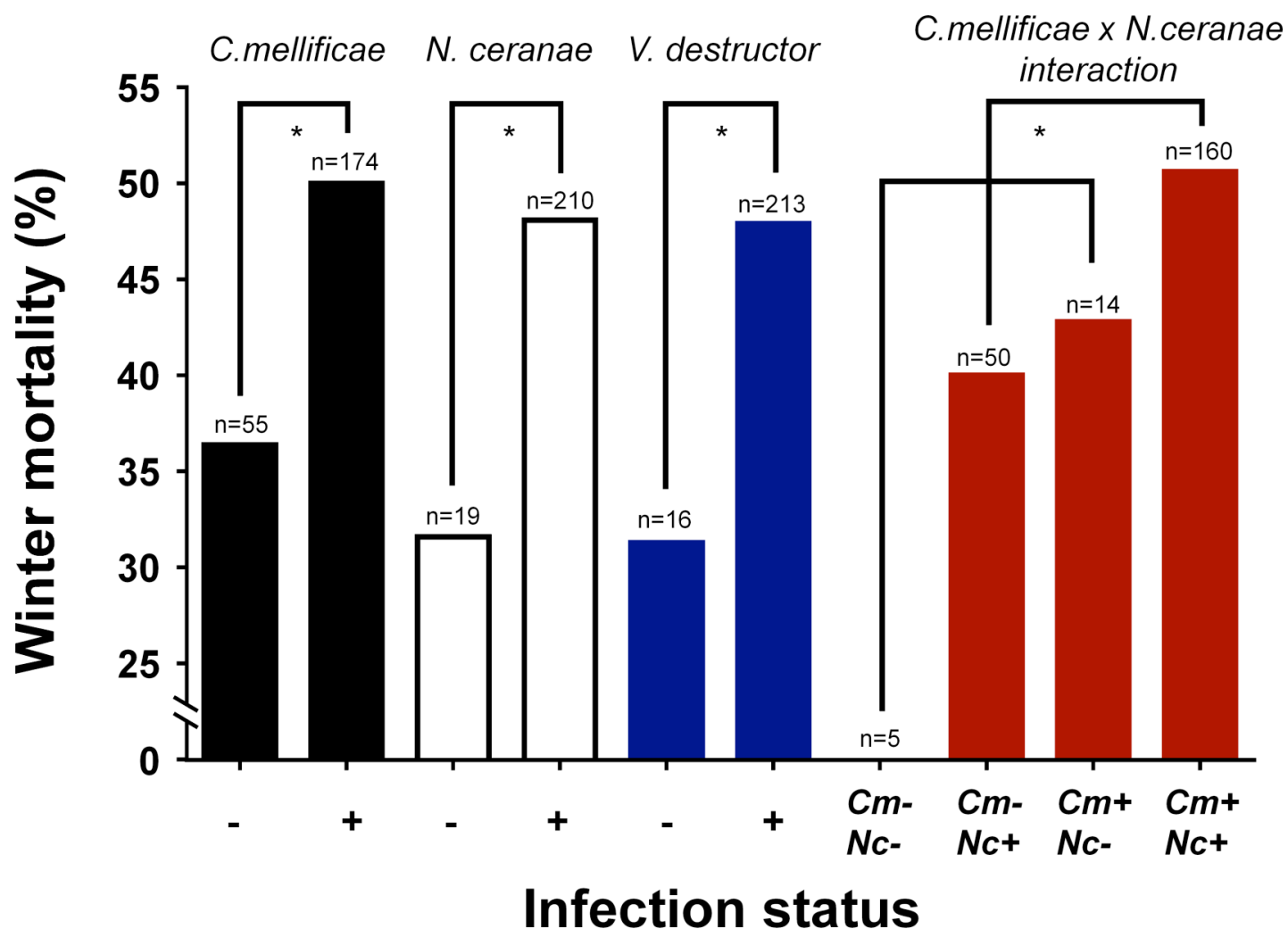
Le spore di *Nosema* sono state rinvenute nel 75.2% (273 su 363) dei campioni in quantità da 1.000.000 a 10.000.000.000 [10 alla 5 fino a 10 alla 9 per ape]. Le analisi molecolari (dotate di maggior sensibilità) hanno rivelato il 10.2% di infezioni da *N. apis* (37/363) e il 92.6% di infezioni da *N. ceranae* (336/363), con una prevalenza totale del *Nosema* del 93.9% (341/363). Infezioni miste dei due tipi di *Nosema* sono risultate presenti nel 8,8% dei campioni (32/363), da *N. apis* 1.4% (5/363) mentre da *N. Ceranae* 83.7% (304/363) dei campioni.

ALPV è risultato presente nel 56.2% (204/363) mentre le differenti varianti del virus LSV sono risultate nel 14.6% (43/363). BSRV non è stato rinvenuto. È stato possibile dimostrare che ALPV e VdMLV sono in grado di replicarsi nel corpo dell'ape. Il virus della varroa VdMLV è stato rinvenuto nel (84.3%; 306/363) dei campioni. Spiroplasmas *S. apis* e *S. melliferum* (agenti causali del mal di maggio ndt) sono stati rinvenuti nel 0.3% (1/363) e 4.4% (16/363) rispettivamente dei campioni testati.

Il tripanosomatide *C. mellificae* è stato rinvenuto nel 70.5% (256/363) dei campioni. E' stato possibile dimostrare la presenza del parassita dei bombi *A. bombi*, nel 40.8% (148/363) dei campioni. Unexpectedly, we were also able to demonstrate the molecular presence of phorid flies in 31.1% (118/363) of the samples.

Effetto dei patogeni sulla mortalità invernale di alveari

Gli alveari di origine dei 363 campioni analizzati sono morti per il 46.5% nel corso dell'inverno 2011–2012. Combinando i dati di presenza negli alveari nel luglio 2011 dei 16 patogeni delle api conosciuti si è testato se la mortalità invernale può essere prevista sulla base di presenza o assenza di questi patogeni. Basandosi su un modello denominato probit binomiale si è mostrato che *V. destructor* e *C. mellificae* e *N. ceranae* (ovvero l'interazione *C. mellificae* x *N. ceranae*) contribuiscono parecchio a "spiegare" la mortalità invernale. Il significativo effetto di interazione è dovuto ad una sinergia negativa tra *C. mellificae* e *N. ceranae* (con effetto sulla mortalità invernale) (Figure 1). Ciò significa che la combinazione di entrambi i patogeni ha un effetto minore rispetto alla somma di entrambi, ma produce un chiaro effetto di aumento della mortalità invernale



Legenda - stato di infezione

In nero le famiglie in test per *Crithidia*. La barra corrispondente al segno meno significa assenza del patogeno. La barra segno più significa presenza del patogeno. La mortalità invernale di alveari è chiaramente più alta con presenza del patogeno.

In bianco lo studio del *Nosema* con gli stessi criteri di esposizione. La presenza del patogeno produce un chiaro aumento della mortalità invernale.

In blu lo studio relativo a *varroa*. La presenza del patogeno produce un chiaro aumento della mortalità invernale.

In rosso lo studio dell'incrocio di presenza *Crithidia* e *Nosema*.

Cm- *Nc-* significa assenza di entrambi i patogeni.

Cm- *Nc+* significa assenza di *Crithidia* e infezione da *Nosema*.

Cm+ N- significa infezione da Crithidia e assenza di Nosema

Cm+ N+ significa infezione da entrambi i patogeni che produce il livello di mortalità più alto in assoluto amplificando di 12 volte la mortalità osservabile in assenza dei due patogeni

Un più alto numero di patogeni rinvenuti in estate risulta in un significativo aumento della mortalità invernale .

Relazioni tra patogeni

Sono state trovate le prove di associazioni tra diversi patogeni :

LSV risulta significativamente associato con BQCV

ALPV con la quantità di spore di Nosema e VdMLV con N. ceranae

Discussione

Questo studio rappresenta il più comprensivo lavoro sulla prevalenza dei patogeni delle api in Europa. Le analisi confermano l'importanza della quantità di presenza di *V. destructor* in luglio come elemento di predizione del collasso invernale [7]. Quello che è importante è che le analisi dimostrano un notevole effetto della presenza nei mesi estivi di *C. mellifica* sulle mortalità tardo invernali, effetto anche aumentato dalla co-infezione con *N. Ceranae* (che pure da solo produce evidentemente i suoi danni). Il protozoo

C. mellifica è stato ignorato per parecchio tempo, ma i dati rilevati ne mettono in evidenza un ruolo chiave nel declino degli alveari. Questo tripanosoma è probabilmente cosmopolita essendone riportata la presenza in Australia [36], Cina [49], Francia [50], Giappone [51], Svizzera [52] e USA [33]. Recentemente è stata anche studiata la risposta immunitaria prodotta dall'ape a infezione da *C. mellifica* sia a solo che in contemporanea a *N. Ceranae* [54]. In aggiunta una associazione tra i due patogeni è stata osservata negli USA [33] in apiari professionali. I possibili aspetti controversi del ruolo del *N. ceranae* [23,29,55] potrebbero essere spiegati da un effetto sinergico fra *N. ceranae* e *C. mellifica* sulla mortalità dell'alveare.

Si è anche osservata una significativa correlazione fra il numero di patogeni rinvenuti nell'alveare e la mortalità delle famiglie. Soprattutto, appare che diversi patogeni possono agire in maniera sinergica e arrivare a causare il collasso dell'alveare [48]. Lo sviluppo della interazione fra questi patogeni può variare da regione a regione [48], probabilmente in conseguenza di vari tipi di interconnessione di vari tipi di stress. Si è potuto dimostrare che il virus ALPV è in grado di replicarsi nelle api. Risulta associato alla presenza di spore di Nosema in conseguenza di una comune via di trasmissione orale. Relativamente al virus proprio della varroa denominato VdMLV, è stata dimostrata la trasmissione alle api verificandone l'alta prevalenza nei campioni studiati e la correlazione con *N. ceranae*. Lo studio ha anche rivelato una alta presenza di *Apicystis bombi* nelle api.

Conclusioni

Le mortalità invernali di alveari in Belgio sembrano associate a :

(1) presenza di *V. destructor* e (2) presenza di *C. mellifica* e *N. ceranae* in estate .

Il presente studio non solo estende il numero di patogeni a cui le api sono esposte in Europa, ma assegna al *C. mellifica* un ruolo di primo piano relativamente alle mortalità invernali in aggiunta a *V. destructor* e *N. ceranae*. Si descrive inoltre la presenza di 6 nuovi patogeni negli apiari del Belgio:

il virus ALPV strain Brookings,

Il virus della varroa VdMLV,

Il complesso virale Lake Sinai (LSV complex),

S. melliferum, *A. bombi* e *A. borealis*.

Da ultimo, risultano associazioni tra il virus LSV e quello BQCV, tra VdMLV e *N. ceranae*, e tra ALPV e spore di Nosema .