

Metabolismo delle api

Una semplificata definizione di metabolismo è la seguente (da Wikipedia) :Il **metabolismo** è il complesso delle reazioni chimiche e fisiche che avvengono in un organismo o in una sua parte. Queste trasformazioni della materia sono reversibili e sono legate a variazioni della condizione energetica.

Il metabolismo si divide in due insiemi di processi:

- **anabolismo**, che produce molecole complesse a partire da molecole più semplici utili alla cellula;
- **catabolismo**, che comporta la degradazione di molecole complesse in molecole più semplici.

Le reazioni chimiche succitate sono alla base delle esigenze energetiche degli esseri biologici da una parte e alla base della produzione di molecole complesse (proteine)

essenziali alla realizzazione delle varie parti dell'essere biologico non che dell'insieme delle sostanze atte a proteggere l'essere biologico , in questo caso l'ape, da agenti di stress e dai patogeni. L'insieme di queste sostanze può essere definito “ sistema immunitario “ che per il caso dell'ape tratteremo in apposita sezione. Questi concetti hanno notevole importanza nella situazione attuale dell'apicoltura, dove da sempre si trascina un equivoco di fondo. Dagli albori dell'apicoltura razionale l'apicoltore usa fornire alle api sostanze zuccherine in situazione di scarsità di provviste , particolarmente in inverno, e questo è giusto , perchè serve zucchero per produrre energia ,la quale è trasformabile in calore ,ma usa anche somministrare le stesse sostanze zuccherine in primavera nella convinzione di stimolare le famiglie ad una maggiore deposizione di uova ,che dovrebbe portare ad un più consistente sviluppo .

E qui vi è l'equivoco, nel senso che gli zuccheri sono il combustibile del motore biologico , che per chiarezza di esposizione possiamo paragonare

al motore dell'automobile , ma per costruire “il motore e anche la carrozzeria e tutte le altre parti della nostra “ automobile organica “, nel nostro caso api, servono proteine ,ovvero polline, l'unica fonte proteica utilizzata dalle api .

La parola stessa, PROTEINA , significa niente altro che questo.

Proteina

Da Wikipedia, l'enciclopedia libera.

Le **proteine** sono i costituenti fondamentali di tutte le cellule animali e vegetali. Dal punto di vista chimico, una proteina è un polimero (o anche una macromolecola) di residui amminoacidici, uniti mediante un legame peptidico, spesso in associazione con altre molecole e/o ioni metallici (in questo caso si parla di proteina coniugata).

Le proteine hanno una organizzazione tridimensionale (struttura) molto complessa a cui è associata sempre una funzione biologica. Da questa considerazione deriva uno dei dogmi fondamentali della biologia: "*Struttura <--> Funzione*", nel senso che ad ogni diversa

organizzazione strutturale posseduta da una proteina (detta proteina nativa) è associata una specifica funzione biologica.

Da questo punto di vista le proteine possono essere classificate in due grandi famiglie: le proteine globulari e le proteine a struttura estesa o fibrosa. Queste due organizzazioni riflettono le due grosse separazioni funzionali che le contraddistinguono:

- Le proteine estese o fibrose svolgono funzioni generalmente biomeccaniche, esse per es. rientrano nella costituzione delle unghie, dei peli, dello strato corneo dell'epidermide, ecc., opponendo una valida difesa contro il mondo esterno.
- Al contrario, le proteine globulari sono coinvolte in specifiche e molteplici funzioni biologiche, spesso di notevole importanza per l'economia cellulare, per es. sono proteine gli enzimi, i pigmenti respiratori, molti ormoni e gli anticorpi, responsabili della difesa immunitaria. “

Per la conservazione

all'interno del loro corpo le api usano trasformare

le proteine provenienti dal polline, relativamente semplici, in almeno due proteine di diverso tipo, più complesse e molto più funzionali allo scopo.

Le proteine sono strutture tridimensionali che hanno un “corpo” che può essere assimilato ad una stiva da carico e delle “braccia” che servono per agganciarsi alle altre entità biologiche.

Le api, come gli altri esseri viventi, assumono attraverso l'alimentazione proteine generalmente più semplici di quelle di cui necessitano e le trasformano al loro interno in strutture più complesse e funzionalmente diverse.

L'insieme delle proteine (che gli scienziati hanno chiamato proteoma e proteomica la scienza che studia le proteine ed assegna loro un nome dividendole per famiglie, attuale frontiera della scienza dopo il sequenziamento del genoma di diverse specie ape compresa) espresso dalle larve durante il loro sviluppo è stato studiato da **Li e altri**. Lo sviluppo della larva è associato ad un'ampissima gamma di composti organici complessi tra i quali 38 sono particolarmente abbondanti. Tralasciando la trattazione biochimica estremamente complessa che richiederà un testo a sè stante, si può dire che

gli scienziati dispongono oggi di un quadro piuttosto vasto e relativamente dettagliato riguardo alle necessità legate allo sviluppo della covata e anche successivamente nelle fasi di vita da ape adulta.

Diversi composti , che potremo in questa sede in maniera grossolana chiamare semplicemente proteine, svolgono un ruolo chiave durante tutto il corso di vita dell'ape .Secondo Martins e al (2008) in preparazione alla metamorfosi le larve di ape , stoccano un alto quantitativo di proteine nell'emolinfa ,principalmente quattro composti che sono stati chiamati esamerine (in conseguenza della loro forma) . HEX 70a, mostra un distinto modello di presenza e risulta poi presente anche nelle forme adulte.

HEX 70 è classificata come arilforina dal momento che contiene più del 15% di amminoacidi aromatici. Nei corpi grassi delle adulte risulta essenziale per i processi di nutrizione. Non si trova però solo nei corpi grassi ,ma anche nelle gonadi di operaie regine e fuchi e ciò porta ad ipotizzare anche un ruolo nella differenziazione ovarica.

Per l'ape, adulta il passaggio dai compiti interni all'alveare a quelli di bottinamento è il maggior cambiamento che avviene nel corso della vita e questo cambiamento sembra collegato al silenziamento dei geni deputati alla produzione della proteina vitellogenina (Santos 95) che insieme ad arilforina costituisce la coppia di principali proteine di stoccaggio delle api . Silenziando artificialmente questi geni (e azzerando la produzione della proteina) Santos ha osservato il volo estremamente precoce delle api trattate. A soli tre giorni di età sono divenute bottinatrici. *Vitellogenina è una proteina di estrema importanza per molte specie.* Si tratta di una glicolipoproteina, composta come dice il nome da zuccheri (glico 2%), grassi (lipo 7%) e proteine più semplici (91%). La caratterizzazione di questa proteina si deve a Wheeler e Kawooya (2005) .Questa proteina risulta necessaria per la sintesi della pappa reale, per la produzione di componenti del sistema immunitario e ha inoltre un notevole effetto antiossidante. E' in gran parte responsabile del consistente allungamento della vita tipico di api invernali e in parte della maggiore aspettativa di vita delle regine (vi sono

poi fattori di resistenza della cuticola che saranno descritti in seguito) . Pioniere degli studi su questa proteina, presente in diversi esseri biologici è stato il professor Otis che ne caratterizzò il notevole aumento di presenza in api invernali rispetto alle api estive e ne ipotizzò il ruolo di proteina di stoccaggio. Gran merito al dottor Amdam, norvegese, che allora studente volle realizzare su questo argomento la sua tesi di laurea. Anon (2007) ha verificato come la proteina sia praticamente inesistente nel corpo delle bottinatrici e per converso, che un'ape non diviene bottinatrice fino a che ha disponibilità di questa proteina. Amdam ne ha invece messo, appunto, in risalto il ruolo di inibitore dei radicali liberi. In pratica la neutralizzazione dei radicali liberi (cosa di cui si è parlato molto anche relativamente agli esseri umani) è il meccanismo che, in conseguenza della soppressione dello stress ossidativo, rende possibile il prolungamento della vita delle api invernali, ma soprattutto quello ben più consistente della regina. La *vitellogenina* è stata paragonata alla fonte della giovinezza per le api. Secondo Amdam si può concludere che la qualità della

pappa reale prodotta dipende dalla disponibilità nelle nutrici di *vitellogenina*. Api selezionate per una buona capacità di produzione e di accumulo di *vitellogenina* presentano vantaggi in diverse condizioni. La *vitellogenina* è fortemente legata con le capacità di sopravvivenza invernale e le api autonomamente selezionate in montagna, sotto questo aspetto dovrebbero essere dotate.

Ne consegue che portare al sud api “nordiche” potrebbe rivelarsi un’ottima scelta mentre il contrario, portare al nord api meridionali, potrebbe essere una pessima scelta.

Questi argomenti, che andrebbero certamente approfonditi, portano d’istinto alla considerazione che l’allevamento e la selezione di regine dovrebbe avvenire in montagna, per poi utilizzare tali ceppi in pianura e in condizioni più meridionali.

Da queste ricerche viene rivalutata l’importanza degli ecotipi locali, e si può anche comprendere come le forzature alla natura che l’uomo opera, sfuggano spesso alla sua comprensione fino a rivelarsi scelte alla lunga poco felici. Insomma alla luce di tali scoperte è difficile affermare che l’inserire nelle proprie famiglie regine

provenienti da realtà genetiche sviluppatesi in condizioni geografiche discretamente diverse possa essere sempre una buona scelta.

Page ha selezionato linee di api particolarmente abili nella raccolta di polline e queste sono caratterizzate da un alto livello di *vitellogenina*.

Page e Amdam hanno poi scoperto che la quantità di *vitellogenina* prodotta da un'ape nei primi quattro giorni di vita condiziona l'età in cui diverrà bottinatrice e se diventerà di preferenza bottinatrice di polline o di nettare. Tuttavia si può discordare da questa interpretazione e scambiare la causa con gli effetti, sostenendo che è evidente che api nate in condizioni di ristrettezza possano divenire precocemente bottinatrici.

Vitellogenina risulta anche aumentare in condizione di presciamatura (Zeng) e ciò è estremamente ragionevole. Le api dello sciame portano con loro le riserve di proteine stoccate nel loro corpo e questo è fuor di dubbio il sistema più efficiente per chi deve costruire una nuova casa. Data anche la relazione tra *vitellogenina* e longevità delle api, è altrettanto evidente che api con alto titolo di *vitellogenina* saranno più

longeve consentendo un miglior sviluppo dello sciame. Non sarà per tutto ciò allora sorprendente presentare anche relazione inversa tra quantità di *vitellogenina* presente e parassitizzazione da varroa. Amdam ha verificato come la parassitizzazione da parte dell'acaro non permetta la piena espressione della proteina nelle api nascenti, con ripercussioni pesanti sia sulle caratteristiche immunitarie delle stesse che sulle loro capacità di resistenza all'inverno.

Durata di vita e senescenza delle api

Dunque l'accumulazione proteica nel corpo dell'ape è uno dei fattori che maggiormente ne determinano la longevità.

Le bottinatrici , che si specializzano anche a livello ghiandolare per il particolare lavoro che devono compiere non sono più in grado di elaborare proteine nè di produrne . Come vedremo il cibo proteico viene loro offerto dalle nutrici . **Un altro fattore** che ha effetto sulla longevità è legato alla composizione della cuticola. Regine e operaie derivano da un identico

patrimonio genetico , che si sviluppa in maniera diversa a seconda del tipo di alimentazione ricevuta dalla larva. L'aspettativa di vita delle regine è però molto più lunga di quella delle operaie. Secondo **Saade e al. (2007)** le api appena nate hanno la cuticola molto simile a quella delle regine , ma entro la prima settimana di vita risulta un aumento degli acidi monoinsaturi , con diminuzione di quelli polinsaturi , probabilmente come risultato del consumo di polline. Di conseguenza la cuticola delle operaie diviene più sensibile alla perossidazione dei lipidi (stress ossidativo) di quella della regina . Ciò sembra confermare come la composizione cuticolare sia un fattore importante per la determinazione dell'aspettativa di vita delle api e questo deve essere particolarmente messo in relazione all'uso di varroacidi per contatto di relativa tossicità.

Un altro fattore in grado di produrre differenze sostanziali nell'aspettativa di vita dell'ape operaia è il tipo di lavoro svolto . L'attività da nutrice e altamente stressante o meglio ancora devastante dal punto di vista della degenerazione cellulare- **Amdam (2009)**) .L' esempio per antonomasia

è costituito dalle api invernali ,la particolare caratteristica delle quali è che notoriamente vivono molto più a lungo delle api estive. Sono simili a loro le api orfane ,che non si esercitano nell'allevamento della covata e la cui aspettativa di vita aumenta significativamente (Maurizio 1950 citato da Amdam) .L'emolinfa delle api invernali presenta una concentrazione di proteine molto più alta di quella osservabile nelle api estive (Fluri citato da Amdam). Tra queste proteine sembra essere appunto di essenziale importanza la vitellogenina che secondo Amdam è la proteina (glucolipoproteina) predominante nell'emolinfa (30/50% del totale). Forse, non quella più presente nell'intero corpo dell'ape invernale. Amdam spiega anche che immagazzinando riserve di proteine nell'emolinfa le api possono sopravvivere, cibandosi di solo miele, per un periodo decisamente più lungo di quello che avviene nel periodo estivo in condizioni di presenza di regina e superando così l'impossibilità di approvvigionamento di proteine dall'esterno. Otis ha determinato che vitellogenina non è presente nelle api appena nate e successivamente

aumenta significativamente fino a 60 microgrammi nelle api invernali di 60 giorni campionate in novembre. Ha anche rinvenuto grandi differenze nella disponibilità di vitellogenina sia fra le api della stessa famiglia che fra famiglie diverse. Sembrerebbe che vi siano api più adatte e capaci di invernarsi, ma si può ipotizzare anche che lo stato nutrizionale di colonie pur locate nello stesso ambiente, può variare in maniera enorme, aldilà dell'apparenza in conseguenza di differenti abilità nel bottinamento e nell'elaborazione delle proteine . Nelle api invernali è stata identificata da Otis l'altra proteina di stoccaggio, arilforina.

Anch'essa non è presente nelle api appena nate e raggiunge una quantità media di 75 microgrammi nelle api invernali a novembre. Una quantità complessivamente persino più alta di quella raggiunta dalla vitellogenina. Non sembrano esserci dati sul perché l'ape possieda due tipi diversi di proteine di stoccaggio, anche se diverse ipotesi possono essere presentate.

Eccezion fatta per le api che sono state bottinatrici o nutrici per diversi giorni ,sembra che “ il vissuto “ dell'ape non sia in contrasto

con la possibilità di divenire ape invernale a patto che vi sia la possibilità di effettuare sufficienti scorte di proteine in maniera da costituire le riserve invernali. Gioverà ripetere che Amdam ha studiato anche le conseguenze provocate dalla varroa sulla produzione e accumulo nell'emolinfa della proteina vitellogenina e sulla presenza totale di proteine nell'emolinfa. Le api che hanno subito la presenza di varroa nella fase di sviluppo presentano caratteristiche inferiori rispetto ad api invernali nate in assenza di infestazione. Presentano di conseguenza una più scarsa capacità funzionale e una più bassa aspettativa di vita. Potrà adesso studiare l'effetto del *Nosema ceranae* più di quanto non abbia già fatto Antunez e al .(2009) [vedi capitolo *Nosema ceranae*].

Perciò per poter avere sia un'ottima deposizione autunnale (e se ne vedranno nei prossimi paragrafi i motivi) , che api invernali al massimo delle possibili aspettative di vita , è necessaria una copiosa disponibilità di proteine (cioè di polline) nei mesi autunnali unita ad una presenza di varroa e di nosema la più bassa possibile. Come si vedrà nel capitolo relativo alle patologie, ma vale la pena di ripeterlo, arrivare a primavera

con famiglie forti, dipende esclusivamente da ciò che è avvenuto in tarda estate e autunno.

Polline -l'inizio di tutto

Il polline è come detto l'unica risorsa di proteine per le api. Lipidi (grassi) , vitamine e minerali , gli elementi necessari per la nutrizione delle larve , delle api di casa e delle bottinatrici .E' somministrato alle larve tal quale o sotto forma di "pappa" preparata dalle nutrici che per produrlo mangiano polline (recensione di Crailsheim, 1990) digerendolo e trasformandolo . L'indisponibilità di polline non lascia alle api altra scelta che la riduzione della quantità di covata attraverso il cannibalismo (Dustmann and Von der Ohe, 1988; Schmickl and Crailsheim, 2001 citati da Crailsheim).

La disponibilità addizionale di polline o di sostituti porta invece ad un aumento di allevamento in primavera da 5900 a 18500 operaie a maggio (Mattila and Otis, 2006 citati da Crailsheim). E' per tutto ciò chiaro che l'aumento della disponibilità di polline porta ad una maggiore produzione di covata,ma non sarebbe per contro chiaro se una maggior

disponibilità rifletta anche una maggiore “qualità” delle operaie allevate, inteso come stato nutrizionale generale e immunitario in rapporto al massimo biochimicamente possibile . Infatti , secondo Mattila e Otis, la disponibilità di polline è da suddividere secondo due possibili direttrici logiche di allevamento che sono :

da una parte fornire ad ogni membro della famiglia il massimo di quantità di nutritivi, ottenendo api al top delle possibilità, ovvero una sorta di super ape, ma di conseguenza in quantità ridotta; dall'altra aumentare quantitativamente il più possibile l'allevamento in maniera da massimizzare la crescita numerica di popolazione ottenendo però api singolarmente nel complesso molto molto meno valide. In un caso poche , ma buone. Nell'altro tante , ma scarse .E' del tutto evidente che le due opzioni sono fra loro antitetiche e anche , che la “ qualità “ delle operaie allevate è ampiamente variabile e dipende essenzialmente da ciò che mangiano , particolarmente nella loro “infanzia “ , da quando l'uovo si schiude. A seconda dell'alimentazione ricevuta potranno essere nutrici particolarmente valide ,tenendo conto che

questo compito è , come detto, particolarmente logorante. Insomma la disponibilità di polline (sia dal punto di vista quantitativo che da quello qualitativo) ha una imponente serie di effetti a cascata. Diverse ricerche hanno dimostrato che la longevità delle api “ di casa “ è inversamente proporzionale con la quantità di covata presente ed è regolata dalla quantità di lavoro svolto come nutrice (Maurizio, 1950; Fukuda and Sekiguchi, 1966; Neukirch, 1982; Amdam and Omholt, 2002 citati Mattila e Otis citati da Crailsheim).Il corpo delle nutrici si adatta di conseguenza , in tutto come una fabbrica biochimica. In condizione di carenza di proteine le nutrici presentano atrofia delle ghiandole ipofaringee, ridotta attività di nutrizione alle larve e precoce attività di bottinamento (Free, 1961; Wang and Moeller, 1970 citati da Crailsheim). In parole povere , nel caso delle api, lavorare non solo stanca, come scriveva Cesare Pavese, ma può arrivare ad uccidere logorando quotidianamente. Soprattutto, per lavorare , bisogna mangiare bene,molto bene.....e questo costituisce uno dei problemi dell'apicoltura attuale.

La qualità delle operaie allevate può essere ponderata con relativa banalità anche dal loro peso ,dalla valutazione di dimensione e riserve di proteine alla nascita. Ognuno di questi parametri consente un'accurata valutazione di quelli che possono essere definiti come singoli investimenti nutrizionali ricevuti da ogni ape in età larvale che possono evidentemente essere influenzati dalla disponibilità di risorse alimentari per la famiglia nel suo insieme (Mattila Otis 2006) .Di conseguenza questo investimento rispecchia del tutto quello che l'operaia potrà riuscire a sua volta a produrre.

Eischen et al. (1982 citato da Mattila e Otis) hanno mostrato che il peso a secco e la longevità delle api aumentano quando le stesse sono allevate da una gran quantità di nutrici (questa condizione porterebbe ad un complessivo aumento di nutrizione per singola larva) . Levin e Haydak (1951 citati da Mattila e Otis) hanno trovato che famiglie numerose tendono ad allevare api più pesanti rispetto a quelle allevate da famiglie piccole e che questo trend tende a fluttuare stagionalmente a seconda delle importazioni di polline. Il dato costante che

emerge da tutti questi lavori è la assoluta importanza del polline , sia per la quantità di covata allevata che per la qualità della quantità . Le api invernali, alla nascita hanno un maggiore peso a secco e più alto tenore di proteine e grassi rispetto alle api estive(Kunert and Crailsheim, 1988 citati da Mattila e Otis) ed è per questo che vivono così tanto -unitamente al fatto che non allevano covata-nonostante i consistenti disagi climatici .Per contro, la malnutrizione dà come risultato api piccole (Alpatov, 1929; Fyg, 1959; Jay, 1964; Daly et al., 1995 citati da Mattila e Otis) , con basso livello di proteine (Schmickl and Crailsheim 2001 citati da Mattila e Otis) e dalla vita più breve (Eischen et al., 1982; Kulinčević et al., 1983 citati da Mattila e Otis). Se ne deduce che in generale, vi è una forte relazione fra disponibilità di polline da una parte e peso,longevità e salute in generale (come quantità di proteine disponibili , che sono anche alla base delle difese immunitarie) delle operaie dall'altra .Si capisce facilmente quanto può essere pesante ,anche senza particolare presenza di patogeni,l'effetto della scarsità di polline,che a causa di eventi diversi è ormai osservabile da

diversi anni a questa parte e anche , come le valutazioni di crescita delle famiglie da parte dell'apicoltore possano essere in certi casi illusorie. In più, il polline non è solo un alimento “ quantitativamente necessario”. Bisogna anche considerarne o meglio ancora saperne considerare , la qualità nutritiva ,la quale può risultare ampiamente variabile. Molte volte l'apicoltore è portato a considerare superficialmente solo l'aspetto quantitativo della eventuale disponibilità o importazione di polline e in questa semplificazione può essere tratto profondamente in inganno. Particolari amminoacidi, che sono i singoli componenti delle proteine alla stessa maniera in cui le pietre sono i singoli componenti di un muro, hanno specifiche funzioni e a volte ,per così dire,non sono possibili sostituzioni per poter costruire le proteine complesse necessarie alle api ad esempio a livello del sistema immunitario .

Per tentare un esempio maggiormente esplicativo , se è vero che con un paio di pinze si può riuscire a piantare un chiodo usandole come un martello è però del tutto impossibile usarle come sega per segare. Si potrà al massimo

stracciare. Così la carenza di particolari amminoacidi può risultare come carenza o addirittura assenza di particolari proteine composite con ruoli particolarmente importanti, come ad esempio, come detto, quelle relative al sistema immunitario. Questa questione è stata ampiamente studiata in Australia dove in concomitanza con le impressionanti fioriture di Eucalipto locali le api erano portate a soffrire gravemente di covata calcificata, collegata in breve tempo alla non esagerata completezza del polline di tale pianta quando disponibile in maniera praticamente esclusiva.

Secondo Loidl e Crailsheim il contenuto di acidi grassi dello stomaco delle api può essere usato per quantificare la digestione, ovvero l'utilizzo di polline. Seguendo questo tipo di approccio, risulta dal lavoro dei due ricercatori che sia la quantità totale di polline che di acidi grassi presenti nell'apparato digestivo dell'ape dipendono dalla sua età. La quantità aumenta dai primi tre giorni di vita fino a raggiungere il massimo all'età di circa otto giorni, dopo di che diminuisce costantemente fino a raggiungere il livello più basso tipico delle bottinatrici.

L'assunzione e la digestione di grassi assunti dal polline dipende dunque dallo stato funzionale dell'ape. Secondo Wegener le api operaie producono cibo per le larve normalmente nell'età da 5 a 15 giorni. Eventi naturali possono portare alla necessità di svolgere questo compito fino ad età superiori. Ci si può perciò chiedere quali siano le conseguenze fisiologiche di questi "straordinari" sia per le nutrici che per la covata.

I dati ottenuti dal ricercatore mostrano che i parametri collegati alla produzione di cibo rimangono stabili mentre le ghiandole mandibolari diminuiscono di volume.

Le operaie allevate da nutrici vecchie hanno più ovarioli e mostrano un maggior sviluppo ovarico in condizioni di orfanità (si leggerà più avanti che saranno meno disposte ad accettare regine). Ciò dimostra per il momento che le nutrici vecchie non hanno una funzionalità completamente equivalente a quelle giovani. Si osserverà che la covata allevata dopo un blocco invernale è allevata da api vecchie e continua ad esserlo fino a buona parte della primavera (si leggerà più avanti che l'accettazione primaverile di regine è inferiore).

La capacità di raccolta di polline delle api è un tratto determinato geneticamente ed è altamente ereditabile (Hellmich et al. 1985; Page and Fondrk 1995 citati da Wegeren). Le api che dispongono dell'adeguato genotipo divengono precocemente bottinatrici (le api normalmente iniziano a bottinare nella loro terza settimana di vita Winston 1987, Page 2000 citati da Wegeren). I ricercatori citati hanno osservato una forte correlazione tra la sensibilità al saccarosio (misurata col metodo di estensione della ligula) e il successivo comportamento come bottinatrici. Le api che rispondono alle concentrazioni più basse di saccarosio sono poi quelle che presentano la migliore capacità di bottinamento divenendo prima bottinatrici di acqua, poi di polline, poi di polline e nettare e poi di nettare. Al contrario le api che rispondono di meno al saccarosio ritornano spesso a mani, meglio a zampe vuote dai loro viaggi. Le api più sensibili al saccarosio e quindi precoci e migliori bottinatrici sembrano possedere anche una miglior capacità di orientamento a bassa intensità

luminosa (J. Tsuruda and R. Page, unpublished; J. Erber and R. Scheiner, unpublished citati da Wegeren) . L'esistenza di una relazione tra sensibilità al saccarosio e attività di deambulazione nei primi giorni di vita all'interno dell'alveare è stata invece dimostrata da Pribbenow and Erber (1996) citati da Wegeren). Le api con migliori capacità genetiche di bottinamento nascono più mature , con maggiore attività neurale e risultano più attive. Questo potrebbe dunque costituire un elemento di selezione per l'apicoltore per ciò che riguarda la produttività , ma si traduce anche in una ampia variabilità di risposte allo stress o a patologie come nosema ceranae e virus collegati a varroasi .

In altre parole la capacità di procurarsi più cibo e di miglior qualità si collega come fosse una spirale ,a migliori difese immunitarie ovvero a migliore resistenza ai patogeni. L'apicoltore non ha mai lesinato alle api l'apporto di nutrimento zuccherino. Sembra proprio che ora che si conoscono meglio le cose non dovrà lesinare neppure aiuti sotto forma di succedanei di polline.

L'alimentazione proteica delle api : naturale e sintetica

Studi pionieristici arrivano su questo argomento dall'Australia , proprio in conseguenza della scarsa variabilità di specie presenti sul territorio in determinati periodi. Il governo australiano ha finanziato la realizzazione di diversi progetti di ricerca la cui apoteosi è

Honeybee Nutrition

Review of research and practices

A report for the Rural Industries Research and Development Corporation

by John Black May 2006 .Un libro a tutti gli effetti messo a disposizione di tutti sul sito dell'ente ricerche agricole del governo australiano all'indirizzo internet:

<http://www.rirdc.gov.au/RIRDC/index.cfm?2A35E3C5-F1FE-4F78-A9D7-E6D07889727D>
al solo compenso di un ringraziamento.

Viene analizzato come la produttività e in certi casi la sopravvivenza stessa degli alveari possano essere limitate da carenze, soprattutto proteiche, dipendenti esclusivamente da scarsità di polline. La carenza, secondo Black, può limitarsi a ridurre di popolazione gli alveari con conseguente scarsa produzione su determinate fioriture concomitanti o successive, ma la scarsità alimentare può anche avere un ruolo determinante nella resistenza a patologie come il nosema ceranae o avere un ruolo consistente sul buon invernamento di alveari affetti da virosi collegabili a varroa o a sola varroa.

A livello di singoli all'interno dell'alveare, le scarsità di risorse alimentari si traducono come visto più sopra in marcati effetti sulla crescita, sulle aspettative di vita, sulla fisiologia e sulle capacità lavorative delle singole api, oltre che ovviamente sulla resistenza alle singole patologie o alla loro associazione.

Ci sono diverse, fin troppe evidenze di come patologie come nosema (sia *ceranae* che *apis*) e varroa causano diminuzione dell'allevamento di covata in conseguenza di ridotta capacità di bottinamento. Diversi studi dimostrano la riduzione degli effetti di entrambi i tipi di nosema in conseguenza di buona alimentazione proteica.

Con scarsa alimentazione si ha inoltre riduzione della dimensione della ghiandola ipofaringea (Wang and Moeller, 1970; Schneider and Drescher, 1988; Janmaat *et al.*, 2000 citati da Black). L'effetto della dieta ha un peso enorme sulla longevità delle api che può variare da 4 a 41 giorni a seconda del tipo di alimentazione che è abbastanza facile variare artificialmente per le api giovani almeno in laboratorio .

E' perciò del tutto evidente che la capacità di allevamento di covata delle famiglie ,sia quantitativamente che qualitativamente , a parità di stimolo feromonale,cosa che vedremo in seguito , è del tutto condizionata dalla disponibilità di alimenti.

Il polline è in natura un elemento estremamente mutevole. In letteratura vengono descritte e riportate da Black notevoli variazioni per i valori di proteine in esso contenute ,dal 21 al 76% di materia secca.

Distinguendo tra i vari tipi di proteine eventualmente presenti ,la concentrazione di lipidi contenuta dal polline varia da circa zero a più del 20%(gli acidi grassi predominanti sono linoleico, palmitico e linolenico).

Una ampia varietà di steroli è rinvenibile ,compresi colesterolo e 24 metilene colesterolo. Le api hanno esigenze specifiche e ben definite per ciò che riguarda gli steroli e gli acidi linoleico e linolenico (sono necessari almeno 1.6 mg/g di polline di linoleico e 5.5 mg/g di polline di linolenico) . La necessità di steroli può essere considerata dello 0.1% (sia colesterolo che 24-metilene colesterolo)del cibo assunto .

Diverse vitamine risultano essenziali per le api, e cioè : biotina, colina, acido folico , inositolo, niacina,acido pantotenico , piridoxina, riboflavina, tiamina, vitamina B12, vitamina A ,

vitamina K,acido ascorbico. Il polline è spesso ricco di vitamine solubili ma spesso contiene basse concentrazioni di vitamine liposolubili.Può contenere un'ampia varietà di vitamine ma alcune (niacina, acido folico e ascorbico ,piridoxina) non sono stabili e si deteriorano nel tempo .

I carboidrati presenti nel polline sono in modo predominante materiali fibrosi con contenuto di cellulosa dall' 1.2 al 15% .

Il contenuto di amidi va dal 2 al 3% .Zuccheri circa 0.5%. Minerali da 1 a 6.5% (macro e micro-elementi).Il Potassio è il minerale più abbondante.

Le api adulte cominciano a consumare polline dopo 6-10 ore dalla nascita, come visto più sopra. Il consumo raggiunge il massimo all'inizio del nono giorno di vita riducendosi poi praticamente a zero nella fase di vita da bottinatrice. Il peso del polline nello stomaco dell'operaia aumenta da 1 mg/ape al giorno all'età di 1 giorno a 4 mg/ape a 8-10 giorni dalla nascita.

Non è rinvenibile lipasi nelle api neonate, ma la concentrazione aumenta successivamente fino a raggiungere il massimo nelle api di otto giorni .

I più comuni zuccheri presenti nel polline sono ben digeribili ma molti altri possono risultare tossici per le api . I componenti fibrosi del polline non vengono digeriti e sono rinvenibili nelle feci .

Composizione e valori nutrizionali del polline

E' facile comprendere e accettare che la composizione del polline non è mai costante per qualsiasi tipo di pianta ,ma varia da una zona all'altra e da un anno all'altro in conseguenza ad esempio dell'umidità del suolo , della fertilità del terreno e della temperatura.Il valore nutrizionale del polline varia ampiamente a seconda della varietà florale . Alcune varietà di polline possono risultare carenti di proteine ,oppure di singoli aminoacidi ,o di minerali o vitamine o lipidi . E' difficile trovare pollini completi e per la massima produttività degli alveari sarebbe ideale una costante disponibilità multiflorale,cosa sempre più rara.

Alcuni pollini possono risultare addirittura tossici per eccesso di minerali , amminoacidi o altri componenti .

E' perciò particolarmente significativa la potenziale quantità consumabile.

In questo senso l' attrattività del polline è influenzata da stimoli visivi ,aromatici, tattili e metabolici. Il colore giallo è ampiamente preferito . Non è stata rilevata attrazione per i composti volatili rilasciati dal polline.

La dimensione dei granuli è fondamentale. Troppo grossi non risultano attrattivi. Le api dimostrano un “ istinto gastronomico “ e tendono a evitare pollini che provocano carenze alimentari (sbilanciamento di metaboliti nell'emolinfa) . La necessità di proteine per ogni periodo di sviluppo delle larve è stato valutato . Circa 4 mg/giorno di polline di buona qualità sono necessari per soddisfare le esigenze di ciascuna nutrice .

Kunert and Crailshiem (1988 citati da Black) verificano che il peso delle api alla nascita risulta fluttuare a seconda dell'alimentazione ricevuta. La quantità di proteine “contenuta” però, varia invece solo dal 62 al 68% del peso a secco dell'ape.

Di conseguenza la percentuale di proteine descrive particolarmente bene il peso nutrizionale

dell'ape fatta eccezione per le api invernali che possiedono una quantità molto più alta di grassi e trigliceridi e presentano una diminuzione della restante quantità di proteine .

E' stato osservato che le api che sopravvivono all'inverno sono quelle più pesanti e con maggiore concentrazione di trigliceridi, grassi ,glucosio e glicogeno nel loro corpo rispetto a quelle che durante l'inverno muoiono.

Vi sono differenze di utilizzo di polline a seconda dell'attività lavorativa svolta e vi sono anche differenze in quello che si rinviene nelle ghiandole ipofaringee .In quelle delle bottinatrici si rinviengono per lo più enzimi(la cui funzione è relativa all'elaborazione del nettare e del polline fresco raccolto) .Nella ghiandola delle nutrici si rinviengono invece proteine del tutto diverse (Kubo *et al.*, 1996 citato da Black). Ciò va a confermare che l'esercizio di lavori diversi porta ad esigenze nutritive diverse (Standifer *et al.*, 1960 citato da Black). I grani di polline ingeriti dalle api necessitano di un tempo da 1 a 3 ore per “essere digeriti”.

La digeribilità del polline varia dal 30 to 70% (Martinho, 1975, citato da Klungness and Peng, 1984 citato da Black). Diversi studi indicano che i carboidrati sono digeriti in varie misure e che alcuni sono tossici. Fruttosio , glucosio e saccarosio sono completamente digeribili e rapidamente utilizzabili (Crailsheim 1988 citato da Black). Le api non possono invece utilizzare pentoso ,arabinoso, xyloso, raffinoso, galattoso, acido glucuronico e galatturonico e lattosio (Phillips, 1924; Barker, 1977 citato da Black). Anche molti carboidrati complessi non sono utilizzabili dalle api :destrine , inulina, glicogeno pectina (Phillips, 1924; Barker, 1977 citato da Black). Herbert e Shimanuki (1978 citato da Black) verificano che il lattosio è tossico per le api .

Variazioni della produzione di covata in funzione delle caratteristiche del polline

Alcuni pollini come ad esempio *Taraxacum officinale* non danno luogo ad alcuna produzione di covata mentre altri tipo *Cereus giganteus* producono 240 celle opercolate per ape al giorno (Loper and Berdel, 1980 citato da Black). Quella che può essere definita come “ efficienza di allevamento del polline “ risulta variare da 7.9 a 13.1 celle allevate per grammo di polline.

L'attrattività del polline e la conseguente quantità ingerita sembrano più importanti della percentuale di proteine per determinare la complessiva capacità nutrizionale e di potenziale allevamento . Minerali ,vitamine ,acidi grassi e steroli hanno in questo un peso relevantissimo.

Per converso ci sono forti evidenze di come le alte concentrazioni di minerali presenti in particolari pollini esercitino negativi effetti su allevamento e produttività

Attrattività del Polline

Le api sono bravissime a identificare il polline tra altre sostanze , ma alcune di queste le ingannano. Schmidt *et al.*, (1987); Shaw, (1990 citati da Black) ,riportano di api che raccolgono spore di funghi mentre secondo (Herbert *et al.*, 1980 citati da Black) le api raccolgono insetticidi microincapsulati (questa particolarità è molto utile per la realizzazione di medicinali) .Ci sono evidenze del fatto che l'attrattività chimica del polline è provocata dalla frazione lipidica (Dobson, 1988 citato da Black).

Anche gli acidi linoleico e linolenico possono esercitare effetti di attrazione (Singh *et al.*, 1999 citato da Black).

Nonostante le chiare indicazioni dell'importanza di questi specifici elementi ,raramente sono stati inclusi nei sostituti sintetici del polline fino ad ora realizzati industrialmente .

L'attrattività del polline dipende anche dalla facilità con cui può essere “maneggiato “ o meglio zampeggiato . Le api hanno difficoltà a raccogliere particelle più grandi di 0.5 mm di diametro (Somerville, 2000 citato da Black).

Nel caso poi di succedanei secchi le api utilizzano la secrezione delle ghiandole labiali per

umidificarle , il che rallenta la velocità di assorbimento (Simpson, 1964 citato da Black).

Ci sono forti evidenze di come le api modificano il loro pranzo o le loro abitudini alimentari in funzione del loro stato metabolico e ciò condiziona fortemente l'attrattività delle fonti di cibo ,polline incluso.

Perciò l'attrattività di qualsiasi polline o sostituto del polline può cambiare in funzione dello stato metabolico corrente delle api . Da ciò la difficoltà di testarne l'appetibilità con prove semplici. Diversi autori asseriscono che anche le api come altri insetti cambiano le loro preferenze alimentari a seconda della concentrazione relativa di carboidrati, proteine o amminoacidi nella loro emolinfa. La preferenza di alimentazione viene modificata in funzione del mantenimento del bilanciamento tra i nutrienti ingeriti e utilizzati nel processo metabolico.

Pertanto , quando la dieta risulta carente di qualche elemento essenziale viene ad esserci la preferenza per alimento contenente quel nutriente (ovviamente se possibile) .

Secondo Schmidt *et al.* (1987 citato da Black) la longevità delle api continua ad aumentare con

assunzione di proteine provenienti da polline maggiore di almeno 0.7 mg/ape/giorno.

I risultati di McCaughey *et al.* (1980 citato da Black) suggeriscono che il massimo sviluppo delle ghiandole ipofaringee avviene con ingestione di circa 1.2 mg/ape /giorno di proteine provenienti da differenti fonti pollinifere. Similari i risultati di Loper e Berdel (1980 citati da Black) che suggeriscono che almeno 0.8 mg/ape /giorno di proteine da polline variamente miscelato siano necessari per sostenere la massima capacità di allevamento di covata in api mantenute in gabbiette sperimentali.

Classificazione del polline in base al suo contenuto di Proteine

Il polline può essere classificato di scarsa qualità alimentare per le api quando il contenuto di proteine in generale risulta inferiore al 20% {Kleinschmidt and Kondos (1976) citati da Black}. Quello contenente proteine in generale da 20 a 25% può essere considerato di media qualità. Tuttavia non vi è una relazione stretta tra

quantità di proteine nel polline e longevità delle api o capacità di allevamento di covata delle stesse. La relazione risulta invece molto più stretta con la quantità totale di proteine assunte dalla quantità complessiva di polline ingerito. In pratica è possibile per le api rimediare alla scarsa presenza di proteine in un particolare polline semplicemente mangiandone di più. Tuttavia esiste un limite. Non è per le api possibile raggiungere il massimo di allevamento avendo a disposizione solo pollini con meno del 25% di proteine .

Il ruolo di grassi,acidi grassi e steroli nell'alimentazione naturale e artificiale

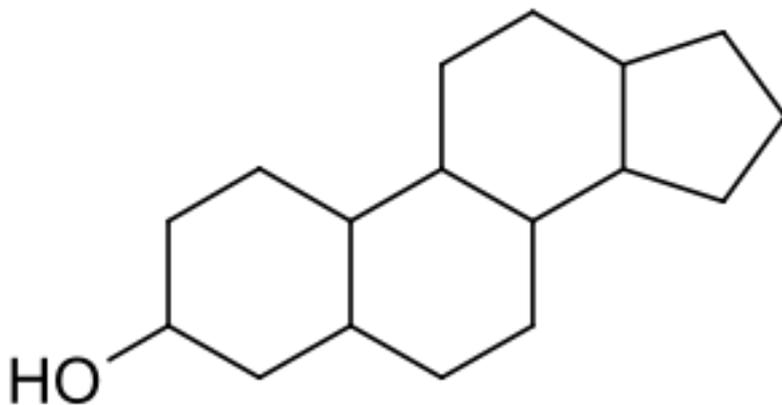
Herbert *et al.* (1980 citati da Black) trovano che api alimentate con succedaneo pollinico contenente almeno il 2% di lipidi estratti da polline producono significativamente più covata che senza lipidi estratti. Viene con ciò dimostrato il ruolo dei lipidi nella dieta delle larve di api.

Le api non possono produrre in proprio (sintetizzare) alcuni acidi grassi polinsaturi

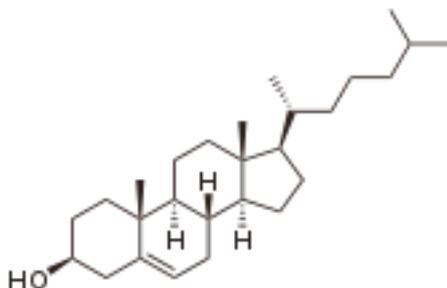
necessari per la produzione delle membrane delle cellule (Dadd, 1973 citato da Black). Di conseguenza l'unica possibilità è assumere questi grassi polinsaturi dall'esterno.

Le api hanno anche necessità assoluta di steroli indispensabili per la produzione dell'ormone ecdisone responsabile della muta della larva in adulta .

Da Wikipedia, l'enciclopedia libera.



Struttura dello sterolo, composto capostipite degli **steroli**.



Gli **steroli** sono una classe di composti chimici derivati dallo sterolo, composto policiclico formato da quattro anelli condensati (tre a sei atomi di carbonio e uno a cinque atomi di carbonio). Presentano una caratteristica funzione alcolica in posizione tre sull'anello A, una catena ramificata sul C17 dell'anello D e rappresentano una sottocategoria della famiglia dei steroidi. Sono lipidi amfipatici (a struttura idrofoba ma con una estremità idrofila costituita dal gruppo -OH) sintetizzati dall'acetil-coenzima A e hanno un ruolo importante nella fisiologia di animali e vegetali.

Herbert *et al.* (1980 citati da Black) trovano che le esigenze di steroli delle api possono essere soddisfatte sia da colesterolo che dallo sterolo delle piante 24-metilene colesterolo.

Altri steroli prodotti da piante , stigmasterolo, sitosterolo e campesterolo,danno luogo a produzione di covata significativamente inferiore.

Il polline dovrebbe contenere circa 5.5 mg di acido linolenico ogni grammo per poter fornire la

quantità necessaria alle nutrici. La necessità di acido linoleico è invece di 1.6 mg/g di polline.

Parecchi degli acidi grassi presenti nel polline e rinvenibili in discreta quantità nelle feci delle api dimostrano in vitro attività antimicrobica.

Feldlaufer *et al.* (1993 citato da Black) dimostrano che gli acidi linoleico e linolenico hanno capacità di inibizione dell'agente della peste americana (*Paenibacillus larvae*).

Un'alta concentrazione di questi due acidi nel polline e di conseguenza un'alta presenza fino alle feci sembra dare alla famiglia una consistente protezione contro batteri e funghi (Manning, 2001 -Pandey *et al.*, 1983 citati da Black).

Vitamine

Da Wikipedia, l'enciclopedia libera.

Le **vitamine** sono composti organici essenziali per l'uomo. Esse sono incluse tra quei micronutrienti che devono essere assunti con la

dieta quotidianamente poiché non vengono sintetizzati dall'organismo umano.

Trattandosi di sostanze già esistenti in natura, le vitamine non sono brevettabili per la legge italiana.

Scoperta

La scoperta delle vitamine nacque dalla constatazione che una dieta a base di carboidrati, lipidi, proteine e sali minerali non era sufficiente a garantire lo sviluppo e la sopravvivenza degli individui ma che era necessario aggiungere anche degli opportuni fattori di crescita.

Il primo di questi composti venne isolato nel 1911: per la sua positività alle reazioni delle ammine, venne denominato ammina della vita (da cui vitamina, il cui nome venne dato dal biochimico di origine polacca Casimir Funk nel 1912). Successivamente furono isolati e caratterizzati altri composti la cui carenza nella dieta provocava specifiche patologie, curabili solo con l'aggiunta di queste sostanze, che furono

perciò chiamate vitamine sebbene non tutte possiedano gruppi amminici.

Bisogna sottolineare, comunque, che il consumo nella dieta di vitamine può essere necessario per una specie ma può non esserlo per un'altra: un esempio viene dalla vitamina C che è necessaria nella dieta solo per l'uomo, i primati e pochi altri animali, dato che esclusi questi, tutti i rimanenti la auto sintetizzano a partire da altri nutrienti, pur restando un elemento assolutamente indispensabile per ogni forma vivente, vegetali inclusi, ma venendo auto prodotto non è necessario per questi ultimi introdurne nell'organismo.

Le vitamine, in particolare quelle solubili in ambiente acquoso, regolano il metabolismo cellulare e tissutale attraverso l'attività degli enzimi di cui sono parte integrante trasformandosi nella parte coniugata detta coenzimatica; non sono apportatrici di energia metabolica (calorie) né entrano a far parte dei costituenti strutturali dell'organismo.

Classificazione

Le vitamine presentano strutture chimiche molto diverse tra loro per cui, al momento, l'unica classificazione operativamente valida è quella che le distingue in due gruppi: quello delle vitamine idrosolubili (vitamine del gruppo B e vitamina C) e quello delle vitamine liposolubili (vitamine A, E, D, K).

Le vitamine idrosolubili svolgono principalmente la funzione di coenzimi, mentre non tutte quelle liposolubili hanno una simile attività.

Non tutte le vitamine vengono assunte nella loro forma biologicamente utilizzabile ma piuttosto come precursori che vanno sotto il nome di provitamine. Una volta assunti, tali composti vengono trasformati da specifici enzimi metabolici nella loro forma attiva, al fine di renderli utilizzabili.

Secondo Nation e Robinson (1968) e Haydak (1970) citati da Black l'assenza di vitamine nella dieta impedisce l'allevamento di covata. Inositolo e acido gibberellico (Nation and Robinson, 1968 citati da Black), niacina e riboflavina (Haydak, 1949), piridocsina

(Anderson and Dietz, 1976; Haydak and Dietz, 1972 citati da Black), vitamina A e vitamina K (Herbert and Shimanuki, 1978 citati da Black) aumentano la quantità di allevamento sostenibile. Le vitamine risultano anche essenziali per lo sviluppo della ghiandola ipofaringea [acido pantotenico, tiamina e riboflavina (Pain, 1956; Herbert and Shimanuki, 1978 citati da Black)]. Il contenuto di acido pantotenico, niacina e piridocsina del cibo larvale prodotto dalle nutrici diminuisce in maniera netta con l'aumentare dell'età delle nutrici da 11-18 giorni di età a 34-54 (Haydak, 1961; Standifer and Mills, 1977 citati da Black) a conferma dell'esigenza di nutrici giovani nell'alveare per ottenere il miglior allevamento possibile delle larve . Altri recentissimi lavori non citati da Black perchè successivi al suo (Physiological consequences of prolonged nursing in the honey bee

Insectes Sociaux n 1 2009

J. Wegener, M. W. Lorenz and K. Bienefeld)

confermano in tutto le carenze di api allevate da nutrici vecchie e questo dovrebbe portare a riflettere sull'effettiva impatto di metodi di metodi di conduzione apistica che incidono

sull'alimentazione delle api , come il blocco della covata per il contenimento della varroa. I motivi potranno essere probabilmente più chiari col proseguimento della lettura.

Sviluppo di sostituti del polline

I seguenti aspetti risultano basilari per la realizzazione di un sostituto del polline di adeguate caratteristiche nutrizionali per le api .

- Deve essere attrattivo per le api :
 - colore giallo ,
 - i granuli devono avere dimensione inferiore a 0.5 mm,
 - deve contenere lipidi attraenti per le api
 - sapore dolce
 - di giusta umidità (non più del 90% di materia secca)
- Si deve evitare la presenza di sostanze tossiche per le api

- 25-30% di proteine col giusto bilanciamento di amminoacidi con almeno il 70% di digeribilità
- circa 5% di lipidi dei quali acidi linoleico, linoleinico e colesterolo a sufficienza
- minerali e vitamine a sufficienza
- 10-20% massimo di fibre
- presenza di antiossidanti per consentire la conservazione per periodi sufficienti

Ciò che può essere capito da questo imponente lavoro commissionato dal governo australiano sulla base delle esigenze della locale apicoltura ,quasi impossibile da riassumere chiaramente in poche pagine e difficile da comprendere senza conoscenze scientifiche specifiche è che le esigenze proteiche dell'alveare sono estremamente variegata e probabilmente mai fino ad ora si è tenuto in sufficiente conto di questo fatto nel tentativo di realizzare surrogati del polline .

La questione fondamentale da considerare sembra essere la maggior completezza possibile dal punto di vista alimentare.

L'appetibilità risulta funzione dello stato metabolico generale delle api e non sembra essere

ottimizzabile in assoluto. Anzi, potrà risultare un elemento piuttosto relativo e veramente difficile da essere misurato.

Da ultimo, la quantità assunta del succedaneo pollinico proposto risulta in larghissima misura condizionata anche dalla quantità di feromone della covata presente, dal momento che è questo feromone che impone il ritmo di aumento di deposizione e il successivo allevamento, ovvero nutrizione, della covata presente come si vedrà in seguito. Non già presenze o somministrazioni di zuccheri miele.

Non si tratta perciò meramente di buttare polline sintetica sui favi o di fornirlo all'esterno in adeguati contenitori, anche se questa può essere la mossa della disperazione in condizioni del tutto particolarmente sfavorevoli, ma di supportare gradualmente lo stimolo proveniente dai feromoni della covata, ancora da quando questa è presente in quantità notevole, in maniera da innescare e sostenere al massimo il meccanismo di regolazione dell'allevamento di covata. La dettagliata spiegazione di questo meccanismo costituisce il capitolo successivo.

La circolazione delle proteine nell'alveare

L'alimentazione proteica delle api è essenziale per la loro vita ed è anche un fattore primario di resistenza alle patologie: è evidente che anche api parecchio ben dotate dal punto di vista delle difese immunitarie non possano essere nelle condizioni di esprimere la piena capacità produttiva di queste se non possono adeguatamente alimentarsi. Una buona dieta proteica è certamente la garanzia del buon funzionamento dell'alveare .

E' un aspetto trascurato, meglio, spesso bistrattato in passato che vale la pena rispolverare alla luce delle odierne problematiche.

Secondo Crailsheim lo scambio di cibo fra le api adulte è il cuore del sistema sociale delle api, sia che si parli di trasferimento di carboidrati (miele) che di proteine (polline , “pappa “) . Il nettare raccolto dai fiori e ricco di acqua, è portato a casa dalle bottinatrici (api di età normalmente maggiore di 14 giorni) e ricevuto dalle api di casa (di età fra i 10 e 13 giorni circa) addette al ricevimento che lo trasformano in miele stoccandolo poi nei favi. Questo nettare

viene anche utilizzato per nutrire le bottinatrici , o meglio è fatto assaggiare a bottinatrici diverse da quelle che lo hanno raccolto per informarle della qualità delle fonti nettarifere (Von Frisch 1965 citato da **Crailsheim**).Il risultato di questa catena di scambio di cibo ,che prende il nome di trofallassi, è che il nettare raccolto da poche api viene distribuito a molti individui in un periodo relativamente breve. Nixon e Ribbands (1952 citato da **Crailsheim**) hanno verificato che nettare reso radioattivo ,raccolto da 6 bottinatrici,è rinvenibile nel 50% delle api dell'alveare in un tempo di 27 ore. Sembra appunto una logica del tipo “ vuoi assaggiare “ per verificare e mettere a punto il lavoro di raccolta di nettare (in effetti le bottinatrici mangiano il nettare direttamente dai fiori già che ci sono ... e le loro esigenze di carboidrati sono relative al solo volo di andata) . Per inciso le quantità trasferite alle bottinatrici sono relativamente basse e funzionali all'attività di volo e raccolta , adatte al trasferimento di patogeni , ma non ideali per il trasferimento di farmaci. Su un circuito parallelo ,la gestione del polline e delle sostanze proteiche è parecchio diversa ed è gestita dalla categoria delle nutrici.

Queste sono api di età normalmente da 2 a 10 giorni (Free 1965 citato da **Crailsheim**). Questa categoria di api, in conseguenza del contatto che ha coi feromoni della covata è portata ad avere il massimo dello sviluppo della ghiandola ipofaringea, deputata alla produzione della pappa, reale e a da operaia, costituita essenzialmente da proteine complesse (si ricorderà che è noto che in assenza di covata ovvero dei relativi feromoni, questa ghiandola si atrofizza anche nelle nutrici divenendo in pratica non funzionale). E' il massimo sviluppo di questa ghiandola, provocato dalla presenza di covata, che consente la produzione della gelatina proteica in quantità, con la quale sono meno frequentemente alimentate le larve più giovani. Quelle di età più avanzata ricevono invece, con un maggior numero di nutrizioni giornaliere, anche miele e polline tal quale insieme alla "pappa".

Per produrre grandi quantità di "pappa" le nutrici devono essere fortemente stimolate a livello ghiandolare dalla presenza di covata aperta (ovvero dai relativi feromoni) e devono consumare grandi quantità di polline. Il polline è

difficile da digerire e solo le nutrici possiedono “lo stomaco adatto a farlo”. Le bottinatrici non ci riescono ,dal momento che il loro organismo si è modificato per svolgere i compiti di bottinamento,che sono parecchio diversi (ad esempio la loro ghiandola ipofaringea produce enzimi utili al bottinamento). Le nutrici possiedono invece adatti enzimi digestivi, detti proteolitici (che producono la lisi, lo scioglimento delle protine). Dal momento che molte delle categorie (caste) di abitanti dell'alveare non sono appunto in grado di digerire il polline veniva lecito prima dello studio di **Crailsheim** chiedersi se le loro esigenze di proteine risultano minime , cosa decisamente improbabile e in aggiunta già verificata (Creilsheim 1986) , o se invece qualcuno provvede a loro. Allo scopo di verificare ciò, a nutrici di otto giorni di età sono state effettuate iniezioni di amminoacido reso radioattivo osservabile nella sua migrazione nel corpo delle “cavie “. Queste api in studio lo hanno utilizzato per produrre la “pappa “ e lo hanno distribuito alla regina, alla covata , ai fuchi e ad operaie di tutte le età . Lo studio ha con ciò dimostrato che nel corso di una notte una nutrice

provvede all'alimentazione proteica di 4–5 bottinatrici. Di conseguenza si dovrebbe riconsiderare profondamente il ruolo delle nutrici e rivalutarlo a fabbrica di proteine per l'intera famiglia. Il flusso dell'alimento proteico prodotto dalle nutrici è stato studiato nella continuazione del lavoro in cui 100 nutrici di due famiglie in produzione sono state allo stesso modo trattate con amminoacido radioattivo, il cui flusso è stato osservato per una notte (nelle famiglie in produzione). L'amminoacido trattato si è unito a quant'altro ingerito dalle nutrici ed ha partecipato alla sintesi delle proteine nelle ghiandole delle nutrici e da esse è stato ridistribuito . Le api giovanissime , non ancora nutrici,ricevono la massima quantità di alimento proteico e questo è logico ,ma considerevoli quantità sono somministrate anche alle bottinatrici. Il 10% e 16% di tutte le api ha ricevuto nutrizione proteica da 100 nutrici nel corso di una notte nelle due famiglie in studio. Questi fatti risultano molto importanti sia per la comprensione della trasmissione di patologie come il nosema ceranae e i virus e relativa resistenza, sia per molti aspetti gestionali

dell'alveare, con esempio il blocco di covata , ora di moda per il controllo della varroa. L'apicoltore deve sapere che l'interruzione della presenza di covata porta ad una atrofia delle ghiandole ipofaringee delle nutrici e da qui ad un blocco dell'alimentazione proteica delle api di tutte le caste . E' del tutto evidente il complessivo indebolimento della popolazione sia inteso come capacità lavorativa che come attività del sistema immunitario. Questa condizione rende le api estremamente vulnerabili a patogeni come il nosema ceranae , la resistenza al quale è proporzionale alla quantità di alimento proteico ingerito e ai virus . Persino le sostanze utilizzate per abbattere la varroa sono teoricamente peggio tollerate, con ulteriore indebolimento delle api e ulteriore vulnerabilità alle patologie. La ripartenza dell'allevamento di covata diventa poi laboriosa e serviranno un paio di cicli a finché le nutrici possano riprendere la piena funzionalità dal momento che alla ripresa quasi nessuna ape ha più l'età giusta e chi fa da nutrice si adatta al compito, con relativi peggioramenti come scritto più sopra .

Le necessità proteiche delle api sono descritte nel
Review article

The protein balance of the honey bee worker

K Crailsheim

Apidologie 1990 -21

Le larve di api sono nutrite solo con pappa fino a 3.5giorni di età . Successivamente ricevono una miscela di pappa , miele e polline . Questo tipo di cibo ha meno proteine e più carboidrati.(von Rhein, 1956; Kunert and Crailsheim, 1987). Per contro ,1/3 del peso a secco della pappa per le larve giovani è costituito da proteine di alto peso molecolare (Habowsky and Shuel, 1959; Patel et al, 1960 citati da Crailsheim). Queste servono come materiale da costruzione del corpo della larva e poi della pupa ,etc. Subito dopo la nascita, l'ape comincia a consumare miele e pane d'api dall'area di stoccaggio vicina alla covata (Lotmar, 1938; Lindauer, 1952; Dietz, 1969; Haydak, 1970; Hagedorn and Moeller, 1967 Crailsheim citati da Crailsheim). Questo polline “lavorato” contiene vari microorganismi (Pain and Maugenet, 1966; Gilliam et al, 1989 citati da Crailsheim) e può contenere anche i patogeni dell'alveare (Higes 2008).In aggiunta le api

nuove nate ricevono cibo proteico anche dalle nutrici .Perepelova (1928 citata da Crailsheim) ha verificato che api di età da 1 a 3 giorni sono nutrite da quelle di età dai 7 ai 14 . Anche Free (1957, 1959 citato da Crailsheim) conferma che le nutrici (età 7-14) sono predominanti fra le api che nutrono le consorelle . Una larva necessita di circa 50 mg di pappa per raggiungere il peso di 35 mg (Von Rhein, 1956 citato da Crailsheim). Se le nutrici non hanno a disposizione proteine possono continuare a nutrire le larve per una settimana ,utilizzando quelle del proprio corpo Haydak (1935 citato da Crailsheim). Dopo questo periodo le larve non raggiungono la maturità .

Dopo la nascita le giovani api hanno necessità di proteine per la differenziazione dei tessuti.

Le nutrici, che effettuano in misura preponderante la sintesi delle proteine, hanno anche il livello maggiore di proteine nell'emolinfa(4.3%). Questo livello si riduce a 1.7% nel periodo di attività da bottinatrice (Sinizki and Lewtschenko, 1971 citati da Crailsheim).

Il polline rappresenta dunque la materia prima per costruire i corpi, gli organi, etc delle api nelle

varie fasi del loro sviluppo dallo stadio di uovo a quello di adulta e per tutto il corso della loro vita.

La regolazione della raccolta del polline e lo sviluppo della famiglia

Come le api regolino la raccolta del polline è questione molto diversa da quanto si è fino ad ora creduto. In realtà, recentissimi studi dimostrano che lo sviluppo della famiglia avviene in funzione dei segnali feromonali prodotti dalla covata che innescano una spirale virtuosa che ha nella raccolta di polline, nella alimentazione della regina e nella relativa deposizione gli elementi salienti.

Queste conoscenze si devono a Tanya Pankiw, già allieva del Prof Winston, il padre del feromone sintetico della regina, e al suo assistente Ramesh R. Sagili.

Le loro ricerche spiegano alla perfezione la metodica di lavoro utilizzata dalle api per regolare l'allevamento di covata in base alla

disponibilità di risorse di polline presenti nell'ambiente.

Sono partiti da quanto era noto e cioè che lo sviluppo della popolazione delle famiglie di api avviene essenzialmente attraverso l'aumento di deposizione della regina e parallelo aumento delle attività delle operaie collegate all'allevamento. Houston et al.(88 citato da Sagili) hanno realizzato un modello che ipotizza la quantità di lavoro che deve essere prodotta da ciascuna operaia in funzione del bottinamento in maniera da massimizzare le possibilità della famiglia. Il modello prevede che sia le singole api che l'intera famiglia rispondano ad una aumentata domanda di risorse alimentari lavorando di più . Sempre nel modello di Houston et al. (1988) è previsto che la manipolazione della quantità di covata con inserimento di altra covata dall'esterno produca un aumento nello sforzo di allevamento di covata della colonia.

Il lavoro di allevamento della covata può essere considerato diviso tra bottinatrici che raccolgono risorse all'esterno e api di casa che svolgono funzioni nel nido.

Lo sforzo di bottinamento associato a cambiamenti nella domanda di risorse alimentari all'interno della famiglia è già stato investigato in maniera profonda da diverse ricerche. E' stato appurato che aumentando la quantità di larve si ha come conseguenza un aumento del numero di bottinatrici di polline e un aumento della quantità raccolta da queste (Al-Tikrity et al. 1972; Free 1979; Eckert et al. 1994 citato da Sagili). Per converso l'attività di bottinamento di polline diminuisce in conseguenza all'aggiunta di favi di polline e aumenta in risposta alla rimozione di favi di polline (Free 1967; Danka et al. 1987; Camazine 1993; Dreller and Tarpy 2000 citato da Sagili). Aumentando la quantità di favi di polline nella famiglia si produce aumento della quantità di covata allevata e si diminuisce il bottinamento di polline (Fewell and Winston 1992 citato da Sagili). Non cada il lettore in inganno . Non si produce lo stesso effetto disponendo il polline “ a mucchio “ sopra i favivoi non guardate in giardino per rendervi conto di quale quantità di spaghetti è rimasta a disposizione in famiglia....

Le famiglie di api rispondono in maniera analoga all'aggiunta di feromoni della covata, apparentemente valutando la quantità di covata in allevamento dalla quantità di feromone percepito. Aggiungendo feromone della covata alle famiglie si produce un aumento del numero delle bottinatrici di polline superiore al 150% con significativo aumento anche della quantità di polline raccolta da ogni singola bottinatrice sia specializzata in polline che generica.

Si ha inoltre aumento della quantità di voli delle bottinatrici di polline per unità di tempo (Pankiw et al. 1998; Pankiw and Page 2001; Pankiw 2004a; Pankiw 2004b; Pankiw et al. 2004; Pankiw 2007). Il comportamento delle api di casa conseguente all'aumento del bottinamento era invece molto poco conosciuto.

Relativamente a questi aspetti era già noto che nel nido le operaie regolano la deposizione della regina attraverso la sua nutrizione -quantità e qualità del cibo-(Chauvin 1956; Allen 1960 citato da Sagili).

La quantità di celle di favo preparate dalle api di casa per l'accettazione da parte della regina e relativa deposizione è un altro meccanismo

attraverso cui le operaie regolano la deposizione della regina (Free & Williams 1972 citato da Sagili).

Partendo da questi elementi consolidati, lo studio ha potuto verificare il modello predittivo di Houston et al. (1988) e cioè che lo sforzo di allevamento di covata delle operaie aumenta in risposta ad un aumento della quantità di larve percepite nella famiglia.

Per dimostrare ciò, feromone sintetico della covata è stato utilizzato per aumentare la percezione del numero di larve presenti nelle famiglie in studio.

Lo studio si è avvalso di tecniche di registrazione digitale per studiare nel dettaglio i comportamenti della regina così classificabili:

- *ozio sui favi

- *movimento sui favi a velocità superiore a 5 mm/s con frequenti ispezioni delle celle

- *nutrizione-la regina estende la proboscide tra le mandibole di una operaia per più di 5 s (Allen 1960 citato da Sagili)

- *deposizione dopo una breve ispezione della cella vuota.

La mappa della deposizione è stata realizzata per il periodo di 9 giorni .

Allo stesso modo sono stati filmati i tempi di nutrizione delle larve. Le giovani ricevono solo cibo larvale mentre le più vecchie ricevono anche polline e miele (Winston 1987 citato da Sagili).

Lo studio ha verificato un significativo aumento del numero totale di uova deposte dalla regina nelle famiglie con aggiunta di feromone in nove giorni di esperimento.

Il tempo totale di alimentazione della regina risulta significativamente maggiore con aggiunta di feromone della covata.

I periodi di ozio della regina risultano significativamente inferiori nelle famiglie con aggiunta di feromone della covata.

Nelle famiglie con aggiunta di feromone è stata osservata una significativa correlazione tra tempo di nutrizione della regina e numero totale di uova da essa deposte.

E' stata anche osservata una relazione tra il tempo speso dalle operaie a pulire celle e il numero di uova deposte dalla regina .

Ciò dimostra in maniera totale che le operaie e la regina organizzano i comportamenti relativi

all'allevamento di covata e gli sforzi fisiologici in risposta ad un aumento dello stimolo proveniente dalla covata stessa.

In altre parole ,aumentando la quantità di feromone della covata presente si è prodotto un aumento della nutrizione apportata dalle operaie alla regina che risponde con un aumento di deposizione e una diminuzione dei periodi di ozio.

In parallelo, le operaie utilizzano più tempo per la pulizia delle celle .

L'aumento di deposizione da parte della regina in risposta ad uno stimolo proveniente dalla deposizione stessa (feromoni della covata) è definito dai due ricercatori controintuitivo e può sembrare una bizzarria della natura,ma bisogna invece pensare che questo meccanismo avviene attraverso la regolazione quantitativa e qualitativa della alimentazione della regina e successivamente della covata e solo attraverso una eccellente disponibilità di risorse raggiunge l'apice della sua autoesaltazione. Il meccanismo sarebbe ben rappresentabile graficamente da una spirale. Il punto , più o meno alto di allevamento è imposto alla fine dalla disponibilità esterna di

polline, fatte salve le ovvie variabilità dipendenti dalla efficienza dei sistemi feromonalmente implicati e cioè produzione di feromone da parte delle larve e sensibilità delle nutrici al feromone.

Se non vi è adeguata disponibilità di risorse alimentari il meccanismo risulta auto limitarsi al massimo possibile al momento . Tutto ciò consente alle api di regolare la deposizione di uova da parte della regina in base alla effettiva disponibilità momentanea di risorse seguendo la logica “Mai troppo poco e mai troppo “.

Proviamo dunque a riassumere come una famiglia di api programma il suo sviluppo.

Per comodità di ragionamento si può cominciare ad effettuare l'analisi da quando lo sciame si instaura nella nuova dimora. In questo momento la coesione della famiglia è mantenuta dalla presenza della regina che per mezzo della circolazione del suo feromone mandibolare + temporale QRP, mantiene la dominanza ovvero l'unità della società "monarchica". Allo stesso tempo , il feromone della sua ghiandola di Dufour mantiene la supremazia riproduttiva (su questo tema si veda il capitolo specifico relativo ai feromoni) .

Il feromone della regina è il primo stimolo di incitamento alla prima raccolta di polline e nettare necessari a far partire lo sviluppo della famiglia, il quale comincia con l'inizio della deposizione di uova da parte della regina, che dovranno poi essere alimentate dalle nutrici.

Dal momento in cui è presente covata comincia ad instaurarsi nell'alveare un dialogo chimico, che vede coinvolti covata, nutrici e regina.

In altre parole, i feromoni della covata stimolano le nutrici a produrre cibo per le larve.

Per soddisfare questa richiesta vi è necessità di polline e questa necessità viene comunicata dal punto di vista quantitativo alle bottinatrici.

Lo stimolo che la covata esercita sulle nutrici porta queste ultime anche ad una maggior nutrizione alla regina, comportamento che conduce la regina ad una maggiore deposizione di covata che a sua volta porta ad una maggiore stimolazione alle nutrici che a loro volta stimolano di più le bottinatrici e la regina. Una spirale di comportamenti a catena fra le varie caste dell'alveare che porta ad un migliore o peggiore sviluppo della famiglia a seconda della

produzione feromonale e della sensibilità al sistema .

E' appunto evidente che più è alta la produzione di feromone da parte della covata (geneticamente determinata per ognuna delle sottofamiglie costituenti l'alveare - stessa madre e padre diverso) più alto sarà lo stimolo al raccolto e il conseguente sviluppo delle famiglie a parità di sensibilità .

Per ciò che riguarda le bottinatrici,esse raccolgono in funzione della richiesta che ricevono dalle nutrici immagazzinando il polline nei favi , da cui le nutrici lo preleveranno . Possono essere presenti delle riserve più o meno variabili come dimensioni ,ma relativamente ristrette a circa 1 kg ,come scritto in altri capitoli . D'altra parte la disponibilità di polline nell'ambiente è un fattore limitante di questo meccanismo di sviluppo delle famiglie di api, a cui si può sopperire mediante succedanei.

La somministrazione di polline artificiale,così come la si è intesa fino a ieri, va nella pratica ad aumentare la disponibilità del magazzino ,ma se non avviene nei tempi giusti, non si relaziona con la catena di eventi sopra riportata ,ovvero non

provoca stimoli per l'aumento dell'allevamento di covata . Le nutrici non aumentano la nutrizione di covata e regina (con effetto di aumento di deposizione) in funzione delle scorte che trovano sui favi , ma al contrario, dalla stimolazione che ricevono dalla covata attraverso i suoi feromoni richiedono polline sui favi. E' questo l'ordine che deve essere eventualmente assecondato dall'apicoltore.

Questo è quello che hanno dimostrato la Pankiw e i suoi collaboratori in uno studio in cui le api sono state portate alla stregua di polli in batteria.

Una caratteristica dell'inverno del Texas, dove la Professoressa opera , verosimilmente comune a molte altre zone è la scarsità di polline , ovvero proteine per le api , anche in presenza di temperature relativamente alte. In aggiunta le frequenti piogge costituiscono un concreto impedimento al bottinamento. Si viene ad avere perciò una situazione in cui le api allevano piccole quantità di covata utilizzando scorte di polline costituite all'interno del nido nei mesi precedenti ed ovviamente limitate nella quantità.

Risulta essere questa scarsità di polline il fattore limitante lo sviluppo delle famiglie nelle condizioni di inverno subtropicale.

Aggiungere feromone della covata alle famiglie ,fa aumentare il numero delle bottinatrici di polline del 150%, con aumento anche del raccolto per singola bottinatrice. Ciò porta ad una maggiore crescita primaverile delle famiglie in primavera ed estate (Pankiw et al. 1998; Le Conte et al. 2001; Pankiw and Page 2001; Pankiw and Rubink 2002; Pankiw 2004a,b, 2007; Pankiw et al. 2004 citati da Sagili). E' nota l'utilità di somministrazione di nutrizione proteica supplementare nei periodi di scarsità (Waller et al. 1981, Herbers 1992, Nabors 2000, Saffari et al. 2004, van der Steen 2007 citati da Sagili). Tuttavia ,si capisce oggi che dal momento che le larve sono molto poco presenti in questi momenti di scarsità di polline è anche molto scarso lo stimolo al consumo del polline sintetico (Hrassnigg and Crailsheim 1998 citati da Sagili). In aggiunta, le ghiandole ipofaringee delle nutrici sono molto poco sviluppate in conseguenza della scarsissima presenza di feromone della covata e molto scarsa è di

conseguenza la loro produzione (Mohammedi et al. 1996 citato da Sagili). Ne consegue che la semplice somministrazione di polline sintetico non ha il potere di farne partire il consumo e dare il via ad un allevamento di covata molto maggiore. Vi è insomma una separazione fra la disponibilità e l'utilizzo che deve essere attivata da altro. I feromoni della covata sono il mezzo di collegamento che mette in moto il processo. In zone a inverno temperato, l'allevamento di covata cessa e le ghiandole ipofaringee si riducono in dimensione (Brouwers 1983 citato da Sagili). Si conosce ben poco sulla dimensione e secrezione della ghiandola di nutrici nelle condizioni di inverni subtropicali.

Per tutti questi motivi è stata testata l'ipotesi che l'aggiunta di feromone sintetico durante l'inverno, in condizioni di assenza di polline, stimoli il consumo di polline sintetico e conduca ad un maggiore allevamento di covata.

Nel primo esperimento architettato dalla Pankiw è stato comparato l'effetto del feromone sulla crescita nel periodo in cui le api vengono tipicamente alimentate per la produzione di pacchi d'api. La prova è stata condotta dal 9

Febbraio al 9 Marzo all'apiario College Station, Texas. E' stata registrata una temperatura massima media di 17°C, e una media minima di 8°C nel periodo di prova. Ognuna delle 12 famiglie in sperimentazione a ricevuto 450 g di polline artificiale Brood Builder, inumidito con 50 ml di sciroppo di zucchero al 30%. Non vi è stato raccolto dall'esterno fino al 9 marzo e l'inizio dell'importazione di polline ha portato al termine della prova.

Nel secondo esperimento effettuato l'anno successivo oltre alle stesse tesi del primo anno si è aggiunta la valutazione delle ghiandole ipofaringee. La prova è stata condotta dal 19 gennaio all'8 Febbraio nello stesso apiario dell'anno precedente ma in differenti famiglie.

La media di temperatura massima giornaliera è stata di 16°C, mentre la minima media di 6°C.

Le api delle famiglie con feromone hanno consumato una quantità decisamente maggiore di polline sintetico rispetto alle famiglie di controllo (quasi il doppio nella prova 9 Febbraio –9 Marzo;circa 10% in più nell'altra prova). La differenza di consumo di polline ha portato a differenze significative nella quantità di covata

allevata già dalla prima settimana di prova con quasi raddoppio nella seconda settimana della prova 9 Febbraio–9 Marzo . Curiosamente l'aumento maggiore di covata si è avuto nella prova di gennaio /febbraio corrispondente al minor aumento di consumo di polline. Al termine della prova è stata di conseguenza verificata una significativa differenza anche nel numero delle api adulte, quasi raddoppiate al termine della prova di gennaio; aumento dell'ordine del 50% nella prova 9 Febbraio –9 Marzo

La quantità di proteine secrete dalla ghiandola ipofaringea delle nutrici è risultata significativamente maggiore rispetto al controllo. Aumento del 40 % circa dopo una settimana e quasi 300% dalla seconda settimana.

In altre ricerche era già stato dimostrato l'aumento di sviluppo ottenuto dalla somministrazione di feromone sintetico della covata in primavera (Pankiw et al. 2004) ed estate (R.R.S. and T.P., unpublished data citati da Sagili); ora è stato possibile verificare lo stesso effetto durante i mesi invernali in condizioni subtropicali.

Il meccanismo secondo cui il feromone sembra stimolare lo sviluppo delle famiglie e nel creare una maggior disponibilità di cibo dalle ghiandole delle nutrici, ottenuto attraverso una maggior stimolazione al consumo di polline .

In condizioni di disponibilità di polline tipiche di primavera , estate e autunno , il feromone aumenta la raccolta dall'esterno , con maggior consumo e senza aumento di scorte (Pankiw et al. 1998, 2004; Pankiw and Page 2001; R.R.S. and T.P., unpublished data citati da Sagili).

Anche il tempo di nutrizione della regina risulta aumentare nelle condizioni di somministrazione di feromone artificiale (R.R.S. and T.P., unpublished data citati da Sagili). che di conseguenza è portata a deporre un maggior numero di uova (R.R.S. and T.P., unpublished data citati da Sagili).

Nel periodo invernale alcuni fattori possono condizionare l'aumento di sviluppo delle famiglie . Le due prove sono state svolte in periodi differenti, tre settimane più tardi nel primo anno . Il periodo testato nel primo anno di prove è caratterizzato da 45 minuti in più di luminosità giornaliera (dati National Oceanic

and Atmospheric Administration citati da Sagili) e le api hanno dimostrato di possedere ritmi circadiani caratteristici per primavera ed estate (Elekonich and Roberts 2005 citati da Sagili). E' perciò ragionevole pensare che le api possono rispondere al fotoperiodo stagionale a cui naturalmente sono associabili i caratteristici andamenti di popolazione.

Si tratta di argomenti molto interessanti sia nelle condizioni in cui non avviene blocco di covata per tutto l'inverno sia in condizioni più temperate dove il blocco invernale avviene.

Si può osservare che in diversi casi il riuscire a sviluppare maggiormente o a oltranza le famiglie può risultare determinante per la loro sopravvivenza. Il primo esempio proponibile è quello di eccesso di varroasi e virosi in autunno con api invernali in quantità non sufficiente o non sufficientemente sane. Il metodo polline + feromone consente di far continuare l'allevamento di api aumentando considerevolmente le probabilità di successo dell'invernamento. Il secondo caso è legato invece a *nosema ceranae* che manifesta i sui

effetti al termine dell'estate quando l'allevamento di covata stenta in carenza di polline.

Sono invece del tutto evidenti i vantaggi produttivi ottenibili nelle zone senza interruzione di covata durante l'inverno sia relativamente alle produzioni di miele che di api per impollinazione o commercio delle stesse.

Allo stesso modo evidenti i vantaggi per lo sviluppo primaverile finalizzato a fioriture di pregio precoci.

E- β -Ocimene, feromone Volatile della covata coinvolto nella regolazione sociale delle api

Alban Maisonnass, Jean-Christophe Lenoir, Dominique Beslay, Didier Crauser, Yves Le Conte

INRA, UMR 406, Abeilles et Environnement, Laboratoire Biologie et Protection de l'Abeille, Avignon, France

Copyright: © 2010 Maisonnasse et al.
open-access article

Riduzione di Gianni Savorelli

Negli insetti sociali come le api , la covata è completamente dipendente dalle cure prodigate dalle nutrici. Carenza di attenzioni da parte delle nutrici può dare luogo a svariate problematiche fino alla possibile morte della covata. Le larve necessitano di cibo e calore e per soddisfare queste necessità le nutrici devono spendere energie. Nell'alveare esiste un complesso sistema di comunicazione feromonale tra le larve e le nutrici, che permette a queste ultime di comprendere tutte le necessità della covata . I feromoni della covata, ovvero esteri feromonalii della covata (BEP), risultano essere un composto di 10 esteri di etile e di metile. Questo feromone BEP modula la nutrizione di

tutti gli abitanti dell'alveare e la raccolta di polline da parte delle bottinatrici. Inibisce, l'attivazione ovarica delle operaie (di conseguenza, fra l'altro, è corresponsabile della costruzione o meno di celle reali) ,è responsabile dell'opercolazione delle larve e aumenta la quantità di proteine prodotte dalle ghiandola ipofaringee delle nutrici.

Il feromone della covata BEP (in versione sintetica sotto il nome di superboost® ndr) in conseguenza della bassa volatilità circola tra le api essenzialmente per contatto, ovvero le nutrici ne vengono a contatto al momento della nutrizione delle larve. Costituisce pertanto un'informazione specifica e localizzata.

Recentemente abbiamo identificato un altro elemento feromonale prodotto dalla covata, E- β -ocimene, molto volatile viene facilmente disperso all'interno dell'alveare. Uno dei suoi

effetti è il mantenimento dell'inibizione ovarica delle api della famiglia (e questo è notevolmente in linea con la sua natura altamente volatile) .Questo lavoro ha avuto lo scopo di studiare l'emissione di E- β -ocimene e i suoi effetti nell'alveare.

Quantificazione di E- β -ocimene

La produzione di E- β -ocimene per larva aumenta dallo stadio larvale L1 (3.9 ng/larva/20 min) allo stadio L2-3 (14.01 ng/larva/20 min) e poi diminuisce nello stadio larvale L4-5 (0.42 ng/larva/20 min). La quantità di E- β -ocimene è di nuovo relativamente alta nello stadio di pre-pupa (10.83 ng/individuo/20 min).La produzione

diminuisce negli stadi di pupa dagli occhi bianchi e di pupa dagli occhi rossi (4.18 e 3.99 ng/pupa/20 min rispettivamente) La produzione precipita poi nello stadio di pupa dagli occhi neri (0.77 ng/pupa/20 min)

E- β -ocimene e sviluppo della ghiandola ipofaringea delle nutrici

Lo sviluppo della ghiandola non risulta correlato a questo feromone e nemmeno la quantità di proteine prodotta. Non ha dunque effetti diretti sulle nutrici, al contrario di BEP.

Il sistema di guida

In presenza di covata le operaie iniziano a bottinare precocemente (ad età inferiore) rispetto a quanto avviene in assenza di covata. I risultati mostrano chiaramente che $E-\beta$ -ocimene è un componente del segnale feromonale prodotto dalla covata che accelera la transizione dell'ape dai compiti di casa (ricevitrice di nettare addetta allo scarico delle bottinatrici) al bottinamento, facendo così aumentare l'importazione , senza effetti diretti sulla ghiandola ipofaringea delle nutrici. Ovvero, a livello sociale , $E-\beta$ -ocimene ha l'effetto di controllare la maturazione delle api in risposta alle esigenze di lavoro della famiglia. In altre parole, una sovrabbondanza di bottinatrici porterebbe a mancanza di nutrici e a diminuzione nella cura della covata ,mentre, all'opposto, troppe nutrici porterebbero all'effetto di riduzione dell'importazione di scorte e a riduzione delle riserve alimentari. Di

conseguenza, l'alveare deve mantenere in continuazione un corretto rapporto fra il numero di nutrici e quello delle bottinatrici (e delle ricevitrici di nettare) e nel contempo ottimizzare la raccolta di scorte in funzione delle necessità non solo giornaliere , ma anche dei giorni immediatamente successivi. Non avrebbe infatti gran senso iniziare l'allevamento di una certa quantità di covata senza preoccuparsi di avere la quantità di cibo sufficiente nel successivo momento in cui è richiesto .L'alveare ha perciò necessità di una rete di controllo dell'anagrafe della covata , la quale deve tradurre l'informazione in perfetto "ufficio di collocamento " della forza lavoro costituita dalle api adulte .I feromoni dell'alveare hanno funzioni essenziali a questo scopo.Regina, covata e bottinatrici producono feromoni che mantengono la collocazione delle operaie nel giusto posto di lavoro, ovvero che ne mediano

il trasferimento ad altro impiego nel momento in cui vi è un eccesso di "mano d'opera".

Specializzazioni feromonalì della covata

Particolarmente interessante in questo senso è la differenza di produzione feromonale fra covata giovane e covata di età avanzata. La covata giovane è caratterizzata da alta produzione di E- β -ocimene e relativamente bassa produzione di BEP, mentre la covata vecchia produce feromoni in maniera opposta, con massiccia produzione di BEP e scarsa di E- β -ocimene. I due feromoni hanno effetto diverso sul collocamento delle api adulte rispetto alla covata.

E- β -ocimene spinge api ricevitrici di mezza età a divenire bottinatrici, aumentando così il bottinamento e la disponibilità di polline nei giorni successivi, quando

appunto le necessità alimentari della covata giovane aumenteranno molto . Data la sua alta volatilità nell'alveare, E- β -ocimene è in grado di informare immediatamente "in tempo reale " tutto l'alveare sulla condizione di presenza di covata giovane e di conseguenza sulle necessità alimentari dei giorni immediatamente successivi.

Infatti , la covata giovane non ha le stesse necessità alimentari di quella vecchia. Quando l'uovo si schiude , alle giovani larve viene somministrata pappa reale prodotta dalle ghiandole mandibolari e ipofaringee delle nutrici fino all'età di 3,5 giorni. Successivamente , le larve ricevono una miscela composta per lo più da secrezione della ghiandola ipofaringea più polline e miele in piccola quantità . La quantità di cibo somministrato è molto più alta in tarda età e da qui la necessità di potersi

preparare al meglio a seguito di adeguata informazione.

BEP, invece, mantiene le nutrici a contatto della covata e stimola lo sviluppo delle ghiandole ipofaringee e la produzione di sostanze proteiche.

Ovviamente anche BEP incentiva la raccolta di polline.

Per cui i feromoni BEP possono essere considerati segnali specifici di casta con azioni specifiche e locali mentre E- β -ocimene può essere considerato come segnale non specifico ,con azione globale sulla famiglia di aumento di importazioni .Anche ,BEP può essere considerato il segnale di comunicazione di base mentre E- β -ocimene costituisce il segnale di "regolazione fine ".

Perciò, producendo E- β -ocimene e BEP, le giovani e le vecchie larve rafforzano i compiti necessari a seconda del loro numero e nel contempo mantengono l'inibizione

dell'attivazione ovarica delle operaie. Questa gioca un ruolo essenziale nella produttività della famiglia dal momento che le api sterili sono molto più produttive (si pensi come esempio su questo alla " febbre sciamatoria "

Il ruolo del polline nella fisiologia dell'invernamento

Le famiglie di api ogni anno devono affrontare l'inverno . Questo non è un particolare problema nelle zone con temperature miti e relativa disponibilità di polline ma per poter sopravvivere nelle regioni del nord le api , come del resto molti animali , devono modificare le caratteristiche dei soggetti che affrontano il freddo e passano da una popolazione di operaie caratterizzata da corta aspettativa di vita attiva

nell'allevamento di covata ad una popolazione di operaie a lunga aspettativa di vita che in pratica non si dedica mai (o quasi) all'allevamento di covata.

MATTILA e OTIS hanno saputo valutare il ruolo della eventuale disponibilità di polline come elemento che determina la continuazione o la fine di allevamento autunnale della covata determinandone il ruolo nel passaggio di allevamento dalle api estive a quelle invernali. Per far ciò, nelle famiglie in studio si è da una parte accelerato e dall'altra rallentato artificialmente la diminuzione di disponibilità di polline che avviene naturalmente nel periodo ed è stata misurata la conseguente variazione di attività di allevamento di covata e l'inizio della nascita delle api invernali rispetto alle famiglie di controllo che hanno seguito il ritmo naturale. La riduzione della disponibilità di polline è stata ottenuta disponendo trappole da polline davanti alla famiglia. Precedenti ricerche degli stessi autori dimostrano che tale manovra produce una riduzione della disponibilità di polline dal 60 all'89 %.

Ritardando il momento di non disponibilità di polline si è avuto un parallelo ritardo nella diminuzione di allevamento di covata nelle famiglie, che, appunto, con una più consistente disponibilità di polline hanno allevato covata più a lungo e in misura maggiore in ottobre rispetto anche agli alveari controllo, lasciati liberi di fare ciò che a loro la stagione suggeriva. Perciò, dei tre gruppi di studio, le api a cui è stato somministrato un supplemento di polline hanno allevato dal 28% al 41% in più di covata. Le famiglie parzialmente private di polline hanno mostrato una anticipata riduzione dell'allevamento. Il terzo gruppo mantenuto in condizione naturale ha mostrato comportamento intermedio. In conseguenza dei risultati osservati si può capire che l'allevamento delle api invernali è stato spostato dalle famiglie con supplemento di polline ad un più tardivo periodo autunnale rispetto a quanto avvenuto negli altri due gruppi. La produzione di api invernali nelle famiglie sottoposte alle altre due differenti condizioni di studio è risultata analoga come numero, senza relazione con la disponibilità di polline comunque

manipolata, ma in periodi diversi , in anticipo nel gruppo parzialmente privato di polline.

Le api supplementate di polline hanno visto nascere il 29% delle api invernali nella prima metà di settembre (1 /13 settembre) mentre nelle altre due tesi nello stesso periodo sono nati il 51 (controllo) e il 53%(gruppo privato di polline) di api invernali . Al 25 settembre le tre tesi hanno prodotto un numero simile di api invernali (45 / 54%) mentre al 7 ottobre le api a cui è stata fatta aggiunta di polline hanno fatto nascere il 17% di api invernali contro meno del 3% degli altri due gruppi . Gli autori valutano che la longevità media delle operaie allevate in autunno risulta inversamente proporzionale alla quantità di covata che ancora deve essere allevata dalla famiglia al momento in cui l'ape che si vuole prendere in considerazione nasce. Di conseguenza , le api invernali , caratterizzate da lunghissima aspettativa di vita, appaiono nella famiglia solo quando l'allevamento della covata comincia a ridursi , al momento della riduzione di disponibilità di polline.

E' rimarchevole come la disponibilità di polline determini quando le api invernali cominciano ad

apparire, non quante. Di questo aspetto non si conosce nulla.

Le famiglie sembrano invernarsi con quantità simili di api invernali indipendentemente dalla disponibilità di polline. Sembrerebbe che per diventare ape invernale sia necessario non dedicarsi ai compiti da nutrice, i quali compiti provocano un notevolissimo stress (Amdam -vedi il capitolo dieta e metabolismo). Già negli anni '50 la svizzera Maurizio (citata da Mattila e Otis) dimostrò notevole aumento dell'aspettativa di vita in api estive orfanizzate. Omholt nell'88 (citato da Mattila e Otis) confermò la relazione inversa fra aspettativa di vita dell'ape e durata della sua attività come nutrice. Se ne conclude che la riduzione di disponibilità del polline sembra essere lo stimolo che lentamente porta alla transizione verso la comparsa della popolazione invernale. In maniera diretta la disponibilità ha effetto sulla capacità di allevamento e indirettamente indica il "deterioramento ambientale associato all'avvicinarsi dell'inverno".

La disponibilità di polline è la chiave che innesca questo meccanismo di riduzione di allevamento in cui progressivamente parte delle api nate non si dedica al compito di nutrice e modifica la sua struttura fisica con accumulo di proteine di stoccaggio in conseguenza di diversa attivazione genica un particolare gene denominato PGM produce importanti riflessi nella “ collocazione e gestione dell’energia “. Kence ha comparato l’espressione di questo gene in bottinatrici , guardiane (di età simile alle bottinatrici) e api più giovani . La piena espressione di questo gene sembra essere presente solo nelle bottinatrici impegnate in mansioni a grande dispendio energetico . La s t e s s a c a r a t t e r i s t i c a verrebbe espressa anche sulle api invernali ,ma in età molto precedente a quanto avviene nelle api estive .

Aspetti pratici derivanti da queste conoscenze

Si può osservare che la condizione aggiunta di polline; che l'apicoltore può utilizzare per ritardare la nascita delle api invernali in famiglie problematiche, corrisponde nella pratica, a parità di data, ad uno spostamento delle api verso sud. Se si considera, ad una data a piacere, la condizione assunta come naturale (gli alveari di controllo) nello studio di Mattila come quanto avviene nell'Italia settentrionale, in Italia centrale ci si troverà nelle condizioni di polline aggiunto. In settentrione si ha la produzione delle api invernali in una certa quantità in un certo periodo. In centro Italia la disponibilità di polline porta nello stesso periodo alla nascita di un maggior numero di api solo una parte delle quali diventano api invernali. Al sud la disponibilità di polline ancora maggiore porta alla nascita di un numero ancora inferiore di api invernali. L'invernamento, inteso come sostituzione delle api estive con api invernali,

se avviene, viene dettato alla famiglia come tempistica e come quantità di api invernali allevate in conseguenza della disponibilità di polline. In diverse zone dell'Italia l'allevamento delle api invernali potrebbe anche risultare minimo e l'inverno viene superato con api di fatto estive che continuano ad allevare covata.

E' interessante osservare cosa si presenta agli "occhi " della varroa in questo contesto di invernamento: al nord ,una diminuzione progressiva del numero di nutrici e di larve da parassitizzare con il raggiungimento di una assoluta indisponibilità sia di nutrici che di larve (blocco di covata). Al centro una progressiva, ma meno marcata diminuzione della quantità di nutrici e di larve da parassitizzare fino ad un minimo stagionale e senza blocco totale . Poi, con l'aumentare delle importazioni di polline ricomincierà ad aumentare sia la quantità di nutrici che di larve in entrambe le situazioni.

Secondo il Professor Rob Currie e Paul Kozak, suo collaboratore dell' Univerità di Manitoba la varroa può riuscire a entrare nella covata invernale. Il suo successo riproduttivo é però molto variabile ed é generalmente molto più

basso rispetto alle condizioni estive. Lo stesso dato é stato ottenuto dal britannico Martin qualche anno fa. In pratica non vi sarebbe aumento nella popolazione di varroa durante i mesi invernali nelle condizioni settentrionali.

I primi dati del Professore sembrano indicare che in Gennaio (in Canada) solo l'1 % delle varroe si trova nella covata presente (circa il 25% della covata presente é infestata) . Questa percentuale tende ad aumentare verso la fine dell'inverno al 3%(circa il 14% della covata presente é infestata). La penetrazione nella covata aumenterà poi mano a mano che aumenterà la disponibilità di nutrisci e larve fino a raggiungere i massimi tipici della presenza di covata fa fuco.

Se il Professore ha ragione , dal suo lavoro si aprono due grandi scenari di riflessione.

Innanzitutto l'eventuale scarsa efficacia dei trattamenti invernali cosiddetti in assenza di covata andrebbe addebitata non tanto alla eventuale presenza di covata , ma a temperature di esecuzione troppo basse, con le api strette in glomere e impossibilità di veicolazione dell'acaricida.

Secondariamente sembra esserci al settentrione (di meno al centro) un periodo di fine inverno-inizio primavera, forse quasi un mese, in cui la varroa é per la stragrande maggioranza costantemente all'esterno della covata e le temperature e l'attività delle api sono tali da consentire la veicolazione di acaricidi. In altre parole si potrebbe riuscire in una ventina di giorni fra fine febbraio e fine marzo ad abbattere forse fino a quasi il 90 % delle varroee.



Nutrigenomica nelle api : valutazione digitale dell'espressione genica degli effetti nutritivi del polline in api sane e api parassitizzate da varroa.

Nutrigenomics in honey bees: Digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees

BMC Genomics 2011, **12:496** doi:
10.1186/1471-2164-12-496

Cedric Alaux (cedric.alaux@avignon.inra.fr)

Christelle Dantec (Christelle.Dantec@igf.cnrs.fr)

H u g h e s

P a r r i n e l l o

(Hugues.Parrinello@igf.cnrs.fr) Yves Le Conte

(leconte@avignon.inra.fr)

ISSN Article type Submission date Acceptance date Publication date Article URL

1471-2164

Research article

7 January 2011

10 October 2011

10 October 2011 [http://www.biomedcentral.com/](http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/496)

[1471-2164/12/496](http://www.biomedcentral.com/1471-2164/12/496)

© 2011 Alaux *et al.* ; licensee BioMed Central Ltd.

This is an open access article

Nutrigenomics in honey bees: digital gene expression analysis of pollen's nutritive effects on healthy and varroa-parasitized bees

Cédric Alaux¹, Christelle Dantec², Hughes Parrinello², Yves Le Conte¹

¹ INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement, Domaine Saint-Paul, 84914 Avignon, France

² Institut de Génomique Fonctionnelle, UMR5203 CNRS, U661 INSERM, Universités Montpellier 1 & 2, 34094 Montpellier Cedex 05, France

CA : cedric.alaux@avignon.inra.fr CD : Christelle.Dantec@igf.cnrs.fr HP : Hugues.Parrinello@igf.cnrs.fr YLC : leconte@avignon.inra.fr

Corresponding author :

Cédric Alaux

INRA, UMR 406 Abeilles et Environnement
Domaine Saint-Paul

84914 Avignon, France

Email : cedric.alaux@avignon.inra.fr

Tel : (33) (0)4 32 72 26 18

Fax : (33) (0)4 32 72 26 02

La disponibilità di risorse alimentari nell'ambiente è un fattore determinante per la crescita e la sopravvivenza di ogni organismo.

In aggiunta i nutrienti presenti nella dieta svolgono un ruolo cruciale nello sviluppo di risposte immunitarie ottimali , così come , per contro, deficienze alimentari o una dieta inappropriata possono avere brutte conseguenze sulla suscettibilità ai patogeni [3, 4]. Questa relazione tra salute e nutrizione ha portato allo sviluppo di una nuova disciplina scientifica che ha preso il nome di nutrigenomica . Uno dei suoi scopi maggiori è determinare in quale maniera la nutrizione influenza il metabolismo (o per essere più precisi i vari metabolismi ndt) dell'organismo e realizzare diete in grado di mantenerlo in una situazione detta di omeostasi (in parole povere di equilibrio ndt) per prevenire patologie legate all'alimentazione.

Le api si prestano bene a questo tipo di studi sia perchè hanno esigenze alimentari ben note sia perchè il sequenziamento del loro genoma è stato completato [7] [8].

Se per le api il nettare florale (carboidrati) rappresenta la benzina energetica della “macchina biologica ape “ (veramente nello stesso modo in cui la benzina fa muovere l’automobile ndt),il polline procura le sostanze nutrienti necessarie per lo sviluppo degli organi interni [7] (esattamente come alla FIAT hanno bisogno di alluminio, ferro , metalli vari, plastica etc per fare le automobili ndt) . Le proteine costituiscono dal 2.5 al 61% della massa secca del polline [9] , che è virtualmente la sola fonte di proteine naturalmente disponibile per le api. Il polline risulta contenere anche lipidi (1-20%), amino acidi,amidi, steroli, vitamine e minerali [10, 11]. Tutte insieme queste sostanze nutrienti rappresentano quello che il polline fornisce alle api come nutrimento. Si tratta di fattori in grado di influenzare la longevità delle api appena nate [12]. In aggiunta , adeguata quantità e qualità del polline NON SOLO RIDUCONO LA SENSIBILITÀ AI FITOFARMACI [13],MA AIUTANO ANCHE L’APE A LOTTARE CONTRO I PATOGENI del tipo microsporidia [14], bacteria [15] and virus [16], DAL MOMENTO CHE LA NUTRIZIONE PROTEICA AUMENTA LE FUNZIONI IMMUNITARIE DELL’APE [17].

Tuttavia l'influenza della nutrizione pollinica sulla salute delle api e sulla resistenza alle patologie non è ancora pienamente compresa e non lo può essere senza determinare come i nutrienti agiscono a livello molecolare.

Questo lavoro ha potuto determinare i meccanismi molecolari che influenzano la salute dell'ape indotti dal consumo di polline nei primi otto giorni di vita da adulta , periodo critico per la formazione degli organi interni e la maturazione.

Si è scoperto in che modo la nutrizione pollinica (nei primi otto giorni di vita da adulta - successivamente il consumo di polline diminuisce) influenza i meccanismi metabolici, l'espressione di geni che hanno influsso sull'aspettativa di vita , l'espressione delle funzioni immunitarie e la prevalenza virale.

Allo scopo sono state realizzate con tecniche di biologia molecolare quattro librerie relative all'espressione genica dei quattro gruppi di api testati così costruiti :

Api esenti da infestazione di varroa senza dieta pollinica -(api sane)

Api esenti da infestazione da varroa CON dieta pollinica nei primi 8 giorni di vita da adulta -(api sane)

Api infestate da varroa senza dieta pollinica -

Api infestate da varroa CON dieta pollinica nei primi 8 giorni di vita da adulta

Tutte le api hanno ricevuto anche una dieta di zuccheri.

Le due librerie di espressione genica relative alle api parassitizzate da varroa risultano contenere una consistente quantità di elementi relativi a espressione virale . Questo mostra chiaramente che Varroa provoca una situazione che conduce ad una maggiore accumulazione di patogeni nelle api, probabilmente in conseguenza delle ripetute nutrizioni che la varroa effettua sull'ape, prelevando emolinfa, cosa che non ha solo effetti sulla fisiologia dell'ape , ma porta alla trasmissione di diversi virus [19, 21, 27, 28]. In aggiunta si è osservato che le api sane (non parassitizzate da varroa) nutrite con polline hanno una carica complessiva di patogeni

inferiore rispetto alle api sane costrette ad una dieta di solo zucchero.

Si è osservato un certo numero di geni il cui livello di espressione risulta significativamente condizionato dalla nutrizione con polline o dal parassitismo di varroa, ma, se una certa quantità di geni risulta super regolata o sotto regolata nelle api sane dalla nutrizione pollinica rispetto a quanto avviene col solo zucchero, il parassitismo da varroa ha un effetto decisamente più pesante sull'espressione genica. Questo effetto di inibizione dell'espressione genica può spiegare la perdita di peso e le disfunzioni nel metabolismo indotte dalla varroa nelle api nascenti.

Nel dettaglio:

La Vitellogenina (Vg) è una proteina di stoccaggio che nelle operaie ha svariate funzioni, tra le quali, funzioni antiossidanti che proteggono l'ape dagli stress ossidativi e ne aumentano la longevità [35, 36]. Perciò il livello di vitellogenina nell'emolinfa dell'ape può

essere assimilato ad un indicatore di longevità . Dal momento che la nutrizione pollinica promuove lo sviluppo dei corpi grassi [12, 17] che sono la fabbrica in cui viene prodotta la vitellogenina , ci si può aspettare un aumento del livello di vitellogenina nelle api alimentate con polline. E questo è stato pienamente confermato dal nostro studio e suggerisce che un modo in cui il polline agisce , incrementandola, sulla longevità delle api è aumentando il livello di vitellogenina. Api sane alimentate con polline vivono di più.

Si è verificato anche, cosa molto interessante , che il parassitismo da *Varroa* diminuisce il livello di vitellogenina nelle api nutrite con polline , ma questo livello (di vitellogenina nelle api nutrite con polline e parassitizzate da *varroa*) risulta comunque significativamente più alto del livello di vitellogenina rinvenuto nelle api parassitizzate da *varroa* , ma costrette ad una dieta di solo zucchero .

Il livello di espressione del gene *prophenoloxidase* (PPO), alla base del sistema fenolossidasi (la parte dei sistemi di difesa più

importante delle bottinatrici e sicuramente molto importante anche nelle api di minore età ndt) risulta inibito dal parassitismo di varroa , con minore espressione della cascata di fenolossidasi. Sulle api parassitizzate da varroa la nutrizione con polline non produce effetti sulla espressione di PPO (ovvero le api parassitizzate da varroa risultano “invalidate “ a livelli immunitario - da questo si può anche ipotizzare che le api parassitizzate da varroa risultino molto più vulnerabili al nosema ceranae e che possa essere su queste api che il ceranae trova slancio riproduttivo per raggiungere presenza quantitative in grado di minacciare anche api con sistema immunitario maggiormente integro ndt) .

Relativamente all'espressione del gene *spaetzle*, che fa parte del sistema di lotta immunitaria contro funghi e batteri [42] è stato confermato che l'alimentazione con polline aumenta significativamente la trascrizione di questo gene nelle api sane (Figure 1), il che significa che la nutrizione pollinica aumenta le funzioni immunitarie delle api. L'espressione di questo gene è ridotta dalla parassitizzazione da varroa , anche nelle api con alimentazione pollinica , confermando ancora l'effetto di depressione

immunitaria provocato da varroa (e per estensione che le api parassitizzate da varroa sono maggiormente vulnerabili a funghi e batteri ndt)

Si è realizzata un' analisi (ontologica) per esplorare quali elementi funzionali sono regolati dall'alimentazione pollinica e quali sono condizionati dal parassitismo di varroa. Il polline può venire variamente digerito a seconda della sua qualità e dell'età delle api . Api di 9 giorni riescono a digerire più del 95% del polline ingerito [41].

La super regolazione di molte funzioni metaboliche nelle api nutrite con polline mette in luce l'alta digeribilità dello stesso (Figure 2A). In risposta alla nutrizione pollinica, composta principalmente da proteine e lipidi , i geni coinvolti nella proteolisi (digestione delle proteine) , metabolismo dei lipidi e codifica per peptidasi risultano super regolati.

Anche il metabolismo dei carboidrati risulta super regolato dalla nutrizione pollinica suggerendo

che avvenga una risposta digestiva all'ingestione di polline.

Gruppi di geni implicati in processi traslazionali e biogenesi di ribosomi (fattori essenziali per la crescita dei tessuti regolati dall'assunzione di nutrienti e inibiti in caso di carestia) risultano sotto regolati a seguito di nutrizione con polline (Figure 2B). Nel caso dell'ape la maggior quantità di polline viene consumata nella prima settimana di vita come adulta. Nello stesso periodo avvengono anche i maggiori sviluppi dei tessuti e i processi di maturazione (ghiandole ipofaringee e corpi grassi). L'età delle api analizzate era superiore a quella a cui corrisponde questa fase di sviluppo e ciò può spiegare la sotto regolazione di processi traslazionali e biogenesi di ribosomi osservata.

L'effetto della nutrizione pollinica sulla fisiologia dell'ape risulta drammaticamente alterata dal parassitismo da varroa.

Mentre processi traslazionali e biogenesi di ribosomi risultano sotto regolati e diverse categorie metaboliche non risultano espresse in presenza di varroa, solo pochi insiemi di geni coinvolti nella proteolisi, attività di peptidasi e

metabolismo dei carboidrati risultano espressi in presenza di varroa con nutrizione proteica. In contrasto, la maggioranza dei geni implicati nel metabolismo delle proteine risultano sotto regolati nelle api parassitizzate da varroa (Figure 2B), dimostrando che **varroa inibisce la digestione e /o l'uso delle proteine.**

In aggiunta, i “processi metabolici dei lipidi”, “fosforilazione ossidativa” e “generazione di energia e metaboliti precursori” non aumentano.

I processi metabolici risultano pesantemente sotto regolati dal parassitismo sulla prepupa [22]. Tutti insieme questi risultati dimostrano che le api parassitizzate non possono correttamente assimilare e usare i nutrienti contenuti nel polline necessari per il loro sviluppo fisiologico.

L'inibizione prodotta dalla varroa ai processi essenziali per la crescita delle cellule può portare a tessuti più deboli e fragili (e questo può ad esempio facilitare la riproduzione di nosema e virus ndt).

Le api hanno necessità di 10 aminoacidi, che non possono sintetizzare e che perciò devono essere ingeriti con la dieta: arginine, histidine, lysine, tryptophan, phenylalanine, methionine,

threonine, leucine, isoleucine, e valine [45]. Si è perciò verificato il metabolismo degli aminoacidi che risulta significativamente arricchito dalla nutrizione con polline, trovando che 4 sono super regolati mentre altri 5 risultano sotto regolati dalla presenza di varroa (lysine, tryptophan, leucine, isoleucine, e valine), con ciò confermando che la varroa significativamente riduce lo sviluppo delle api, ma la dieta con polline compensa l'effetto negativo provocato da varroa sul metabolismo degli aminoacidi.

Effetti della nutrizione con polline e della presenza di varroa sui geni coinvolti nell'aspettativa di vita e nelle funzioni immunitarie

Si sono trovati 20 geni dotati di effetti sulla longevità, differentemente espressi nei vari gruppi di studio. Di questi, 10 geni sono regolati dal consumo di polline e 7 risultano super espressi nelle api non parassitizzate. In conseguenza di un più alto livello di vitellogenina le api parassitizzate da varroa che hanno

disponibilità di dieta proteica hanno una aspettativa di vita decisamente superiore a quelle per le quali è disponibile dieta di solo zucchero.

Per ciò che riguarda l'effetto del consumo di polline sull'espressione dei geni immunitari, si è verificato che pochi di questi geni risultano super regolati in conseguenza della nutrizione con polline nelle api sane. Tre di questi codificano peptidi antimicrobici (AMPs) (*Lysozyme-2 and -3, Defensin-1*), che possono essere collegati ad una maggiore massa dei corpi grassi che ne sono il maggior sito di sintesi (si noti che defensina finisce anche nel miele come costituente essenziale della sua capacità di sterilizzazione o v v e r o i m m u n i t à s o c i a l e - c o m e previsto, l'immunità sociale è tanto più efficace quanto migliore è la dieta proteica delle api n d t) . Cosa molto interessante è che in assenza di sfide immunitarie (gruppi di studio con api sane), il gene *Spaetzle* e i geni codificanti per le proteine di ricognizione peptidoglicani (PGRP)-LC {proteine sentinella che avvistano i patogeni e vanno a chiamare i marines n d t }, attivatori di *Toll* and *Imd* (i marines n d t) , risultano super regolati dalla dieta proteica .La super regolazione di questi fattori

immunitari chiave, suggerisce che le api che ricevono una buona dieta proteica saranno in grado di produrre una efficiente risposta immunitaria nei confronti delle infezioni da patogeni.

Nelle api parassitizzate, solo *Imd*, un gene specifico per le difese contro i microbi risulta super regolato in conseguenza della dieta pollinica, mentre nelle api sane l'espressione di *Imd* non è condizionata dalla dieta.

Altra cosa di estremo interesse, visto che nelle api parassitizzate da varroa nutrite con polline un significativo numero di geni coinvolti nel metabolismo delle proteine risulta sotto regolato rispetto alle api parassitizzate da varroa che ricevono solo zucchero e che questa deficienza nel metabolismo delle proteine potrebbe portare effetti sul sistema immunitario dell'ape. Ovvero, l'immunodeficienza potrebbe essere spiegata dall'alto carico virale presente nelle api parassitizzate da varroa e nutrite con polline [ovvero come si vedrà nel seguito in presenza di virus la nutrizione proteica facilita anche la riproduzione dei virus ntd] ma potrebbe anche essere che le api parassitizzate nutrite con polline investano più energia in altri meccanismi di

difesa piuttosto che sui sistemi immunitari che sono inibiti dalla Varroa , ad esempio sistemi antiossidanti , considerando che hanno comunque un livello decisamente più alto di vitellogenina.

La presenza di varroa nella fase di sviluppo della pupa induce l'inibizione di una grande quantità dei geni coinvolti nelle funzioni immunitarie (inclusi PGRP-LC [le sentinelle ...ndt]) sia in api che ricevono polline alla nascita sia in api che non lo ricevono .D'altra parte pochi geni immunitari risultano super regolati. Fra questi i peptidi antimicrobici [AMPs] (Defensin-1, Hymenoptaecin, Apidaecin-1 and Lysozyme-3) and cact-1, che controlla la produzione delle AMPs [70]. I meccanismi che provocano l'immuno deficienza sono ancora poco compresi, ma una spiegazione potrebbe essere che le deficienze nel metabolismo delle proteine indotto dalla varroa e dai virus ad essa associati bloccano lo sviluppo delle funzioni immunitarie.

Effetti della nutrizione con polline e del parassitismo da varroa sulla prevalenza di virus

Si è determinato l'effetto della nutrizione proteica sulla prevalenza (presenza) di 10 virus.

Come atteso, è risultato che la presenza di varroa nella fase di sviluppo della pupa provoca un aumento dello sviluppo virale.

Dal momento che i peptidi antimicrobici AMPs hanno un ampio campo d'azione (contro batteri, lieviti , funghi, parassiti, ma anche virus [72]) , la super regolazione di AMPs osservabile nelle api parassitizzate da varroa può rappresentare la risposta immunitaria all'infezione virale . Differenti studi mostrano che il polline può aiutare le api a combattere contro parassiti e patogeni [14, 15]. Per esempio uno di questi dimostra che la nutrizione con polline riduce la presenza di DWV in normali api adulte [16]. Abbiamo ottenuto risultati simili nelle api sane (non parassitizzate dalla varroa nella fase di sviluppo come pupa) osservando che la nutrizione con polline riduce il carico di Varroa Destructor Virus (VDV) .Abbiamo anche osservato l'opposto relativamente a DWV e KV. Abbiamo trovato che la nutrizione con polline aumenta la presenza (prevalenza) virale nelle api parassitizzate da varroa , indicando che la nutrizione con polline non è efficace per limitare

il carico virale nelle api pesantemente infette . I virus utilizzano le “fabbriche “ delle cellule dell’ape per moltiplicarsi e perciò un più alto numero di cellule dell’ape disponibile può contribuire anche ad un migliore sviluppo della popolazione virale.

Per esempio è noto che DWV si moltiplica nei corpi grassi [73] e questi tessuti sono più sviluppati nelle api nutrite con polline dopo la nascita come adulte.

Conclusioni

La nutrizione con polline aumenta il metabolismo delle macromolecole e attiva i geni della famiglia TOR che si occupano della crescita dei tessuti e dello sviluppo , ma ha anche effetti che stimolano l’espressione dei geni coinvolti nella longevità . L’impatto negativo della parassitizzazione da varroa sul metabolismo e sulle funzioni immunitarie dell’ape non risulta reversibile con l’utilizzo di nutrizione proteica nel primo periodo di vita come adulta.

Inibendo il metabolismo delle proteine , la varroa impedisce all’ape di accedere ai benefici del polline.

Ciò dimostra che la patologia associata a varroa è estremamente virulenta e difficile da revertire probabilmente a causa della moltiplicazione di vari virus trasmessi dalla varroa.

Commento

questo lavoro porta a diverse conclusioni di immediata praticità .

Il polline ha un ruolo fondamentale per il benessere delle api -ne allunga la vita e crea le premesse per lo sviluppo di un sistema immunitario adeguato. Nell'attuale contesto sanitario, l'apicoltore, che per decenni si è preoccupato di fornire alle api zuccheri , dovrà preoccuparsi di rifornire verosimilmente di più di proteine .

Quando si considera il complesso Varroa +Virus (che da un po' di tempo la varroa moltiplica anche in proprio)si capisce con grande facilità come questo tandem risulti devastante e come per i carichi virali attualmente presenti,uniti alla presenza di nosema ceranae sia necessario gestire gli alveari in maniera da concedere alla

varroa , lungo tutto il periodo dell'anno, uno sviluppo quantitativamente molto minore di quanto si è concesso fino ad ora. Si perchè le api prarassitizzate da varroa risultano fabbriche di virus ,tanto più quanto la famiglia è in salute- ovvero dispone di polline- e di questo fatto si paga il conto a fine stagione. Una più bassa presenza di varroa è ottenibile con anche trattamenti primaverili, aumentando di sicuro i costi immediati di gestione, ma ricavando sicuramente beneficio in termini di produttività e di mantenimento del capitale.

I virus sembrano essere l'elemento incontenibile della situazione . Se non si cambia rotta i virus risulteranno sempre più devastanti.Essi infatti , portati a spasso dalla varroa, ma anche dalle api stesse, riescono ad aggirare le strategie difensive delle api . Sembra quasi paradossale che un ape ben nutrita di polline sia dotata di una vita lunga e abbia un buon sistema immunitario , ma che , nel contempo, se infettata da virus, offra a questi il terreno migliore per la loro riproduzione . Questo significa che le api infestate da varroa sono delle bombe a orologeria -che devono essere numericamente il meno possibile- Per l'arsenale attualmente a disposizione dell'apicoltore, la

presenza virale a cui la varroa può attingere (per moltiplicarli e veicolarli) deve essere la più bassa possibile .

Questo può essere fatto con opportune pratiche che purtroppo ancora troppo pochi utilizzano.